

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

Ayşe YAVUZ KOCAMAN

**ACETAMIPRID VE ALPHA-CYPERMETHRİN PESTİSİDLERİNİN TEK
BAŞINA VE KARIŞIM HALİNDE KULLANILDIKLARI ZAMAN İNSAN
PERİFERAL LENFOSİTLERİNDEKİ *IN VITRO* GENOTOKSİK ETKİLERİ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2007

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ACETAMIPRID VE ALPHA-CYPERMETHRIN PESTİSİDLERİNİN
TEK BAŞINA VE KARIŞIM HALİNDE KULLANILDIKLARI ZAMAN
İNSAN PERİFERAL LENFOSİTLERİNDEKİ *IN VITRO* GENOTOKSİK
ETKİLERİ**

Ayşe YAVUZ KOCAMAN

DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**Bu tez 29/06/2007 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği/
Oyçokluğu İle Kabul Edilmiştir.**

İmza	İmza	İmza
Prof.Dr. Mehmet TOPAKTAŞ	Prof.Dr. Rüştü HATİPOĞLU	Doç.Dr. Eyyüp RENCÜZOĞULLARI
DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE
İmza	İmza	
Doç.Dr. Hasan Basri İLA	Yrd.Doç.Dr. Ahmet KAYRALDIZ	
ÜYE	ÜYE	

Bu Tez Enstitümüz Biyoloji Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof. Dr. Aziz ERTUNÇ
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: FEF 2003 D20

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

ÖZ
DOKTORA TEZİ

ACETAMIPRID VE ALPHA-CYPERMETHRIN PESTİSİDLERİNİN TEK BAŞINA VE KARIŞIM HALİNDE KULLANILDIKLARI ZAMAN İNSAN PERİFERAL LENFOSİTLERİNDEKİ *IN VITRO* GENOTOKSİK ETKİLERİ

Ayşe YAVUZ KOCAMAN

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Mehmet TOPAKTAŞ
Yıl : 2007 Sayfa: 207
Jüri : Prof. Dr. Mehmet TOPAKTAŞ
Prof. Dr. Rüştü HATİPOĞLU
Doç. Dr. Eyyüp RENCÜZOĞULLARI
Doç. Dr. Hasan Basri İLA
Yrd. Doç. Dr. Ahmet KAYRALDIZ

Bu çalışma, tarımda artan bir hızla insektisid olarak kullanılan acetamiprid (Acm) ve alpha-cypermethrin (A-cyp)'in tek başına ve karışım halinde kullanıldıklarında insanlar için genotoksik risk oluşturup oluşturmadıklarını, insan periferal lenfositlerinde *in vitro* kardeş kromatid değişimi (KKD), kromozom anormalliği (KA) ve mikronükleus (MN) testleri ile araştırmak amacıyla yürütülmüştür. Hücreler, 25, 30, 35, 40 µg/ml Acm'le; 5, 10, 15, 20 µg/ml A-cyp'le; tek başlarına ve bu konsantrasyonların yarısı kadar konsantrasyonlarda bir araya getirilerek karışım (Acm+A-cyp) halinde 24 ve 48 saat muamele edilmiştir.

Bu çalışmada, Acm'in bütün süre ve dozlarda KKD'ni, KA'ni, yüksek üç dozda MN oluşumunu istatistiksel olarak önemli derecede arttırdığı; mitotik indeksi (MI) ve nükleus bölünme indeksini (NBI) her iki süre ve tüm dozlarda, proliferasyon indeksini (PI) 24 saatlik muamele için 35, 40 µg/ml'de, 48 saatlik muamele için 40 µg/ml'de önemli derecede düşürdüğü saptanmıştır. A-cyp'nin bütün süre ve konsantrasyonlarda KKD'ni, KA'ni ve düşük iki konsantrasyonda (15 ve 20 µg/ml A-cyp dozlarında yeterli iki nükleuslu hücre bulunamamıştır) ise MN oluşumunu önemli derecede arttırdığı; tüm konsantrasyonlarda MI'i, NBI'ni ve yüksek üç konsantrasyonda PI'ni önemli derecede düşürdüğü saptanmıştır. Acm+A-cyp karışım halinin ise insanlar için ya insektisidlerin tek başlarına muamele edilen kadar ya da daha fazla genotoksik olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Acetamiprid, Alpha-cypermethrin, Kardeş Kromatid Değişimi, Kromozom Anormalliği, Mikronükleus

ABSTRACT
Ph. D. THESIS

THE GENOTOXIC EFFECTS OF ACETAMIPRID AND ALPHA-CYPERMETHRIN PESTICIDES SEPARATELY AND IN MIXTURE ON HUMAN PERIPHERAL LYMPHOCYTES *IN VITRO*

Ayşe YAVUZ KOCAMAN

DEPARTMENT OF BIOLOGY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF ÇUKUROVA

Supervisor : Prof. Dr. Mehmet TOPAKTAŞ
Year : 2007 **Pages:** 207
Jury : Prof. Dr. Mehmet TOPAKTAŞ
Prof. Dr. Rüştü HATİPOĞLU
Assoc. Prof. Eyyüp RENCÜZOĞULLARI
Assoc. Prof. Hasan Basri İLA
Assist. Prof. Ahmet KAYRALDIZ

The aim of this study was to investigate the genotoxic effects of acetamiprid (Acm) and alpha-cypermethrin (A-cyp) separately and in mixtures, which have been increasingly used as an insecticide in agriculture, on human peripheral lymphocytes by using sister chromatid exchange (SCE), chromosomal aberrations (CA) and micronucleus (MN) tests. Cells were treated separately with 25, 30, 35, 40 µg/ml Acm; 5, 10, 15, 20 µg/ml A-cyp and using mixture with half of these doses for 24 and 48 hrs

In this study, Acm significantly increased the SCE and the CA at all doses and the MN formation at 30, 35, 40 µg/ml for 24 and 48 hr treatment times. Acm significantly decreased the mitotic index (MI) and the nuclear division index (NDI) significantly at all doses and treatment times. Furthermore, the proliferation index (PI) was significantly decreased by Acm at 35, 40 µg/ml for 24 hr and 40 µg/ml for 48 hr periods. A-cyp significantly increased the SCE and the CA at all doses and treatment times. However, the MN formation was significantly increased by A-cyp at 5, 10 µg/ml (binuclear cells could not be scored adequately at 15 and 20 µg/ml). A-cyp decreased the MI, NBI at all doses and PI at high three doses of A-cyp. Mixtures of Acm+A-cyp were determined to be genotoxic for humans as much as or more than when pesticides were treated separately.

Key words: Acetamiprid, Alpha-cypermethrin, Sister Chromatid Exchange, Chromosomal Aberration, Micronucleus

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım sırasında bana destek olan, yardımlarını esirgemeyen ve her konuda çok değerli katkıları olan danışman hocam sayın Prof. Dr. Mehmet TOPAKTAŞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bütün çalışmalarımnda, her konuda çok büyük yardımlarını gördüğüm sayın hocam Doç. Dr. Eyyüp RENCÜZOĞULLARI'na teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca tez çalışmalarım sırasında yardımlarını gördüğüm, Doç. Dr. Hasan Basri İLA, Yrd. Doç. Dr. Ahmet KAYRALDIZ, Yrd. Doç. Dr. Songül BUDAK DİLER, Arş. Gör. Hasan GÜZEL, Arş. Gör. Süleyman BAYRAM, Biyolog Arzu YAVUZ, Biyolog F. Funda KAYA, Biyolog Mehmet BÜYÜKLEYLA, Biyolog E. Salih İSTİFLİ ve Biyolog A. Mine YILDIZ'a teşekkür ederim.

Ayrıca, test maddelerim olan pestisidleri temin eden Ziraat Yük. Müh. Hüseyin BÜYÜK'e teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında benden manevi ve bilgisayarla ilgili teknik yardımlarını esirgemeyen sevgili eşim Selahattin KOCAMAN'a ve bana her zaman destek olan sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, bu doktora çalışmasını maddi yönden destekleyen Ç.Ü. Araştırma Fonu yöneticilerine de teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
SİMGELER VE KISALTMALAR	X
ÇİZELGELER DİZİNİ	XII
ŞEKİLLER DİZİNİ	XIV
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	9
2.1. Neonikotinoid Grubu Pestisidler ile Yapılan Genotoksisite ve Kanserojenite Çalışmaları	9
2.1.1. Imidacloprid ile Yapılmış Genotoksisite Çalışmaları	9
2.1.2. Thiamethoxam İle Yapılmış Genotoksisite ve Kanserojenite Çalışmaları	11
2.2. Piretroid Grubuna Giren Pestisidler ile Yapılan Genotoksisite ve Kanserojenite Çalışmaları	14
2.2.1. Alpha-cypermethrin ile Yapılmış Genotoksisite Çalışmaları	14
2.2.2. Bioallethrin ile Yapılmış Genotoksisite Çalışmaları	15
2.2.3. Bioresmethrin ile Yapılmış Genotoksisite Çalışmaları	16
2.2.4. Cismethrin ile Yapılmış Genotoksisite Çalışmaları	16
2.2.5. Cyfluthrin ile Yapılmış Genotoksisite Çalışmaları	16
2.2.6. Cypermethrin ile Yapılmış Genotoksisite ve Kanserojenite Çalışmaları	17
2.2.7. Deltamethrin ile Yapılmış Genotoksisite ve Kanserojenite Çalışmaları	23
2.2.8. Esfenvalerate ile Yapılmış Kanserojenite Çalışmaları	26
2.2.9. Fenvalerate ile Yapılmış Genotoksisite ve Kanserojenite Çalışmaları	27
2.2.10. Lambda-cyhalothrin ile Yapılmış Genotoksisite Çalışmaları	30

2.2.11. Permethrin ile Yapılmış Genotoksisite ve Kanserojenite Çalışmaları	33
2.2.12. Resmethrin ile Yapılmış Genotoksisite Çalışmaları	36
2.2.13. Tetramethrin ile Yapılmış Genotoksisite Çalışmaları	36
2.2.14. Transfluthrin ile Yapılmış Genotoksisite Çalışmaları	37
2.3. Piretroid ve/veya Neonikotinoid Grubu Pestisidlere Karışım Halinde Maruz Kalma İle İlgili Genotoksisite Çalışmaları	37
3. MATERYAL VE METOD	46
3.1. Pestisidlerin Vücuda Giriş Yolları	46
3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Deney Ekipmanları	47
3.2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	47
3.2.1.1. Acetamiprid	47
3.2.1.1.(1). Neonikotinoidlerin Genel Özellikleri	47
3.2.1.1.(2). Neonikotinoidlerin Biyolojik Metabolizması	48
3.2.1.1.(3). Neonikotinoidlerin Etki Yönü ve Toksik Etkileri	48
3.2.1.1.(4). Neonikotinoidlerin Nörotoksik Mekanizması	49
3.2.1.1.(5). Acetamipridin Özellikleri	49
3.2.1.2. Alpha-Cypermethrin	50
3.2.1.2.(1). Piretroidlerin Genel Özellikleri	50
3.2.1.2.(2). Piretroidlerin Biyolojik Metabolizması	52
3.2.1.2.(3). Piretroidlerin Etki Yönü ve Toksik Etkileri	52
3.2.1.2.(4). Piretroidlerin Nörotoksik Mekanizması	53
3.2.1.2.(5). Alpha-cypermethrinin Özellikleri	54
3.2.1.3. Mitomycin C (MMC) (Kyowa)	55
3.2.1.4. Dimethyl Sulfoxide (DMSO) (Sigma)	56
3.2.1.5. Kromozom Medyumu	56
3.2.1.6. Kolkisin (Sigma)	57
3.2.1.7. Hipotonik Eriyik	58
3.2.1.8. Fiksatif	58
3.2.1.9. 5'-Bromo-2'-deoxyuridine (BrdUrd) (Sigma)	58
3.2.1.10. Sorensen Tamponu	59

3.2.1.11. Standart Saline Citrate (SSC) Eriyiği.....	59
3.2.1.12. Giemsa (Merck)	59
3.2.1.13. Entellan (Merck)	60
3.2.1.14. Nitrik Asit (HNO ₃).....	60
3.2.1.15. Cytochalasin B (Sigma)	60
3.2.2. Kullanılan Deney Ekipmanları.....	61
3.2.2.1. Hassas Terazî	61
3.2.2.2. Santrifüj.....	61
3.2.2.3. Mikroskop	61
3.2.2.4. İnkübatör	62
3.2.2.5. Flow Kabin (Steril Kabin).....	62
3.2.2.6. Su Banyosu	62
3.3. Lamların Temizlenmesi	62
3.4. Sterilizasyon.....	63
3.4.1. BrdUrd Eriyiğinin Sterilizasyonu	63
3.5. Kardeş Kromatid Değişimi (KKD) ve Kromozom Anormalliklerini (KA) Saptamak Amacıyla Hücre Kültürünün Yapılması, Preparatların Hazırlanması ve Boyanması.....	63
3.5.1. Hücre Kültürünün Yapılması ve Preparatların Hazırlanması	63
3.5.2. Preparatların Boyanması ve Daimi Preparatların Hazırlanması ..	65
3.6. Daimi Preparatlarda Mikroskopik İnceleme	66
3.6.1. KKD Sayısı ve Proliferasyon İndeksi (PI)'nin Saptanması	66
3.6.1.1. KKD Sayısının Saptanması.....	66
3.6.1.2. Proliferasyon İndeksinin (PI) Saptanması.....	67
3.6.2. Kromozom Anormallikleri (KA) ve Mitotik İndeksin (MI) Saptanması	72
3.6.2.1. Kromozom Yapı ve Sayı Anormalliklerinin Saptanması.....	72
3.6.2.2. Mitotik İndeksin (MI) Saptanması	73
3.7. Mikronükleus (MN) Testi İçin Hücre Kültürünün Yapılması, Preparatların Hazırlanması ve Boyanması	74
3.7.1. Hücre Kültürünün Yapılması ve Preparatların Hazırlanması	74

3.7.2. Preparatların Boyanması	75
3.8. Mikronükleus Testi İçin Hazırlanan Preparatlarda Mikroskopik İnceleme	75
3.8.1. Mikronükleus Sayısı ve Nükleus Bölünme İndeksinin (NBI) Saptanması	75
3.9. Mikroskopta Fotoğraf Çekme	78
3.10. İstatistiksel Analiz ve Sonuçların Değerlendirilmesi	78
4. BULGULAR	80
4.1. Acetamipridin Tek Başına Kullanıldığında İnsan Periferik Lenfositlerindeki Genotoksik Etkileri	80
4.1.1. Acetamipridin Kardeş Kromatid Değişimi (KKD) Üzerindeki Etkileri	80
4.1.2. Acetamipridin Kromozom Anormalliklerinin (KA) Oluşumu Üzerindeki Etkileri	83
4.1.3. Acetamipridin DNA Replikasyonu ve Mitoz Bölünme Üzerindeki Etkileri	95
4.1.4. Acetamipridin Mikronükleus (MN) Oluşumu ve Nükleus Bölünmesi Üzerindeki Etkileri	99
4.1.5. Hücre Başına Düşen Toplam KA ile MN %'si Arasındaki İlişki	104
4.1.6. Proliferasyon İndeksi (PI) ile Nükleus Bölünme İndeksi (NBI) Arasındaki İlişki	104
4.2. Alpha-Cypermethrinin Tek Başına Kullanıldığında İnsan Periferik Lenfositlerindeki Genotoksik Etkileri	105
4.2.1. Alpha-Cypermethrinin Kardeş Kromatid Değişimi (KKD) Üzerindeki Etkileri	105
4.2.2. Alpha-Cypermethrinin Kromozom Anormalliklerinin (KA) Oluşumu Üzerindeki Etkileri	108
4.2.3. Alpha-Cypermethrinin DNA Replikasyonu ve Mitoz Bölünme Üzerindeki Etkileri	120

4.2.4. Alpha-Cypermethrinin Mikronükleus (MN) Oluşumu ve Nükleus Bölünmesi Üzerindeki Etkileri	124
4.2.5. Proliferasyon İndeksi (PI) ile Nükleus Bölünme İndeksi (NBI) Arasındaki İlişki	128
4.3. Acetamiprid+Alpha-Cypermethrin (Acm+A-cyp) Karışımının Birlikte Kullanıldığında İnsan Periferik Lenfositlerindeki Genotoksik Etkileri	129
4.3.1. Acetamiprid+Alpha-Cypermethrin Karışımının Kardeş Kromatid Değişimi (KKD) Üzerindeki Etkileri.....	129
4.3.2. Acetamiprid+Alpha-Cypermethrin Karışımının Kromozom Anormalliklerinin (KA) Oluşumu Üzerindeki Etkileri	132
4.3.3. Acetamiprid+Alpha-Cypermethrin Karışımının DNA Replikasyonu ve Mitoz Bölünme Üzerindeki Etkileri	143
4.3.4. Acetamiprid+Alpha-Cypermethrin Karışımının Mikronükleus (MN) Oluşumu ve Nükleus Bölünmesi Üzerindeki Etkileri.....	148
4.3.5. Hücre Başına Düşen Toplam KA ile MN %'si Arasındaki İlişki	153
4.3.6. Proliferasyon İndeksi (PI) ile Nükleus Bölünme İndeksi (NBI) Arasındaki İlişki	154
4.4. Acetamiprid+Alpha-Cypermethrin Karışımının Birlikte Kullanıldığı Zamanki Genotoksik Etkileri ile Bu Maddelerin Her Birinin Tek Başına Kullanıldığında Genotoksik Etkilerinin Karşılaştırılması.....	156
4.4.1. Acetamiprid+Alpha-Cypermethrin Karışım Halinde Kullanıldığı Zamanki KKD Üzerindeki Etkilerinin Bu Maddelerin Her Birinin Tek Başına Kullanıldığı Zamanki Etkileriyle Karşılaştırılması	156
4.4.2. Acetamiprid+Alpha-Cypermethrin Karışımı ile Bu Maddelerin Her Birinin Kromozom Anormalliklerinin (KA) Oluşumu Üzerindeki Etkileri Bakımından Karşılaştırılması	158

4.4.3. Acetamiprid+Alpha-Cypermethrin Karışımı ile Bu Maddelerin Her Birinin DNA Replikasyonu ve Mitoz Bölünme Üzerindeki Etkileri Bakımından Karşılaştırılması.....	160
4.4.4. Acetamiprid+Alpha-Cypermethrin Karışımı ile Bu Maddelerin Her Birinin Mikronükleus (MN) Oluşumu ve Nükleus Bölünmesi Üzerindeki Etkileri Bakımından Karşılaştırılması....	162
5. TARTIŞMA	165
5.1. Acetamipridin Tek Başına Kullanıldığı Zamanki Genotoksik Etkileri.	165
5.1.1. Acetamipridin Kardeş Kromatid Değişimi, Kromozom Anormalliği ve Mikronükleus Oluşumu Üzerindeki Etkileri	165
5.1.2. Acetamipridin DNA Replikasyonu, Mitoz Bölünme ve Nükleus Bölünmesi Üzerindeki Etkileri.....	168
5.2. Alpha-cypermethrinin Tek Başına Kullanıldığı Zamanki Genotoksik Etkileri.....	169
5.2.1. Alpha-cypermethrinin Kardeş Kromatid Değişimi, Kromozom Anormalliği ve Mikronükleus Oluşumu Üzerindeki Etkileri ...	169
5.2.2. Alpha-cypermethrinin DNA Replikasyonu, Mitoz Bölünme ve Nükleus Bölünmesi Üzerindeki Etkileri	174
5.3. Acetamiprid+Alpha-cypermethrinin Birlikte Kullanıldığı Zamanki Genotoksik Etkileri	176
5.3.1. Acetamiprid+Alpha-cypermethrin Karışımının Kardeş Kromatid Değişimi, Kromozom Anormalliği ve Mikronükleus Oluşumu Üzerindeki Etkiler	176
5.3.2. Acetamiprid+Alpha-cypermethrin Karışımının DNA Replikasyonu, Mitoz Bölünme ve Nükleus Bölünmesi Üzerindeki Etkileri.....	180
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	183
KAYNAKLAR	186
ÖZGEÇMİŞ	207

SİMGELER VE KISALTMALAR

Acm	: Acetamiprid
A-cyp	: Alpha-cypermethrin
B'	: Kromatid Kırığı
B''	: Kromozom Kırığı
BrdUrd	: 5'-bromo-2'-deoxyuridine
CA	: Chromosome Aberration
CBPI	: Cytokinesis Block Proliferation Index
CHO	: Chinese Hamster Ovary
Cyt-B	: Cytochalasin-B
DEN	: Diethylnitrosamine
DMSO	: Dimethyl Sulfoxide
DNA	: De(z)oksiribonükleik asit
DS	: Disentrik Kromozom
dT	: Deoxytimidin
dU	: Deoxyuridine
ER	: Endoreduplikasyon
EPA	: Environmental Protection Agency
F	: Fragment
FISH	: Floresan In Situ Hibridizasyon
FTIR	: Fourier Transform Infrared
GST-P	: Glutathione S-transferase (Plasental formu)
ILSI-RSI	: International Life Sciences Institute-Risk Science Institute
IPCS	: International Programme on Chemical Safety
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
i.p.	: İntraperitoneal
KA	: Kromozomal Anormallik
KCl	: Potasyum klorür
KD	: Kromatid Değişimi
KKB	: Kardeş Kromatid Birleşmesi

KKD	: Kardeş Kromatid Değişimi
KMY	: Koloni Meydana Getirme Yeteneği
LCT	: Lambda-cyhalothrin
MA	: Mitotik Anormallik
MI	: Mitotik İndeks
MMC	: Mitomycin C
MN	: Mikronükleus
MNBN	: Mikronükleuslu binükleer hücre
NaCl	: Sodyum klorür
NBI	: Nükleus Bölünme İndeksi
NOR	: Nucleolar Organizer Region
PCE	: Polikromatik Eritrosit
PI	: Proliferasyon İndeksi
RI	: Replikasyon İndeksi
Rpm	: Round (Rotor) Per Minute
s.c.	: Subcutan
SCD	: Sister Chromatid Differentiation
SCE	: Sister Chromatid Exchange
SCGE	: Single Cell Gel Electrophoresis (Comet Testi)
SMART	: Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi
SSC	: Standard Saline Citrate
UV	: Ultraviyole
WHO	: World Health Organisation (Dünya Sağlık Örgütü)
YKA	: Yapısal Kromozomal Anormallik
TNF α	: Tumor necrosis factor Alpha

Çizelge 4.1. Değişik Dozlarda Acetamiprid ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilmiş Olan İnsan Periferal Lenfositlerinde Hücre Başına Düşen Ortalama KKD Sayısı.....	81
Çizelge 4.2. Değişik Dozlarda Acetamiprid ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilmiş Olan İnsan Periferal Lenfositlerinde Kromozom Anormallikleri.....	84
Çizelge 4.3. Değişik Dozlarda Acetamiprid ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilmiş Olan İnsan Periferal Lenfositlerinde Proliferasyon İndeksi (PI) ve Mitotik İndeks (MI)	96
Çizelge 4.4. Değişik Dozlarda Acetamiprid ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilmiş Olan İnsan Periferal Lenfositlerinde MN İçeren İki Nükleuslu Hücre %'si, MN %'si ve NBI.....	100
Çizelge 4.5. Değişik Dozlarda Alpha-Cypermethrin ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilmiş Olan İnsan Periferal Lenfositlerinde Hücre Başına Düşen Ortalama KKD Sayısı	106
Çizelge 4.6. Değişik Dozlarda Alpha-Cypermethrin ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilmiş Olan İnsan Periferal Lenfositlerinde Kromozom Anormallikleri	109
Çizelge 4.7. Değişik Dozlarda Alpha-cypermethrin ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilmiş Olan İnsan Periferal Lenfositlerinde Proliferasyon İndeksi (PI) ve Mitotik İndeks (MI)	121
Çizelge 4.8. Değişik Dozlarda Alpha-cypermethrin ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilmiş Olan İnsan Periferal Lenfositlerinde MN İçeren İki Nükleuslu Hücre %'si, MN %'si ve NBI	125
Çizelge 4.9. Acetamiprid (Acm) ve Alpha-cypermethrin (A-cyp) karışımı ile muamele edilen insan periferal lenfositlerinde kullanılan dozlarının kısaltması	129
Çizelge 4.10. Değişik Dozlarda Acetamiprid+Alpha-cypermethrin Karışımı ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilmiş Olan İnsan Periferal Lenfositlerinde Hücre Başına Düşen Ortalama KKD Sayısı.....	130

Çizelge 4.11. Değişik Dozlarda Acetamiprid+Alpha-Cypermethrin Karışımı ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilmiş Olan İnsan Periferal Lenfositlerinde Kromozom Anormallikleri	133
Çizelge 4.12. Değişik Dozlarda Acetamiprid+Alpha-cypermethrin Karışımı ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilmiş Olan İnsan Periferal Lenfositlerinde Proliferasyon İndeksi (PI) ve Mitotik İndeks (MI)...	145
Çizelge 4.13. Değişik Dozlarda Acetamiprid+Alpha-cypermethrin Karışımı ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilmiş Olan İnsan Periferal Lenfositlerinde MN İçeren İki Nükleuslu Hücre %'si, MN %'si ve NBI.....	149
Çizelge 4.14. Değişik Dozlarda Acetamiprid+Alpha-cypermethrin Karışımı ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilen İnsan Periferal Lenfositlerindeki KKD/Hücre'nin, Bu Maddelerin Her Biri ile Tek Başına Muamele Edilen Kültürlerdeki KKD/Hücre ile Karşılaştırılması.....	157
Çizelge 4.15. Değişik Dozlarda Acetamiprid+Alpha-cypermethrin Karışımı ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilen İnsan Periferal Lenfositlerindeki Yapısal KA/Hücre, Toplam KA/Hücre ve Anormal Hücre %'lerinin, Bu Maddelerin Her Biri ile Tek Başına Muamele Edilen Kültürlerdeki Aynı Değerlerle Karşılaştırılması.....	159
Çizelge 4.16. Değişik Dozlarda Acetamiprid+Alpha-cypermethrin Karışımı ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilen İnsan Periferal Lenfositlerindeki PI ve MI'in, Bu Maddelerin Her Biri ile Tek Başına Muamele Edilen Kültürlerdeki PI ve MI ile Karşılaştırılması	161
Çizelge 4.17. Değişik Dozlarda Acetamiprid+Alpha-cypermethrin Karışımı ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilen İnsan Periferal Lenfositlerindeki MN İçeren İki Nükleuslu Hücre %'si, MN %'si ve NBI'nin Bu Maddelerin Her Biri ile Tek Başına Muamele Edilen Kültürlerdeki Aynı Değerler ile Karşılaştırılması	164

Şekil 3.1. Kardeş Kromatid Değişimi Olduğu ve Olmadığı Durumun Şematik Olarak Gösterilmesi (Topaktaş ve Speit, 1990)	67
Şekil 3.2. Deoxytimidin (dT), Bromodeoxyuridin (BrdUrd) ve Deoxyuridin (dU)'in kimyasal yapıları	68
Şekil 3.3. BrdUrd'nin DNA Yapısına Girmesi ile Birinci, İkinci ve Üçüncü Mitoz Bölünmeyi Geçiren Hücrelerin Ayırt Edilmesinin Şematik Olarak Açıklanması (During, 1985: Topaktaş ve Speit, 1990'dan).....	70
Şekil 3.4. Birinci mitoz bölünmeyi geçiren hücrenin metafaz kromozomları (X1000)	71
Şekil 3.5. İkinci mitoz bölünmeyi geçiren hücrenin metafaz kromozomları (X1000)	71
Şekil 3.6. Üçüncü mitoz bölünmeyi geçiren hücrenin metafaz kromozomları (X1000)	72
Şekil 3.7. Bir nükleuslu hücre (X1000)	76
Şekil 3.8. İki nükleuslu hücre (X1000).....	77
Şekil 3.9. Üç nükleuslu hücre (X1000)	77
Şekil 3.10. Dört nükleuslu hücre (X1000).....	78
Şekil 4.1. Farklı dozlarda Acetamiprid ile 24 saat muamele edilmiş insan periferal lenfositlerinde KKD/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.....	82
Şekil 4.2. Farklı dozlarda Acetamiprid ile 48 saat muamele edilmiş insan periferal lenfositlerinde KKD/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.....	82
Şekil 4.3. Farklı dozlarda Acetamiprid ile 48 saat muamele edilmiş insan periferal lenfositlerinde Yapısal KA/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	85
Şekil 4.4. Farklı dozlarda Acetamiprid ile 48 saat muamele edilmiş insan periferal lenfositlerinde Toplam KA/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.....	85

Şekil 4.5. Farklı dozlarda Acetamiprid ile 48 saat muamele edilmiş insan periferik lenfositlerinde Anormal Hücre %'sinin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	86
Şekil 4.6. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (35 µg/ml Acetamiprid, 24 saatlik muamele, ♀). X1000	86
Şekil 4.7. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (40 µg/ml Acetamiprid, 48 saatlik muamele, ♀). X1000	87
Şekil 4.8. Kromatid kırığı (a) (B') ve kromatid değişimi (b) bulunan metafaz plağı (40 µg/ml Acetamiprid, 48 saatlik muamele, ♀). X1000	87
Şekil 4.9. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (40 µg/ml Acetamiprid, 48 saatlik muamele, ♀). X1000	88
Şekil 4.10. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (25 µg/ml Acetamiprid, 24 saatlik muamele, ♂). X1000	88
Şekil 4.11. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (25 µg/ml Acetamiprid, 48 saatlik muamele, ♀). X1000	89
Şekil 4.12. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (30 µg/ml Acetamiprid, 48 saatlik muamele, ♂). X1000	89
Şekil 4.13. Fragment (F) bulunan metafaz plağı (40 µg/ml Acetamiprid, 48 saatlik muamele, ♂). X1000	90
Şekil 4.14. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (25 µg/ml Acetamiprid, 24 saatlik muamele, ♂). X1000	90
Şekil 4.15. Kardeş kromatid birleşmesi (KKB) bulunan metafaz plağı (25 µg/ml Acetamiprid, 48 saatlik muamele, ♀). X1000	91
Şekil 4.16. Kardeş kromatid birleşmesi (KKB) bulunan metafaz plağı (30 µg/ml Acetamiprid, 24 saatlik muamele, ♀). X1000	91
Şekil 4.17. Kromatid değişimi (KD) bulunan metafaz plağı (25 µg/ml Acetamiprid, 48 saatlik muamele, ♀). X1000	92
Şekil 4.18. Kromatid değişimi (KD) bulunan metafaz plağı (25 µg/ml Acetamiprid, 48 saatlik muamele, ♂). X1000	92
Şekil 4.19. Kromatid değişimi (KD) bulunan metafaz plağı (25 µg/ml Acetamiprid, 48 saatlik muamele, ♀). X1000	93

Şekil 4.20. Disentrik kromozom (DS) bulunan metafaz plağı (25 µg/ml Acetamiprid, 48 saatlik muamele, ♂). X1000	93
Şekil 4.21. Halka kromozom (HK) bulunan metafaz plağı (30 µg/ml Acetamiprid, 24 saatlik muamele, ♀). X1000	94
Şekil 4.22. Endoreduplikasyonlu (E) metafaz plağı (40 µg/ml Acetamiprid, 48 saatlik muamele, ♂). X1000.....	94
Şekil 4.23. Farklı dozlarda Acetamiprid ile 24 saat muamele edilmiş insan periferallenfositlerinde PI'nin doza bağılı azalışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	97
Şekil 4.24. Farklı dozlarda Acetamiprid ile 48 saat muamele edilmiş insan periferallenfositlerinde PI'nin doza bağılı azalışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	97
Şekil 4.25. Farklı dozlarda Acetamiprid ile 24 saat muamele edilmiş insan periferallenfositlerinde MI'in doza bağılı azalışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	98
Şekil 4.26. Farklı dozlarda Acetamiprid ile 48 saat muamele edilmiş insan periferallenfositlerinde MI'in doza bağılı azalışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	98
Şekil 4.27. Farklı dozlarda Acetamiprid ile 24 saat muamele edilmiş insan periferallenfositlerinde MN içeren iki nükleuslu hücre yüzdesinin doza bağılı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	101
Şekil 4.28. Farklı dozlarda Acetamiprid ile 24 saat muamele edilmiş insan periferallenfositlerinde MN %'sinin doza bağılı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	102
Şekil 4.29. Farklı dozlarda Acetamiprid ile 48 saat muamele edilmiş insan periferallenfositlerinde MN %'sinin doza bağılı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	102
Şekil 4.30. Mikronükleus içeren iki nükleuslu hücre (30 µg/ml Acetamiprid, 24 saatlik muamele, ♀). X1000	103
Şekil 4.31. İki mikronükleus içeren iki nükleuslu hücre (40 µg/ml Acetamiprid, 48 saatlik muamele, ♀). X1000	103

Şekil 4.32	Farklı dozlarda Acetamiprid ile 24 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde MN %'sinin toplam KA/Hücre oranı ile ilişkisini gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	104
Şekil 4.33	Farklı dozlarda Acetamiprid ile 48 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde MN %'sinin toplam KA/Hücre oranı ile ilişkisini gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	105
Şekil 4.34.	Farklı dozlarda Alpha-cypermethrin ile 24 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde KKD/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.....	107
Şekil 4.35.	Farklı dozlarda Alpha-cypermethrin ile 48 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde KKD/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.....	107
Şekil 4.36.	Farklı dozlarda Alpha-cypermethrin ile 24 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde Yapısal KA/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	110
Şekil 4.37.	Farklı dozlarda Alpha-cypermethrin ile 48 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde Yapısal KA/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	110
Şekil 4.38.	Farklı dozlarda Alpha-cypermethrin ile 24 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde Toplam KA/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	111
Şekil 4.39.	Farklı dozlarda Alpha-cypermethrin ile 48 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde Toplam KA/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	111
Şekil 4.40.	Farklı dozlarda Alpha-cypermethrin ile 24 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde Anormal Hücre %'sinin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	112
Şekil 4.41.	Farklı dozlarda Alpha-cypermethrin ile 48 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde Anormal Hücre %'sinin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	112

Şekil 4.42. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (20 µg/ml Alpha-cypermethrin, 24 saatlik muamele, ♀). X1000	113
Şekil 4.43. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (15 µg/ml Alpha-cypermethrin, 48 saatlik muamele, ♂). X1000	113
Şekil 4.44. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (15 µg/ml Alpha-cypermethrin, 24 saatlik muamele, ♂). X1000	114
Şekil 4.45. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (5 µg/ml Alpha-cypermethrin, 24 saatlik muamele, ♂). X1000	114
Şekil 4.46. Kardeş kromatid birleşmesi (KKB) bulunan metafaz plağı (10 µg/ml Alpha-cypermethrin, 24 saatlik muamele, ♀). X1000	115
Şekil 4.47. Kromatid değişimi (KD) bulunan metafaz plağı (20 µg/ml Alpha-cypermethrin, 48 saatlik muamele, ♀). X1000	115
Şekil 4.48. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (10 µg/ml Alpha-cypermethrin, 48 saatlik muamele, ♀). X1000	116
Şekil 4.49. Kromozom kırığı (B'') bulunan metafaz plağı (5 µg/ml Alpha-cypermethrin, 48 saatlik muamele, ♀). X1000	116
Şekil 4.50. Fragment (F) bulunan metafaz plağı (15 µg/ml Alpha-cypermethrin, 24 saatlik muamele, ♂). X1000	117
Şekil 4.51. Çok sayıda kromozom anormalliği içeren metafaz plağı (5 µg/ml Alpha-cypermethrin, 48 saatlik muamele, ♀). X1000	117
Şekil 4.52. Kromatid değişimi (KD) bulunan metafaz plağı (5 µg/ml Alpha-cypermethrin, 24 saatlik muamele, ♀). X1000	118
Şekil 4.53. Kromatid değişimi (KD) bulunan metafaz plağı (15 µg/ml Alpha-cypermethrin, 48 saatlik muamele, ♂). X1000	118
Şekil 4.54. Endoreduplikasyonlu (ER) metafaz plağı (15 µg/ml Alpha-Cypermethrin 24 saatlik muamele, ♀). X1000	119
Şekil 4.55. Farklı dozlarda Alpha-cypermethrin ile 24 saat muamele edilmiş insan periferik lenfositlerinde PI'nin doza bağlı azalışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	122

Şekil 4.56. Farklı dozlarda Alpha-cypermethrin ile 48 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde PI'nin doza bağlı azalışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	122
Şekil 4.57. Farklı dozlarda Alpha-cypermethrin ile 24 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde MI'in doza bağlı azalışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	123
Şekil 4.58. Farklı dozlarda Alpha-cypermethrin ile 48 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde MI'in doza bağlı azalışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	123
Şekil 4.59. Mikronükleus içeren iki nükleuslu hücre (10 µg/ml Alpha-cypermethrin, 24 saatlik muamele, ♀). X1000	126
Şekil 4.60. Mikronükleus içeren iki nükleuslu hücre (5 µg/ml Alpha-cypermethrin, 48 saatlik muamele, ♂). X1000	126
Şekil 4.61. İki mikronükleus içeren iki nükleuslu hücre (10 µg/ml Alpha-cypermethrin, 48 saatlik muamele, ♀). X1000	127
Şekil 4.62. Mikronükleus içeren iki nükleuslu hücre (5 µg/ml Alpha-cypermethrin, 24 saatlik muamele, ♀). X1000.....	127
Şekil 4.63. Farklı dozlarda Alpha-cypermethrin ile 24 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde NBI'nin PI ile ilişkisini gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	128
Şekil 4.64. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 24 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde KKD/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	131
Şekil 4.65. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 48 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde KKD/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	131
Şekil 4.66. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 24 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde Yapısal KA/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.....	134

Şekil 4.67. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 48 saat muamele edilmiş insan periferal lenfositlerinde Yapısal KA/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.....	134
Şekil 4.68. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 24 saat muamele edilmiş insan periferal lenfositlerinde Toplam KA/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.....	135
Şekil 4.69. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 48 saat muamele edilmiş insan periferal lenfositlerinde Toplam KA/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.....	135
Şekil 4.70. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 24 saat muamele edilmiş insan periferal lenfositlerinde Anormal Hücre %'sinin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.....	136
Şekil 4.71. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 48 saat muamele edilmiş insan periferal lenfositlerinde Anormal Hücre %'sinin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.....	136
Şekil 4.72. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (12.5 Acm + 2.5 A-cyp µg/ml, 24 saatlik muamele, ♀). X1000.....	137
Şekil 4.73. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (15 Acm + 5 A-cyp µg/ml, 24 saatlik muamele, ♂). X1000	137
Şekil 4.74. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (12.5 Acm + 2.5 A-cyp µg/ml, 48 saatlik muamele, ♂). X1000.....	138
Şekil 4.75. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (20 Acm + 10 A-cyp µg/ml, 24 saatlik muamele, ♀). X1000	138
Şekil 4.76. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (20 Acm + 10 A-cyp µg/ml, 48 saatlik muamele, ♀). X1000	139
Şekil 4.77. Kromozom kırığı (B'') bulunan metafaz plağı (12.5 Acm + 2.5 A-cyp µg/ml, 24 saatlik muamele, ♂). X1000.....	139
Şekil 4.78. Fragment (F) bulunan metafaz plağı (17.5 Acm + 7.5 A-cyp µg/ml, 24 saatlik muamele, ♀). X1000	140
Şekil 4.79. Kardeş kromatid birleşmesi (KKB) bulunan metafaz plağı (12.5 Acm +2.5 A-cyp µg/ml, 48 saatlik muamele, ♀). X1000.....	140

Şekil 4.80. Kromatid değişimi (KD) bulunan metafaz plağı (20 Acm + 10 A-cyp $\mu\text{g/ml}$, 48 saatlik muamele, ♀). X1000.....	141
Şekil 4.81. Kromatid değişimi (KD) bulunan metafaz plağı (12.5 Acm + 2.5 A-cyp $\mu\text{g/ml}$, 48 saatlik muamele, ♂). X1000.....	141
Şekil 4.82. Disentrik kromozom (DS) bulunan metafaz plağı (20 Acm + 10 A-cyp $\mu\text{g/ml}$, 48 saatlik muamele, ♀). X1000.....	142
Şekil 4.83. Poliploid hücre (20 Acm + 10 A-cyp $\mu\text{g/ml}$, 24 saatlik muamele, ♀). X1000.....	142
Şekil 4.84. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 24 saat muamele edilmiş insan periferal lenfositlerinde PI'nin doza bağlı azalışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	146
Şekil 4.85. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 48 saat muamele edilmiş insan periferal lenfositlerinde PI'nin doza bağlı azalışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	146
Şekil 4.86. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 24 saat muamele edilmiş insan periferal lenfositlerinde MI'in doza bağlı azalışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	147
Şekil 4.87. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 48 saat muamele edilmiş insan periferal lenfositlerinde MI'in doza bağlı azalışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	147
Şekil 4.88. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 48 saat muamele edilmiş insan periferal lenfositlerinde MN %'sinin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.....	150
Şekil 4.89. Mikronükleus içeren iki nükleuslu hücre (12.5 Acm + 2.5 A-cyp $\mu\text{g/ml}$, 24 saatlik muamele, ♀). X1000.....	150
Şekil 4.90. İki mikronükleus içeren iki nükleuslu hücre (15 Acm + 5 A-cyp $\mu\text{g/ml}$, 48 saatlik muamele, ♀). X1000.....	151
Şekil 4.91. Mikronükleus içeren iki nükleuslu hücre (15 Acm + 5 A-cyp $\mu\text{g/ml}$, 24 saatlik muamele, ♂). X1000	151

Şekil 4.92. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 48 saat muamele edilmiş insan periferal lenfositlerinde NBI'nin doza bağlı azalışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.....	152
Şekil 4.93. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 24 saat muamele edilmiş insan periferal lenfositlerinde MN %'sinin Toplam KA/Hücre oranı ile ilişkisini gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	153
Şekil 4.94. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 24 saat muamele edilmiş insan periferal lenfositlerinde NBI'nin PI ile ilişkisini gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	154
Şekil 4.95. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 48 saat muamele edilmiş insan periferal lenfositlerinde NBI'nin PI ile ilişkisini gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı	155

1.GİRİŞ

Bitkiler, böcekler, bakteriler, mantarlar ve diğer organizmalar çevrenin doğal bir parçasıdır. Bazıları birçok yolla insanlara fayda sağlamakta bazıları ise zararlı olabilmektedir. Bu durumda zararlıyı kontrol altında tutmak gerekir. Bu zararlıları kontrol etmek için kullanılan en yaygın metodlardan biri pestisid kullanımıdır. Pestisid, EPA (Environmental Protection Agency) tarafından herhangi bir zararlıyı uzaklaştırmak, azaltmak, baskılamak ya da bozmak için kullanılan bir madde ya da madde karışımı olarak tanımlanmaktadır. Pestisid, kimyasal bir madde ya da virüs ve bakteri gibi biyolojik ajan olabilmektedir (EPA, 2006). Pestisidler, sentetik olarak üretildiği gibi doğal kaynaklardan da elde edilebilir.

Günümüzde tarımsal arazilerden yüksek verim elde edebilmek için kimyasal savaş yoğun bir şekilde uygulanmaktadır. Ülkemizde 2002 yılı itibariyle kullanılan pestisid miktarı 12.198.917 kg'dır (Delen ve ark., 2005). Başta böcekler olmak üzere, hastalık etmenleri ve yabancı otlar ile mücadelede kimyasal bileşiklerden faydalanılmaktadır. Pestisidler, amacına uygun olarak dikkatli ve uygun dozlarda kullanıldıklarında oldukça yararlıdırlar. Fakat yanlış ve aşırı dozlarda kullanımı hem insan sağlığına zarar verebilir, hem de çevre kirliliğini arttırarak diğer canlıları olumsuz yönde etkileyebilir.

Pestisidler genellikle tarımda yüksek miktarlarda ve yaygın olarak kullanılmakta ve genellikle çok zehirli olmaktadır. Bundan dolayı gerek üretim aşamasında gerekse kullanımları sırasında pestisidler sağlık için son derece tehlikeli maddelerdir. Gelişmekte olan ülkelerde, pestisid zehirlenmesinden kaynaklanan ölümler enfeksiyon hastalıkları sebebiyle meydana gelen ölümlerden daha fazladır. Ayrıca, bu ülkelerde pestisidlerin kolaylıkla temin edilmesi, pestisid içerek intihar girişimini en popüler kendine zarar verme (intihar) yöntemi haline getirmiştir (Eddleston ve ark., 2002). Ayrıca pestisidlerin lösemi (Brown ve ark., 1990; Blair ve Zahm, 1995), mesane kanseri (Viel ve Chalier, 1995), non-hodgkin's lenfoma (Waddel ve ark., 2001; Zheng ve ark., 2001; Chiu ve ark., 2004), pankreas kanseri (Ji ve ark., 2001) ve Parkinson (Jenner, 2001) gibi kanser ve genetik hastalıklara yol açtığı rapor edilmiştir. Ayrıca Garcia ve ark. (1998) tarafından, pestisidlere maruz

kalan ana-babaların çocuklarında doğuştan gelen bozukluk (teratojenik etki) riskinin arttığı bildirilmiştir.

Aynı pestisidlerin geniş ölçüde ve yıllarca kullanımı birçok böcek popülasyonunun bu kimyasallara karşı hassasiyetini kaybederek dirençli hale gelmesine neden olmuştur. Bu yüzden kullanılan insektisidlerin devamlı yenilenmesi gerekmektedir. Bunun sonucu olarak organoklorin ve organofosforlu insektisidlerin uygulanması zamanla azalmış ve onlara alternatif olarak piretroidler, daha sonra da neonikotinoidler artan bir hızla kullanılmaya başlanmıştır (Kovganko ve Kashkan, 2004).

Bu çalışmanın test maddesi olan acetamiprid, neonikotinoid; alpha-cypermethrin ise sentetik piretroid pestisidler grubunda yer almakta olup her ikisi de tarımda insektisid olarak artan bir hızla kullanılmaktadır.

Acetamiprid ve alpha-cypermethrinin Türkiye'nin en önemli tarımsal bölgelerinden biri olan Çukurova bölgesindeki kullanımı da oldukça yaygındır. Türkiye'de kullanılan toplam pestisidin % 42'si Çukurova bölgesinde kullanılmaktadır. Acetamiprid; pamuk, tütün, patates, domates, fındık, turuncgil gibi ürünleri; alpha-cypermethrin ise elma, zeytin, tahıl, pamuk, mısır, domates, fındık gibi ürünleri etkileyen zararlı böcekleri yok etmek için kullanılmaktadır. Örneğin: Pamuk tarlalarında acetamiprid, yaprak biti (*Aphis gossypii*), yaprak piresi (*Empoasca* spp.) ve beyaz sinek (*Bemisia tabaci*); alpha-cypermethrin ise yeşil kurt (*Heliothis armigera*) gibi böceklerin zararlı etkisini azaltarak verimi arttırmak amacıyla kullanılır.

Mutajen ve kanserojenlerin genotoksik risklerini belirlemede kullanılan en hassas yöntemlerden biri, periferik kan lenfositlerindeki kromozom anormalliği (KA) frekansının değerlendirilmesidir (Carrano ve Natarajan, 1988; Anderson, 1988; Hagmar ve ark., 1994). Kromozom anormallikleri DNA düzeyindeki zararın bir sonucu olarak ortaya çıkar. Örneğin, kromozom kırıkları DNA'daki onarılmamış çift zincir kırıklarından ve yeni yapıya sahip kromozomların meydana gelmesi de, DNA'daki zincir kırıklarının yanlış onarılmasından kaynaklanabilir (Savage, 1993). KA oluşum mekanizmasının farklı dokularda benzer olmasından dolayı, lenfositlerdeki anormallik seviyesinin, kansere eğilimli dokulardaki anormallik

seviyesini gösterdiği ve böylece kanser riskinin de göstergesi olduğu düşünülmektedir (Bonassi ve ark., 2000; Albertini ve ark., 2000; Bonassi ve ark., 2004; 2005; 2007). Yüksek KA frekansı (gap hariç), KA artışını başlatan sebebe bakmaksızın yüksek kanser riski olduğunu önceden gösterebilir. Hem kromatid tipi hem de kromozom tipi KA'leri kanser riskinin göstergesidir. Fakat kromozom tipi KA'lerinin kromatid tipi KA'lerine göre daha iyi bir belirleyici olduğuna dair kanıtlar vardır (Norppa, 2004; Norppa ve ark., 2006; Boffetta, 2006).

Genotoksik riski belirlemede kullanılan diğer yöntemlerden biri, periferik kan lenfositlerindeki kardeş kromatid değişimi (KKD) frekansının belirlenmesidir (Tucker ve ark., 1993). Kardeş kromatid değişimleri, DNA çift zincir kırıklarının homolog rekombinasyon yoluyla onarılmasını gösteren kardeş kromatidlerin homolog lokusları arasında DNA replikasyon ürünlerinin değişimidir (Sonoda ve ark., 1999; Helleday, 2003). Mutajen ve kanserojen olduğu bilinen maddelere maruz kalan insan ve hayvanların hücrelerinde KKD frekansının arttığı bulunmuştur (Perry ve Evans, 1975; Albertini ve ark., 2000). Ayrıca, tek-gen mutasyonlarının artışı ile KKD frekansı arasında lineer bir ilişki olduğu da saptanmıştır (Carrano ve ark., 1978). Benzer bir ilişkinin KKD'nin artışıyla *in vivo* tümörlerin oluşumu arasında da olduğu Cheng ve ark. (1981) tarafından bildirilmiştir. KA'nin aksine KKD tek başına genotoksik riski belirlemede yetersizdir. Fakat, KKD deneysel çalışmalarda indikatör test olarak insanlarda genotoksik etkileri göstermede uygun bir yöntem olarak kullanılmaya devam etmektedir (Norppa ve ark., 2006).

Genotoksisite ve kanserojenitenin belirlenmesinde kullanılan sitogenetik metodlardan bir diğeri ise mikronükleus (MN) testidir (Heddle ve ark., 1991; Fenech, 2002). Bonassi ve ark. (2007)'na göre periferik kan lenfositlerindeki yüksek MN frekansı insanlarda kanser riskini göstermektedir. Periferik kan lenfositlerinde kromozom hasarı olarak MN'un kullanılması ilk kez 1976 yılında Contryman ve Heddle tarafından öne sürülmüştür (Bonassi ve ark., 2001). Daha sonra sitokinez-bloklama mikronükleus metodunun Fenech ve Morley (1985) tarafından geliştirilmesiyle, nükleus bölünmesini tamamlamış hücrelerdeki MN'lar incelenmeye başlanmıştır. MN asentrik kromozom ya da kromatid kırıklarından ve tüm kromozomlar ya da kromatidlerin anafazda geri kalmasından dolayı (kalgın

kromozom) telofazda oluşan kardeş nükleusun dışında rastlanan küçük nükleuslardır (Surrallés ve ark., 1995a). Ayrıca multipolar anafaz ve telofaz da MN oluşumuna sebep olmaktadır (Topaktaş ve Rencüzoğulları, 1995). MN oluşumuna neden olabilen kromozom kaybı ya da kromozomların ayrılamaması (non-disjunction) kanser ve yaşlanmada gözlenen önemli olaylardan biridir. Bu durum, muhtemelen iğ iplikçiklerinde, sentromerde bozulma ya da metafazdan önce kromozom yapısının yoğunlaşması sonucu oluşmaktadır (Dellarco ve ark., 1985). Böylece, MN testi ile hem klastojenik hem de anöjenik etkiler belirlenebilmektedir (Kirsch-Volders ve ark., 1997; Norppa ve Falck, 2003). Yapılan çalışmalarda, kanser hastalarından alınan periferik kan lenfositlerindeki MN frekansında belirlenen artış, kanser oluşan hedef dokudaki MN frekansı kadar bulunmuştur (Cheng ve ark., 1996; Duffaud ve ark., 1997). Ayrıca, Fenech ve ark. (1999)'nın, uluslararası işbirliği ile yaptıkları insan mikronükleus projesindeki bulguları, MN ile kanser arasındaki ilişkiyi açıkça desteklemiştir.

Günümüze kadar, pestisidlerin genellikle ayrı ayrı test maddesi olarak kullanıldıkları zaman meydana getirdikleri genotoksik etkileri üzerine çalışılmıştır. Birçok kısa süreli genotoksisite testleri ile neonikotinoid ve piretroid grubu pestisidlerin çoğunun genotoksik etkilere sahip oldukları bulunmuştur (Surrallés ve ark., 1990; Rudek ve Rozek, 1992; Blasiak ve ark., 1999; Chauhan ve ark., 2000; Zang ve ark., 2000; Giri ve ark., 2002; Çavaş ve Ergene-Gözükara, 2003; Feng ve ark., 2004; Feng ve ark., 2005; Saxena ve ark., 2005; Patel ve ark., 2006).

Oysa canlılar çevredeki kimyasal maddelerin sadece birine değil genellikle onların birçoğuna maruz kalırlar. Başka maddelerle birlikte kombinasyon halinde pestisidlere maruz kalma, pestisidin tek başına etkisinden farklı etkiler gösterebilir. Aynı şekilde, iki pestisidin beraber kullanıldığında göstereceği etki, her biri ayrı ayrı olarak kullanıldığında ortaya çıkacak etkiden farklı olabilir. Pestisid karışımının ya da pestisidin diğer maddelerle kombinasyonunun karışımı oluşturan tek bir maddenin toksisitesi temeline göre; genel olarak karışımın toksisitesini önceden anlayabilmek olanaksızdır. Maddeler birlikte kullanıldığında, etki; additif (eklemeli, kumulatif), sinerjistik (birbirinin etkisini arttıran) ya da antagonistik (birbirinin etkisini azaltan) olabilir ve etkileşimin karakteri, bileşiklerin farklı etkileri için farklı olabilmektedir

(Marinovich ve ark., 1996). Bundan dolayı mutajenite ve kanserojenite çalışmalarında, etkisi araştırılacak maddelerin karışım halinde kullanılması, canlılar için genotoksik tehlikeyi daha gerçekçi belirlememizi mümkün kılar. Pestisidlerin karışım halinde kullanıldıkları zaman meydana getirdikleri genotoksik etkileri gösteren bazı çalışmalar şunlardır:

Piperonil butoxid (PBO) böcekleri kontrol etmek için genellikle pirethrin ve piretroid ürünlerinin bir bileşeni olarak kullanılır. PBO tüm piretroidlerin ev sinekleri ve diğer bazı böceklere karşı toksisitesini artırır. Bu etki, PBO'nun piretroidlerin böceklerdeki oksidatif degradasyonun inhibisyonunu artırması temeline dayalıdır. PBO piretroid esterlerinin etkisini 10-300 kat kadar arttırmaktadır (Casida ve ark., 1983).

Degreave ve ark. (1985), phosphonate (trichlorfon) ile thiophosphate ya da phosphonate ile dithiophosphate (malathion)'dan oluşan organofosforlu insektisid karışımlarının farelerde dominant letal gen mutasyonunu arttırdığını bildirmişlerdir. Methyl methanosulfonate (MMS) ve ethyl methanosulfonate (EMS) sinerjistik olarak fare lenfoma hücrelerinde mutant kolonilerin sayısını arttırmıştır (Tarlo ve ark., 1988).

Dimethoate ve omethoate (organofosforlu insektisid), deltamethrin (pyrethroid insektisid) ve benomyl (karbamatlı pestisid) *in vitro* insan lenfositlerinde tek başlarına KKD frekansında önemli artış meydana getirmedikleri halde, dört pestisid karışım halinde KKD'ni kontrole göre önemli derecede arttırmışlardır (Dolara ve ark., 1992).

Piatti ve ark. (1994), kültüre alınmış sıçan hepatositlerinde benomylin (karbamatlı pestisid) tek başına kullanıldığında doza bağlı olarak mikronükleus frekansını arttırdığını oysa pirimiphos-methylin (organofosforlu pestisid) tek başına genotoksik olmadığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar, her iki pestisidin birlikte (benomyl/pirimiphos-methyl, 6:1) kullanıldıklarında mikronükleus frekansındaki artışın benomylin tek başına meydana getirdiği artış kadar olduğunu belirlemişlerdir. Bununla beraber, araştırmacılar 25 µg/ml benomyl+4.2 µg/ml pirimiphos-methyl konsantrasyonlardaki karışımların etkileşim meydana getirmediklerini belirtmişlerdir.

Marinovich ve ark. (1994) insan lösemi hücre hattı HL-60 üzerinde dimethoate, azinophos-methyl, diazinon, pirimiphos-methyl ve benomyl'in sitotoksik etkilerini araştırmışlardır. Tek başlarına test edildiklerinde azinophos-methyl (60 µg/ml) ve diazinon (40 µg/ml) 24 saat muamelede HL-60 hücrelerinde protein sentezini doza bağlı olarak inhibe etmişlerdir. Dimethoate ve pirimiphos tek başlarına (100 µg/ml) herhangi bir etki göstermemişlerdir. Benomyl (50 µg/ml), protein sentezini ve (30 µg/ml) aktin polimerizasyonunu güçlü bir şekilde inhibe etmiştir. Benomyl+pirimiphos-methyl birlikte test edildiğinde meydana gelen sitotoksik etki benomylin tek başına ortaya çıkardığı etkiden daha az bulunmuştur. Dimethoate+azinophos+diazinon birlikte test edildiğinde belirlenen sitotoksik etki diazinon ve azinophosun tek başlarına meydana getirdikleri etkiden daha fazladır. Araştırmacılara göre, pirimiphos insektisinin benomylin sitotoksik etkilerini engelleyici (antagonize edici) özelliği vardır.

Azinophos-methyl, pirimiphos-methyl (organofosforlu pestisidler) ile benomyl tek başlarına *Saccharomyces cerevisiae*'de herhangi bir genotoksisite göstermedikleri halde diazinone ve dimethoate (organofosforlu pestisidler) karışımı gen değişimini ve geri mutasyonu arttırmıştır. Benomyl+pirimiphos-methyl karışımı genotoksik aktivite göstermemiş, diazinone+dimethoate+azinophos-methyl karışımı genotoksik bulunmuştur (Bianchi ve ark., 1994). Aynı pestisidler, Bianchi-Santamaria ve ark. (1997) tarafından insan lenfosit mikronükleus testi ile çalışıldığında çeşitli karışımların ilave etkiler meydana getirmediği belirlenmiştir.

Zararlıları kontrol eden buprofezin ve petrol yağı (super royal), organofosforlu insektisid olan profenofos ile karıştırıldığında farenin kemik iliği hücrelerinde kromozomal anormalliklerinin artışına sebep olmuşlardır (Fahmy ve Abdalla, 1998).

Tek başına carbosulfan KKD sayısını sadece 48 saatlik muamelede zayıf olarak arttırmıştır. Tek başına ethyl carbamate (EC=kanserojen), KKD'ni arttırmazken tek başına ethyl methanosulfonat (EMS=mutajen), KKD'ni doza bağlı olarak arttırmıştır (Rencüzoğulları ve Topaktaş, 1998). Aynı araştırmacılar, carbosulfan (karbamatlı pestisid) ve EC karışımı ile carbosulfan ve EMS karışımının insan periferik lenfositlerinde KKD sayısını kontrollere göre arttırdığını ve replikasyon

indeksini düşürdüğünü bulmuşlardır. Ayrıca test maddelerinin karışım halinde KKD'ni sinerjistik olarak arttırdıkları ve replikasyon indeksini (RI) sinerjistik olarak düşürdükleri belirlenmiştir (Rencüzoğulları ve Topaktaş, 1998).

Rencüzoğulları ve Topaktaş (2000) carbosulfan ve ethyl methanosulfate (EMS) ya da carbosulfan ve ethyl carbamate (EC) karışımlarının insan periferel lenfositlerinde sinerjistik etki göstererek kromozom anormalliğini arttırdığını bildirmişlerdir.

Bir organofosforlu insektisid olan malathion memelilerde düşük toksisiteye sahiptir. Fakat, malathion düşük dozlardaki parathion ile birlikte kullanıldığında, toksisitesi birkaç kat artmaktadır. Çünkü, parathionun toksik metaboliti olan paraoxon, karboksilesterazı inhibe eder. Karboksilesteraz, malathionu zararsız madde olan malathion aside dönüştüren bir enzimdir ve bu enzimin yokluğunda malathion daha zararlı olmaktadır (Stenersen, 2004).

Görüldüğü gibi bazı pestisidler tek başına genotoksik etkiye sahiptirler. Bazıları ise tek başına etkili olmadıkları halde karışım halinde genotoksik risk oluşturmaktadır. Bazı kimyasalların ise karışım halindeki genotoksik etkileri tek başına kullanıldıkları halden daha fazladır.

Bu çalışmanın test maddelerinden biri olan alpha-cypermethrin, Ames testine göre *Salmonella typhimurium*'da mutajenik bulunmuş, *Vicia faba* ve *Hordeum vulgare* kök ucu meristemlerinde ise, anormal metafaz ve telofaz frekansında biraz artış meydana getirmiştir (Miadoková ve ark., 1991). Alpha-cypermethrin, *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerindeki triptofan lokusunda gen değişimini ve izolösin lokusunda nokta mutasyonlarını arttırmış, fakat *Drosophila melanogaster*'de genotoksik etkisi saptanamamıştır (Miadoková ve ark., 1992). Alpha-cypermethrin *Rana temporaria* ve *Xenopus laevis*'in larvalarında (iribaş) mikronükleuslu kırmızı kan hücrelerinin frekansında önemli artışa neden olmuştur (Rudek ve Rozek, 1992). Alpha-cypermethrinin fare kemik iliği hücrelerinde KA frekansında istatistiksel olarak önemli olmayan artışlar meydana getirdiği ve kültürü yapılmış koyun periferel lenfositlerinde mitotik indeksi düşürdüğü bulunmuştur (Dianovsky ve Sivikova., 1995). Oysa acetamiprid ile bu güne kadar herhangi bir genotoksisite çalışması yapılmamıştır.

İşte bu çalışmanın amacı, bölgemizde kültür bitkilerinin çeşitli zararlılarına karşı kullanılan acetamiprid ve alpha-cypermethrin insektisidlerinin tek tek ve birlikte kullanıldığı zaman insan periferik lenfositlerinde genotoksik etkiye sahip olup olmadıklarını *in vitro* KKD, KA ve MN testleri ile araştırmaktır. Ayrıca neonikotinoid ile sentetik piretroid grubuna giren pestisidlerin bir arada kullanıldığında meydana getirdiği genotoksik etkiler daha önce çalışılmamıştır. Böylece bu çalışma ile bu konuya da açıklık getirilmeye çalışılacaktır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Bu çalışmada test maddesi olarak kullanılan acetamiprid neonikotinoid, alpha-cypermethrin ise piretroid pestisid grubuna girer. Neonikotinoid ve piretroid grubuna giren pestisidlerle yapılan genotoksisite ve kanserojenite çalışmaları şu şekilde özetlenebilir.

2.1. Neonikotinoid Grubu Pestisidler ile Yapılan Genotoksisite ve Kanserojenite Çalışmaları**2.1.1. Imidacloprid [1-(6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylideneamine] İle Yapılmış Genotoksisite Çalışmaları**

Imidacloprid (neonikotinoid insektisidi) ve RH-5849 (böceklerde büyümeyi düzenleyici bir madde) pestisidlerinin genotoksik etkisi toprak solucanında (*Eisenia fetida*) sperm anormalliği, *Vicia faba* kök ucu hücrelerinde MN testi, fare kemik iliğinde MN testi ve toprak solucanlarında comet analizi ile incelenmiştir (Zang ve ark., 2000). Sonuçlar, imidaclopridin tüm test sistemlerinde RH-5849'a göre daha toksik olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar tarafından, sperm anormalliği testi, pestisidlerin, yer solucanının üreme sistemine olumsuz etkisini belirlemek için kullanılmıştır. Sonuçlara göre, kuru toprakta bulunan 0.2, 0.5 mg/kg konsantrasyonundaki imidaclopride maruz kalan toprak solucanlarında sperm anormalliği önemli derecede artmış ($p<0.01$) ve bu artışta doz-etki ilişkisi bulunmuştur. Bununla beraber, 25-50 mg/kg kuru toprak RH-5849'a maruz kalan grupta kontrole göre istatistiksel olarak önemli farklılıklar meydana gelmezken, sadece 100 mg/kg kuru toprak RH-5849 konsantrasyonunda sperm anormalliği kontrole göre önemli derecede artmıştır ($p<0.05$). *V. faba* MN testinin sonuçları, imidacloprid ve RH-5849'ın 12.5-100 mg/ml konsantrasyonlarında kontrole göre istatistiksel olarak önemli farklılıklar oluşturmamıştır. Fare kemik iliği MN testine göre de imidacloprid 12.5-100 mg/kg, RH-5849 50-300 mg/kg konsantrasyonlarda kontrole göre mikronükleuslu polikromatik eritrositlerin oranını arttırmamıştır. Her

ne kadar MN testi kullanılarak genotoksik etki belirlenememiş olsa da, comet testinin sonuçları toprak solucanında, her iki pestisidin de DNA hasarlarını önemli derecede arttırdığı ($p<0.01$) ve doz-etki ilişkisi gösterdiği bulunmuştur.

Feng ve ark. (2004) tarafından, imidacloprid ve RH-5849'ın akut toksisite testi, MN testi ve comet analizi sucul ve tarımsal ekosistemin bio-indikatörü olarak uygun bir organizma olan amfibia, *Rana N. Hallowell*'de yapılmıştır. Imidaclopridin LC_{50} -48 saat değerleri *Rana limnocharis*'in iribaşları için 165 mg/L ve *Rana N. Hallowell*'in iribaşları için 219 mg/L olarak bulunmuştur. Diğer taraftan, RH-5849 test solüsyonunda doymuş oranda bulunsan bile 96 saatlik muamele süresi boyunca iribaşlara toksik etki göstermemiştir. MN frekansı bakımından negatif kontrol ile muameleli gruplar arasında önemli farklılıklar imidacloprid için 8 mg/L ($p<0.05$) ve RH-5849 için 40 mg/L ($p<0.01$) olarak bulunmuştur. Comet analizinde, imidaclopridin 0.05, 0.1, 0.2 ve 0.5 mg/L konsantrasyonları ile muamele edilen grupta ve RH-5849'un 5, 25, 50 ve 100 mg/L konsantrasyonları ile muamele edilen grupta oluşan DNA hasarları, negatif kontrol ile kıyaslandığında istatistiksel olarak önemli derecede artış ($p<0.01$) meydana getirmiştir. DNA hasarı, her iki pestisidin konsantrasyonu arttıkça artmış ve doz-etki ilişkisi gözlenmiştir. Araştırmacılara göre, MN testi ve comet yöntemi iki pestisidin sucul ve tarımsal ekosistemdeki amfibilerin eritrositlerinin DNA'sı üzerinde potansiyel olumsuz etkiler yaptığını göstermektedir.

Imidacloprid ve RH-5849'ın genotoksik etkileri *in vitro* olarak insan periferik kan lenfositlerinde KKD, MN ve comet analizi ile incelenmiştir (Feng ve ark., 2005). Düşük dozlarda (0.05 mg/L imidacloprid ve 5 mg/L RH-5849) MN ve KKD frekansı bakımından negatif kontrole göre önemli bir farklılık meydana gelmemiştir ($p>0.05$). Imidaclopridin konsantrasyonu 0.1 mg/L'ye, RH-5849'un konsantrasyonu 25 mg/L'ye çıkarıldığında MN ve KKD frekansındaki meydana gelen artış, negatif kontrole kıyaslandığında istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Her iki pestisidde de MN ve KKD frekansındaki artış doza bağlı bulunmuştur. Bununla beraber, comet analizinde DNA hasarlarının dağılımı pestisid uygulanmış tüm gruplarda kontrole göre istatistiksel olarak önemli derecede farklı bulunmuştur ($p<0.01$). DNA hasarı her iki pestisidin uygulanma düzeyiyle artmış ve linear doz-etki ilişkisi gözlenmiştir. Araştırmacılar sitogenetik tekniklerin ve comet yönteminin

hem imidacloprid hem de RH-5849'un *in vitro* insan periferel kan lenfositlerinde potansiyel genotoksik etkileri belirleme yöntemleri olduğunu bildirmişlerdir.

2.1.2. Thiamethoxam [3-[(2-chloro-5-thiazolyl)methyl]tetrahydro-5-methyl-N-nitro-4H-1,3,5-oxadiazin-4-imine] İle Yapılmış Genotoksisite ve Kanserojenite Çalışmaları

Green ve ark., (2005a) tarafından, thiamethoxamın kanserojenik etkisini belirlemek için yapılan çalışmada, fareler 18 ay boyunca diyetlerinde 500-2500 ppm konsantrasyonlarda thiamethoxam bulunan besinle beslendiklerinde karaciğer tümörlerinin oluşumunda bir artış saptanmıştır. Kansereleşme sürecinin sonunda görülen karaciğer tümörlerinin gelişiminin aksiyon yolunu belirlemek için fareler 50 haftadan daha fazla süre boyunca thiamethoxam içeren diyetle beslenmişlerdir. Araştırmacıların yaptıkları çalışmalarda hem thiamethoxam hem de onun temel metabolitleri test edilmiştir. 50 haftadan daha fazla thiamethoxam içeren diyetle beslenen farelerde ilk meydana gelen değişim, bir hafta içinde, plazma kolesterolünde önemli azalma olmuştur (% 40'dan daha fazla). Bunu 10 hafta sonra, karaciğer toksisitesinin kanıtı olan hücre nekrozu ve apoptosisteki artış izlemiştir. 20 hafta sonra hepatik hücre replikasyon oranında artış görülmüştür. Hücre ölümü ve hücre replikasyonu döngüsü 50 haftalık çalışmanın geri kalan kısmında da devam etmiştir. Böylece hücre ölümü ve hücre replikasyon oranı genel olarak dengede kalmış ve karaciğer ağırlığında meydana gelen artış önemli derecede olmamıştır. Tüm bu değişiklikler, çalışmanın 50. haftasının sonuna kadar ve doza bağlı olarak meydana gelmiştir. Kansereleşme sürecinde sadece 500, 1250 ve 2500 ppm dozlarında karaciğer tümörlerinde artış gözlenmiştir. 200 ppm konsantrasyonundaki thiamethoxam etki göstermemiştir. Araştırmacılara göre, bu çalışmada görülen değişiklikler farelerde karaciğer kanserinin gelişimi ve etkileme yolunun temeliyle uygundur. Thiamethoxamın temel metabolitleri, CGA322704, CGA265307 ve CGA330050 farelere 20 haftadan fazla süre boyunca diyetleri içinde verildiğinde, sadece CGA330050 metaboliti, thiamethoxamla yapılan çalışmadaki karaciğerde görülen aynı değişiklikleri uyarmıştır. Bundan dolayı araştırmacılar, thiamethoxamın

CGA330050'a metabolize edilmesi sonucu hepatotoksik ve hepatokanserojenik olduklarını ileri sürmüşlerdir. CGA265307 metaboliti indüklenabilir nitrik asit sentazın (iNOS) bir inhibitörü olarak gösterilmektedir. [Arjininden nitrik oksit sentaz yardımıyla oluşan *in vivo* nitrik oksitin, hepatotoksisite ve apoptosisin gelişmesinde düzenleyici bir role sahip olduğu gösterilmiştir. Örneğin, *in vivo* nitrik oksit sentazın kimyasal inhibisyonu, farelerde kimyasal olarak indüklenmiş hepatotoksisiteyi daha da arttırmaktadır (Morio ve ark., 2001). Nitrik oksitin, toksik ajanlara yanıt olarak endotel hücreler tarafından serbest bırakılan TNF- α 'nın (tumor necrosis factor alpha) ters etkilerini module etme yoluyla apoptosisi ve hepatoksisiteyi düzenlediğine inanılır (Luster ve ark., 1999). CGA265307 molekülün aktif bölgesinin iNOS inhibitörlerine benzer olduğu bulunmuştur (Garvey ve ark., 1994). Thiamethoxamın CGA322704 metaboliti, kanserojenitesi için CD-1 farelerinde test edilmiş ve karaciğer kanserojeni olmadığı bulunmuştur (Federal Register, 2003: Green ve ark., 2005a'dan)]. Bu çalışmada CGA265307'in iNOS'u inhibe ettiği ve karbon tetrakloridin toksisitesini arttırdığı bulunmuştur. Bundan dolayı CGA265307 tek başına toksik olmamasına rağmen thiamethoxamın CGA330050 metabolitinin hepatoksisitesini arttırmaktadır.

Green ve ark. (2005b)'nın bir başka çalışmasında, dişi sıçanlar besinleri içinde 1, 1000 ve 3000 ppm konsantrasyondaki thiamethoxama 50 hafta boyunca maruz bırakılmıştır. Sıçanlarda, thiamethoxam çalışma süresince herhangi bir zamanda ne karaciğer histopatolojisi ne de biyokimyası üzerine ters etkiler göstermiştir. Hücre replikasyon oranı artmamıştır, hatta birkaç zaman anında önemli derecede azalmıştır. Araştırmacılara göre, sıçan karaciğeri üzerine bir etkinin olmayışı, kanser sürecinde karaciğer tümör oluşumunun iki yılda olmayışıyla tamamen uygundur. Green ve ark. (2005b) tarafından thiamethoxamın sıçan ve farelerdeki metabolizmasının karşılaştırılması, thiamethoxamın (ana maddenin) konsantrasyonlarının sıçan kanında fare kanına göre ya benzer ya da daha yüksek bulunduğunu göstermiştir. Araştırmacılar, bu durumun farelerde hem tek bir dozda hem de besin içinde verilen çalışmalarda, thiamethoxamın kendi kendine karaciğer tümörlerinin gelişmesinde önemli bir rolü olmadığını; aksine thiamethoxamın iki metabolitinin (CGA265307 ve CGA330050) konsantrasyonlarının farelerde

karaciğer hasarlarının gelişmesinde önemli bir rol oynadığını gösterdiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar tarafından, thimethoxamın tek bir doz olarak ya da 50 haftadan fazla sürede besinler ile birlikte verilmesinin ardından CGA330050 ve CGA265307 metabolitleri sıçanlarda farelere göre sırasıyla 15 ve 140 kat daha düşük bulunmuştur. Thimethoxamın *in vitro* olarak fare, sıçan ve insan karaciğer parçalarında temel metabolik yollarının karşılaştırılması, insanlarda metabolit oranlarının sıçanlardakine göre daha düşük olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bundan dolayı araştırmacılar, thimethoxama çevrede ya da insektisidin uygulanması sırasında düşük konsantrasyonlarda maruz kalan insanlarda tehlikeli etkisinin olmasının muhtemel olmadığını bildirmişlerdir.

Pastoor ve ark. (2005) tarafından, Green ve ark. (2005a; 2005b)'nın elde ettikleri veriler ile, thiamethoxamın fare ve sıçanlarda görülen etkisinin insanlar için uygunluğu bakımından durum değerlendirmesi yapılmıştır. Farelere-spesifik tümörlerin insan sağlığıyla ilgisi ILSI-RSI (International Life Sciences Institute-Risk Science Institute) tarafından geliştirilen mantıksal karar ve taslak kullanılarak değerlendirilmiştir. Farelerde *in vitro* ve *in vivo* olarak gösterilen metabolitlerin miktarları hepatik toksisiteyi meydana getirmiş, fakat hepatik toksisite ve bunun sonucunda tümörlerin oluşmaya başlaması için bu metabolitlerin yeterli miktarlarda oluşması sıçanlarda ve insanlarda görülmemiştir. Gerçekten, sıçanlar 3000 ppm thiamethoxam içeren besinle ömür boyu beslendiklerinde hepatoksisite ya da tümör geliştirmemişlerdir. ILSI-RSI mantıksal kararı, anahtar olayları türler arasında karşılaştıran ve sonunda karşılaştırmayı insanlarla yapan bir metodtur (Cohen ve ark., 2003). Thiamethoxam için verilerin değerlendirilmesinde, CGA330050 ve CGA265307 kritik metabolitlerin oluşması başlangıç anahtar olaydır, sonraki ise bu metabolitlerin oluşumuna bağlı anahtar olaylar olarak belirlenmiştir. Değerlendirmeye göre, üç tür açıkça bu metabolitleri *kalitatif* olarak meydana getirme yeteneğine sahip olmasına rağmen, hepatik anahtar olaylarla ilgili sürecin başlaması için, ne sıçanlar ne de insanların bu metabolitleri *kantitatif* olarak yeterince üretmedikleri saptanmıştır. Araştırmacılar tarafından, verilerin kapsamı ve birbirine uygun olmasının farelerde karaciğer tümörü oluşumu için etki yolunu güçlü bir

şekilde ispatladığı ve thiamethoxamın insanlar için kanserojenik risk taşımadığı sonucuna varılabileceği bildirilmiştir.

2.2. Piretroid Grubuna Giren Pestisidler ile Yapılan Genotoksisite ve Kanserojenite Çalışmaları

2.2.1. Alpha-cypermethrin (Supermethrin, Supercypermethrin, alphasmethrin) [([RS]-alpha-cyano-3-phenoxybenzyl-[IR,S]-cis-2,2-dimethyl-3-[2,2-dichlorovinyl] cyclopropane carboxylate)] İle Yapılmış Genotoksisite Çalışmaları

Miadoková ve ark. (1991) tarafından yapılan çalışmada supercypermethrin, Ames testine göre *Salmonella typhimurium*'un TA1538, TA1535, TA100, TA98 ve TA97 suşlarında 750 ve 1500 µg/petri konsantrasyonlarında toksik etki göstermiş, fakat 15-750 µg/petri konsantrasyonları arasında hiçbir bakteri suşunda mutasyonu arttırmamıştır. Test edilen insektisidin yüksek konsantrasyonları (% 0.01-0.1) *Hordeum vulgare*'de çimlenme ve çimlenen tohumların köklerinin uzama yüzdesini doza bağlı olarak azaltmıştır. *Vicia faba* ve *Hordeum vulgare* embriyoları kültüre alındığında bitki boyu ve canlı kalma yüzdesinde istatistiksel olarak önemli azalma belirlenmiştir. Her iki bitki türünün kök ucu meristemlerindeki sitogenetik analize göre ise, anormal metafaz ve telofaz frekansında biraz artış görülmüştür.

Supercypermethrin insektisidinin genotoksik potansiyeli, dört farklı test sistemi ile araştırılmıştır (Miadoková ve ark., 1992). Supercypermethrin, *Salmonella typhimurium*'un TA1538, TA1535, TA100, TA98 ve TA97 suşlarında S9 karışımının varlığında ve yokluğunda, 15-750 µg/petri konsantrasyonları arasında mutajenik bulunmamıştır. Supercypermethrinin, % 0.01-0.1 arasındaki konsantrasyonlarda ise *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerindeki triptofan lokusunda gen değişimini ve izolösin lokusunda nokta mutasyonlarını arttırdığı, % 1'lik muamelesinin *Hordeum vulgare* ve *Vicia faba*'nın kök uçlarında anormal anafaz ve telofazı az miktarda arttırdığı gözlenmiş, fakat *Drosophila melanogaster*'de % 0.001-0.1'lik muamelesinin genotoksik etkisi saptanamamıştır.

Fastac 10 EC (alpha-cypermethrin) piretroidinin mutajenik özellikleri, *Rana temporaria* ve *Xenopus laevis*'in larvalarında (iribaş) mikronükleus testi kullanılarak belirlenmiştir (Rudek ve Rozek, 1992). Fastac 10 EC'nin üç farklı konsantrasyonunu içeren (0.001, 0.005, 0.01 ppm) su içinde 14 gün boyunca bırakılan hayvanlardan alınan kanda mikronükleuslu eritrositlerin frekansı belirlenmiştir. Bu çalışmaya göre, yüksek konsantrasyondaki Fastac 10 EC, her iki türde mikronükleuslu kırmızı kan hücrelerinin frekansında önemli artışa neden olmuştur. Ayrıca, doz-etki ilişkisi belirlenmiştir. Araştırmacılar tarafından, alpha-cypermethrinin klastojenik aktiviteye sahip olduğu ve/veya mitotik iplikleri bozduğu bildirilmiştir.

Dianovsky ve Sivikova (1995) tarafından, sentetik piretroid insektisid supermethrin (alpha-cypermethrin)'in, *in vivo* ve *in vitro* yöntemler ile klastojenik etkisi araştırılmıştır. Fare kemik iliği hücrelerinde $\frac{1}{2}$ LD₅₀ dozunda, KA frekansında istatistiksel olarak önemli olmayan artışlar meydana gelmiştir. Kültürü yapılmış koyun periferik lenfositlerinde son konsantrasyonları 6×10^{-6} mol/L, 6×10^{-5} mol/L ve 6×10^{-4} mol/L olan supermethrinin *in vitro* klastojenik etkisi incelenmiş, en yüksek konsantrasyonda pozitif ($P < 0.05$) sonuçlar elde edilmiş ve mitotik indeksin düştüğü gözlenmiştir. Ayrıca, supermethrinin koyun periferik lenfositlerinde KKD'ni arttırmadığı bulunmuştur.

2.2.2. Bioallethrin [(RS)-3-allyl-2-methyl-4-oxocyclopent-2-enyl (1R,3R)-2,2-dimethyl-3-(2-methylprop-1-enyl)cyclopropanecarboxylate] İle Yapılmış Genotoksisite Çalışmaları

Salmonella typhimurium TA98 ve TA100 suşları ile bioallethrin pestisidinin mutajenik etkileri araştırılmıştır. Yapılan çalışmada bioallethrin (10-2000 µg/plak) *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarında zayıf mutajenik etki göstermiştir (Sümer ve ark., 1990).

2.2.3. Bioresmethrin [5-benzyl-3-furylmethyl (1R)-trans-2,2-dimethyl-3-(2-methylprop-1-enyl) cyclopropanecarboxylate] İle Yapılmış Genotoksisite Çalışmaları

Bioresmethrin insektisidinin, Ames-Salmonella testine göre, *Salmonella typhimurium*'un TA100 ya da TA98 suşlarında sıçan karaciğer aktivasyon sisteminin varlığında ya da yokluğunda 30-1000 µg/petri konsantrasyonları arasında mutajenik etkisi bulunmamıştır (Pluijmen ve ark., 1984).

2.2.4. Cismethrin [5-benzyl-3-furylmethyl (1R)- cis-2,2-dimethyl-3-(2-methylprop-1-enyl) cyclopropanecarboxylate] İle Yapılmış Genotoksisite Çalışmaları

Cismethrin insektisidinin, *Salmonella typhimurium*'un TA100 ya da TA98 suşlarında sıçan karaciğer aktivasyon sisteminin varlığında ya da yokluğunda 30-1000 µg/petri konsantrasyonları arasında mutajenik etkisi bulunmamıştır (Pluijmen ve ark., 1984).

Hoellinger ve ark. (1987) tarafından, cismethrinin sitotoksik etkisi, beş dişi Sprague-Dawley sıçanlarda *in vivo* MN testiyle incelenmiştir. Cismethrin sıçanlara öldürülmeden 3 ve 6 saat önce ağız yoluyla verilmiştir. 40 mg/kg konsantrasyonundaki cismethrin muamelesi orta derecede genotoksik etki göstermiş, MN'lu polikromatik eritrositlerin (PCE) yüzdesi 1.13 olarak bulunmuştur. 31 mg/kg konsantrasyonundaki cismethrin ise üç sıçanda çalışılmış ve 0.88 MN yüzdesi ile zayıf genotoksik etki göstermiştir.

2.2.5. Cyfluthrin [(RS)-α-cyano-4-fluoro-3-phenoxybenzyl (1RS,3RS;1RS,3SR)-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate] İle Yapılmış Genotoksisite Çalışmaları

Cyfluthrinin sitotoksik etkisi, Chinese hamster'in V79 akciğer hücre hattında incelenmiştir. Sitotoksisite testi olan koloni meydana getirme yeteneği (KMY)'ne

göre, cyfluthrin 100 µg/ml konsantrasyonda KMY'yi azaltmamıştır (Hadnagy ve ark., 1999).

Tisch ve ark. (2005) cyfluthrinin genotoksik etkisini, insan burun boşluğundaki epitel hücrelerinde mikrojel elektroforezi yöntemiyle incelemişlerdir. Orta burun boşluğundaki epitel hücrelerin DNA migrasyonu kontrolde 26.3 µm bulunurken, bu değer 1.0 mmol/ml konsantrasyonundaki cyfluthrin ile muamele edilmiş epitel hücrelerinde 90.7 µm olarak ölçülmüştür. Hasar görmemiş hücrelerin yüzdesi, kontrolde % 87.5 dan 1.0 mmol/ml cyfluthrin uygulanmış hücrelerde % 5.7'e düşmüştür. Alt burun boşluğunun mukoza hücrelerinde, orta burun boşluğundaki hücelere göre daha düşük DNA göçü gözlenmiştir (kontrolde 23.3 µm, 1.0 mmol/ml cyfluthrin uygulanmış alt burun boşluğu mukoza hücrelerinde 70.4 µm DNA migrasyonu). Kontroldeki % 89.3'lük zarar görmemiş hücre yüzdesi, 1.0 mmol/ml cyfluthrin uygulanmış alt burun boşluğu epitel hücrelerinde % 39.7'ye düşmüştür. Araştırmacılar yaptıkları bu çalışma ile, cyfluthrinin insan burun boşluğundaki epitel hücrelerinde güçlü bir genotoksik etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

2.2.6. Cypermethrin [(R,S)-alpha-cyano-3-phenoxybenzyl(1RS)-cis,trans-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropane-carboxylate] İle Yapılmış Genotoksisite ve Kanserojenite Çalışmaları

Pluijmen ve ark. (1984)'nın yaptıkları çalışmada, cypermethrin insektisidinin *Salmonella typhimurium*'un TA100 ya da TA98 suşlarında sıçan karaciğer aktivasyon sisteminin varlığında ya da yokluğunda, 30-1000 µg/petri konsantrasyonları arasında mutajenik etkisi bulunmamıştır. Ayrıca, bu insektisidin Chinese hamster V79 hücrelerinde de, hepatositlerin (karaciğerin temel işlevsel hücresi) varlığında ya da yokluğunda 2, 10, 20 µg/ml konsantrasyonlarda mutajenik etkisi belirlenmemiştir.

Amer ve Aboul-ela (1985) tarafından, cypermethrinin fare kemik iliği hücrelerinde MN oluşumu üzerine etkisi çalışılmıştır. Cypermethrin, farelere üç farklı yolla; intraperitoneal (i.p.), oral ve dermal olarak verilmiştir. Cypermethrin, MN

testinde pozitif sonuçlar göstererek mutajenik aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. İnsektisid farelere diyetleri içinde 900 ppm olarak oral yolla 7 ve 14 gün arka arkaya verildiğinde MN'lu polikromatik eritrositlerin (PCE) frekansında istatistiksel olarak artış meydana getirmiştir. Cypermethrinin 360 mg/kg b.w. konsantrasyonunda iki ya da daha fazla dermal muamelesi de MN'lu PCE'lerin frekansında istatistiksel olarak artış meydana gelmesine neden olmuştur. Cypermethrinin i.p. olarak 60 ve 180 mg/kg b.w. dozlarında tek bir defada muamelesi ile 60 mg/kg b.w dozunda iki ve üç defa muamelesi MN'lu PCE'lerin oluşumunu arttırmamıştır.

Batiste-Alentorn ve ark. (1986), *Drosophila melanogaster*'in erkek eşey hücrelerinde cypermethrinin genetik bozukluklar meydana getirip getirmediğini incelemişlerdir. Araştırmacılar, cypermethrinin eşeye-bağlı letal mutasyonların frekansında az, fakat istatistiksel bakımdan önemli artış meydana getirdiğini bildirmişlerdir. Bununla beraber, erkek sineklerin 20 ppm'e kadar olan konsantrasyonlardaki cypermethrine maruz kalmalarından sonra, hayvanlarda eşey kromozom kaybı ya da kromozomların ayrılamaması (non-disjunction) gibi anormalliklerin frekansında önemli bir artış gözlenmemiştir.

Cypermethrinin genotoksik etkisi farede *in vivo* olarak araştırılmıştır (Bhunya ve Pati, 1988). Kemik iliği hücrelerinde tüm konsantrasyonlarda (30, 40, 50 mg/kg b.w.) ve uygulamadan (i.p. ve s.c.) hem 24 hem de 48 saat sonra kromozom anormallikleri kontrolden önemli derecede farklı bulunmuş fakat bu artış doza ve zamana bağlı bir durum göstermemiştir. Ayrıca, cypermethrin, sperm anormalliklerinin frekansını önemli derecede arttırmıştır.

Cypermethrin, 10 µg/ml'den daha yüksek konsantrasyonlarda, hücre döngüsününün geç kalmasına neden olarak proliferasyon indeksini düşürmüştür (Puig ve ark., 1989).

Hakoi ve ark. (1992), cypermethrinin 800 ppm konsantrasyonda F344 sıçanlarında karaciğerde preneoplastik lezyonları (öncü kanser lezyonları) indüklediğini ve bu konsantrasyondaki cypermethrin muamelesinin sıçanlarda hem vücut hem de karaciğer ağırlığını arttırmadığını bildirmişlerdir.

Amer ve ark. (1993) tarafından, cypermethrin pestisidinin KA ve kardeş kromatid değişimi (KKD) üzerindeki etkisi fare dalak ve kemik iliğinde *in vivo*,

ayrıca kültüre alınmış fare dalak hücrelerinde *in vitro* olarak incelenmiştir. KA'li hücrelerin yüzdesi, dalak ve kemik iliğinde hemen hemen aynı bulunmuş ve intraperitoneal enjeksiyondan 6 saat sonra maksimum seviyeye ulaşmıştır. İndüklenen anormallikler kromatid ve kromozom gapları, fragmentler ve tetraploidi olarak belirlenmiştir. Cypermethrin, KKD frekansını kemik iliği hücrelerinde doza bağlı olarak arttırmıştır. Cypermethrinin test edilen tüm konsantrasyonlarında (0.25-400 µg/ml) muameleden 4 saat sonra kromozomal anormallikler içeren metafaz yüzdesi artmıştır. Sonuçta, kültüre alınmış dalak hücreleri kadar fare kemik iliği ve dalak hücrelerinde de cypermethrinin *in vivo* genotoksik etkisi bulunmuştur.

Cypermethrin, insan tüm kan (whole-blood) kültüründe 200 µg/ml konsantrasyonda MN frekansını istatistiksel olarak önemli derecede arttırmış, ayrıca nükleus bölünme indeksi (NBI), cypermethrin konsantrasyonu arttıkça lineer olarak azalmıştır (Surrallés ve ark., 1995b).

Cypermethrinin *in vivo* genotoksik potansiyeli fare kemik iliği hücrelerinde KKD testi yolu ile incelenmiştir (Chauhan ve ark., 1997). Kemik iliği metafaz kromozomlarındaki KKD artışının insektisidin en yüksek dozunda (32 mg cypermethrin/kg b.w.) 24 saatlik muamele sonucunda, kontrol ile kıyaslandığında istatistiksel bakımdan önemli bulunmuştur. Ayrıca, cypermethrin aynı çalışmada test edilen deltamethrin ile karşılaştırıldığında, cypermethrin tarafından meydana getirilen KKD frekansındaki artış deltamethrinin meydana getirdiğinden daha önemli bulunmuştur.

El-Tawil ve ark. (1997), cypermethrinin toksisitesini taze olarak izole edilmiş dişi ve erkek sıçan hepatositlerinde incelemişlerdir. Hepatositler, farklı konsantrasyonlardaki cypermethrin ile (100, 200, 400, 800 ng/2x10⁶ hücre) 2 saatten fazla muamele edilmiştir. 400 ve 800 ng cypermethrine maruz bırakılan erkek ve dişi sıçanlardan alınan hepatositlerin hücre canlılığı, sırasıyla 60 ve 30 dakikalık inkübasyondan sonra önemli derecede azalmıştır. Ayrıca 2 saat, 200 ng cypermethrine maruz bırakılan dişi sıçanlardan alınan hücrelerde de hücre canlılığında azalma meydana gelmiştir. Hücre canlılığındaki düşüş zamana ve doza bağlı bulunmuştur. Bu çalışmada, cypermethrinin zamana ve doza bağlı olarak toksik

etki gösterdiği ve cypermethrinin toksik etkisine, dişi sıçan hepatositlerinin erkek sıçanlardan alınan hepatositlere göre daha hassas olduğu saptanmıştır.

Cypermethrinin genotoksik etkileri, erkek Wistar sıçanların kemik iliği hücrelerinde (1/10, 1/25, 1/50 LD₅₀ dozlarında) araştırılmıştır (Institoris ve ark., 1999). Cypermethrin (55.4, 22.2 ve 11.1 mg/kg) sıçanlara 28 gün boyunca ağız yoluyla verilmiştir. Cypermethrin en yüksek iki dozda, sıçan kemik iliği hücrelerinde sayısal KA'ni arttırmış, fakat yapısal KA'de herhangi bir artış meydana getirmemiştir. Çalışmada kullanılan tüm dozlarda, cypermethrin kırmızı kan hücre sayısını düşürmüştür. En yüksek iki doz, ayrıca periferik kandaki beyaz kan hücreleri sayısını da azaltmıştır.

Chauhan ve ark. (1999) tarafından, alpha-cyano piretroid insektisidin bir ticari formülasyonu olan cypermethrinin sitogenetik etkileri, *Allium cepa* kök meristem hücrelerinde incelenmiştir. 10 ve 20 mg/l konsantrasyonlardaki cypermethrin, 6 ve 24 saatlik uygulamalardan sonra doza bağlı olarak önemli derecede mitotik ve kromozomal anormallikleri arttırmış, MI'i düşürmüştür. Kök meristem hücreleri, 6 ve 24 saatlik muameleden sonra 24 saat su içinde bekletildiklerinde, anormalliklerde etkili bir düzelme göstermelerine rağmen, yine de anormal hücrelerin frekansında kontrole göre önemli artış bulunmuştur.

Hadnagy ve ark. (1999) tarafından, cypermethrinin Chinese hamster'in V79 akciğer hücre hattında sitotoksik etkisi incelenmiştir. Sitotoksisite testi olarak koloni meydana getirme yeteneği (KMY) kullanılmıştır. Cypermethrin 100 µg/ml konsantrasyonda koloni meydana gelmesini % 31.3 azaltmış, hücre döngüsünün ilerlemesini engellemiştir.

Cypermethrinin potansiyel mutajenitesi, Shukla ve Taneja (2002) tarafından dominant letal mutasyon testi ile incelenmiştir. Çalışmada cypermethrin, 0.2 ml mısır yağı içinde çözüldükten sonra 20, 40 ve 80 mg/kg b.w. dozlarda erkek farelere gavaj yoluyla verilmiştir. Tüm gruplardan alınan muameleli fareler, altı haftalık periyot için muamele edilmemiş virjin dişilerle eşleştirilmiştir. Gebe farelerde pre ve post-implantasyon kayıpları yüksek oranda bulunmuştur. Cypermethrin muameleli farelerde ilk üç hafta boyunca canlı implantların sayısında önemli miktarda doza bağlı azalma meydana gelmiştir. Altı haftanın mutasyon indeks ortalaması, sadece

cypermethrinin yüksek dozunda önemli artış göstermiştir. Bu sonuçlara göre, araştırmacılar tarafından cypermethrinin, erkek farenin eşey hücrelerinde dominant letal mutasyonları indükleyen mutajenik bir aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir.

Shukla ve ark. (2002), cypermethrinin kanserojenik ve ko-kanserojenik [tümör başlatıcı (initiating) ve tümör ilerletici (promoting)] etkisini fare derisinde incelemişlerdir. Cypermethrinin Swiss albino farelerin her iki eşeyinde tümör başlatan ve ilerleten potansiyeli olduğu kadar tamamen kanserojenik olduğu da belirlenmiştir. 32 hafta boyunca sadece bir defa 10 mg/kg b.w cypermethrin ile muamele edilen farelerde deri üzerine sürülen bölgede iyi huylu tümörler gelişmeye başlamıştır. Tümör oluşumunun en yüksek oranı 10 mg/kg b.w. konsantrasyonundaki cypermethrinin 9 defa uygulanmasında görülmüştür. 7,12-dimethylbenz(a)antracena ile tümör oluşumu başlatılan farelerde, cypermethrinin tümör ilerletici potansiyele sahip olduğu ve tümör oranını arttırdığı belirlenmiştir. Araştırmacılara göre, cypermethrin, tam kanserojenik aktivitesi bakımından incelendiğinde, test edilen her üç konsantrasyonda da (5, 10, 25 mg/kg b.w) farelerde tümör oluşumunu arttırmıştır.

Giri ve ark. (2003), cypermethrinin fare kemik iliğinde KKD frekansına etkisini araştırmışlardır. Cypermethrin (5, 10 ve 20 mg/kg i.p.) KKD frekansında önemli artış ($P<0.001$) meydana getirmiş fakat doza bağlı korelasyon bulunmamıştır. Aynı çalışmada test edilen karbamatlı pestisid olan carbosulfan ile muamele edilmiş hücrelerde (1.25, 2.5 ve 5 mg/kg) hücre döngüsü geç kalmış oysa cypermethrinde böyle bir etki görülmemiştir. Ayrıca, carbosulfanın genetik değişimlere cypermethrine göre daha fazla neden olduğu belirlenmiştir.

Kakko ve ark. (2004) tarafından, meme kanseri hücre hattının (MCF7) proliferasyonu çeşitli konsantrasyonlardaki cypermethrine maruz bırakıldıktan 7 gün sonra incelenmiştir. MCF7 üzerine, Oestradiolun tek başına ve Oestradiol (0.10 nM) ile cypermethrinin (0.1-100 μ M) kombine etkisi araştırılmıştır. Düşük konsantrasyondaki cypermethrinin (0.1-1 μ M) Oestradiol ile birlikte muamelesi, Oestradiolun tek başına (0.1 nM) meydana getirdiği etkiye kıyasla MCF7 hücrelerinin proliferasyonunda istatistiksel olarak önemli artış meydana getirmiştir. Bu çalışmada yüksek konsantrasyonlar sitotoksik bulunmuştur ve cypermethrin

yapısında taşıdığı cyano gruptan dolayı, aynı çalışmada incelenilen diğer piretroidlere göre (pyrethrin ve permethrin) daha toksik bulunmuştur.

Mukhopadhyay ve ark. (2004), cypermethrinin *in vivo* genotoksik etkisini *Drosophila melanogaster*'in beyin ganglia ve anterior orta barsaklarında comet yöntemi olarak da bilinen SCGE metoduyla (single cell gel electrophoresis) incelemişlerdir. Çalışmada, *Drosophila*'nın birinci instar larvaları (22±2 saat) farklı konsantrasyonlarda cypermethrin (0.0004, 0.0008, 0.002, 0.2 ve 0.5 ppm) ile karıştırılan besinleriyle büyütülmüştür. Büyümenin 96±2 saatinde, kontrol ve muameleli larvalardan alınan beyin ganglia ve orta barsakların anterior kısmından tek hücre süspansiyonları hazırlanmış ve comet analizi uygulanmıştır. Sonuçlar, kontrolle karşılaştırıldığında cypermethrine maruz kalmış (0.002, 0.2, 0.5 ppm) *D. melanogaster* beyin ganglia ve orta barsak hücrelerindeki DNA hasarının doza bağlı olarak ve istatistiksel bakımdan önemli artış meydana getirdiği görülmüştür.

Cypermethrinin ticari formülasyonunun sitogenetik etkileri *Allium sativum*'un kök meristem hücrelerinde incelenmiştir (Saxena ve ark., 2005). Ayrıca, Ultraviyole (UV) ve Fourier transform infrared (FTIR) spektral ölçümleri, cypermethrinin DNA ile etkileşimlerini anlamak için uygulanmıştır. İlk toksisite denemelerinde *Allium* kökünün büyümesi için EC₅₀ (EC: effective concentration) değeri 8 ppm olarak belirlenmiştir. Sitogenetik çalışma için, kök meristem hücreleri 1, 2, 4, 8 ve 16 ppm test maddesine 24 saat maruz bırakılarak ya hemen analiz edilmiş ya da yeniden düzelme (recovery) için 24 saat su içinde inkübe edildikten sonra incelenmiştir. Cypermethrine maruz bırakıldıktan hemen sonra analiz edilen hücrelerde MI azalması ile mitotik ve kromozomal anormalliklerin artması (MA ve KA) önemli derecede doza bağlı bulunmuştur. 24 saatlik yeniden düzelme periyodu, MI ve anormallik yüzdesi üzerine test maddesinin etkilerini azaltmıştır. Bununla beraber, 8 ve 16 ppm cypermethrine maruz kalan hücreler, iyileşme periyoduna rağmen anormalliklerin frekansında önemli miktarda artış göstermiştir. 1 ppm konsantrasyonundaki cypermethrin ile yapılan çalışmada negatif sonuçlar elde edilmiştir. Elde edilen veriler, cypermethrinin yüksek dozlarının *A. sativum*'da KA ve MA'leri arttırarak toksisite oluşturduklarını göstermiştir. Araştırmacılara göre, cypermethrin bölünen meristem hücrelerinde iğ iplikçikleri üzerinde etkili;

kromozom kırıkları da, cypermethrinin kök hücrelerinde klastojenik etkisini göstermektedir. UV absorpsiyon çalışmaları ise, cypermethrinin doğrudan DNA'ya bağlandığını göstermiştir.

Patel ve ark. (2006) tarafından, cypermethrinin genotoksik etkisi, farede birçok organ (beyin, böbrek, karaciğer, dalak) ve dokuda (kemik iliği, lenfositler) alkalın comet yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Erkek Swiss albino farelere günlük 12.5, 25, 50, 100, 200 mg/kg b.w. konsantrasyonlarındaki cypermethrin i.p. olarak arka arkaya 5 gün boyunca verilmiştir. İncelenen tüm organlarda DNA hasarındaki artış istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur. En fazla DNA hasarı beyinde belirlenmiştir ve onu sırasıyla dalak>böbrek>kemik iliği>karaciğer>lenfositler izlemiştir. Araştırmacılar, cypermethrinin kanla ilgili sistemden başka beyin, böbrek, karaciğer gibi yaşamsal organlarda da DNA hasarlarına neden olarak, memelilerde sistemik genotoksisiteyi arttırdığını bildirmişlerdir.

Suman ve ark. (2006), $1/10 \text{ LC}_{50} = 3.36 \text{ } \mu\text{M}$ ($\text{LC}_{50} = 33.6$) konsantrasyonundaki cypermethrinin insan periferik lenfositlerinde kromozom anormalliklerini önemli derecede uyardığını bulmuşlardır. Çalışmada yapılan karyotip analizi en fazla kromozom kırığı ve satellit birleşmesi olduğunu göstermiştir. Cypermethrinin düşük dozlarının da DNA'da tek zincir kırıklarına neden olduğu comet analizi ile belirlenmiştir. Comet analizinde, somatik hücrelerde genotoksisiteyi gösteren kuyruk uzunluğu, konsantrasyon arttıkça artmıştır.

2.2.7. Deltamethrin [(S)-alpha-cyano-3-phenoxybenzyl-(R)-cis-3-[2,2-dibromovinyl]-2,2-dimethylcyclopropane carboxylate)] İle Yapılmış Genotoksisite ve Kanserojenite Çalışmaları

Deltamethrinin *Salmonella typhimurium*'un TA100 ya da TA98 ırklarında sıçan karaciğer aktivasyon sisteminin varlığında ya da yokluğunda, 20-600 μg /petri konsantrasyonları arasında; ayrıca, Chinese hamster'in V79 hücrelerinde de hepatositlerin varlığında ya da yokluğunda 4, 20, 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ konsantrasyonlarda mutajenik etkisi belirlenmemiştir (Pluijmen ve ark., 1984).

Chauhan ve ark. (1986), deltamethrinin sitolojik etkilerini *Allium cepa* kök meristemleri kullanarak çalışmışlardır. Deltamethrin MI'de doza bağlı azalma meydana getirmiştir. Hem kromozomal hem de mitotik anormallikler tüm konsantrasyonlarda (0.05-2.0 ppm) hesaplanmıştır. Kromozomal ve mitotik anormalliklerin çoğunun, mitotik iplikçiklerdeki bozulma nedeniyle olduğu anlaşılmıştır. Yüksek konsantrasyonlardaki (0.5-2.0 ppm) kromozom ve kromatid kırıklarındaki artış bu maddenin klastojenik etkisinin olduğunu göstermiştir.

Deltamethrinin kanserojenitesi fare ve sıçanlarda yapılan uzun süreli deneylerle çalışılmıştır (Cabral ve ark., 1990). Deltamethrin farelere 0, 1, 4 ya da 8 mg/kg b.w. konsantrasyonlarda, sıçanlara ise 0, 3 ya da 6 mg/kg b.w. konsantrasyonlarda 2 yıl süresince verilmiştir. 1 ve 4 mg/kg b.w. konsantrasyonlardaki deltamethrin ile muamele edilen farelerde lenfomaların oluşumunda artış gözlenmiş, fakat 8 mg/kg b.w. konsantrasyonundaki deltamethrin ile muamele edilen grupta böyle bir etki gözlenmemiştir. Sıçanlarda tiroid tümörlerinin oluşumunda önemli bir artış meydana gelmiş fakat doz-etki ilişkisi bulunmamıştır. Araştırmacılara göre, deltamethrin ne fare ne de sıçanlarda kanserojenik etki göstermiştir.

Deltamethrin, Hakoi ve ark. (1992) tarafından, F344 sıçanlarında karaciğerde preneoplastik lezyonları indüklemesi bakımından medium-term yöntemi ile incelenmiştir. Sıçanlara hepatokanserojenезisi başlatması için tek bir defada 200 mg/kg b.w. dozda i.p. olarak diethylnitrosamine (DEN) uygulanmış ve 2 hafta sonra 50 ppm deltamethrin, temel besinleri içinde sıçanlara 6 hafta boyunca verilmiş ve sonra sıçanlar öldürülerek kısmi hepatektomi (karaciğer dokusunun çıkarılması) yapılmıştır. Hepatokanserojenik potansiyel, karaciğerdeki glutathione S-transferase plasental formu (GST-P) pozitif locusların sayısı ve alanının, sadece DEN uygulanmış kontrol ile karşılaştırılmasıyla elde edilmiştir. Deltamethrin karaciğer preneoplastik lezyonların sayısında ve alanında bir artış meydana getirmemiştir. Araştırmacılar tarafından, deltamethrinin 50 ppm konsantrasyonunda sıçanlarda karaciğer kanserojeni olarak etki göstermediği bildirilmiştir.

Agarwal ve ark. (1994) tarafından yapılan çalışmada, deltamethrin, ergin dişi albino sıçanlara i.p.(intraperitoneal=karın zarı içine), s.c. (subcutan=deri altı) ya da

oral yolla (ağız yoluyla) 5.6, 8.4 ya da 11.2 mg/kg b.w. dozlarında bir defa olarak, ya da 2.24 mg/kg b.w. dozunda arka arkaya beş gün boyunca (toplam doz, 11.2 mg/kg b.w.) i.p. yolla verilmiştir. Bu uygulama, sıçan kemik iliğinde, 24 saatlik muamelede doza bağlı olarak MI'ı düşürmüştür. Kromozom anormalliklerinin frekansı da deltamethrin konsantrasyonu arttıkça artmış fakat sadece 11.2 mg/kg b.w dozunda kontrolden önemli derecede yüksek bulunmuştur. Deltamethrinin sıçanlara i.p. ve s.c. olarak verilmesi, sitotoksik ve genotoksik potansiyelini göstermesi bakımından oral yolla verilmesine göre daha etkili bulunmuştur. Kemik iliğindeki MN'lu eritrositlerin frekansı 5.6, 8.4 ya da 11.2 mg/kg b.w. dozlarında bir defada verildikten 30 saat sonra artmıştır. Araştırmacılara göre, bu çalışmada gözlenen en etkili anormallik, deltamethrin tarafından microtubuler/mitotik iplikçiğin bozulduğunu gösteren kromozomların endomitotik replikasyonu olmuştur.

Deltamethrinin genotoksik etkisi, insan tüm kan ve lenfosit kültüründe *in vitro* olarak test edildiğinde, 100 ve 200 µg/ml konsantrasyonlarındaki deltamethrin, her iki kültür tipinde fakat sadece bir donörde MN frekansında önemli artış meydana getirmiştir. Nükleus bölünme indeksi (NBI) ise doza bağlı olarak azalmıştır (Surrallés ve ark., 1995b).

Gandhi ve ark. (1995) tarafından, deltamethrinin genotoksitesisi İsviçre albino erkek farelerde (5 hayvan/grup) kemik iliği MN analizi kullanılarak çalışılmıştır. Çalışmaya göre, deltamethrin (örnek alınmadan 30 ve 6 saat önce iki i.p. enjeksiyonu yapılmıştır) 162.5 ve 300.0 mg/kg b.w. dozlarında MN oluşumunu arttırmıştır. En düşük doz (32.5 mg/kg b.w.) MN oluşumunda kontrole göre önemli bir artış meydana getirmemiştir.

Deltamethrinin *in vivo* genotoksik potansiyeli fare kemik iliği hücrelerinde KKD testi yolu ile incelenmiştir (Chauhan ve ark., 1997). Kemik iliği metafaz kromozomlarındaki KKD analizi, insektisidin en yüksek dozunda (20 mg deltamethrin a.i./kg b.w.) 24 saatlik muamele sonucunda, kontrol ile kıyaslandığında istatistiksel bakımdan önemli bulunmuştur.

Villarini ve ark. (1998) tarafından, deltamethrinin *in vitro* genotoksitesisi, single-cell microgel-electrophoresis (comet) tekniği kullanılarak DNA hasarı üzerine etkisi ya da insan periferel kan lökositlerinde MN ve KKD üzerine etkisi incelenerek

belirlenmiştir. Tüm muameleler, biyolojik aktivasyon kaynağı olan S9 karışımı varlığında ve yokluğunda yapılmıştır ($\pm$ S9 mix). Sonuçlar, deltamethrinin metabolik aktivasyon varlığında (+S9 mix) doza bağlı olarak (100-400 μ g/ml) DNA hasarlarını arttırdığını göstermiştir. Deltamethrin ile muamele edilmiş hücrelerde MN ve KKD frekansı, S9 karışımının varlığında ve yokluğunda (10-75 μ g/ml), kontrole göre istatistiksel olarak önemli bir artış meydana getirmemiştir.

Deltamethrinin sitotoksik etkisi, Chinese hamster'in V79 hücre hattında incelenmiştir (Hahnagy ve ark., 1999). Sitotoksikite testi olarak koloni meydana getirme yeteneği (KMY) kullanılmış ve bu teste göre deltamethrin test edilen en yüksek konsantrasyonda (100 μ g/ml) KMY'yi orta derecede azaltmıştır. Araştırmacılar, deltamethrinin hücre döngüsünün ilerlemesini engellediğini bildirmişlerdir.

Shukla ve Taneja (2000) tarafından, deltamethrinin mutajenik potansiyelini analiz etmek için Swiss albino farelerde dominant letal mutasyon testi uygulanmıştır. Üç gruba ayrılmış erkek farelerin her bir grubuna bir konsantrasyon olmak üzere 15 gün boyunca her gün 0.36, 0.72 ve 1.08 mg/kg b.w. dozlarındaki deltamethrin ağız yoluyla verilmiştir. İki haftalık muameleden sonraki gün, deltamethrin ile muamele edilmiş erkek fareler, muamele edilmemiş ergin, virjin dişi farelerle çiftleştirilmiştir. Altı hafta boyunca her hafta dişiler, yeni bir grup dişiyle değiştirilmiştir. Tüm çiftleştirilen dişiler, çiftlerinden ayrıldıktan 13 gün sonra, ölü ve canlı implantları ve corpus luteaları incelenmek üzere öldürülmüştür. Sonuçlar deltamethrin uygulamasının Swiss albino farelerde fertilite ve çiftleşme kapasitesini azaltmadığını göstermiştir. Mutasyon indeksini saptamak için, implantasyon öncesi ve sonrası kayıplar incelenmiştir. İmplantasyon öncesi kayıplar önemli bulunmamıştır. İmplantasyon sonrası kayıplar deltamethrinin yüksek dozlarında orta seviyede gözlenmiştir. Dominant letal mutasyon oranında az bir artış belirlenmiştir.

2.2.8. Esfenvalerate [(S)-alpha-cyano-3-phenoxybenzyl(S)-2-(4-chlorophenyl)-3-methylbutyrate] İle Yapılmış Kanserojenite Çalışmaları

Esfenvaleratinin karaciğer kanseri üzerine etkisi başlatıcı faktör olarak kullanılan N-nitrosodiethylamine (DEN) verilen erkek F344/DuCrj sıçanlarında

incelenmiştir (Hagiwara ve ark., 1990). DEN'in tek bir doz olarak (200 mg/kg i.p.) verilmesinden 2 hafta sonra, sıçanlara 500 ppm konsantrasyonunda diyetleri içerisinde esfenvalerate verilmiştir. 500 ppm fenvalerate verilen grupta belirgin nörolojik belirtiler ve vücut ağırlığında azalma görülmesine rağmen canlılık üzerine herhangi bir ters etki gözlenmemiştir. Sonuçta, esfenvaleratenin sıçanlarda hepatokanserojenik olmadığı yani karaciğer kanserine neden olmadığı bildirilmiştir.

2.2.9. Fenvalerate [(RS)-alpha-Cyano-3-phenoxybenzyl(RS)-2-(4-chlorophenyl)-3-methylbutyrate] İle Yapılmış Genotoksisite ve Kanserojenite Çalışmaları

Pluijmen ve ark. (1984) tarafından, fenvalerate piretroid insektisidinin, *Salmonella typhimurium*'un TA100 ya da TA98 suşlarında sıçan karaciğer aktivasyon sisteminin varlığında ya da yokluğunda mutajenik etkisi bulunmamıştır. Ayrıca, bu pestisidlerin Chinese hamster'in V79 hücrelerinde de hepatositlerin varlığında ya da yokluğunda, 4, 20, 40 µg/ml konsantrasyonlarda mutajenik etkisi belirlenmemiştir.

Pati ve Buhunya (1989), fenvaleratenin sitogenetik etkilerini fare *in vivo* test sisteminde 100, 150 ve 200 mg/kg b.w dozlarında incelemişlerdir. Kemik iliği metafaz analizleri 150 ve 200 mg/kg b.w. konsantrasyonlarındaki i.p. muamelelerinde KA'de önemli artış olduğunu göstermiştir. MN testine göre, MN'lu PCE'lerin oluşmasında doza bağlı önemli bir artış görülmemiştir. MN'lu PCE'ler en yüksek iki dozda kontrole göre önemli derecede artmıştır. Sperm anormallikleri doza bağlı olarak az derecede artmış fakat tüm muamelelerde kontrole göre önemli derecede artış göstermiştir.

Fenvaleratenin insan periferik kan lenfositlerindeki genotoksik etkileri KA ve KKD testleri ile incelenmiştir (Puig ve ark., 1989). Fenvalerate kromozomal anormallikleri ve KKD'ni uyarmıştır. Ayrıca, 10 µg/ml'den daha yüksek konsantrasyonlarda, hücre döngüsününün geç kalmasına neden olarak proliferasyon indeksini düşürmüştür.

Carbonell ve ark. (1989) tarafından, fenvaleratenin kültüre edilmiş insan periferik lenfositlerinde, 2-50 µg/ml konsantrasyonlarda 24 saatlik muameledeki C-mitoz üzerine etkisi incelenmiştir. Araştırmacılar, bu maddenin iğ iplikliğinin meydana gelmesini bozduğunu gösteren C-mitoz oluşumunda önemli artış gözlemlendiğini bildirmişlerdir.

Fenvaleratenin kanserojenitesi, Cabral ve Galendo (1990) tarafından uzun süreli fare deneyi ile çalışılmıştır. Fenvalerate C57B1/6 farelerine 0, 40 ve 80 mg/kg b.w. konsantrasyonlarında, 104 hafta boyunca haftada 5 kez gavaj yoluyla verilmiştir. Hayatta kalma, yüksek dozda özellikle dişilerde azalmıştır. Fenvalerate, karaciğer hücre tümörlerinin oluşma derecesinde sadece yüksek doza maruz kalan erkek farelerde kontrole göre düşük bir artış meydana getirmiştir. Diğer tip tümörlerin oluşmasında, muameleli gruplar ile kontrol grupları karşılaştırıldığında önemli bir farklılık gözlenmemiştir. Fenvalerate, dişi ve erkek farelerde, karaciğer, dalak ve lenf nodlarında aynı anda (eş zamanlı olarak) mikrogranulomaların (küçük kanser lezyonları) meydana gelmesini arttırmış fakat bu artış doza bağlı bulunmamıştır.

Fenvaleratenin, karaciğerde kanser oluşturunca etkisi başlatıcı faktör olarak kullanılan N-nitrosodiethylamine (DEN) ile muamele edilen erkek F344/DuCrj sıçanlarında incelenmiştir (Hagiwara ve ark., 1990). DEN'in tek bir doz olarak (200 mg/kg i.p.) verilmesinden 2 hafta sonra, sıçanlara 15, 50, 150, 500 ve 1500 ppm konsantrasyonlarda fenvalerate verilmiştir. 1500 ppm fenvalerate verilen grupta belirgin nörolojik belirtiler ve vücut ağırlığında azalma görülmesine rağmen canlılık üzerine herhangi bir ters etki gözlenmemiştir. Sıçanlara 1500 ve 500 ppm dozlarında verilen fenvalerate nispeten karaciğer ağırlığında istatistiksel olarak artış meydana getirirken bulunan hepatosit lezyonları toksik bulunmamıştır. Sonuç olarak araştırmacılar tarafından, fenvaleratenin sıçan hepatositleri için toksik olmadığı ve karaciğer kanser oluşumu (carsinogenesis) için değiştirici özelliği olmadığı bildirilmiştir.

Fenvaleratenin 10-50 µg/ml konsantrasyonlarda, kültüre edilmiş insan periferik lenfositlerinin (24 saatlik muamele) sitokinezi bloklanmış hücrelerinde mitotik MN oluşumu üzerine etkisi çalışılmıştır (Surrallés ve ark., 1990).

Araştırmacılar, fenvaleratinin klastojenik ve/veya anöjenik aktiviteyi gösteren MN frekansında önemli artış meydana getirdiğini bildirmişlerdir.

Ghosh ve ark. (1992) tarafından sumicidinin (fenvalerate 20 E) sitotoksik etkisi, İsviçre albino farelerde incelenmiştir. Sumicidin farelere farklı konsantrasyonlarda (32, 50,75 ve 150 mg/kg b.w.) ağız yoluyla tek bir defada verilmiştir. MI ve KA'leri muameleden 6, 12 ve 24 saat sonra incelenmiştir. Mitostatik etkiyi gösteren bölünen hücrelerin oranı önemli derecede azalmıştır. KA frekansı muameleden sonraki süre ve konsantrasyonlarla doğrudan ilişkili ve tüm konsantrasyonlarda önemli bulunmuştur. En yüksek anormallik frekansı 24 saatlik muamelede görülmüştür.

Fenvaleratinin, CHO (Chinese Hamster Ovary) hücrelerinde KA ve KKD'ne etkisi sıçan karaciğer aktivasyon sistemi (S9-mix) varlığında ve yokluğunda incelenmiştir (Caballo ve ark., 1992). Fenvalerate CHO hücrelerinde S9-mix varlığında (25-150 µg/ml) KA'ni önemli derecede arttırmış, S9-mix yokluğunda ise (100 µg/ml) sitotoksik bulunmuştur. KKD'ni S9-mix'in hem bulunması (25-150 µg/ml) hem de bulunmaması (10-50 µg/ml) durumunda istatistiksel olarak önemli derecede arttırmıştır. KKD frekansındaki artış S9 varlığında daha fazla bulunmuştur. Ayrıca, fenvalerate MI ve RI'nin düşmesine neden olmuştur.

Chauhan ve ark. (1999) tarafından, alpha-cyano piretroid insektisidin ticari bir formülasyonu olan fenvaleratinin sitogenetik etkileri, *Allium cepa* kök meristem hücrelerinde incelenmiştir. Fenvalerate (14 ve 28 mg/l) 6 ve 24 saatlik uygulamalarda önemli derecede ve doza bağlı olarak mitotik ve kromozomal anormallikleri arttırmış, MI'i düşürmüştür. Kök meristem hücreleri, 6 ve 24 saatlik muameleden sonra 24 saat su içinde bekletildiklerinde, etkili bir düzelmeye rağmen bu grupta da anormal hücrelerin frekansı önemli bulunmuştur. Aynı çalışmada test edilen diğer bir piretroid insektisidi olan cypermethrin ile fenvalerate karşılaştırıldığında, her iki maddenin anormallik tipleri cypermethrinin etkisiyle görülen MN'lu hücreler ve kromozomların eşit olmayan dağılımı hariç tamamen benzer olarak bulunmuştur. Ayrıca, anormal hücrelerin frekansı bakımından cypermethrin ile muamele edilen hücreler, fenvalerate ile muamele edilenlere göre daha toksik bulunmuştur. Araştırmacılara göre, bu gözlemler bu iki alpha-cyano

piretroid insektisidinin genotoksik etkisinin primer mekanizmasının iğ iplikçiği bozulması olduğunu göstermiştir. Bununla beraber, araştırmacılar, kromozom kırıklarının bulunmasından dolayı bu maddelerin klastojenik potansiyele sahip olduğunu da ileri sürmüşlerdir.

Hadnagy ve ark. (1999) tarafından fenvaleratenin sitotoksik etkisi, Chinese hamster'in V79 akciğer hücre hatlarında incelenmiştir. Sitotoksisite testi olan koloni meydana getirme yeteneği (KMY) kullanılmıştır. Fenvalerate, test edilen en yüksek konsantrasyonda (100 µg/ml) KMY'yi orta derecede azaltmıştır.

Giri ve ark. (2002), fenvaleratenin genotoksik etkilerini farede yapısal KA ve KKD yöntemiyle belirlemişlerdir. Fenvaleratenin sadece 20 mg/kg b.w. i.p. uygulaması KA'de istatistiksel olarak önemli artış meydana getirmiştir. Bu pestisidin ne 5 ve 10 mg/kg akut dozları ne de sub-akut dozu (5X4 mg/kg) herhangi bir önemli etki göstermemiştir. Üç akut dozun hepsinde kemik iliği hücrelerinde doza bağlı olarak KKD frekansında önemli artış saptanmıştır. Araştırmacılara göre, fenvaleratenin farelerde zayıf klastojenik olduğu ve KKD'ni uyardığı düşünülebilir.

2.2.10. Lambda-cyhalothrin (LCT) [(RS)-alpha-cyano-3-phenoxybenzyl 3-(2-chloro-3,3,3-trifluoropropenyl)-2,2,-dimethylcyclopropanecarboxylate] İle Yapılmış Genotoksisite Çalışmaları

Campana ve ark. (1999) tarafından, LCT'nin genotoksisitesi *Cheirodon interruptus interruptus*'un eritrositlerinde MN testi kullanılarak araştırılmıştır. MN frekansı *in vivo* olarak muamele edilen üç farklı konsantrasyonda (0.001, 0.01, 0.05 µg/l) ve dokuz farklı muamele süresinde (24, 48, 72, 96 saat ve 8, 12, 15, 19 ve 23 gün) balıklardan alınan kanda incelenmiştir. Piretroidin en yüksek konsantrasyonu (0.05 µg/l), analiz edilen tüm sürelerde kontrolden önemli derecede yüksek ($P<0.001$) bulunmuştur. 0.01 µg/l konsantrasyondaki pestisid muamelesi 24, 48, 96 saat muamele sürelerinde, 0.001 µg/l konsantrasyonda ise 96 saat ve 15 gün boyunca LCT'ne maruz kalan balıklarda kontrolden önemli derecede yüksek bulunmuştur. Çalışmaya göre en yüksek MN frekansı muameleden 24 saat sonra gözlenmiş ve bu süreden başlayarak 23 güne kadar derece derece azalmıştır. Araştırmacılar tarafından,

MN frekansındaki bu değişimin kırmızı kan hücrelerinin kinetiği ve eritrositlerin yerine yeni eritrositlerin geçmesiyle ilgili olduğu düşünülmüştür. Ayrıca ilginç olarak, 25 gün muamele süresinde gözlenen maximum MN frekansı en düşük dozda olmuştur. Araştırmacılara göre bunun sebebi, yüksek dozun hücresel ölüme neden olması ve hücre siklusunu geciktirmesidir.

LCT'nin genotoksik etkisi farede *in vivo* olarak incelenmiştir (Fahmy ve Abdalla, 2001). Pestisidin bir defalık ağız yoluyla 1.25, 2.5, 5 mg/kg b.w. konsantrasyonlarındaki muamelesi kemik iliği hücrelerinde KKD frekansını orta derecede arttırmış, fakat artış istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Ayrıca LCT'nin aynı konsantrasyonlarda ve bir defalık uygulaması fare kemik iliğindeki kromozomal anormalliklerini önemli derecede arttırmıştır. Eşey hücrelerinde sadece en yüksek doz bir defalık ağız yoluyla uygulandıktan sonra fare spermatositlerinde KA'nin önemli derecede arttığı bulunmuştur. KA tekrarlı uygulamadan sonra da gözlenmiştir. Sperm anormalliklerini belirlemek için, farelere arka arkaya beş gün 0.63, 1.25 ve 2.5 mg/kg b.w. LCT ağız yoluyla verilmiş ve en yüksek iki doz uygulamasından sonra sperm anormallikleri önemli derecede artmıştır. Bundan dolayı araştırmacılar tarafından, en yüksek iki dozda LCT'nin klastojenik etkilerinin ortaya çıktığı bildirilmiştir.

Çavaş ve Ergene-Gözükara (2003), LCT'nin genotoksik potansiyelini belirlemek için balık eritrositlerinde kromozomal bozulmaların bir göstergesi olan MN oluşumu incelemişlerdir. RNA transkripsiyonun aktif bölgesi olan Nukleolar organize bölgeler (Nucleolar organizer regions=NORs) kollaidal gümüş boyama tekniği ile boyanmıştır. İnterfaz nukleusundaki NOR'ların sayısı ve büyüklüğü hücrelerin proliferasyonu ve farklılaşması gibi hücresel aktiviteleri yansıtır. Bu çalışmada, LCT piretroid insektisidinin yapısal ve fonksiyonel genotoksik etkilerinin incelemek için *Garra rufa* (Pisces: Cyprinidae) türünde nükleer (MN frekansı) ve nukleolar (nukleolusun kantitatif karakterinde değişiklikler) biomarkırlar kullanılmıştır. MN frekansı, 36 saat boyunca üç farklı konsantrasyona (0.005, 0.01, 0.05 µg/l) maruz kalan balıklardan alınan kanda incelenmiştir. Nukleolar parametreler (hücre başına düşen nukleolusun ortalama sayısı, tek bir nukleolusun hacmi, heteromorfik çift oluşturmuş nukleoluslu hücrelerin yüzdesi) muamelenin 90

ve 180'inci dakikasında kuyruk yüzgecinin kenarından alınan epitel hücrelerinde incelenmiştir. Her iki testin sonuçları LCT'nin *G. rufa*'da genotoksik olduğunu kanıtlamıştır. Araştırmalara göre, nukleolar parametreler LCT uygulaması tarafından baskılanırken MN'lu eritrositlerin frekansı önemli derecede artmıştır.

LCT'nin sitotoksik ve genotoksik potansiyeli, Wistar sıçanı kemik iliği hücrelerinde yapısal kromozom anormallliği (YKA) ve MN testleri ile araştırılmıştır (Çelik ve ark., 2003). LCT albino dişi sıçanlara 13 gün boyunca 48 saat aralıklarla 0.8, 3.06, 6.12 mg/kg b.w. konsantrasyonlarında i.p. olarak verilmiştir. LCT'nin tüm dozları YKA sayısını ve MN'lu eritrositlerin frekansını kontrole göre arttırmıştır. Ayrıca, LCT'nin polikromatik eritrositlerin sayısında önemli azalmaya neden olduğu gözlenmiştir. Araştırmacılara göre, LCT Wistar sıçanlarında kemik iliği YKA ve MN testlerine göre klastojenik/genotoksik potansiyele sahiptir.

Çelik ve ark. (2005a) tarafından LCT'nin genotoksik ve sitotoksik etkileri, albino dişi Wistar sıçanlarına gavaj yoluyla 13 gün boyunca 48 saat aralıklarla 6.12, 3.06 ve 0.8 mg/kg b.w. konsantrasyonlarında verilerek, kemik iliği hücrelerinde YKA ve MN test sistemleri ile araştırılmıştır. LCT'nin tüm dozları YKA sayısını ve MN'lu eritrositlerin frekansını kontrole göre arttırmıştır LCT'nin sadece en yüksek dozu MN frekansını kontrole göre önemli derecede arttırmıştır ($P<0.01$). Araştırmacılar, LCT'nin ayrıca polikromatik eritrositlerin sayısını kontrole göre önemli miktarda düşürdüğünü bildirmişlerdir ($P<0.001$).

Çelik ve ark. (2005b) tarafından, LCT'nin genotoksik etkisi Wistar sıçanı kemik iliği ve barsak epitel hücrelerinde MN testi ile incelenmiştir. Çalışmada, dört dişi sıçana, 0.8, 3.06 ve 6.12 mg/kg b.w. konsantrasyonlarındaki lambda-cyhalothrin ağız yoluyla verilmiştir. Çalışmada, LCT'nin kemik iliği ve barsak epitel hücrelerindeki MN oluşumunu doza bağlı istatistiksel olarak önemli derecede arttırdığı belirlenmiştir. Araştırmacılar tarafından, 3.06 ve 6.12 mg/kg b.w. dozlarında uygulanan pestisidin kolon epitel hücrelerinde MN oluşumuna etkisi kemik hücrelerindeki kıyasla daha fazla olduğu saptanmış, bu yönden LCT'ne barsak epitel hücrelerinin daha hassas olduğu bildirilmiştir.

LCT'nin genotoksik ve sitotoksik potansiyeli insan lenfositlerinde *in vitro* olarak incelenmiştir (Naravaneni ve Jamil, 2005). LCT'nin *in vitro* sitotoksik etkisi

trypan mavisi boya kabul etmeme (exclusion) tekniği kullanılarak belirlenmiştir. Trypan mavisi, bozulmuş hücre zarları yoluyla ölü hücrelere girerler ve nükleusu boyarlar. Bu yöntemle, LCT'nin LC₅₀ (lenfositlerin % 50'sinin ölmesi) dozu 28 µM olarak belirlenmiştir. LCT pestisidinin lenfositlerdeki sitotoksik etkisi doza bağlı bir durum göstermiştir. Canlı hücrelerin yüzdesi pestisid konsantrasyonu arttıkça azalmıştır. LCT tarafından indüklenen kromozomal anormallikler, 24 saat pestiside maruz kalan lenfositlerin metafaz plakları incelenerek belirlenmiştir. Analiz sonucu, LCT'ye maruz kalmış lenfositlerde satellit birleşmeleri ve gaplar kontrole göre istatistiksel olarak önemli (p<0.05) derecede yüksek bulunmuştur. LCT'nin DNA'daki zararları arttırıp arttırmadığı comet yöntemi kullanılarak saptanmıştır. LCT'ye 2 saat maruz kalan lenfositlerde en yüksek konsantrasyonda (40 µM) DNA hasarı görülmüştür. LCT daha düşük konsantrasyonlarda da DNA'da tek iplik kırıklarına neden olmuştur. Araştırmacılar tarafından, comet kuyruk uzunluğunun artmasının DNA tek iplik kırıklarının artmasıyla ilgili olduğu bildirilmiştir.

2.2.11. Permethrin [3-phenoxybenzyl(1RS)-cis,trans-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate] İle Yapılmış Genotoksisite ve Kanserojenite Çalışmaları

Pluijmen ve ark. (1984) tarafından, permethrin insektisidinin, *Salmonella typhimurium*'un TA100 ya da TA98 ırklarında sıçan karaciğer aktivasyon sisteminin varlığında ya da yokluğunda, 100-3000 µg/petri konsantrasyonları arasında mutajenik etkisi bulunmamıştır. Araştırmacılar tarafından permethrinin, Chinese hamster'in V79 hücrelerinde de hepatositlerin varlığında ya da yokluğunda, 4, 20, 40 µg/ml konsantrasyonlarında permethrinin mutasyona neden olmadığı saptanmıştır.

Permethrinin mutajenik aktivitesi, Ames Salmonella-mikrozom testi ile metabolik aktivasyon sistemi (S9 mix) varlığında ve yokluğunda *Salmonella typhimurium*'un TA 97, TA 98, TA 100 suşlarında toksik (2730 mg/l) ve toksik olmayan (39 mg/l) konsantrasyonlarda incelenmiştir (Pednekar ve ark., 1987). Araştırmacılar göre, permethrin, üç suşta, her iki konsantrasyonda, S9 karışımının varlığında ve yokluğunda mutajenik etki göstermemiştir.

Ishmael ve Litchfield (1988), permethrinin kanserojenitesini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada, Wistar sıçanlarını 0, 500, 1000 ya da 2500 ppm permethrin içeren besinle 2 yıl süresince; Swiss fareleri ise, yaşamları boyunca (% 80 ölüm) 0, 250, 1000 ya da 2500 ppm permethrin içeren besinle beslemişlerdir. Bu çalışmada sıçan deneyinde kanserojenik etki gösteren hiçbir kanıt elde edilememiştir. Fare çalışmasında iyi huylu akciğer tümöründe (sadece 2500 ppm permethrin muamelesinde erkek farelerde) düşük bir artış gözlenmiştir. Fakat bu artış kanserojenik etkiyi gösterecek kadar önemli bulunmamıştır.

Gupta ve ark. (1990) permethrin mutajenitesini, *Drosophila melanogaster*'de eşeye bağlı resesif letal mutasyon testi ile araştırmışlardır. Araştırmacılara göre, permethrin mutajenik bulunmamıştır. Permethrin tarafından meydana getirilen mutasyonların frekansı 0.135, kontrolde meydana gelen doğal mutasyon frekansı ise 0.133 olarak belirlenmiştir. Permethrin ile kontrolün mutasyon frekansı arasındaki fark önemli bulunmamıştır.

Herrera ve ark. (1992), permethrinin insan periferik lenfosit kültüründe KKD ve MN üzerine etkisini araştırmışlardır. 50 ve 100 µg/ml konsantrasyonlardaki permethrin S9 karışımı varlığında ve yokluğunda insan periferik lenfositlerinde KKD frekansını arttırmıştır. Permethrin, S9 karışımı varlığında 25, 50, 75, 100 ve 200 µg/ml konsantrasyonlarda MN'da artış meydana getirmiş fakat bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Permethrin konsantrasyonu orantılı olarak arttıkça iki nükleuslu hücrelerin yüzdesi azalmıştır. Permethrin 100 µg/ml (-S9) ve 100 ve 200 µg/ml (+S9) konsantrasyonlarda toksik etki göstermiştir.

Hakoi ve ark. (1992) tarafından, permethrin karaciğerde preneoplastik lezyonları indüklemesi bakımından incelenmiştir. Deneyde kullanılan F344 sıçanları üç gruba ayrılmıştır. 1. gruba, hepatokanserojenitesi yani karaciğer kanserini başlatması için tek bir defada 200 mg/kg b.w. dozda i.p. olarak diethylnitrosamine (DEN) uygulanmış ve 2 hafta sonra permethrin, temel besinleri içinde sıçanlara 6 hafta boyunca verilmiştir. 2. grup sıçanlara sadece DEN uygulanmış, 3. grup sıçanlara ise sadece ya 2.000 ppm permethrin (% 39 cis formu ve % 61 trans formu) ya da 4.000 ppm permethrin (% 25 cis formu / % 75 trans formu), temel besinleri içinde sıçanlara verilmiştir. DEN+test maddesi verilen 1. grup ile sadece DEN

verilen 2. grup sıçanların oluşturduğu prenoplastik lezyonların karşılaştırılması yapılmıştır. 3. grup sıçanlar, test maddesinin başlatıcı DEN olmadan karaciğerdeki prenoplastik lezyonları arttırması bakımından incelenmiştir. Araştırmacılar tarafından, permethrinin 39/61 formunun sıçanlarda karaciğer ağırlığını arttırdığı ve bu maddenin karaciğer kanserojeni olma ihtimali olduğu bildirilmiştir. Diğer taraftan, permethrinin 25/75 formu herhangi bir etki göstermemiştir. Permethrinin her iki formu da DEN'in tümör başlatıcı etkisi olmadan karaciğer prenoplastik lezyonlarını arttırmamıştır.

Permethrinin KA üzerine etkisi, insan periferik lenfosit kültürü ve CHO hücrelerinde, permethrinin klastojenik etkisinin farklı iki hücre tipinde karşılaştırılması amacıyla incelenmiştir (Barrueco ve ark., 1994). Permethrinin etkisi, insan periferik lenfositlerinde 50-200 µg/ml, CHO hücrelerinde 20-100 µg/ml konsantrasyonlarda, metabolik aktivasyon sistemi varlığında ve yokluğunda araştırılmıştır. Permethrin, S9 karışımı yokluğunda her iki kültürde KA'ni arttırmıştır. Permethrinin etkisi, muamele süresinin kısalmasıyla azalmış ve bu azalma S9 karışımının varlığıyla meydana gelen azalmadan daha fazla görülmüştür. Permethrin, her iki tip kültürde başlıca kromozom tip anormallikleri arttırmıştır. Bundan dolayı araştırmacılar, permethrinin S-fazına bağlı olmayan klastojenik bir madde olduğunu ileri sürmüşlerdir. Ayrıca yine araştırmacılar tarafından hem lenfosit hem de CHO kültürünün permethrinin *in vitro* klastojenik etkisinin belirlenmesinde benzer sonuçlar ortaya çıkardığı belirtilmiştir.

Permethrinin genotoksik etkileri, erkek Wistar sıçanların kemik iliği hücrelerinde araştırılmıştır (Institoris ve ark., 1999). Permethrin (12.6, 50.3, 125.7 mg/kg) sıçanlara 28 gün boyunca ağız yoluyla verilmiştir. Permethrinin kullanılan tüm dozlarında sayısal kromozomal anormalliklerin oranı artmıştır.

Hadnagy ve ark. (1999), permethrinin sitotoksik etkisini, Chinese hamster V79 hücrelerinde incelemişlerdir. Bu çalışmada permethrinden başka kimyasal saflıkları farklı olan dört piretroidin (fenvalerate, deltamethrin cypermethrin, cyfluthrin) daha sitotoksik etkisine bakılmıştır. Sitotoksikite testi olan koloni meydana getirme yeteneği (KMY), test edilen piretroidlerde birbirinden farklı bulunmuştur. En toksik pestisid olarak bulunan permethrin, doza bağlı güçlü bir etki

göstermiş ve 25 µg/ml konsantrasyonda kontrole kıyaslandığında KMY'nin %100 azalmasına neden olmuştur. Fenvalerate dışındaki tüm piretroidler hücre döngüsünün ilerlemesini engellemişlerdir. Permethrin 12.5 µg/ml konsantrasyondaki muamelede hücrelerin % 40'ını G2-M fazında durdurmuştur. Araştırmacılar tarafından görülen sitotoksik etkilerin, sadece piretroidlerin kendi özelliklerinden dolayı değil, kimyasal saflıkları, kaynağı, üretim süreci ve izomer kompozisyonuna da bağlı olduğu bildirilmiştir.

Kakko ve ark. (2004) tarafından, meme kanseri hücre hattının (MCF7) proliferasyonu çeşitli konsantrasyonlardaki permethrine maruz bırakıldıktan 7 gün sonra incelenmiştir. MCF7 üzerine, oestradiolun tek başına ve oestradiol (0.10 nM) ile permethrinin (0.1-100 µM) kombine etkisi araştırılmıştır. Düşük konsantrasyondaki permethrinin (0.1-1µM) oestradiol ile birlikte muamelesi, oestradiolun tek başına (0.1 nM) meydana getirdiği etkiye kıyasla MCF7 hücrelerinin proliferasyonunda istatistiksel olarak önemli artış meydana getirmiştir. Araştırmacılara göre, bu çalışmada yüksek konsantrasyonlar sitotoksik bulunmuştur.

2.2.12. Resmethrin [5-benzyl-3-furylmethyl (1RS)-cis,trans-2,2-dimethyl-3-(2-methylprop-1-enyl) cyclopropanecarboxylate] İle Yapılmış Genotoksisite Çalışmaları

Resmethrin insektisidinin, *Salmonella typhimurium*'un TA100 ya da TA98 ırklarında sıçan karaciğer aktivasyon sisteminin varlığında ya da yokluğunda 30-1000 µg/petri konsantrasyonları arasında mutajenik etkisi bulunmamıştır (Pluijmen ve ark., 1984).

2.2.13. Tetramethrin [cyclohex-1-ene-1,2-dicarboximidomethyl (1RS)-cis-trans-2,2-dimethyl-3-(2-methylprop-1-enyl) cyclopropanecarboxylate] İle Yapılmış Genotoksisite Çalışmaları

Tetramethrinin, *Salmonella*/mikrozom test sistemi ile mutajenik etkisi araştırılmıştır. Yapılan çalışmada, tetramethrin (10-1000 µg/plak) *Salmonella*

typhimurium TA 98 ve TA 100 suşlarında mutajenik bulunmamıştır (Sümer ve ark., 1990).

2.2.14. Transfluthrin [2,3,5,6-tetrafluorobenzyl (1R)-trans-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate] İle Yapılmış Genotoksisite Çalışmaları

Tisch ve ark. (2005) tarafından, transfluthrinin genotoksik etkisi, insan burun boşluğundaki mukoza hücrelerinde mikrojel elektroforezi yöntemiyle incelenmiştir. Transfluthrin test maddesi olarak kullanıldığında orta ve alt burun boşluğundaki zarar görmemiş epitel hücrelerin yüzdesi % 88.2 iken bu değer kontrol solüsyonda % 88.8 olarak bulunmuştur. Transfluthrinin en yüksek konsantrasyonunda (1.0 mmol/ml hücre süspansiyonu) hasar görmemiş hücrelerin sayısında çok önemli bir azalma meydana gelmiştir ($P<0.001$). Transfluthrin hücrelere 1.0 mmol/ml konsantrasyonunda uygulandığında, orta burun boşluğundaki epitel hücrelerin sadece % 5.4'ü, alt burun boşluğundaki epitel hücrelerin %40.4'ü zarar görmemiştir. Araştırmacılar tarafından transfluthrinin burun mukozasının epitel hücrelerinde genotoksik etkiye sahip olduğu bildirilmiştir.

2.3. Piretroid ve/veya Neonikotinoid Grubu Pestisidlere Karışım Halinde Maruz Kalma İle İlgili Genotoksisite Çalışmaları

Rupa ve ark. (1989) tarafından, pamuk tarlalarında değişik pestisidleri (DDT, BHC, endosulfan, malathion, methylparathion, phosphomidon, qinolphos, monocrotophos, dimethoate, fenvelerate, cypermethrin) bitkilere püskürten 52 kişinin periferik lenfositlerinde kromozomal anormallikleri incelenmiştir. Pestiside maruz kalmayan 25 sağlıklı erkekte alınan kan da kontrol olarak kullanılmıştır. İstatistiksel analiz sonucunda kromozom anormalliklerinin pestiside maruz kalan bireylerde kontrole göre önemli derecede yüksek olduğu bulunmuştur. Total kromozom anormalliği pestiside maruz kalma süresine bağlı olmaksızın artış göstermiştir.

Çiçek endüstrisinde çalışan ve pestiside maruz kalan 32 sağlıklı, 32 pestiside maruz kalan ve mesane kanserinden dolayı hastanede yatan ve 31 pestiside maruz kalmayan sağlıklı (kontrol) bireylerden alınan periferik lenfositlerinde KA ve KKD incelenmiştir (De Ferrari ve ark., 1991). Çiçek yetiştiricileri, 18 nitro-organik herbisid ve fungisidlerine, 9 nitro-organik fungisid, 12 organofosfat ve organothiofosfat insektisidi, 4 hidrokarbonlu herbisid ve 5 inorganik fungisid ve insektisidleri ve sentetik piretroidlerden alfametrin, fenfrothrin, permethrin maruz kalmışlardır. Pestiside maruz kalan her iki grupta KA ve KKD'nin oranında önemli artış olmuştur. Kanser hastalarında görülen yeniden kromozom düzenlemeleri (disentrik ve halka kromozomları, quadridyal kromozom figürleri) kontrol grupta görülmemiş, pestiside maruz kalan sağlıklı insanlarda ise daha düşük frekansta bulunmuştur. Hiperploidi ve poliploidi metafazları kontrolle kıyaslandığında pestiside maruz kalan her iki grupta önemli artış gözlenmiştir.

Pamuk tarlasında çalışan ve DDT, endosulfan, malathion, methyl parathion, phosphamidon, dimethoate, monocrotophos, quinalphos fenvalerate ve cypermethrin gibi pestisidlere düzenli olarak maruz kalan 61 erkek pestisid uygulayıcısı KKD, mitotik indeks ve hücre döngüsü kinetiği bakımından analiz edilmiştir (Rupa ve ark., 1991). KKD frekansı, kontrollerle kıyaslandığında pestisid uygulayıcılarında, tüm maruz kalma sürelerinde önemli derecede yüksek bulunmuştur. Pestisidlere maruz kalan işçilerde ayrıca hücre döngüsü geç kalmış ve mitotik indeks düşmüştür.

Carbonell ve ark. (1993) tarafından, mesleği gereği pestisidlere (insektisid+fungisid+herbisid) maruz kalan 70 erkek tarım işçisi ve pestiside maruz kalmayan, sağlıklı 69 kontrol bireyin periferik lenfosit hücrelerinde KKD ve KA incelenmiştir. İşçilerin maruz kaldığı insektisidler arasında organoklorinler, organofosforlar, karbamatlar ve piretroidler (bifenthrin, cypermethrin, deltamethrin, fenprothrin, fenvalerate, permethrin ve pyrethrin) vardır. Çalışılan her iki grup arasındaki karşılaştırmalar, pestisidlere maruz kalan bireylerin KKD'nin frekansında artış olmaksızın lenfositlerinde önemli klastojenik etkiler görülmüş, üstelik bu etkilerin pestiside maruz kalma yılı uzadıkça arttığı saptanmıştır.

Karbamatlar, heterosiklikler, organoklorinler, organofosforlar ve piretroidler (cypermethrin, deltamethrin, fenprothrin ve fenvalerate içeren) gibi çeşitli

pestisidlere karışım halinde maruz kalan 29 erkek tarım işçisinin periferik lenfositlerinde, bu pestisid kombinasyonunun KA üzerine etkisi çalışılmıştır (Carbonell ve ark., 1995). Her bir donörden iki defa kan örneği alınmıştır: biri pestisidlere yüksek oranda maruz kalma döneminde (ilkbahar-yaz) ve diğeri, pestisidlere daha düşük oranda maruz kalma döneminde (sonbahar-kış). Aynı zamanlarda alınan ve pestisidlere maruz kalmayan 29 ve 24 sağlıklı erkekte alınan kanlar ise kontrol grubu olarak analiz edilmiştir. Yüksek oranda pestisidlere maruz kalan tarım işçilerinde, kontrol grubuyla kıyaslandığında özellikle kromatid tipi anormalliklerde olmak üzere KA frekansında önemli artış gözlenmiştir. Bununla birlikte, KA frekansındaki artış, daha az pestiside maruz kalma döneminde alınan örneklerde bulunmamıştır. Bu bulgular KA frekansının pestiside maruz kalma yoğunluğuyla ilgili olduğunu ve KA'nin nispeten kısa ömürlü olup, KA frekansının, birkaç ay sonra, kontrol değerlere yakın bir değere düşebileceğini göstermektedir.

Lucero ve ark. (2000), pestisidlerin kompleks karışımına maruz kalan sera işçilerinin yanak mukozası hücreleri ve periferik kan lenfositlerinde MN testi uygulayarak pestisid karışımının genotoksik etkisini incelemiştir. İşçilerin maruz kaldığı pestisidler arasında imidacloprid, permethrin ve tralomethrin bulunmaktadır. 64 sera işçisinden ve kontrol olarak aynı alandaki pestisidlere maruz kalmayan 50 erkekte alınan örnekler incelenmiştir. Sonuçlar pestiside maruz kalan ve kontrol grubu arasında MN frekansı bakımından istatistiksel olarak önemli farklılıklar olmadığını göstermiştir. Her donör, genotipleri ve sitogenetik yanıtları arasındaki ilişkiyi araştırmak için glutathion S-transferase* M1 (GSTM1) ve glutathion S-transferase T1 (GSTT1)'in varlığı ve yokluğuna göre incelenmiştir. Araştırmacılar tarafından, GSTT1 genotipine göre sadece sitokinez-bloklama proliferasyon indeksi (CBPI) için her iki grup arasında farklılıklar olduğu belirtilmiştir. Araştırmacılara göre,

*Glutathion S-transferase, insan popülasyonlarında genetik polimorfizmi gösteren bir enzim grubudur ve pestisidler de içeren bir çok kimyasalın detoksifikasyonunda gerekli olduğu belirtilir. Özellikle GSTT1 ve GSTM1 genleri için null genotipler çeşitli kanserlerin riskini artırabilir. GST'ler serbest radikallerin temizlenmesinde ve oksidatif stresin zararlı etkilerinden hücreyi korumakta önemli bir role sahiptir.

kontrol grubunda GSTT1'in varlığı ya da yokluğu arasında CPBI bakımından bir fark yoktur; pestiside maruz kalmış bireylerde ise GSTT1'in varlığında CBPI düşmüştür. Araştırmacılar tarafından, GSTM1, sigara alışkanlığı ve yaşı tüm analizlerde herhangi bir etki göstermediği bildirilmiştir.

Gomez-Arroyo ve ark. (2000) tarafından, pestiside maruz kalmış çiçek yetiştiricilerinde (Meksika-Morelos) sitogenetik zararlar periferik lenfositlerde KKD ve yanak mukozası hücrelerinde MN testi uygulanarak belirlenmiştir. Ayrıca, pestisidlerin hücre proliferasyon kinetiği (CPK) üzerine etkisi replikasyon indeksi (RI) yoluyla çalışılmıştır. Sitotoksik etkileri belirlemek için mitotik indeks (MI) de belirlenmiştir. Pestiside maruz kalmayan gruptan (Temisco) alınan kanlar kontrol grubunu oluşturmuştur. Çiçek yetiştiricilerinin kullandığı pestisidler arasında organoklorinler, organofosforlar, karbamatlar ve piretroidlerden cypermethrin bulunmaktadır. Pestiside maruz kalan grup ile kontrol grubu arasında KKD, CPK ve MI bakımından önemli farklılıklar bulunmuştur. Ayrıca, pestiside maruz kalmış grupta MN frekansı kontrol grubuna göre üç kat daha yüksek bulunmuştur.

Lander ve ark. (2000) tarafından, subtoksik düzeyde pestiside maruz kalan sera işçilerinde pestisidlerin kromozom anormallikleri üzerine etkisi incelenmiştir. Yaklaşık 50 insektisid (deltamethrin, fenprothrin ve alpha-cypermethrin içeren), fungisid ve büyüme düzenleyicilerinin kompleks karışımına maruz kalan 116 sera işçisinin, kültüre alınmış periferik lenfositlerinde KA frekansları belirlenerek, pestiside maruz kalmayan 29 kontrol ile karşılaştırılmıştır. İşçilerin yaz mevsimi öncesi KA frekansı, kontrole göre biraz yüksek fakat istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Seradaki işçilerin pestisidleri yoğun olarak kullandıkları yaz mevsiminden sonra ise KA'lı hücrelerin toplam frekansı hem mevsim öncesi örneklerdekine göre ($P=0.02$), hem de kontrole göre ($P=0.05$) önemli derecede yüksek bulunmuştur. Araştırmacılar göre, ilk ve ikinci örnekler arasındaki fark özellikle kromatid tipi gaplı hücrelerin sayısının artışı sebebiyledir.

Pastor ve ark. (2001a)'ın, pestisid karışımına (fungisidler, bakterisidler ve permethrin ile imidacloprid içeren insektisidler) maruz kalmış 50 tarım işçisi ile pestiside maruz kalmamış 66 (kontrol) donörün periferik kan lenfositlerinde ve yanak mukozası epitel hücrelerinde MN testi uygulayarak yaptıkları çalışmada, her iki grup

arasında hem lenfosit hem de yanak mukozası epitel hücrelerinde istatistiksel olarak önemli farklılıklar belirlememişlerdir. Sitokinez bloklayıcı proliferasyon indeksi (CBPI) ise pestiside maruz kalmış grupta kontrole göre biraz daha düşük bulunmuştur.

Pastor ve ark. (2001b) tarafından, birçok insektisid ve fungusid bulunan pestisid karışımının genotoksik etkisi, tarım işçilerinin periferik kan lenfositlerinde ve yanak mukozası epitel hücrelerinde MN testi ile araştırılmıştır. Bu insektisidler içinde bizim çalışmamızda kullandığımız pestisid grupları olan piretroidler ve nikotinoidler de bulunmaktadır. Araştırmacıların yaptığı çalışmada tarım işçilerinin maruz kaldığı insektisidler arasında piretroid grubundan deltamethrin, lambda-cyhalothrin, fenvalerate, bifenthrin, permethrin, alfa-methrin, cypermethrin; neonicotinoid grubundan ise acetamiprid bulunmaktadır. Çalışma sonucunda, pestisid karışımına maruz kalmış grupta kontrol grubuna göre hem lenfosit hem de yanak mukozası hücrelerinde MN frekansı bakımından önemli bir artış gözlenmemiştir. Fakat araştırmacılar tarafından, pestiside maruz kalma sebebiyle çocuk düşüren bayan işçilerin sayısında önemli bir artış gözlemlendiği belirtilmiştir. Araştırmacılara göre, pestiside maruz kalmış nüfuslarda bazı çalışmalarda genetik zararların arttığı bulunurken diğer bazılarında negatif sonuçların elde edilmesi; pestiside maruz kalmış nüfusun yaşam tarzı, beslenme alışkanlığı, değişik iklimsel ve çevresel koşullar ve değişik pestisid karışımının kullanılması ile açıklanmaktadır. Ayrıca işçilerin çalışırken uyguladıkları koruyucu önlemler de genetik zararların oluşmasını önleyen nedenlerden biridir. Bu çalışmada da yapılan ankete göre tarım işçilerinin % 78'i pestiside doğrudan maruz kalmayı azaltan ikiden daha fazla koruyucu önlem kullanmışlardır.

Shaham ve ark. (2001) tarafından, organofosfatlar, karbamatlar, ditiokarbamatlar, triazoller, organoklorinler ve bizim de çalışmamızda kullandığımız sentetik piretroidler gibi pestisidler içeren pestisid karışımına maruz kalan 104 sera işçisi ve pestiside maruz kalmayan 44 donörün periferik lenfositlerinde KKD incelenmiştir. KKD sonuçları, kromozom başına düşen ortalama KKD sayısı ve yüksek frekanslı hücrelerin oranı (sekizden daha fazla KKD olan hücreler) şeklinde belirlenmiştir. Bu iki parametre arasında yüksek korelasyon bulunmuştur. Her iki

KKD değişkeni, kontrol grupla kıyaslandığında işçilerde önemli derecede yüksek bulunmuştur ($P<0.01$). Hem kromozom başına düşen ortalama KKD sayısı hem de yüksek KKD frekanslı hücrelerin oranı, pestisidlerin %70'inden daha fazlasını kendileri hazırlayıp uygulayan işçilerde, pestisidlerin %70'inden daha azını hazırlayıp uygulayan işçilere göre önemli derecede yükselmiştir ($P<0.05$). Ayrıca her iki KKD değişkeni, her yıl 7.4'den daha fazla püskürtme işlemi yapan işçilerde, yılda 7.4'den daha az yapan işçilere göre de önemli derecede yükselmiştir ($P<0.05$). Araştırmacılar, pestisidleri hazırlarken koruyucu önlemler almayan işçilerin her iki KKD değişkeninin yükselmesine daha eğilimli olduğunu bulmuşlardır. Pestiside maruz kalan yılın KKD frekansı üzerine etkisi ise, 21 yıldan daha fazla pestiside maruz kalan işçiler arasında 21 yıldan daha az maruz kalanlara göre daha yüksek olduğunu göstermiştir. Araştırmacılara göre, KKD'nin yükselmesi üzerine en büyük etkiler, işçilerin pestisid karışımlarını kendileri hazırlaması ve yıl başına düşen uygulama sayısının artmasıdır. Bu bulgulara göre araştırmacılar tarafından, pestisidlerin potansiyel sitogenetik zararlar gösterdiği belirtilmiştir.

Bolognesi ve ark. (2002)'nin yaptıkları çalışmada, süs bitkisi yetiştiren işçilerde kompleks pestisid karışımının potansiyel genotoksik etkisinin olup olmadığını araştırmışlardır. Pestisid karışımının içinde organofosforlar, karbamatlar, benzimidazoller, tiofitalimidler, pirimidinol bileşikler, organoklorinler, amidler, morfolinler ve piretroidler (deltamethrin, permethrin, cypermethrin, fenprothrin) gibi pestisidler bulunmaktadır. Çalışmada, 107 çiçek yetiştiricisi (92 erkek ve 15 bayan) ile 61 kontrol (42 erkek ve 19 bayan) donörün periferik kan lenfositlerinde MN testi yapılmıştır. Mikronükleus taşıyan iki nükleuslu hücre (MNBN) sayısı, çiçek yetiştiricilerinde kontrol popülasyona göre istatistiksel olarak önemli derecede yüksek ($P<0.001$) bulunmuştur. İşçilerin çalışma yılı ile MN frekansı arasında pozitif korelasyon gözlenmiştir.

Güney Amerika'da çiçek yetiştiricilerindeki yapısal ve sayısal KA analiz edilmiştir (Paz-y-Miño ve ark., 2002). Çalışmada, aldicarb ve fenamiphos gibi bazıları birçok ülkede yasaklanan ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından yüksek oranda toksik olarak sınıflandırılan 27 pestiside maruz kalan 41 işçinin kanında araştırma yapılmıştır. Ayrıca, işçilerin maruz kaldığı diğer birçok pestisidin yanında

WHO tarafından orta derecede toksik olarak sınıflandırılan ve bizim çalışmamızda da kullandığımız piretroidler grubuna dahil olan cypermethrin ve deltamethrin de bulunmaktadır. Yaş, cinsiyet ve coğrafik alanı aynı olan 41 kişi de kontrol olarak seçilmiştir. Pestisidlere maruz kalan işçiler kontrol grupla kıyaslandığında KA frekansında önemli derecede artış göstermiştir ($p<0.001$). Tamamlayıcı metabolik çalışma olarak, eritrositlerin asetilkolinesteraz düzeyleri de belirlenmiştir. Araştırmacılar tarafından, pestisid karışımına maruz kalan bireylerin % 88'inde, asetilkolinesteraz düzeyleri optimumun altında (>28 U/mL kan) bulunmuştur ve bu durumun organofosforlu pestisidlerin etkisiyle olduğu ileri sürülmüştür. Ayrıca, asetilkolinesteraz seviyesi ile yapısal KA frekansı kıyaslandığında negatif korelasyon belirlenmiştir. Yani asetilkolin esteraz seviyesi düşerken KA frekansı artmaktadır.

Pastor ve ark. (2003)'nın yaptıkları çalışmada, yoğun tarımsal aktiviteleri ile karakterize edilen Yunanistan, İspanya, Polonya ve Macaristan'da işi gereği pestiside maruz kalan popülasyonlarda, pestisid kullanımı ile sitogenetik zararlar arasındaki ilişkiyi belirlemek için, toplam 239 tarım işçisi ve 231 pestiside maruz kalmamış kontrol kan vericilerinin, periferik kan lenfositlerinde ve ağız mukozası epitel hücrelerinde MN testi uygulanmıştır. Her iki tip hücrede MN frekansı ve bu frekansın farklı faktörlerle ilişkisi (cinsiyet, ülke, sigara içme alışkanlığı gibi) belirlenmiştir. Pestiside maruz kalma nedeniyle lenfositlerin çoğalma kinetiğindeki mümkün olan varyasyonları belirlemek için ise sitokinez bloklayıcı proliferasyon indeksi (CBPI) hesaplanmıştır. Araştırmacıların bildirdiğine göre, tarım işçilerinin yoğun olarak kullandığı pestisidler arasında karbamatlar, piretroidler (acrinathrin, alphasmethrin, bifenthrin, deltamethrin, fenvalerate, lambda-cyhalothrin, permethrin, tralomethrin), organofosforlular, nikotinoidler (acetamiprid, imidacloprid) ve bakterisidler bulunmaktadır. Pestisidlere maruz kalan tarım işçilerinin lenfosit ve mukoza hücrelerinde MN frekansında bir artış olmadığı görülmüştür. Bununla beraber pestiside maruz kalan bireylerde, kontrolle kıyaslandığında CBPI'da önemli bir azalma saptanmıştır. Farklı koşulların etkisi incelendiğinde, lenfositlerde yaşın, MN oluşumu ile pozitif ilişkili olduğu ve Polonya popülasyonunun diğer popülasyonlara göre önemli derecede yüksek MN frekansı gösterdiği bulunmuştur.

Ağız mukozası epitel hücrelerinde ise en yüksek MN frekansı İspanya popülasyonunda belirlenmiştir.

Bolognesi ve ark. (2004) tarafından, 52 çiçek yetiştiricisi ve 24 kontrol donörün periferik kan lenfositlerindeki MN frekansı, sentromer-pozitif (C+) ve sentromer-negatif (C-) mikronükleusları ayrı ayrı belirleyebilen floresan in situ hibridizasyon (FISH) analiziyle tam-sentromerik prob kullanılarak incelenmiştir. Çiçek yetiştiricilerin maruz kaldığı pestisid karışımı yoğun olarak organofosforlar ve karbamatlardan oluşsa da bizim çalışmamızda kullandığımız grup olan piretroidlerden deltamethrin de içermektedir. Çiçek yetiştiricileri ve kontrol arasındaki MN frekansı arasındaki fark, kullanılan pestisidlerin sayısı ve maruz kalma süresinin artmasıyla bir artış göstermesine rağmen, istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Çiçek yetiştiricilerinde, C+ kadar C- MN'larda da artış gözlenmiş; bununla beraber, toplam MN sayısına C+ MN'ların yüksek katkısı olmuştur. Araştırmacılar, C+ MN yüzdesinin kullanılan pestisidlerin sayısına ya da pestiside maruz kalma süresine bağlı olmadığını, fakat benzimidazolik bileşikler kullanan altgrupta, benzimidazolik bileşikler içermeyen pestisid karışımına maruz kalan işçilere göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar tarafından, bu pestisid karışımının aneuploidiyi indükleyen kanserojenik etki gösterebildiği ve bu durumun insanlar için potansiyel tehlike oluşturabildiği bildirilmiştir.

Genellikle kombinasyon halinde kullanılan, cypermethrin (CYP, piretroid insektisidi) ve/veya quinalphos (QUI, organofosforlu insektisid)'un *in vivo* sitogenetik etkileri farelerde MN ve KA yoluyla incelenmiştir (Chauhan ve ark., 2005). Erkek farelere CYP/QUI karışımı 22, 44 ya da 67 mg/kg b.w. konsantrasyonlarda gavaj yoluyla verilmiş ve fareler KA için 24 saat ya da MN için 48 saat CYP/QUI karışımı ile muamele edilmiştir. Maddeleri bağımsız analiz etmek için, CYP/QUI karışımının test dozunda bulunan CYP ve QUI'un aktif maddelerinin konsantrasyonuna göre, farelere CYP 0.66, 1.32 ve 2 mg/kg ya da QUI 4.4, 8.8 ve 13.4 mg/kg dozlarında gavaj yoluyla verilmiştir. Beş fareden oluşan bir grup, çözücü kontrol (yerfıstığı yağı) için gavaj yoluyla 0.2 ml/fare ile pozitif kontrol için cyclophosphamide (20 ya da 50 mg/kg, tek bir defada, i.p.) ile muamele edilmiştir. CYP/QUI karışımı ile 24 saat muamele edilen farelerde doza bağlı olarak MI düşmüş

ve KA artmıştır. Bununla beraber, çözücü kontrol ile kıyaslandığında, KA'deki artış CYP/QUI karışımının 44 mg/kg ve üzerindeki konsantrasyonlarda istatistiksel olarak önemli, MI'deki azalma ise karışımın 67 mg/kg konsantrasyonunda önemli bulunmuştur. CYP'nin farelere 2 mg/kg konsantrasyonda (CYP/QUI karışımındaki en yüksek konsantrasyonda bulunan CYP konsantrasyonu) tek başına muamelesi MI'ı önemli derecede düşürürken KA üzerine etkisi görülmemiştir. QUI pestisidinin tek başına farelere verilmesi (8.8 ve 13.4 mg/kg) MI'ı önemli derecede düşürmüş ve KA'ni arttırmıştır. Kromatid kırıkları ve fragmentler tüm test gruplarında bulunmuştur. CYP/QUI karışımının (22-67 mg/kg) 48 saat muamelesi MN oluşumunu da doza bağlı olarak arttırmış, fakat mikronükleuslu polikromatik eritrositlerin (MNPCE) frekansı 44 mg/kg ve üstünde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Tek başına CYP'e (0.66-2 mg/kg) maruz kalan fare kemik iliği hücrelerindeki MNPCE'lerin yüzdesi kontrolle kıyaslandığında önemli farklılıklar göstermezken, tek başına QUI (8.8 ve 13.4 mg/kg) muamelesi MNPCE'lerin frekansını önemli derecede arttırmıştır. Araştırmacılara göre, CYP/QUI karışımı genotoksik potansiyele sahiptir ve toksik dozlarda CYP ile QUI farelerde sinerjistik olarak genotoksik etki göstermişlerdir.

Karabay ve Oğuz (2005) tarafından, imidacloprid ve methamidophos (organofosforlu insektisid)'un tek başlarına ve kombinasyon halinde meydana getirdikleri sitogenetik ve genotoksik etkileri belirlemek için kemik iliği kromozom aberasyonu ve Salmonella/mikrozom testini kullanmışlardır. Wistar albino sıçanlarına 90 gün süreyle, günlük diyetleri içinde 50 ve 100 mg/kg konsantrasyonlarda imidacloprid, 2.5 ve 5 mg/kg konsantrasyonlarda methamidophos veya 2.5 ve 5 mg/kg konsantrasyonlarda imidacloprid+methamidophos kombinasyonu ağız yoluyla verilmiştir. İnsektisid verilen tüm gruplarda kromozom aberasyonları kontrole göre istatistiksel olarak önemli derecede ve doza bağlı olarak artmıştır. Ayrıca, insektisidler, tüm konsantrasyonlarda Salmonella/mikrozom testinde S9 karışımının varlığında mutajenik bulunmuştur. Araştırmacılar tarafından, methamidophos ve imidaclopridin sinerjistik etki göstererek kombinasyon halinde kullanıldıklarında potansiyel zararlarını arttırdıkları bildirilmiştir.

3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada materyal olarak sağlıklı ve sigara içmeyen aynı yaşlarda üç bayan (23-24 yaşlarında) ve üç erkekten (24 yaşlarında) alınan periferik kan ve test maddeleri olarak acetamiprid (Acm) ile alpha-cypermethrin (A-cyp) pestisidleri kullanılmıştır.

Pestisidlerin insanlarda etki gösterebilmesi için öncelikle vücuda girmesi gerekir. Pestisidlerin vücuda giriş yolları şu şekilde özetlenebilir:

3.1. Pestisidlerin Vücuda Giriş Yolları

Doğada tüm insanlar doğrudan ya da dolaylı olarak pestiside maruz kalabilmektedir. Bunlardan en çok pestisid üretiminde çalışan işçiler, potansiyel olarak devamlı genotoksik aktiviteye sahip olan benzen, toluen formaldehit gibi pestisid ham maddelerine (Bull ve ark., 2006), pestisid uygulanmış meyve ve sebzeleri tüketen insanlar da yüksek oranlarda pestiside maruz kalmaktadırlar. Nesheim ve ark. (2005)'na göre pestisidlerin vücuda giriş yolları şunlardır:

► Ağız yoluyla

Pestiside ağız yoluyla maruz kalma, kazayla ya da daha da büyük olasılıkla dikkatsizlik ile olmaktadır. Örneğin, pestisid kullandıktan sonra ellerin yıkanmadan yemek yenilmesi, pestisid uygulanmış meyvelerin yıkanmadan yenilmesi ve sistemik pestisid uygulanmış meyve ve sebzelerin yenilmesi pestisidin ağız yoluyla vücuda girmesine neden olabilmektedir.

► Deri yoluyla

Buharlaşmayan pestisidleri kullanan bireylerin yaklaşık % 90'ı pestiside deri yoluyla maruz kalır. Örneğin, pestisid karıştırılırken ya da uygulanırken deri ile temas edebilir. Sıvı pestisidler kadar toz, pudra ve granül gibi kuru pestisidler de deri yoluyla absorbe edilebilir. Pestisidin dermal toksisitesi, deri tarafından absorbe

edilme oranı, kontamine olmuş derinin büyüklüğü, deri ile temas eden materyalin deride kalma süresi ve derideki pestisidin miktarı, bu maddelerin zararlı etkiler oluşturmada önemli etkenlere sahiptir. Deri tarafından absorbe edilen pestisid oranı, vücudun farklı bölgelerinde farklıdır. Örneğin, pestisidlerin dirsekle bilek arasındaki bölgede emilim oranı nispeten az iken genital bölgede en hızlı emilime ulaşır. Genital bölgede pestisid doğrudan kan dolaşımına enjekte edilmiş biçimde etki gösterir.

► Soluma yoluyla

Özellikle gaz halindeki buharlaşabilen pestisidler olmak üzere, toz ya da partikül halindeki pestisidler de soluma yoluyla vücuda alınabilir.

3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Deney Ekipmanları

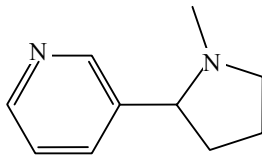
3.2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

3.2.1.1. Acetamiprid

Acetamiprid, neonikotinoid pestisidler grubuna dahil olup 1990'ların başlarında kullanılmaya başlayan bir insektisiddir (Brunet ve ark., 2005).

3.2.1.1.(1). Neonikotinoidlerin Genel Özellikleri

Neonikotinoidler temel olarak yapılarında nikotin taşırlar.



Nicotine

Neonikotinoidler, tüm dünyada hayvan sağlığı ve ürün korunumu için kullanılan en yeni insektisid sınıfıdır (Casida ve Quistad, 1998). Neonikotinoidler

çoğunlukla emici böcekleri ve bazı kelebekler ile kın kanatlı zararlıları kontrol etmek için kullanılmaktadır (Casida ve Quistad, 2004).

3.2.1.1.(2). Neonikotinoidlerin Biyolojik Metabolizması

Neonikotinoid biotransformasyonlarında önemli rol oynayan enzimler, karaciğer mikrozomal CYP450'ler ve sitozolik aldehit oksidazlardır (AOX) (Honda ve ark., 2006). Brunet ve ark. (2005)'nin yaptıkları çalışmada, acetamipridin balarısının farklı vücut kısımlarına hızlı bir şekilde dağıldığını ve hemen yedi metabolite (IM 0, IM 2-1, IC 0, IM 1-3, U1, U2 ve IM 1-4) parçalandığını göstermişlerdir. Metabolitlerin tüm vücut kısımlarında bulunması acetamiprid metabolizmasının sadece başlıca detoksifikasyon sistemi olan bağırsakta değil balarısının tüm organlarında olduğunu göstermiştir. Temel olarak oksidaz fonksiyonları tarafından acetamiprid daha polar olan metabolitlerine dönüşür ve vücuttan atılmaya daha hazır hale gelir. Fakat acetamipridin memelilerdeki metabolizmasına ait çalışmalar henüz bulunmamaktadır.

3.2.1.1.(3). Neonikotinoidlerin Etki Yönü ve Toksik Etkileri

Neonikotinoidler, hem memelilerde hem de böceklerde post-sinaptik membranda nikotinik asetilkolin reseptöre (nAChR) bağlanırlar ve agonist (agonist: hücrelerde, reseptörlere affinite gösteren ve fizyolojik aktivitelerini uyaran madde) olarak etki gösterirler (Tomizawa ve Casida, 2003; 2005). Memelilerdeki nikotinik asetilkolin reseptörü böceklerdekinden çok az yapısal değişiklikler göstermektedir. Memelilerde sinir sistemine ait reseptörlerde bağlanma nAChR'ün $\alpha 4/\beta 2$ yüzeyinde olmaktadır ve muhtemelen böceklerde de buna benzer bir yüzey bulunmaktadır (Casida ve Quistad, 2004). Neonikotinoidlerin postsinaptik nAChR'e bağlanması, kolinerjik sinapslarda başlangıçta yanlış sinyallerin artışına, daha sonra sinir uyarılarının tamamen bloke edilmesine neden olurlar (Schroeder ve Flattum, 1984).

Böceklerde neonikotinoid zehirlenmesinin belirtileri, düzenli olmayan abdominal titreme, kanatları germe, şiddetli vücut sarsıntısı, halsizlik, felç ve sonunda ölüm şeklinde gözlenir (Schroeder ve Flattum, 1984).

3.2.1.1.(4). Neonikotinoidlerin Nörotoksik Mekanizması

Neonikotinoidler, böcekler karşı yüksek toksisiteye fakat memelilere ve sucul organizmalara karşı düşük toksisiteye sahip insektisidlerdir (Kagabu, 1997: Kırıyama ve ark., 2003'den). Çünkü neonikotinoidlerin memelilerdeki nikotinik asetilkolin reseptöre (nAChR) ilgisi böceklerdekinden daha düşüktür (Tomizawa ve Casida, 2003; Nishiwaki, 2004). Neonikotinoidlerin nAChR'lerine bağlanma bölgelerindeki ve nAChR alt ünitelerindeki yapısal farklılıklar bu farklı ilgiden sorumludur. Neonikotinoidler, böcek nAChR'lerindeki özel alt ünite tarafından seçici olarak tanınan elektronegatif farmakofora (farmakofor: bir molekülde biyolojik etkidenden sorumlu olduğu düşünülen kısımdır. Farmakofor olarak görev yapan nitroguanidine kısım: imidacloprid, thiamethoxam, clothianidin ve dinotefuran pestisidlerinde; nitrometilen kısım: nithiazine ve nitenpyram pestisidlerinde; cyanoamidine kısım: thiacloprid ve acetamiprid pestisidlerinde bulunmaktadır) sahiptirler (Tomizawa ve ark., 2000; 2003; Tomizawa, 2004).

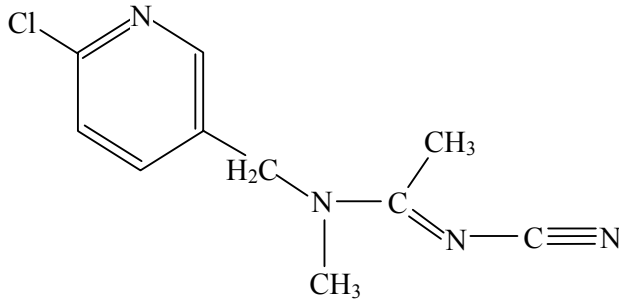
3.2.1.1.(5). Acetamipridin Özellikleri

Ticari Adı: Mosetam, mospilan, malcon, hekplan, akira, neoplan, mostar

Kimyasal Adı: (E)-N¹-[(6-chloro-3-pyridyl)methyl]-N²-cyano-N¹-methylacetamidine

Kapalı Formülü: C₁₀H₁₁ClN₄

Açık Formülü:



Erime Noktası: 98.9 °C

Molekül Ağırlığı: 222.68

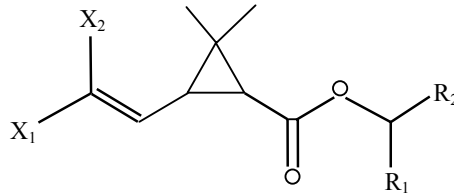
Cas NO: 135410-20-7

3.2.1.2. Alpha-Cypermethrin

Alpha-cypermethrin sentetik piretroid pestisidler grubuna dahil olan bir insektisiddir (WHO, 2005) ve 1983 yılının sonlarından beri zararlılara karşı kullanılmaktadır. Alpha-cypermethrin, cypermethrinden 3-4 kat daha toksik bir etkiye sahiptir (IPCS, 1992).

3.2.1.2.(1). Piretroidlerin Genel Özellikleri

Piretroidler temel olarak yapılarında cyclopropanecarboxylate (alpha-cypermethrin, allethrin, deltametrin gibi) ya da fenvalerate grupları (fenvalerate, esfenvalerate) taşırlar.



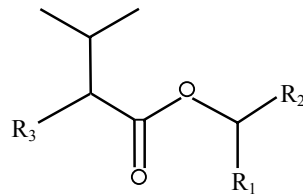
Cyclopropanecarboxylates

X₁= Cl, Br, alkyl, diğer

X₂= Cl, Br, alkyl, diğer

R₁= H, CN

R₂= Kompleks yan zincir



Fenvalerates

R₁= H, CN

R₂= Kompleks yan zincir

R₃= Aryl

Piretroidler ayrıca kimyasal olarak alpha-cyano grup taşıyanlar (alpha-cypermethrin, cypermethrin, deltamethrin ve fenvalerate v.s.) ve alpha-cyano grubu taşımayanlar (permethrin, allethrin, tetramethrin v.s.) olmak üzere iki gruba ayrılırlar.

Piretroidler (sentetik piretroidler); kimyasal olarak, yüzyıllardır insektisidal aktivitesi bilinen *Chrysanthemum*'un (Kasımpatı) çiçeklerinden elde edilen doğal piretrumda bulunan piretrinlere benzer insektisidlerdir (WHO, 2005). Doğal olarak meydana gelen piretrinler *Chrysanthemum* bitkisinin belirli türleri (*Chrysanthemum cinerariaefolium* ve *Chrysanthemum cineum*)'ne ait çiçeklerin kurutularak toz haline getirilmesi ya da çiçeklerinde bulunan yağın aseton, asetik asit ve petrol eteri gibi çözücülerde özütlenmesi ile elde edilir (Metcalf,1985: WHO, 2005'den). Piretroidler, piretrinlerin sentetik analoğu olarak 1940'lardan beri üretilmektedir (Elliot, 1980).

Piretroidler hem ev hem de tarımsal amaçlar için çok yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Piretroidlerin başlıca avantajı, böceklerde oldukça toksik, memelilerde ise hızlı metabolizmadan dolayı düşük toksisiteye sahip olması ve toprakta birikmemesidir (Kakko, 2004).

Piretroidler, enzimatik biotransformasyonu, detoksifikasyonu ve atılımının yüksek oranlarda olmasından dolayı memelilerde düşük toksisiteye sahiptir. Memelilerle karşılaştırıldığında, örneğin tetramethrinin böceklerdeki etkisi 5 kat daha fazladır. Bu durum böceklerdeki vücut sıcaklığının kısmen düşük olması ve kısmen de daha yavaş olan enzimatik detoksifikasyondan dolayıdır. İnsektisidler böceklerdeki 15-20 °C'deki vücut sıcaklığında, 37 °C vücut sıcaklığı olan insanlara göre daha etkilidir (Casida ve Quistad, 2004). Ayrıca, böceklerin daha küçük olan vücutlarından dolayı, maddenin hedef bölgeye ulaşmadan önce detoksife edilmesi için daha az zamanları vardır. Fakat, piretroidlerin seçici toksisitesinde temel mekanizma böceklerin sinir sistemine ait sodyum kanallarının piretroidlere yüksek hassasiyet göstermesidir (Song ve Narahashi, 1996).

3.2.1.2.(2). Piretroidlerin Biyolojik Metabolizması

Piretroidler absorbe edildikten sonra vücutta başlıca yağ doku, mide, bağırsak, karaciğer, böbrek ve sinir sistemine hızla dağılırlar. Piretroidler memelilerde karaciğerde bulunan hidrolazlar ve sitokrom-P450-bağlı monooksijenazlar tarafından çok hızlı metabolize edilerek asit ve alkole dönüştürülürler (Crawford, 1981). Ticari piretroidler molekülün çok önemli yapısı olan ester grubuna sahiptir. Memelilerde *in vivo* olarak detoksifikasyonun ilk aşamasında muhtemelen spesifik olmayan karboksilazlar tarafından estere (cleavage) ayrılmasıdır. Daha sonra bu ayrılmayı sitokrom-P450 sisteminde hidroksilasyon reaksiyonları ve birkaç konjugasyon reaksiyonları takip eder (Kaneko ve ark., 1981; Heder ve ark., 2001). Memelilerde toksisitesinin düşük olması metabolitlerinin önemli derecede toksik olmadığını gösterir. Sıçanlara ağız yoluyla verilen alpha-cypermethrin, benzoik asidin sülfat konjugatı 3-(4-hydroxyphenoxy) olarak üreden ve dışkıdan atılır (IPCS, 1992). Bununla beraber, mesleki olarak piretroidlere maruz kalan insanlarda yapılan çalışmada ürede ana bileşiğin değişmeden bulunduğu da bildirilmiştir (Zhang et al., 1991; Chen et al., 1991). Bir defada ağız yoluyla verilen alpha-cypermethrinin yaklaşık %78'i ilk günde, %90'ı 4 gün içinde vücuttan atılır (IPCS, 1992). Ayrıca, alpha cyano grup taşıyan piretroidlerin cyano grubu olmayan piretroidlere göre vücuttan daha yavaş atıldığı bildirilmiştir (Litchfield, 1985; Kakko ve ark. 2004'den).

3.2.1.2.(3). Piretroidlerin Etki Yönü ve Toksik Etkileri

Piretroidler sinir sistemini etkileyerek sinir iletiminin bozulmasına neden olurlar. Memeli ve böceklerdeki zararlı etkinin belirtilerine göre iki tipe ayrılırlar. Permethrin, allethrin, tetramethrin gibi tip I piretroidler moleküllerinde α -cyano grubu içermezler. Deltamethrin, fenvalerate, cypermethrin ve alpha-cypermethrin gibi tip II piretroidler ise α -karbon pozisyonunda bir cyano grubu taşırlar. Her iki tip piretroidler memelilerin zehirlenmesinde farklı belirtiler gösterirler. Tip I piretroidler, titreme, aşırı uyarma, ataksi (beden işlevlerinde düzensizlik), sarsılma ve sonunda felce neden olur (T sendromu). Tip II piretroidlerle zehirlenmede ise, aşırı

tükürük salgılama, dış uyarılara aşırı hassasiyet, choreo-athetosis (istem dışı hareketler) ve felç (C sendromu) gözlenir (He, 1994). Genellikle tip II piretroidlerde, yapılarında bulunan α -cyano grubundan dolayı insektisid potansiyelinin daha fazla olduğu kabul edilir (Vijverberg ve ark., 1982; Tabarean ve Narahashi, 1998).

3.2.1.2.(4). Piretroidlerin Nörotoksik Mekanizması

Piretroidler, lipofilik yapısından dolayı sinir sistemine hızlı bir şekilde ulaşır (Aldridge, 1990) ve sinir dokusunun hücre membranına bağlanır. Lipofilik bileşikler oldukları için nöral dokudaki lipid tabakasına bağlanır. Bu bağlanma, membranın fosfolipid düzenini bozar ve membranın akışkanlığını değiştirir (Tähti ve ark., 1999; Kakko, 2004'den). Hücresel seviyede, piretroidler çeşitli biyokimyasal ve fizyolojik hedef bölgeleri üzerine etkilidir (Narahashi, 1996).

Piretroidler hem omurgalılar hem de omurgasızlarda aynı hedef temel bölgesinde etkilidir. Bu hedef bölge sinir membranının sodyum (Na^+) kanallarıdır. Fakat, memeli sodyum kanalı piretroidlere daha az hassastır (Narahashi, 1996; Zlotkin, 1999). Piretroidler Na^+ kanallarına yüksek affinite gösterirler ve toksik etkilerini bu kanalların fonksiyonlarında değişiklikler meydana getirerek gösterirler. Sodyum kanalı normalde depolarizasyon sırasında sadece birkaç milisaniye açık kalır. Oysa piretroidlerin Na^+ kanallarına bağlanması kanalın daha uzun süre açık kalmasına neden olur (Ruigt ve ark., 1987; Holloway ve ark., 1989). Tip I ve Tip II piretroidler sodyum kanalı üzerine aynı etkiye sahiptir fakat Tip II piretroidlerin kanalı daha uzun süre açık tuttıkları bildirilmiştir (Kakko, 2004). Cyano grup taşımayan Tip I piretroidler kısa ve birkaç düzineden daha az sayıda tekrar eden sinir uyarıları gönderilmesine neden olur. Diğer taraftan, cyano gruba sahip olan Tip II piretroidler Na^+ kanalının çok daha fazla süre açık kalmasına ve yüzlerce ya da binlerce tekrar eden sinir uyarılarına neden olurlar. Bazı durumlarda tekrarlı elektriksel uyarıların kanalı 30 saniyeden fazla açık tuttıkları bildirilmiştir.

Alicı (sensory) nöronlarda piretroidin deriyle temas etmesinden dolayı bölgesel bir etki olarak depolarizasyon meydana gelir, merkezi sinir sistemine iletilir. Normalde sinir membranının içi dışarıya oranla daha negatiftir (istirahat potansiyeli). Piretroidlerin membrana bağlanması sonucu, hücre içine sodyum akışının uzaması

sinir hücresi içinin, dışarıya oranla daha pozitif hale geçmesine ve böylece membranın depolarizasyonuna neden olur. Depolarizasyon eşik değere ulaştığı zaman, sinir uyarılarının sürekli iletimi sinir sisteminin çeşitli bölgelerinde başlatılabilir. Aynı zamanda membran depolarizasyonu, sinir uyarılarının artmasının baskılanması ve sinir sisteminin çeşitli bölgelerinde meydana gelebilecek uyarıların bloklanmasına neden olur. Yani, piretroidler sinaptik iletimi bozarak transmitter (kimyasal iletiyi sağlayan ve sinir hücreleri tarafından salgılanan maddeler) salınımını artırır ve depolarizasyon sinir iletimini bloke eder (Vijverberg ve Bercken, 1990). Böylece, aşırı-uyarılma, ataksi, sarsılma ve sonunda felç ile karakterize edilen sinir kaslarıyla ilgili bozukluklar meydana gelir (Narahashi, 2000).

3.2.1.2.(5). Alpha-cypermethrinin Özellikleri

Ticari Adı: Fastac, concord, fendona, renegade, bestox, zeplin, alpac, kortac, super takimethrin

Kimyasal Adı: (RS)- α -cyano-3-phenoxybenzyl (1R,S)-cis-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate

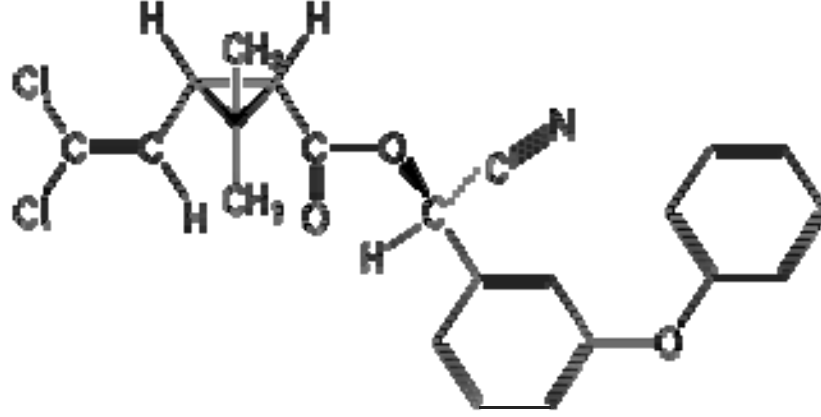
Kapalı Formülü: $C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$

Molekül Ağırlığı: 416.35

Erime Noktası: 79 °C

Cas No: 67375-30-8

Açık Formülü:



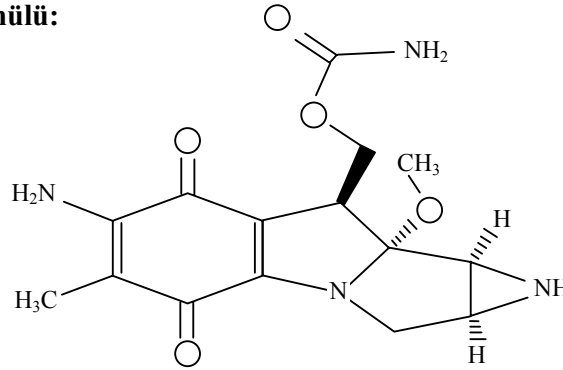
3.2.1.3. Mitomycin C (MMC) (Kyowa)

Mitomycin C bu çalışmada pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

Kimyasal adı: Mitomycin C

Kapalı formülü: $C_{15}H_{18}N_4O_5$

Açık formülü:



Molekül ağırlığı: 334.327 g/mol

Erime noktası: 360 °C

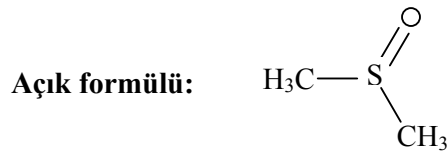
CAS No: 50-07-7

3.2.1.4. Dimethyl Sulfoxide (DMSO) (Sigma)

DMSO, bu çalışmada acetamiprid ve alpha-cypermethrinin eriticisi olarak kullanılmıştır.

Kimyasal adı: Dimethyl Sulfoxide (DMSO)

Kapalı formülü: C₂H₆SO yahut (CH₃)₂SO



Molekül ağırlığı: 78.13

Yoğunluğu: 1.1g/cm³

Kaynama noktası: 189 °C

Erime noktası: 18.4-190 °C

Safılık düzeyi: ≥99.9

CAS No: 67-68-5

Sigma No: 8418

3.2.1.5. Kromozom Medyumu

Biochrom firmasının ürettiği Chromosome Medium B (Cat No. F 5023), hücre kültürü yapmak için kullanılmıştır. Chromosome Medium B'nin her litresinde aşağıdaki bileşikler belirtilen miktarlarda bulunmaktadır:

MEM JOKLIK with	
Non essential Amino Acids.....	850 ml
Heparin.....	25.000 E
Penicillin G, Sodium Salt.....	75.000 E
Sterptomycin Sulphate.....	50 mg
Phytohemagglutinin L.....	2.5 mg

Bu medyum her tüpe 2.5 ml olacak şekilde steril kültür tüplerine steril şartlarda paylaştırılmış ve bu şekilde kullanılmıştır. Kültür tüpleri steril olarak temin edilmiştir.

3.2.1.6. Kolkisin (Sigma)

Kolkisin (Colchicine), preparatların hazırlanmasında mitotik zehir olarak kullanılmıştır. Kolkisin eriyiği steril saf su içerisinde hazırlanmış ve kromozom medyumunun her mililitresinde 0.06µg olacak şekilde (0.06 µg/ml) 2.5 ml’lik kromozom medyumuna ilave edilmiştir. Kolkisine ait özellikler aşağıda verilmiştir.

Kimyasal adı: Colchicine

Kapalı formülü: C₂₂H₂₅NO₆

Molekül ağırlığı: 399.4

Etil asetat içeriği: %3.4

Kloroform içeriği: <%0.1

Sigma No: C-9754

3.2.1.7. Hipotonik Eriyik

%0.4'lük KCl (Merck) hipotonik eriyik olarak kullanılmıştır. Bidistile su içerisinde stok halinde hazırlanan eriyik, ağzı kapalı cam kap içerisinde buzdolabında (+ 4 °C) saklanmıştır. Her preparasyondan yaklaşık bir saat önce yeterli miktarda hipotonik eriyik, 37 °C'deki inkübatörde ısıtılarak kullanılmıştır.

3.2.1.8. Fiksatif

KKD ve KA deneylerinde 1 hacim asetik asit'in 3 hacim metanol ile karıştırılması sonucu hazırlanan fiksatif kullanılmıştır.

MN deneyleri için birinci fiksatif, 1 hacim glasiyal asetik asit: 5 hacim metanol ve 6 hacim %0.9 NaCl (1/5/6 glasiyal asetik asit/metanol/%0.9'luk NaCl) karıştırılarak hazırlanmıştır. Diğer iki fiksatif ise 1 hacim glasiyal asetik asit ve 5 hacim metanol'ün (1/5 glasiyal asetik asit/metanol) karıştırılması ile hazırlanmıştır. Fiksatifler, her preparasyonda kullanılmadan iki saat önce hazırlanarak buzdolabında saklanmıştır.

3.2.1.9. 5'-Bromo-2'-deoxyuridine (BrdUrd) (Sigma)

BrdUrd kardeş kromatidlerin farklı boyanmasını sağlamak amacıyla kullanılmıştır. BrdUrd eriyiği steril saf su içerisinde hazırlanmıştır. Bu eriyikten 50 µl alınarak kültür tüplerine ilave edildiğinde kültür, son konsantrasyonu 10 µg/ml olacak şekilde BrdUrd içermiştir.

Kimyasal adı: 5'-Bromo-2'-deoxyuridine

Kapalı formülü: C₉H₁₁BrN₂O₅

Molekül ağırlığı: 307.10 g/mol

Erime noktası: 191-194 °C

CAS No: 59-14-3

Sigma No: B 5002

3.2.1.10. Sorensen Tamponu

Bu eriyik, Sorensen Tamponu A ve Sorensen Tamponu B olmak üzere iki stok çözelti halinde hazırlanmıştır ve bu çözeltiler çalışmanın amacına uygun olarak birbirleriyle değişik miktarlarda karıştırılarak kullanılmıştır.

Hazırlanışı

Sorensen Tamponu A: 11.34 gr KH_2PO_4 250 ml saf su içerisinde eritilmiştir (pH = 4.8).

Sorensen Tamponu B: 14.83 gr $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 250 ml saf su içerisinde eritilmiştir (pH = 9.3).

KKD'yi incelemek amacıyla preparat yapımı sırasında preparatlar Sorensen tamponu içerisinde UV lambası ile ışınlandırılmıştır. Ayrıca bu tampon % 5'lik Giemsa boyası hazırlanmasında da kullanılmıştır.

3.2.1.11. Standart Saline Citrate (SSC) Eriyiği

11.05 gr tri sodyum sitrat ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) tartılarak bir miktar saf su içerisinde eritilmiştir. Daha sonra 21.9 gr NaCl tartılarak yine saf su içerisinde ayrı bir kaptan eritilmiştir. İki eriyik, bir şişeye dökülerek iyice karıştırılmış ve üzerine 500 ml oluncaya kadar saf su ilave edilmiştir. Hazırlanan bu stok eriyik 5 X SSC'dir ve bu eriyik buzdolabında saklanmıştır. KKD'ni incelemek için deney yapılırken bu stoktan 20 ml alınarak üzeri 100 ml oluncaya kadar saf su ile tamamlanmış ve bu şekilde hazırlanmış 1 X SSC eriyiği kullanılmıştır.

3.2.1.12. Giemsa (Merck)

Giemsa boyası Merck firmasından (Cat. No. 9204) temin edilmiş olup, deneylerimizde Sorensen tamponu içinde hazırlanmış % 5'lik boya eriyiği kromozomları ve MN testinde nükleusları boyamak için kullanılmıştır.

3.2.1.13. Entellan (Merck)

Hazırlanan preparatları daimi hale getirmek amacıyla lam ile lameli birbirlerine yapıştırmak için kullanılan şeffaf yapıştırıcı sıvıdır (Cat. No. 7961).

3.2.1.14. Nitrik Asit (HNO₃)

HNO₃ çözeltisi lamaları temizlemek amacıyla kullanılmıştır. Hazırlanan 1N HNO₃ çözeltisi plastik şişede saklanarak tekrar tekrar kullanılmıştır.

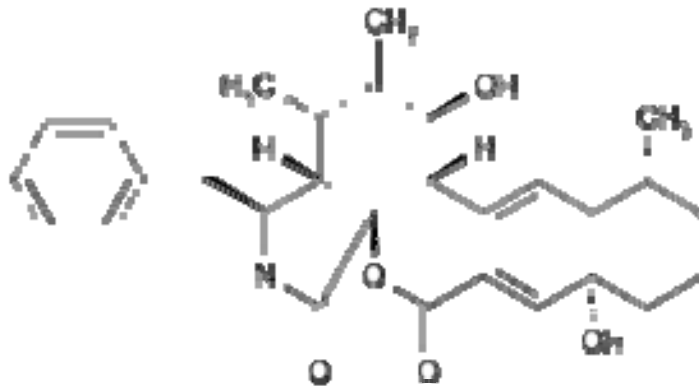
3.2.1.15. Cytochalasin B (Sigma)

Mikronükleus testinde, hücre bölünmesi sırasında sitokinezi engellemek ve iki nükleuslu hücreler oluşturmak amacıyla kullanılmıştır.

Kimyasal adı: Cytochalasin B

Kapalı formülü: C₂₉H₃₇NO₅

Açık formülü:



Molekül ağırlığı: 479.61 g/mol

Erime noktası: 218-223 °C

Kaynama noktası: 218-223 °C

Safılık düzeyi: %98

CAS No: 14930-96-2

Sigma No: C-6762

3.2.2. Kullanılan Deney Ekipmanları

3.2.2.1. Hassas Terazî

Hava akımlarına karşı özel cam paravanlarla korunan ve 0.0001 gr hassasiyetindeki GEC AVERY marka terazi kimyasalların tartılmasında kullanılmıştır.

3.2.2.2. Santrifüj

Çalışmalarda rotor çapı 18 cm, 4000 rpm'e kadar yükselebilen devir hızı, 99 dakikalık zaman ayarlayıcı ve 28 tüp kapasiteli HETTICH UNIVERSAL marka santrifüj kullanılmıştır.

3.2.2.3. Mikroskop

Koordinat cetveli ve immersiyon objektifi olan MICROS AUSTRIA marka ışık mikroskobu preparatları incelemek için kullanılmıştır.

3.2.2.4. İnkübatör

Hücre kültürünün yapılmasında ve bazı eriyiklerin ısıtılmasında DEDEOĞLU marka 0–100 °C ayarlanabilir inkübatör kullanılmıştır.

3.2.2.5. Flow Kabin (Steril Kabin)

Hücre kültürü tüplerine kan ekiminin yapılması, test solüsyonlarının hazırlanması ve kültür tüplerine ilave edilmesi sırasında steril bir ortam olarak, % 99.9 partikül tutma özellikli filtreye sahip, 1500 m³/h emiş kapasiteli, UV ve floresan ışığı olan LABORMED marka flow kabin kullanılmıştır.

3.2.2.6. Su Banyosu

Hücre kültürü preparatları hazırlandıktan sonra, kardeş kromatidlerin farklı boyanmasında kullanılan SSC eriyiğinin 58-60 °C’de sabit kalmasını sağlamak amacıyla BM 302 NÜVE marka 0–60 °C ayarlanabilir, zaman ayarlı su banyosu kullanılmıştır.

3.3. Lamların Temizlenmesi

Kültür süresinin bitiminden iki gün önce etiketli olan lamlar dik şaleye dizilerek lamların üzeri iyice örtülecek şekilde 1 N HNO₃ çözeltisi ile doldurulmuştur. Şalenin ağzı kapatılarak 24 saat bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda lamlar, 30 dakika boyunca akan musluk suyunda iyice yıkanmıştır. 3-4 defa saf sudan geçirildikten sonra şale saf su ile doldurularak buzdolabında saklanmıştır.

3.4. Sterilizasyon**3.4.1. BrdUrd Eriyiğinin Sterilizasyonu**

BrdUrd eriği steril bir erlen içinde bulunan ve steril olan saf su içerisinde 5'-bromo-2'-deoxyuridine maddesinin eritilmesiyle hazırlanmıştır. Bu eriyik steril şartlarda por çapı 0.2µm olan bakteri filtresinden (Sartorius, membran filtre) geçirilerek steril edilmiştir. Daha sonra ağzı vida kapaklı steril kültür tüplerine konularak ışık görmeyecek şekilde buzdolabında saklanmıştır.

3.5. Kardeş Kromatid Değişimi (KKD) ve Kromozom Anormalliklerini (KA) Saptamak Amacıyla Hücre Kültürünün Yapılması, Preparatların Hazırlanması ve Boyanması**3.5.1. Hücre Kültürünün Yapılması ve Preparatların Hazırlanması**

Sağlıklı ve sigara içmeyen üç bayan (23-24 yaşlarında) ve üç erkekte (24 yaşlarında) alınan 1/10 oranında heparinize edilmiş periferik kan örneklerinden 6 damla (0.2 ml) steril şartlarda 2.5 ml'lik kromozom medyumuna ekilmiştir (Rencüzoğulları ve Topaktaş, 1991). Yine steril şartlarda daha önce hazırladığımız BrdUrd eriğinde her tüpe son konsantrasyonu 10µg BrdUrd/ml olacak şekilde ilave edilerek iyice karıştırılmıştır ve hücre kültürü 37±1 °C'de 72 saat boyunca inkübe edilmiştir.

Acetamipridin etkisini incelemek için 25, 30, 35, 40 µg/ml acetamiprid, alpha-cypermethrinin etkisini incelemek için 5, 10, 15, 20 µg/ml alpha-cypermethrin, acetamiprid ve alpha-cypermethrinin birlikte meydana getireceği etkiyi incelemek için tek başına kullanılan konsantrasyonların yarısı kadar konsantrasyonlar kullanılarak (Acm+A-cyp; 12.5+2.5, 15+5, 17.5+7.5, 20+10 µg/ml) acetamiprid+alpha-cypermethrin karışımı kültür bitiminden 24 ve 48 saat önce kültür tüplerine ilave edilmiştir. Ayrıca her deneyin bir kontrolü, DMSO ilave edilmiş bir eritici kontrolü ve MMC ilave edilmiş pozitif kontrolü vardır. Eritici kontrolde, her

kültür tüpüne 8 µl/ml olacak şekilde DMSO konmuştur. Pozitif kontrolde kültür tüpüne MMC son konsantrasyonu 0.25 µg/ml olacak şekilde ilave edilmiştir.

Kültür süresinin bitiminden 2 saat önce (kültürün 70. saatinde) her tüpe hazırlanan kolkisin eriyiğinden 50 µl (0.06 µg/ml) ilave edilmiş ve tüpler hafifçe sallanarak karıştırılmıştır.

Kültür süresinin sonunda (72. saatin bitiminde) kültür tüpleri 1200 rpm'de 15 dk. santrifüj edilmiş ve süpernatant atılmıştır. Dipte kalan hücreleri içeren 0.5-0.7 ml'lik sıvı iyice karıştırıldıktan sonra tüplere, etüvde 37 °C'ye kadar ısıtılmış olan hipotonik eriyik ilave edilmiştir. Bu eriyiğin ilavesi hücrelerde kümeleşmeyi engellemek için damla damla ve karıştırılarak yapılmış ve hücre süspansiyonu pipetaj yapılarak homojen hale getirilmiştir. Her tüpe 5 ml hipotonik eriyik ilave edildikten sonra ağzı kapatılan tüpler inkübatöre konmuştur. Hücreler 37 °C'de 15 dk. boyunca hipotonik eriyik ile muamele edilmiştir. Sürenin sonunda hücre süspansiyonu santrifüj edildikten (1200 rpm'de 15 dk.) sonra süpernatant atılmıştır.

Daha sonra hipotonik eriyik ilavesinde olduğu gibi yavaş yavaş ve karıştırılarak her tüpe 5 ml olacak şekilde soğuk fiksatif (1/3 glasiyal asetik asit: metanol) ilave edilmiştir. Oda sıcaklığında 20 dk. fiksatif ile muamele edilen hücreler 1200 rpm'de 15 dk. santrifüj edilmiş ve süpernatant atıldıktan sonra tüplere tekrar fiksatif ilave edilmiştir. Bu işlem üç kere tekrarlanmıştır. Üçüncü fiksatif muamelesinin sonunda tüpte kalan sıvının tamamen berraklaştığı görülmüştür. Son santrifüjden sonra dipte 0.5-0.7 ml sıvı kalacak şekilde süpernatant atılmış ve preparat yapma işlemine geçilmiştir.

Tüpün dipinde kalan hücreler pasteur pipeti ile karıştırılarak homojen hale getirilmiş ve içine 4-5 damla olacak şekilde hücre süspansiyonundan çekilmiştir. Özel olarak hazırlanmış düzeneğe tutturulan pasteur pipetinden daha önce temizlenmiş ve saf su içerisinde buzdolabında saklanan lamın üzerine 75 cm yükseklikten farklı alanlara birer damla olmak üzere hücre süspansiyonu damlatılarak hücrelerin ve dolayısıyla kromozomların lam üzerine yayılması sağlanmıştır.

Bu şekilde hazırlanan preparatların 24 saat oda sıcaklığında bekletilerek kuruması sağlanmıştır.

3.5.2. Preparatların Boyanması ve Daimi Preparatların Hazırlanması

Bir kromozoma ait kromatidlerin farklı boyanmasını (Sister Chromatid Differentiation = SCD) sağlamak amacıyla Speit (1984), Speit ve Haupter'in (1985) geliştirdikleri metod modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu amaçla bir günlük preparatlar ışınlama kabına konarak üzeri bir film şeklinde Sorensen tamponu ile örtülecek şekilde kapatılmıştır. Işınlama eriyiği 5 ml Sorensen Tampon A, 5 ml Sorensen Tampon B alınıp bu karışımın distile su ile 100 ml'ye tamamlanmasıyla hazırlanmıştır (pH=6.8). Işınlama eriyiğinin az ya da fazla olmasının kardeş kromatidler arasındaki kontrast farkını önemli derecede etkilediği görülmüştür.

Bu şekilde ince bir tabaka halinde ışınlama eriyiği ile örtülen preparatlar, karanlıkta 15 cm yükseklikten 30 W'lık 254 nm dalga boyunda ışık yayabilen tek ultraviole lambası ile 30 dk. ışınlandırılmıştır.

Işınlama bittikten sonra preparatlar 1 X SSC eriyiği içerisinde 58-60 °C'de 60 dk. inkübe edilmiştir.

İnkübasyon süresi bitmeden 15 dk. önce %5'lik Giemsa boya eriyiği hazırlanmıştır.

%5'lik Giemsa boyasının hazırlanması: 5 ml tampon A, 5 ml tampon B ve 5 ml Giemsa karıştırılarak üzerine 100 ml oluncaya kadar saf su ilave edilmiştir. (pH=6.8). Sonra bu boya dik bir şale içerisine filtre kağıdı yardımıyla süzölmüştür.

İnkübasyon süresinin sonunda preparatlar 1X SSC eriyiğinden alınarak doğrudan boya içerisine konmuş ve yaklaşık olarak 25 dk. boya içerisinde bekletilmiştir (Kardeş kromatidlerin arasındaki en iyi kontrast farkı bu sürenin sonunda elde edilmiştir). Bu sürenin sonunda preparatlar boyadan çıkarılmış ve üç ayrı kaptaki saf sudan geçirilerek preparatların üzerindeki fazla boyanın akması sağlanmıştır. Bundan sonra preparatlar dik vaziyette kurumaya bırakılmıştır.

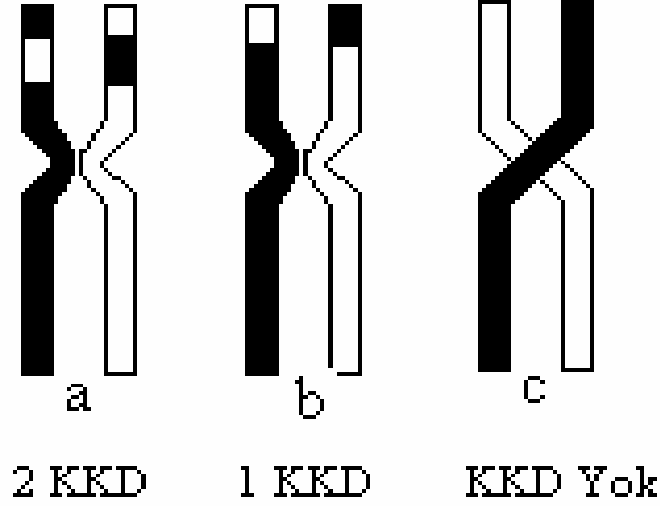
Boyanmış preparatlar kuruduktan sonra entellan ile kapatılarak daimi hale getirilmiştir.

3.6. Daimi Preparatlarda Mikroskopik İnceleme

Hazırlanmış olan daimi preparatlar MICROS AUSTRIA marka ışık mikroskopunda immersiyon objektifi ile incelenmiştir (10X100=1000 büyütme). Bu incelemeler sırasında kardeş kromatid değişimi sayısı (KKD) ve kromozomal anormallikler belirlenmiştir. Aynı preparatlarda birinci, ikinci ve üçüncü mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerin sayısı saptanmıştır. Bu incelemeler sonunda proliferasyon indeksi (PI) ve mitotik indeks (MI) saptanmıştır.

3.6.1. KKD Sayısı ve Proliferasyon İndeksi (PI)'nin Saptanması**3.6.1.1. KKD Sayısının Saptanması**

KKD sayısı, her kişinin kan kültürüne ait preparatlarda iyi dağılmış ve ikinci mitozu geçiren 25 hücrede (altı kişiden toplam 150 hücre) saptanmıştır. KKD sayısı bir kromozomun açık boyanmış kromatidindeki koyu boyanmış parçaların veya koyu boyanmış kromatidindeki açık boyanmış parçaların sayılmasıyla belirlenmiştir. Ortadan bir parça değişimi olmuş ise bu iki KKD olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.1.a). Uçtan parça değişimi olmuş ise bu da bir KKD olarak sayılmıştır (Şekil 3.1.b). Ancak bu incelemeler esnasında kromatidlerin primer boğum bölgelerinden dönüm yapıp yapmadıklarına dikkat etmek gerekir. Bu durumda kromozomlarda KKD yoktur (Şekil 3.1.c).



Şekil 3.1. Kardeş Kromatid Değişimi Olduğu ve Olmadığı Durumun Şematik Olarak Gösterilmesi (Topaktaş ve Speit, 1990).

3.6.1.2. Proliferasyon İndeksinin (PI) Saptanması

Acetamiprid, alpha-cypermethrin ve karışımlarının DNA replikasyonu üzerine etkilerini araştırmak amacıyla PI hesaplanmıştır. Her kişinin kan kültüründen yapılan preparatlardan tesadüfi seçilmiş 100 hücrenin incelenmesiyle PI belirlenmiştir. Bu incelemeler sırasında gözlenen birinci, ikinci ve üçüncü mitoz bölünmeyi geçiren hücreler sayılmıştır. Bu verilerden yola çıkılarak her bir kişinin kan kültüründeki PI şu şekilde hesaplanmıştır:

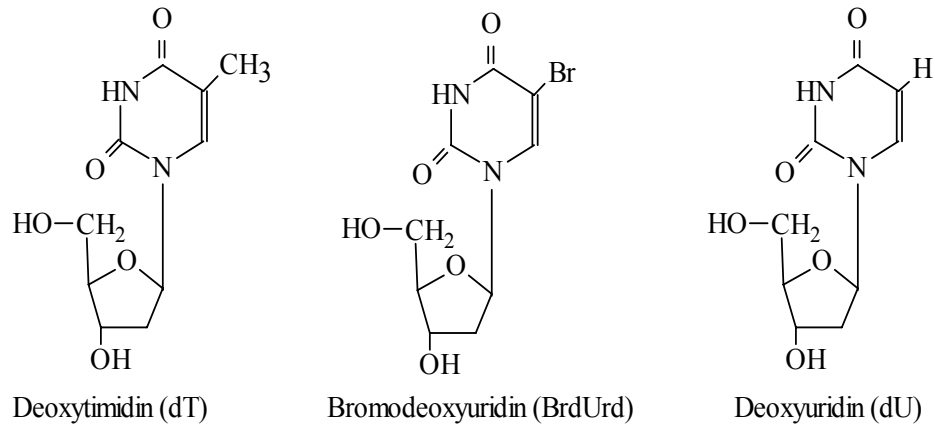
$$PI = \frac{1 \times (M1) + 2 \times (M2) + 3 \times (M3)}{100}$$

M1: Birinci mitozu geçiren hücrelerin sayısı

M2: İkinci mitozu geçiren hücrelerin sayısı

M3: Üçüncü mitozu geçiren hücrelerin sayısı

Birinci, ikinci ve üçüncü metafaz plakları, Topaktaş ve Speit (1990)'a göre ayırt edilmiştir. BrdUrd, deoxytimidin (dT) ve deoxyuridin (dU) birbirlerinin anoluğu olan bileşiklerdir. BrdUrd, dT ve dU arasındaki tek fark taşıdıkları heterosiklik benzen halkasındaki beşinci C atomuna bağlanan grupların farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Beşinci C atomuna bağlanan grup dT'de CH₃, BrdUrd'de Br ve dU'de H atomudur (Şekil 3.2).

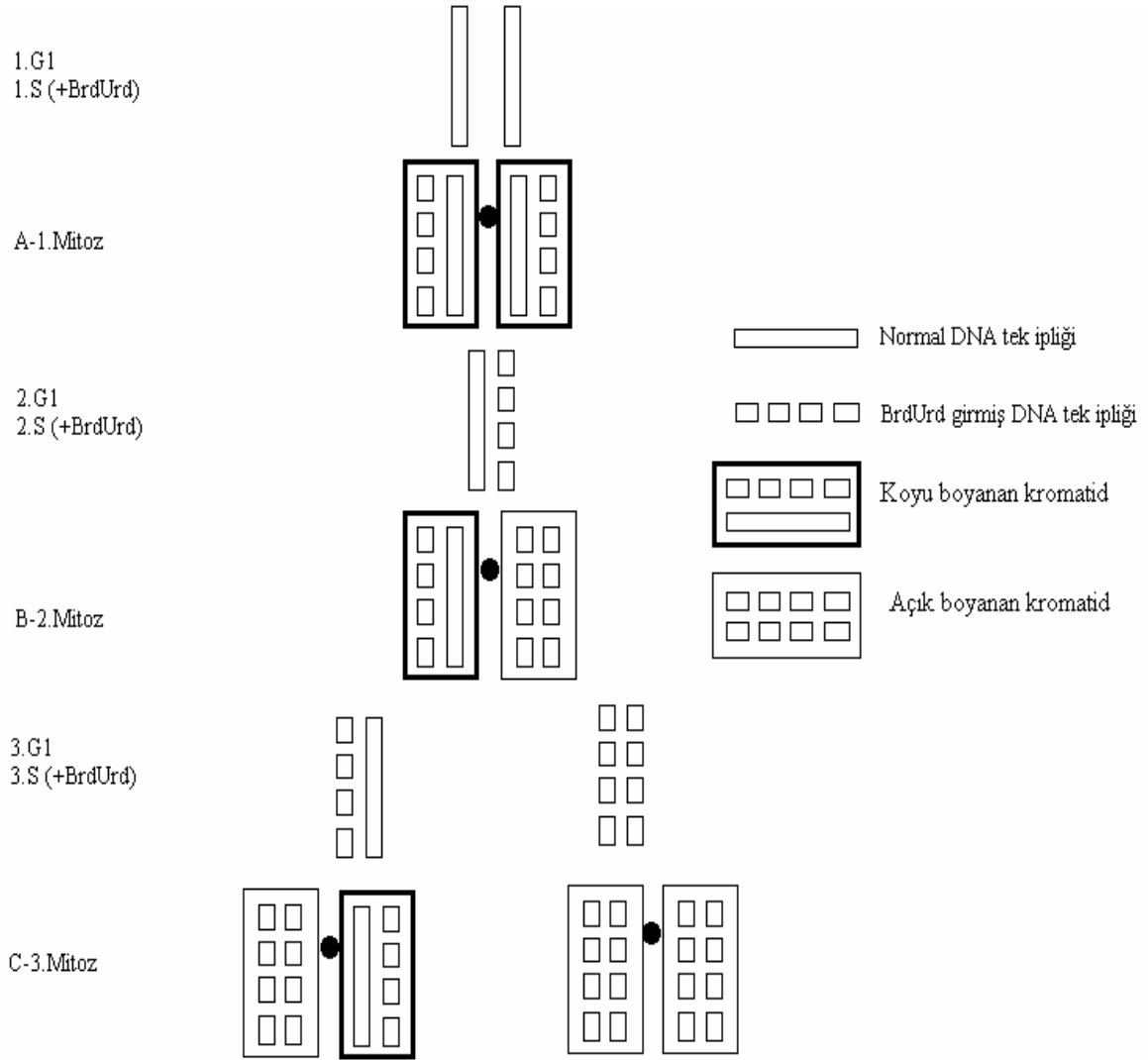


Şekil 3.2. Deoxytimidin (dT), Bromodeoxyuridin (BrdUrd) ve Deoxyuridin(dU)'in kimyasal yapıları.

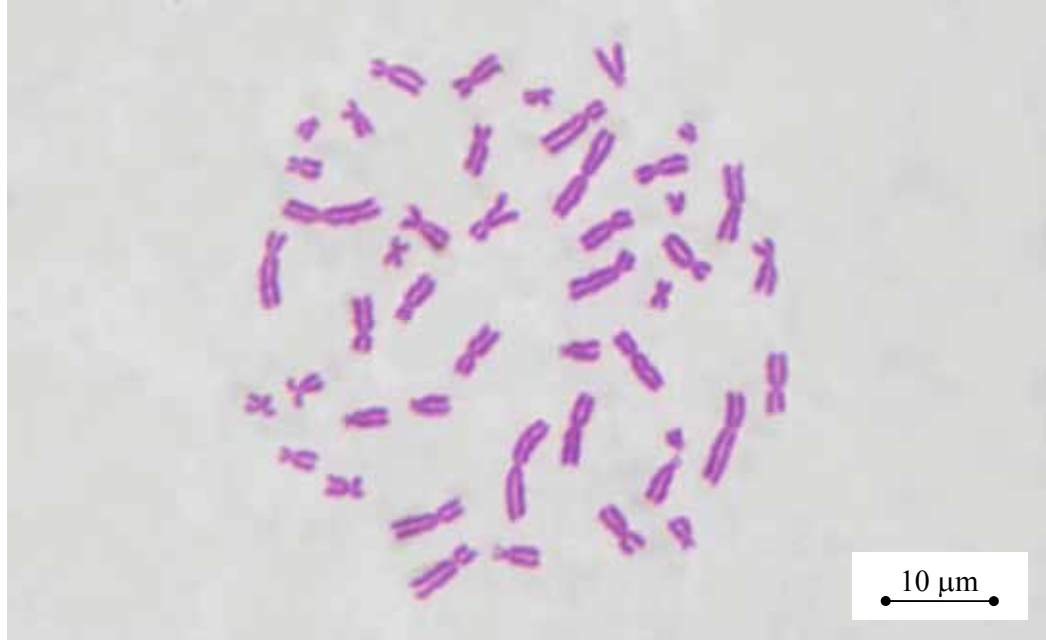
BrdUrd, DNA'nın yapısında bulunan timidin nükleosidinin anoluğu olduğundan dolayı kültür ortamına BrdUrd eklendiğinde hücreler DNA'larını replike ettikleri sırada (birinci S fazında) yeni sentezlenen polinükleotid ipliği içine timin nükleotidi yerine ortamda bulunan 5'-bromurasil (BrdUrd) nükleotidi geçer. Böyle hücrelerin kromozomları boyandığında bir kromozomun her iki kromatidi de (dT/BrdUrd:dT/BrdUrd) homojen koyu renkte boyanır. Bu hücreler birinci mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerdir (Şekil 3.3 A; Şekil 3.4). Birinci mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerden meydana gelen yavru hücreler tekrar S fazına girdiklerinde (BrdUrd'li ortamda ikinci S fazı) timin içeren polinükleotid ipliğine komplementer olarak sentezlenen yeni DNA ipliğinde BrdUrd yer alır. Bu iki polinükleotid ipliği bir kromozomun koyu boyanan kromatidini (dT/BrdUrd) oluşturur. BrdUrd içeren

ipliğe komplementer olarak sentezlenen yeni ipliğe de BrdUrd girer ve bir kromatidi oluşturan iki polinükleotid ipliği de BrdUrd içereceğinden (BrdUrd/BrdUrd) bu kromatid, aynı kromozomun açık boyanan kromatidini oluşturur. İşte bu hücrenin metafaz devresinde kromozomlar boyandığında, tüm kromozomların kromatidlerinden birisi koyu diğeri açık renkte boyanır (dT/BrdUrd:BrdUrd/BrdUrd). Bunlar da ikinci mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerdir (Şekil 3.3 B ve Şekil 3.5). Bu hücreler de tekrar S fazına girdiğinde (BrdUrd’li ortamda üçüncü S fazı) ikinci mitozda açık boyanan kromatidden tüm polinükleotid ipliklerine BrdUrd girmiş olan bir kromozom meydana gelir ve bu kromozomun her iki kromatidi de açık boyanır (BrdUrd/BrdUrd:BrdUrd/BrdUrd). İkinci mitozda koyu boyanan kromatidden ise, bir kromatidin her iki ipliği BrdUrd’li ve diğeri kromatidinin bir ipliği BrdUrd’li diğeri ipliği timinli olan bir kromozom oluşur. Bu kromozom da boyandığında bir kromatidi koyu renkte (dT/BrdUrd), diğeri kromatidi açık renkte (BrdUrd/BrdUrd) boyanır. Böyle hücrelerin metafaz devresinde kromozomlar boyandığında bazı kromozomların her iki kromatidi de açık, bazı kromozomların bir kromatidi koyu, diğeri kromatidi açık boyanır. Bu hücreler de üçüncü mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerdir (Şekil 3.3 C ve Şekil 3.6).

Birinci, ikinci ve üçüncü mitoz bölünmeyi geçiren hücreler bu şekilde ayırt edilerek, her bir preparatta 100 hücre içinde bu hücrelerin sayısı saptanmış ve elde edilen veriler kullanılarak yukarıdaki formüle göre PI hesaplanmıştır.



Şekil 3.3. BrdUrd'nin DNA Yapısına Girmesi ile Birinci, İkinci ve Üçüncü Mitoz Bölünmeyi Geçiren Hücrelerin Ayırt Edilmesinin Şematik Olarak Açıklanması (During, 1985; Topaktaş ve Speit, 1990'dan).



Şekil 3.4. Birinci mitoz bölünmeyi geçiren hücrenin metafaz kromozomları (X1000).



Şekil 3.5. İkinci mitoz bölünmeyi geçiren hücrenin metafaz kromozomları (X1000).



Şekil 3.6. Üçüncü mitoz bölünmeyi geçiren hücrenin metafaz kromozomları (X1000).

3.6.2. Kromozom Anormallikleri (KA) ve Mitotik İndeksin (MI) Saptanması

3.6.2.1. Kromozom Yapı ve Sayı Anormalliklerinin Saptanması

KA'ni belirlemek için her bir kişiden hazırlanan preparatlardan iyi dağılmış kromozomlara sahip toplam 100 hücre (altı kişiden toplam 600) incelenmiştir. İnceleme sırasında, bu hücrelerde gözlenen kromatid kırığı, kromozom kırığı, fragment, kromatid değişimi, disentrik kromozom, kardeş kromatid birleşmesi, halka kromozom gibi yapısal (kromozom tipi ve kromatid tipi anormallikler) ve sayısal kromozom anormallikleri Paz-y-Miño ve ark. (2002)'na göre kaydedilmiştir. Bu incelemeler sonucunda saptanan kromozom aberasyonları kromatid tipi anormallikler, kromozom tipi anormallikler ve kromozom sayısı anormallikleri olmak üzere üç grup içerisinde değerlendirilmiştir. Kromatid tipi anormallikler kromatid kırığı, kromatid değişimi ve kardeş kromatid birleşmesi gibi anormallikleri

içermektedir. Kromozom tipi anormallikler içerisinde ise kromozom kırığı, fragment, disentrik kromozom ve halka kromozomları yer almaktadır. Kromozom sayı anormalliklerini ise poliploidi ve endoreduplikasyon oluşturmaktadır. Saptanmış olan kromozom aberasyonlarından hücre başına düşen yapısal kromozom anormalliği, hücre başına düşen toplam kromozom anormalliği ve kromozom aberasyonu içeren anormal hücre yüzdesi hesaplanmıştır.

Bu çalışmada gap'lar anormallik olarak değerlendirilmemiştir. Gap'lar ile kromatid ve kromozom tipi kırıklar arasındaki farklar, Kauderer ve ark. (1991)'nın bildirdiğine göre Preston (1987)'a uygun olarak şu şekilde ayırt edilmiştir:

Gap'larda, kromatidin birinde (kromatid tipi gap) veya kromatidin her ikisinde (kromozom tipi gap) görülen boyanmamış bölge, bir kromatidin genişliğinden daha azdır. Kırıklarda bir kromatiddeki (kromatid tipi kırık) veya her iki kromatiddeki (kromozom tipi kırık) boyanmamış bölge bir kromatidin genişliğinden daha fazladır. Gap ile kromatid veya kromozom kırıkları, bu ölçülere göre birbirinden ayırt edilmiştir.

3.6.2.2. Mitotik İndeksin (MI) Saptanması

Acetamiprid, alpha-cypermethrin ve bunların karışımının mitoz bölünme üzerine etkilerini belirlemek amacıyla MI saptanmıştır. MI'ı belirlemek için her kişinin her konsantrasyonuna ait preparatlarda toplam 3 bin hücre incelenmiş ve bunlar arasında mitoz bölünme geçiren hücrelerin sayısı kaydedilmiştir. 3 bin hücre içinde mitoz bölünme geçiren hücrelerin oranı yüzde cinsinden hesaplanarak MI saptanmıştır.

3.7. Mikronükleus (MN) Testi İçin Hücre Kültürünün Yapılması, Preparatların Hazırlanması ve Boyanması**3.7.1. Hücre Kültürünün Yapılması ve Preparatların Hazırlanması**

In vitro mikronükleus testinde Rothfuss ve ark. (2000)'nın geliştirdikleri yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu yönteme göre, sağlıklı insanlardan alınan periferik kanın 0.2 ml'si, 2.5 ml kromozom medyumuna ekilmiş ve hücreler 37 ± 1 °C'de 68 saat inkübe edilmiştir. Çalışmada kullanılan insektisidlerin ve bunların karışımının etkisini belirlemek için 25, 30, 35, 40 µg/ml konsantrasyonlarındaki acetamiprid; 5, 10, 15, 20 µg/ml konsantrasyonlarındaki alpha-cypermethrin; 12.5+2.5, 15+5, 17.5+7.5, 20+10 µg/ml konsantrasyonlarındaki acetamiprid+alpha-cypermethrin karışımı kültür ortamına, kültürün başlangıcından 20 ve 44 saat sonra ilave edilmiştir. Ayrıca her deneyin bir kontrolü, bir eritici kontrolü ve bir pozitif kontrolü vardır. İnkübasyonun başlangıcından 44 saat sonra her tüpe konsantrasyonu 8 µg/ml olacak şekilde sitokalsin-B maddesi ilave edilmiş ve böylece bölünen hücrelerde sitokinez engellenmiştir. İnkübasyonun sonunda, kültür tüpleri 1200 rpm'de 15 dk. santrifüj edilerek süpernatant atılmış ve hücreler hipotonik eriyikle (%0.4 KCl) 37 ± 1 °C 'de 10 dakika muamele edilmiştir. Hipotonik eriyik, kültüre yavaş yavaş ve pipetaj yapılarak ilave edilmiştir. Hipotonik eriyik ile muamelenin ardından kültür tüpleri 1200 rpm'de 15 dk. santrifüj edilmiş ve süpernatant atılarak birinci fiksatif (1/5/6= glasiyal asetik asit/metanol/%0.9 NaCl) ile muamele edilmiştir. Birinci fiksatif ile oda sıcaklığında 20 dakika muameleden sonra 1200 rpm'de 15 dk. daha santrifüjlenen tüplere iki kez glasiyal asetik asit/metanol (1/5) ilavesi yapılarak 20 dakika oda sıcaklığında fiksatif muamelesi yapılmıştır. Sonra santrifüj yapılarak süpernatant atılmış ve kültür tüplerinin dibinde toplanmış olan hücreler resüspanse edilmiştir. Daha sonra, hücre süspansiyonu soğuk ve temiz lamalar üzerine 10 cm yükseklikten damlatılarak preparatlar hazırlanmıştır.

3.7.2. Preparatların Boyanması

Hazırlanan preparatlar bir gün sonra Sorensen tamponunda hazırlanmış %5'lik Giemsa boyası ile 13-15 dk. boyanmış ve üç ayrı kapta bulunan saf sudan geçirilerek kurumaya bırakılmıştır. Kuruma işleminden sonra preparatlar entellan ile kapatılarak incelemeye hazır hale getirilmiştir.

3.8. Mikronükleus Testi İçin Hazırlanan Preparatlarda Mikroskopik İnceleme

Hazırlanan daimi preparatlar MICROS AUSTRIA marka ışık mikroskopunda 10 X 40=400 büyütmede incelenmiştir.

3.8.1. Mikronükleus Sayısı ve Nükleus Bölünme İndeksinin (NBI) Saptanması

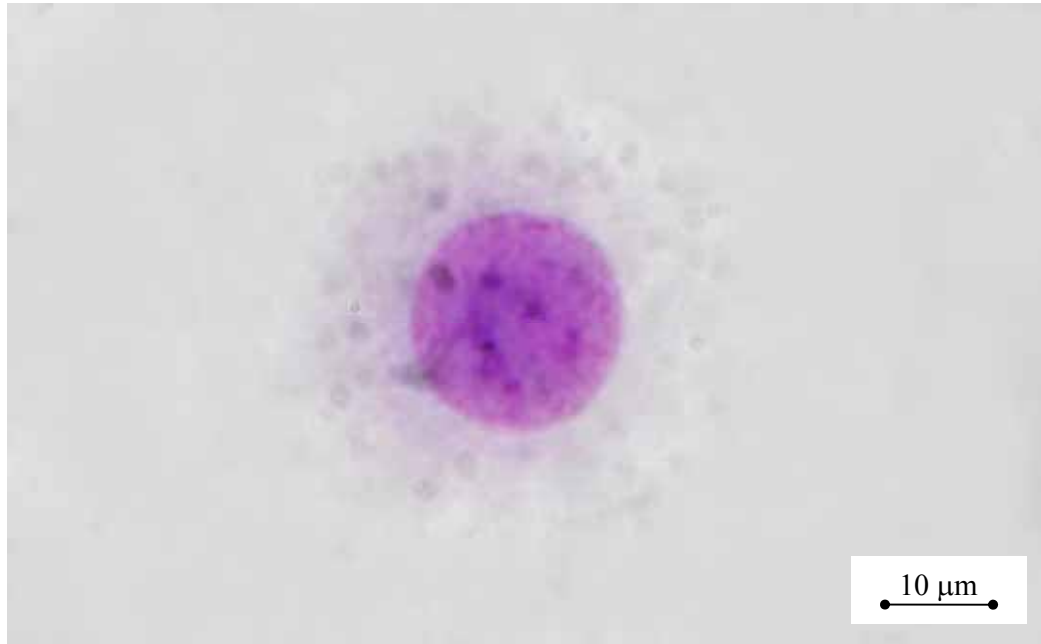
Mikronükleus sayısını belirlemek amacıyla her bir kişiye ait daimi preparatlarda her kişinin, her muamele grubu ve kontrollerinde iki nükleusa sahip (binükleer) toplam 2000 hücre (Şekil 3.8) incelenmiş ve bu binükleer hücreler içerisinde mikronükleuslu olanlar saptanmıştır. Ayrıca incelenen hücrelerde toplam mikronükleus sayısı belirlenmiştir. Mikronükleus taşıyan iki nükleuslu hücrelerin toplam hücre sayısına oranlaması ile mikronükleuslu hücre oranı, toplam mikronükleus sayısının incelenen iki nükleuslu hücre sayısına bölünmesiyle ise hücre başına düşen mikronükleus sayısı (MN/hücre) hesaplanmıştır. Bundan da MN %'si belirlenmiştir.

Binükleer hücre ve mikronükleus ayırımı Titenko-Holland ve ark. (1997) ve Fenech (2000)'e göre yapılmıştır: (1) Hücreler belirgin sitoplazmasıyla yuvarlak ya da oval görünüme sahip olmalıdır; (2) Benzer olarak, nükleuslar belirgin nükleus zarıyla çevrili yuvarlak ya da oval olmalıdır; (3) İçerisinde MN sayılan hücreler sadece bir nükleus bölünmesi geçiren hücrelerdir; (4) MN'lar sadece ana nükleusun 1/3'ü ya da daha küçük olduklarında hesaba katılmalıdır; (5) MN'lar ana nükleus gibi boyanmalıdır; (6) MN'lar ana nükleustan açık bir şekilde ayrılmış olmalıdır.

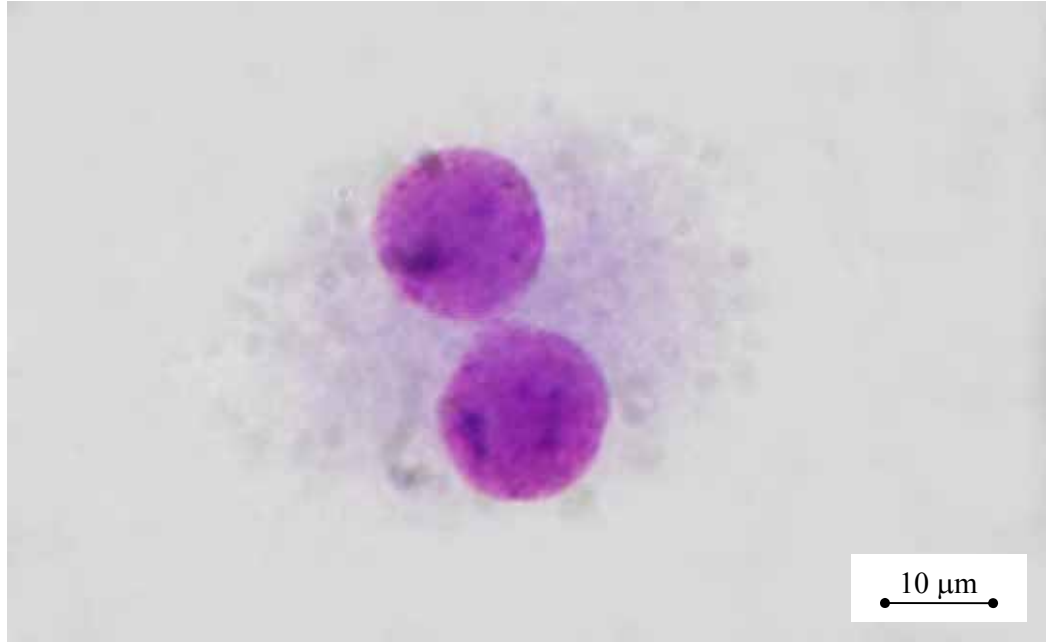
Sitokinez bloklama yönteminin en önemli yararı, bölünen hücre popülasyonunda nükleus bölünmesinin ilerleyişini ve çoğalmasını ölçebilmesidir. Bu durum, sitokalsin B ilavesinin ardından oluşan bir nükleuslu, iki nükleuslu, multinükleuslu (>2) hücrelerin sayılmasıyla yapılır. Nükleus bölünme indeksi (NBI) Eastmond ve Tucker (1989) tarafından önerilen formüle göre hesaplanmıştır.

$$NBI = (MI + 2MII + 3 MIII + 4 MIV) / N$$

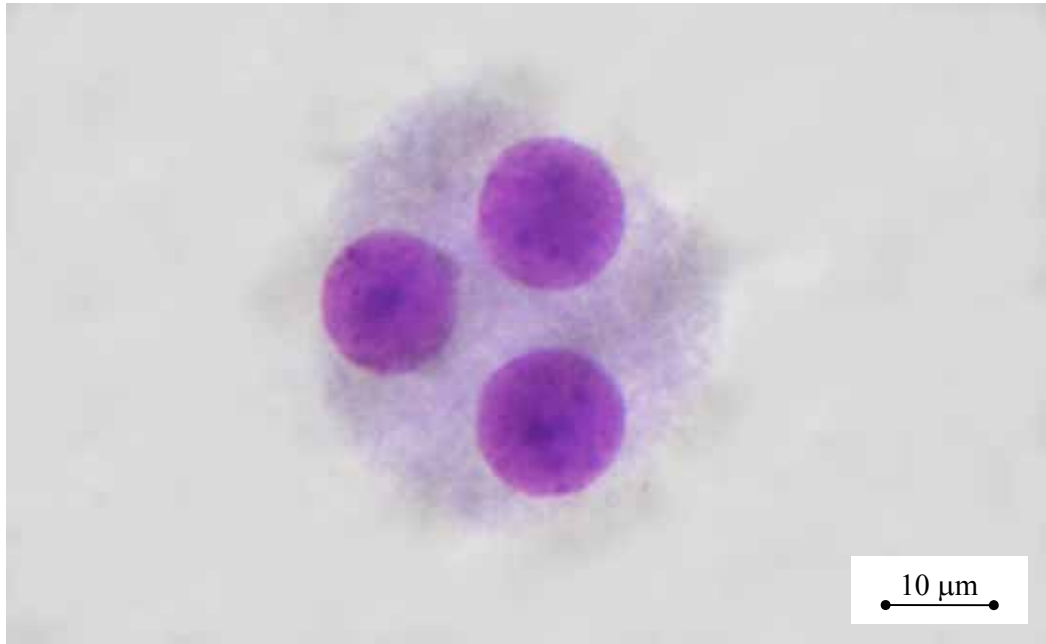
Formüle göre, *MI* bir nükleuslu (Şekil 3.7), *MII* iki nükleuslu (Şekil 3.8); *MIII* üç nükleuslu (Şekil 3.9), *MIV* dört nükleuslu (Şekil 3.10) hücrelerin sayısını, *N* ise toplam hücre sayısını göstermektedir. NBI'nin hesaplanması kimyasal veya fiziksel bir maddenin sitotoksik etkisini göstermede önemli bilgiler sağlar (Fenech, 1997). Bu nedenle, MN bakımından incelenen preparatlar daha sonra nükleus bölünme indeksini (NBI) belirlemek için tekrar incelenmiştir. NBI için her preparatta toplam 1000 hücre (6 kişi 6000 hücre) sayılmıştır.



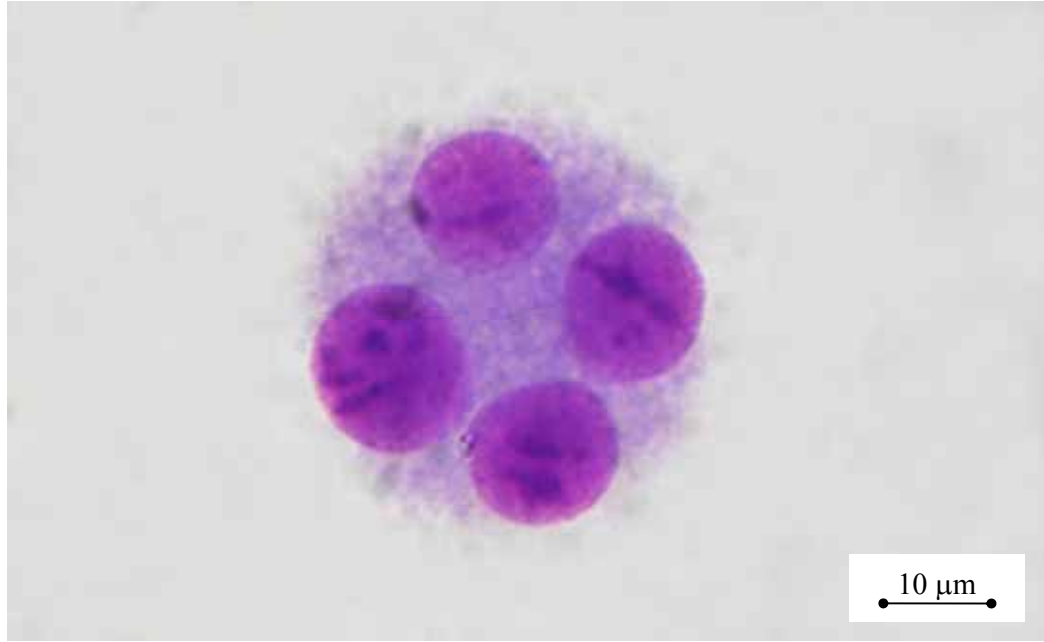
Şekil 3.7. Bir nükleuslu hücre (X1000).



Şekil 3.8. İki nükleuslu hücre (X1000).



Şekil 3.9. Üç nükleuslu hücre (X1000).



Şekil 3.10. Dört nükleuslu hücre (X1000).

3.9. Mikroskopta Fotoğraf Çekme

Fotoğraf çekme işlemi OLYMPUS marka trinoküler mikroskoba bağlı dijital fotoğraf makinasında 1000 büyütmede yapılmıştır (Olympus CX31RTSF, 7.1 Megapixel). 1., 2. ve 3. mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerin incelenmesi sırasında rastlanan bazı ilginç kromozom anormalliklerinin ve mikronükleuslu binükleer hücreler ile 1, 2, 3, 4 nükleuslu hücrelerin fotoğrafları çekilmiştir.

3.10. İstatistiksel Analiz ve Sonuçların Değerlendirilmesi

Mikroskobik inceleme sonucunda elde edilen KA, KKD, MI, PI, NBI ve MN parametrelerine ait veriler için önce her bir grubun ortalamaları arasındaki farkın önemli olup olmadığı tek yönlü varyans analiz metodu ile belirlenmiş, farkın önemli olduğu gruplarda ise, muameleli gruplardan elde edilen sonuçlar ile onların kontrolleri (kontrol, eritici kontrol ve pozitif kontrol) arasındaki farkın önemli olup

olmadığı *t*-testi ile karşılaştırılmıştır. Doz-etki ilişkisini belirlemek amacıyla regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı (*r*) bulunmuş ve regresyon doğrusu çizilmiştir. Ayrıca KA ile MN oluşumu ve PI ile NBI arasında ilişki olup olmadığı korelasyon-regresyon analizi ile araştırılmıştır.

Pestisidlerin karışım halindeki etkilerini belirlemek için, önce karışım halinde ilave edilen kültürlerden elde edilen sonuçlar onların kontrollerinden elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Sonra her bir karışım konsantrasyonundan elde edilen sonuç, test maddelerinin tek başına kullanıldığı zamanki elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Yani, 12.5 Acm+ 2.5 A-cyp µg/ml konsantrasyonunun ilavesinden sonra elde edilen sonuçlar tek başına hem 25 µg/ml Acm hem de 5 µg/ml A-cyp ilave edilen kültürlerden elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Benzer karşılaştırmalar diğer konsantrasyonlar için de yapılmıştır. Böylece karışım halinin genotoksik risklerinin belirlenmesi ve test maddelerinin antagonist, sinerjistik ve eklemeliHücre Başına Düşen etkilerinin olup olmadığının saptanması amaçlanmıştır.

Mikroskobik incelemeler sonucunda elde edilen bulgular çizelge ve grafikler halinde verilmiştir.

4. BULGULAR**4.1. Acetamipridin Tek Başına Kullanıldığında İnsan Periferik Lenfositlerindeki Genotoksik Etkileri****4.1.1. Acetamipridin Kardeş Kromatid Değişimi (KKD) Üzerindeki Etkileri**

Acetamiprid hem 24 hem de 48 saatlik muamelede bütün konsantrasyonlarda (25, 30, 35, 40 µg/ml) KKD frekansını kontrole ve eritici kontrole göre önemli derecede arttırmıştır (Çizelge 4.1). Fakat acetamipridin etkisiyle artan KKD frekansı pozitif kontrol kadar olmamıştır. Tüm süre ve konsantrasyonlarda KKD pozitif kontrole göre önemli derecede düşük bulunmuştur. Acetamiprid ile 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferik lenfositlerindeki KKD sayısındaki artış doza bağlı bir durum göstermiştir (Şekil 4.1, Şekil 4.2).

Çizelge 4.1. Değişik Dozlarda Acetamiprid ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilmiş Olan İnsan Periferik Lenfositlerinde Hücre Başına Düşen Ortalama KKD Sayısı.

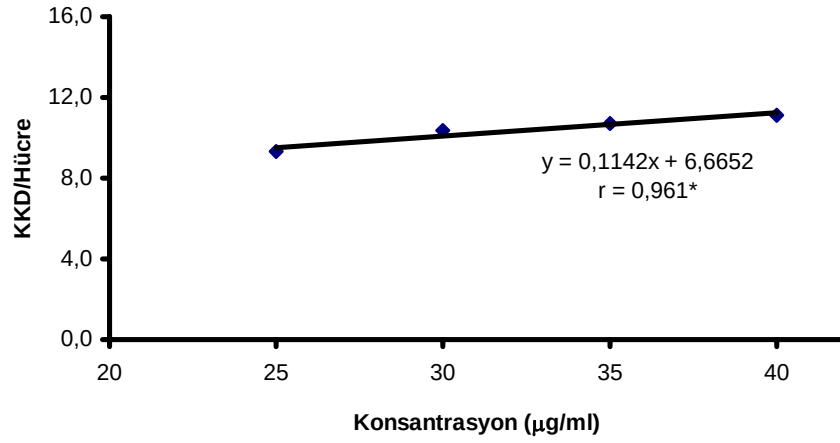
Test Maddesi	Muamele Süresi (saat)	Konsantrasyon (µg/ml)	Min-Max KKD	KKD/Hücre±SH
Kontrol	--	--	1-18	7.33±0.402
DMSO (EK)	24	8 µl/ml	1-16	7.15±0.331
MMC (PK)		0.250	37-86	58.42±1.573
Acetamiprid	24	25	3-19	9.32±0.443 a ₂ b ₂ c ₃
		30	3-22	10.36±0.469 a ₃ b ₃ c ₃
		35	4-21	10.72±0.535 a ₃ b ₃ c ₃
		40	4-23	11.10±0.602 a ₂ b ₃ c ₃
DMSO (EK)	48	8 µl/ml	2-18	6.73±0.309
MMC (PK)		0.250	70-148	101.27±1.21
Acetamiprid	48	25	3-20	9.51±0.541 a ₂ b ₂ c ₃
		30	5-26	10.68±0.497 a ₃ b ₃ c ₃
		35	5-22	11.67±0.628 a ₃ b ₃ c ₃
		40	5-23	12.37±0.672 a ₃ b ₃ c ₃

EK: Eritici Kontrol (DMSO= Dimetil Sulfoksit)

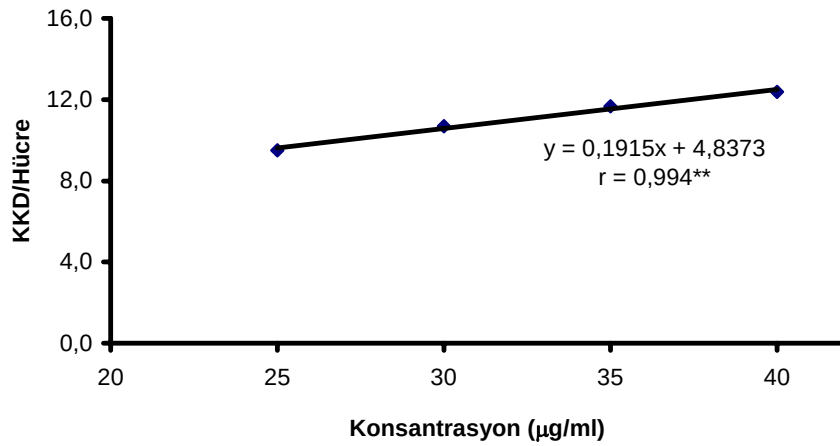
PK: Pozitif Kontrol (MMC=Mitomisin C)

a: Kontrol ile; b: Eritici Kontrol ile; c: Pozitif Kontrol ile aradaki fark önemlidir.

a₁b₁c₁ : P≤0.05 a₂b₂c₂ : P≤0.01 a₃b₃c₃ : P≤0.001



Şekil 4.1. Farklı dozlarda Acetamiprid ile 24 saat muamele edilmiş insan periferallenfositlerinde KKD/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.
*: $P < 0.05$



Şekil 4.2. Farklı dozlarda Acetamiprid ile 48 saat muamele edilmiş insan periferallenfositlerinde KKD/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.
**: $P < 0.01$

4.1.2. Acetamipridin Kromozom Anormalliklerinin (KA) Oluşumu Üzerindeki Etkileri

Acetamiprid ile 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferik lenfositlerinde hücre başına düşen yapısal KA, hücre başına düşen toplam KA ve anormal hücre yüzdesinin kontrole ve eritici kontrole göre istatistiksel olarak önemli derecede arttığı bulunmuştur (Çizelge 4.2). Fakat, acetamiprid KA'ni tüm süre ve konsantrasyonlarda pozitif kontrol kadar uyarmamıştır. Ayrıca her üç parametre için 24 saatlik muamelede doz etki ilişkisi belirlenememiş, fakat 48 saatlik muamelelerde acetamiprid konsantrasyonu arttıkça kromozom anormalliği oranı artmış ve bu artış istatistiksel bakımdan çok önemli bulunmuştur (Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.5).

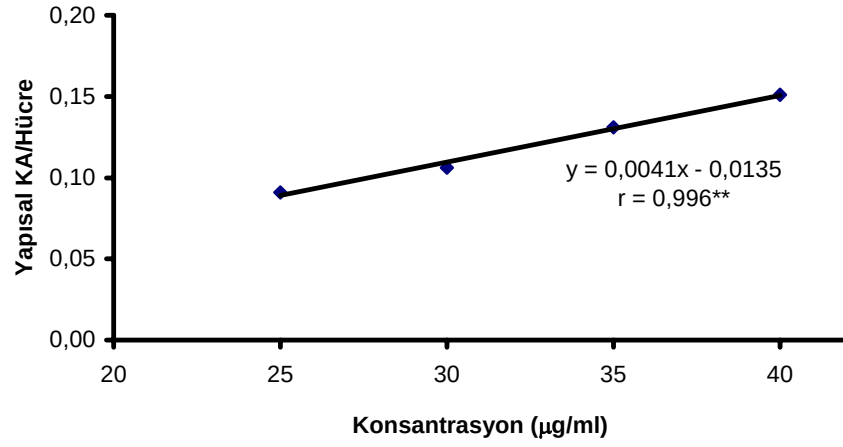
Acetamiprid, insan periferik lenfositlerinde kromatid kırığı (Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8, Şekil 4.9, Şekil 4.10, Şekil 4.11, Şekil 4.12, Şekil 4.14), kromatid değişimi (Şekil 4.8, Şekil 4.17, Şekil 4.18, Şekil 4.19) fragment (Şekil 4.13), kardeş kromatid birleşmesi (Şekil 4.15, Şekil 4.16), disentrik kromozom (Şekil 4.20), halka kromozom (Şekil 4.21) ve endoreduplikasyon (Şekil 4.22) kromozom anormalliklerine neden olmuştur.

Çizelge 4.2. Değişik Dozlarda Acetamidrid ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilmiş Olan İnsan Periferel Lenfositlerinde Kromozom Anormallikleri.

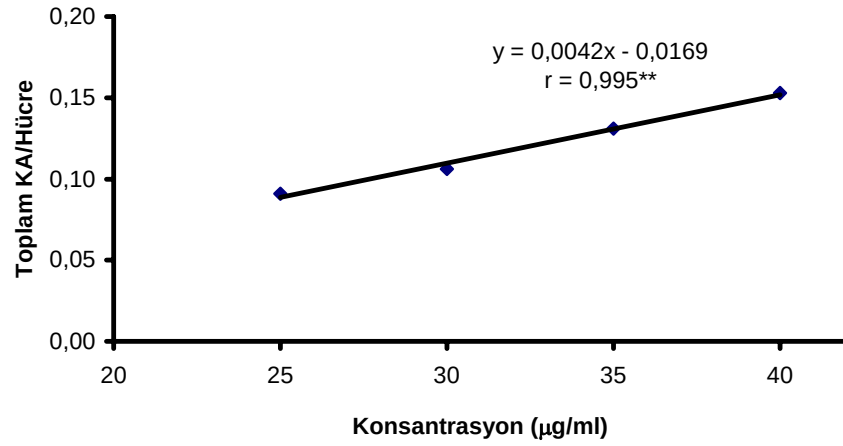
Test Maddesi	Muamele		Kromozomal Anormallikler				Yapsal KA/Hücre ± SH	Toplam KA/Hücre ± SH	Anormal Hücre (%) ± SH
			Yapısal KA		Sayısal KA				
	Süre (saat)	Kons. (µg/ml)	Kromatid tipi	Kromozom tipi					
Kontrol	--		19	1	--	0.03±0.004	0.03±0.004	3.33±0.421	
DMSO (EK)	24	8µl/ml	22	2	--	0.04±0.002	0.04±0.002	4.00±0.258	
MMC (PK)		0.250	430	60	--	0.82±0.179	0.82±0.179	45.8±6.872	
Acetamidrid	24	25	47	3	1	0.08±0.009 a ₂ b ₂ c ₃	0.09±0.008 a ₂ b ₂ c ₃	8.17±0.749 a ₃ b ₂ c ₃	
		30	56	2	--	0.10±0.008 a ₃ b ₃ c ₃	0.10±0.008 a ₃ b ₃ c ₃	9.50±0.806 a ₃ b ₃ c ₃	
		35	54	6	--	0.10±0.010 a ₃ b ₂ c ₃	0.10±0.010a ₃ b ₂ c ₃	9.00±0.930 a ₂ b ₂ c ₃	
		40	77	12	--	0.15±0.015 a ₃ b ₃ c ₃	0.15±0.015 a ₃ b ₃ c ₃	12.7±1.453 a ₃ b ₂ c ₃	
DMSO (EK)	48	8µl/ml	22	2	--	0.04±0.003	0.04±0.003	4.00±0.365	
MMC (PK)		0.250	1771	155	--	3.21±0.508	3.21±0.508	89.3±2.123	
Acetamidrid	48	25	49	6	--	0.09±0.012 a ₂ b ₂ c ₃	0.09±0.012 a ₂ b ₂ c ₃	8.83±1.013 a ₂ b ₂ c ₃	
		30	62	2	--	0.11±0.006 a ₃ b ₃ c ₃	0.11±0.006 a ₃ b ₃ c ₃	9.83±0.542 a ₃ b ₃ c ₃	
		35	67	12	--	0.13±0.019 a ₂ b ₂ c ₃	0.13±0.019 a ₂ b ₂ c ₃	11.83±1.492 a ₂ b ₂ c ₃	
		40	80	11	1	0.15±0.014 a ₃ b ₃ c ₃	0.15±0.014 a ₃ b ₃ c ₃	14.16±1.352 a ₃ b ₃ c ₃	

a: Kontrol ile; b: Eritici Kontrol ile; c: Pozitif Kontrol ile aradaki fark önemlidir.

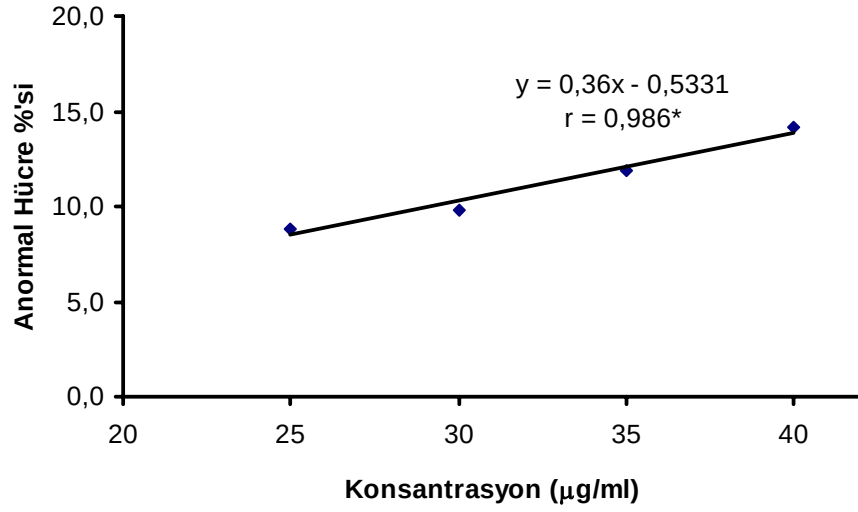
a₁b₁c₁: P≤0.05 a₂b₂c₂: P≤0.01 a₃b₃c₃: P≤0.001



Şekil 4.3. Farklı dozlarda Acetamiprid ile 48 saat muamele edilmiş insan periferik lenfositlerinde Yapısal KA/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.
**.: $P < 0.01$



Şekil 4.4. Farklı dozlarda Acetamiprid ile 48 saat muamele edilmiş insan periferik lenfositlerinde Toplam KA/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.
**.: $P < 0.01$

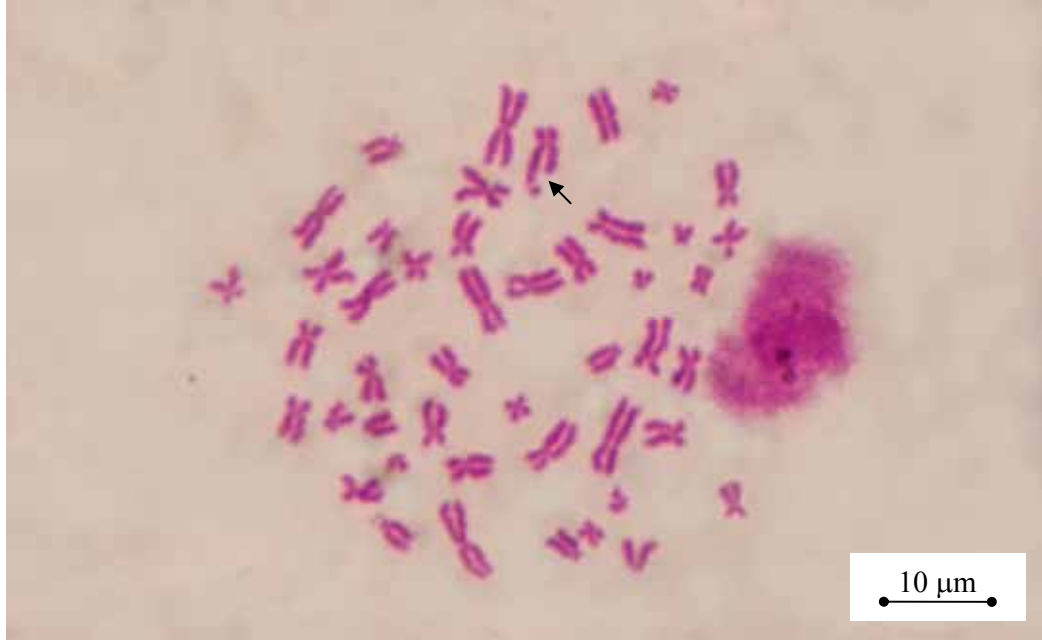


Şekil 4.5. Farklı dozlarda Acetamidrid ile 48 saat muamele edilmiş insan periferallenfositlerinde Anormal Hücre %'sinin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.

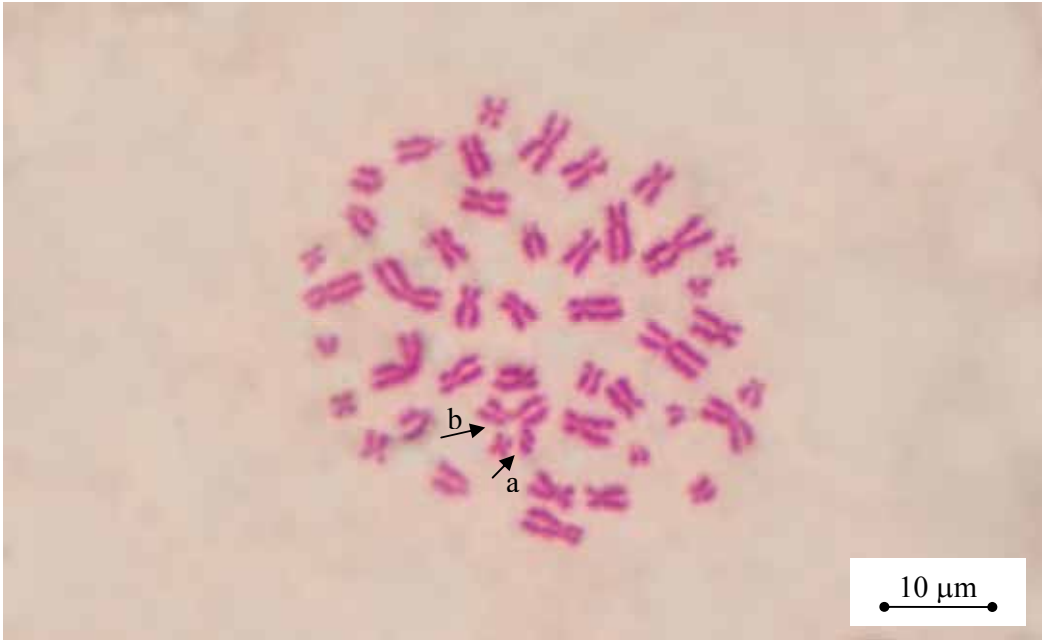
*: $P < 0.05$



Şekil 4.6. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (35 µg/ml Acetamidrid, 24 saatlik muamele, ♀). X1000



Şekil 4.7. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (40 µg/ml Acetamiprid, 48 saatlik muamele, ♀). X1000



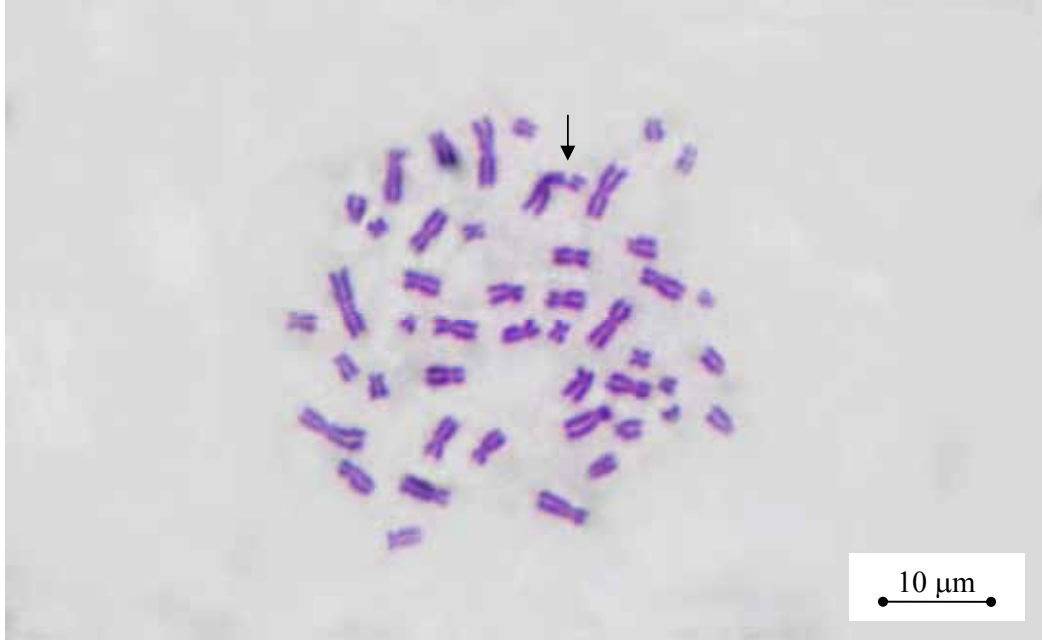
Şekil 4.8. Kromatid kırığı (a) (B') ve kromatid değişimi (b) bulunan metafaz plağı (40 µg/ml Acetamiprid, 48 saatlik muamele, ♀). X1000



Şekil 4.9. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (40 μg/ml Acetamiprid, 48 saatlik muamele, ♀). X1000



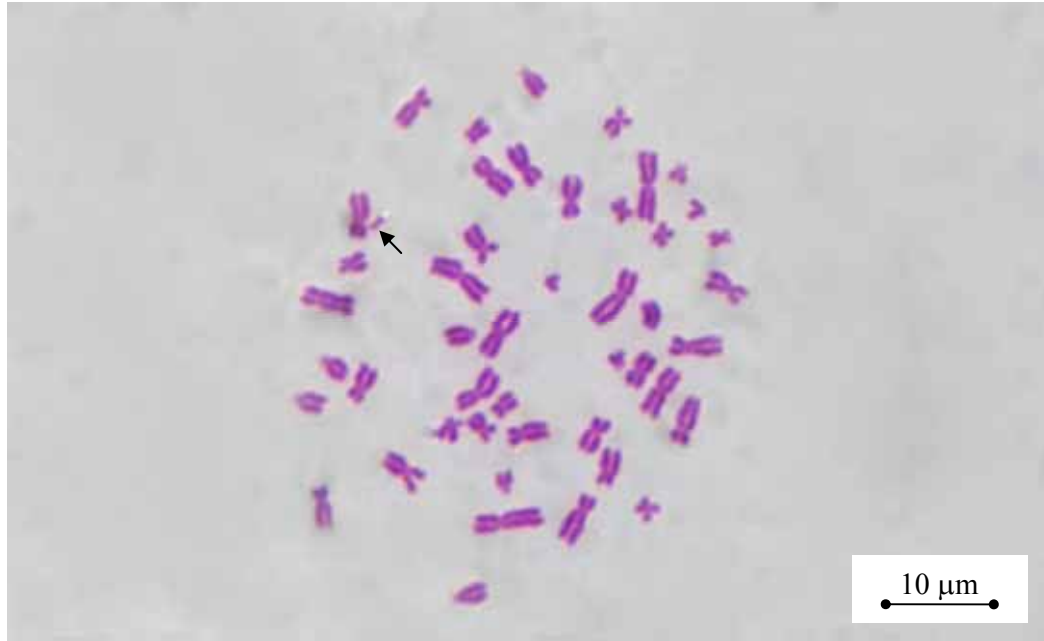
Şekil 4.10. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (25 μg/ml Acetamiprid, 24 saatlik muamele, ♂). X1000



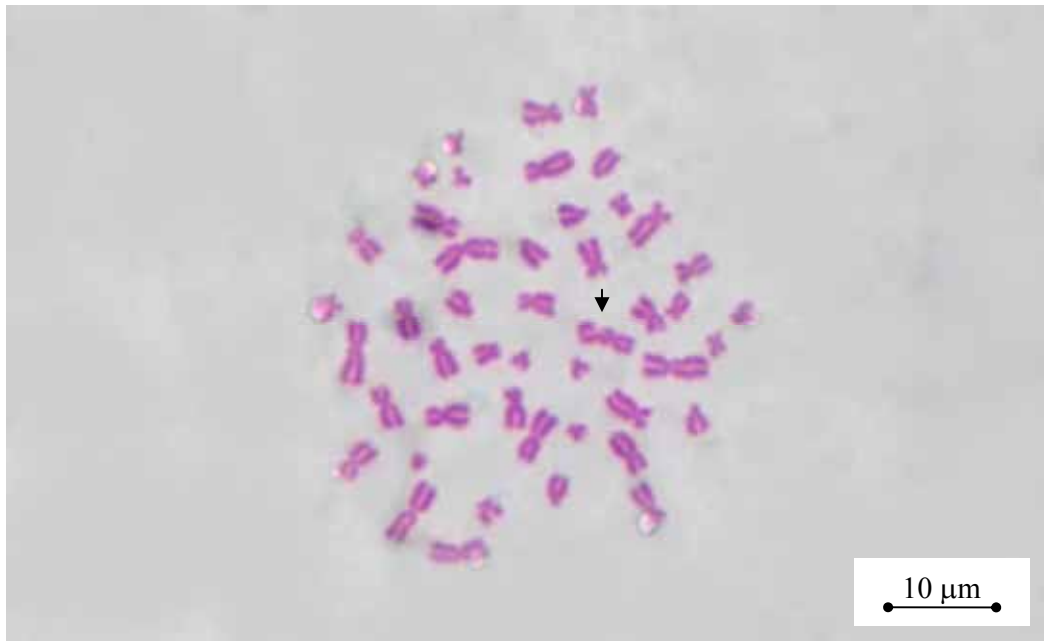
Şekil 4.11. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (25 µg/ml Acetaminiprid, 48 saatlik muamele, ♀). X1000



Şekil 4.12. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (30 µg/ml Acetaminiprid, 48 saatlik muamele, ♂). X1000



Şekil 4.13. Fragment (F) bulunan metafaz plağı (40 µg/ml Acetamiprid, 48 saatlik muamele, ♂). X1000



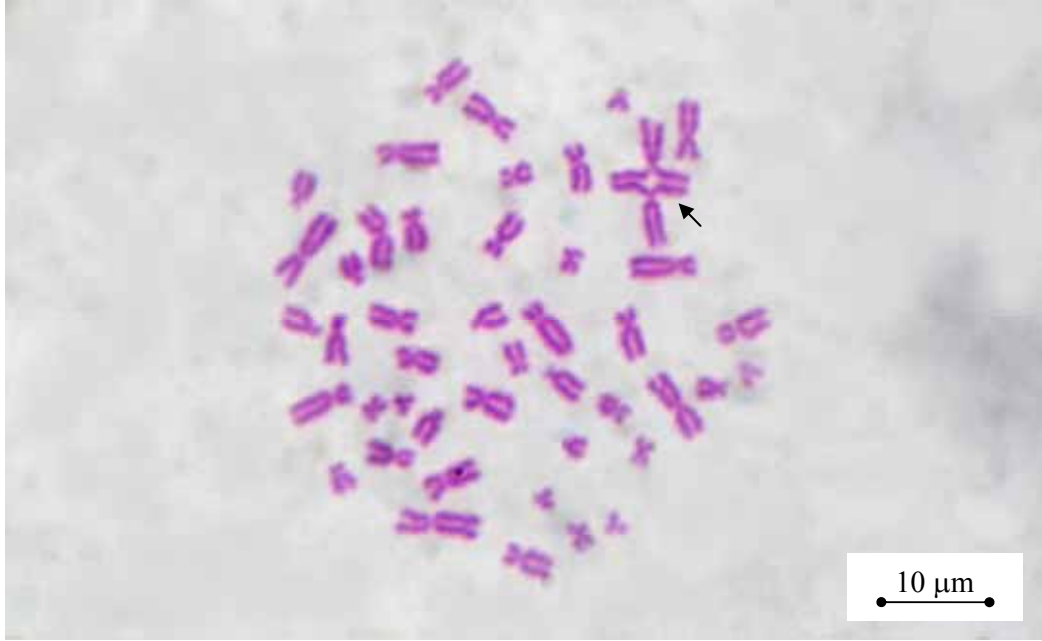
Şekil 4.14. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (25 µg/ml Acetamiprid, 24 saatlik muamele, ♂). X1000



Şekil 4.15. Kardeş kromatid birleşmesi (KKB) bulunan metafaz plağı (25 µg/ml Acetamiprid, 48 saatlik muamele, ♀). X1000



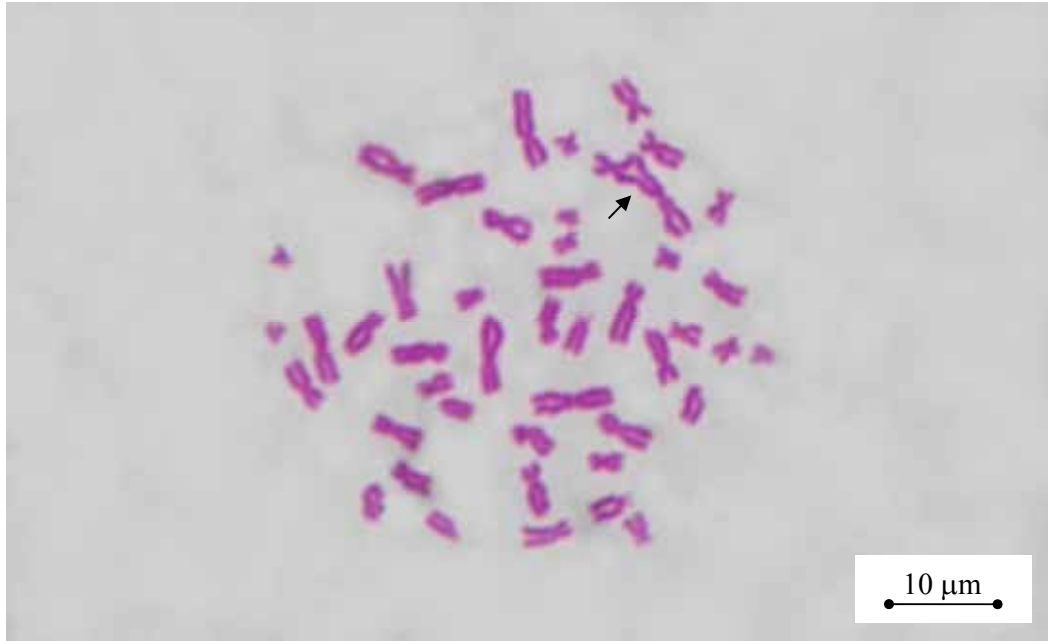
Şekil 4.16. Kardeş kromatid birleşmesi (KKB) bulunan metafaz plağı (30 µg/ml Acetamiprid, 24 saatlik muamele, ♀). X1000



Şekil 4.17. Kromatid değişimi (KD) bulunan metafaz plağı (25 µg/ml Acetaminiprid, 48 saatlik muamele, ♀). X1000



Şekil 4.18. Kromatid değişimi (KD) bulunan metafaz plağı (25 µg/ml Acetaminiprid, 48 saatlik muamele, ♂). X1000



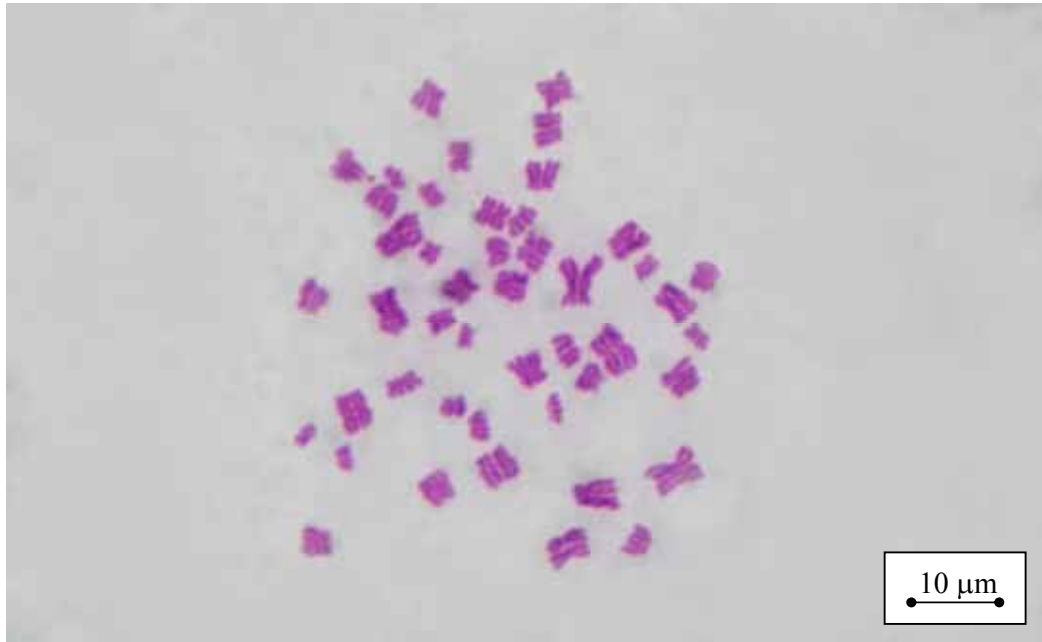
Şekil 4.19. Kromatid değişimi (KD) bulunan metafaz plağı (25 µg/ml Acetaminiprid, 48 saatlik muamele, ♀). X1000



Şekil 4.20. Disentrik kromozom (DS) bulunan metafaz plağı (25 µg/ml Acetaminiprid, 48 saatlik muamele, ♂). X1000



Şekil 4.21. Halka kromozom (HK) bulunan metafaz plağı (30 µg/ml Acetamiprid, 24 saatlik muamele, ♀). X1000



Şekil 4.22. Endoreduplikasyonlu (E) metafaz plağı (40 µg/ml Acetamiprid, 48 saatlik muamele, ♂). X1000

4.1.3. Acetamipridin DNA Replikasyonu ve Mitoz Bölünme Üzerindeki Etkileri

Proliferasyon indeksi (PI), acetamipridin DNA replikasyonu üzerine etkisini, mitotik indeks (MI) ise mitoz bölünme üzerine etkisini göstermektedir. Buna göre, 24 saatlik acetamiprid uygulamasında düşük iki konsantrasyonda (25, 30 µg/ml) PI kontrole ve eritici kontrole göre düşüş göstermiş fakat bu azalma istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Çizelge 4.3). Oysa yüksek iki konsantrasyonda (35, 40 µg/ml), 24 saatlik muamelede PI hem kontrole hem de eritici kontrole göre önemli derecede düşmüştür. 24 saatlik muamelede acetamipridin PI üzerine etkisi pozitif kontrol ile kıyaslandığında sadece en düşük konsantrasyonda (25 µg/ml) önemli derecede yüksek bulunmuştur. Yani bu konsantrasyonda acetamiprid pozitif kontrol kadar etkili olamamıştır. Diğer konsantrasyonlarda (30, 35, 40 µg/ml) ise acetamipridin etkisiyle düşen PI değeri pozitif kontrol kadar olmuştur.

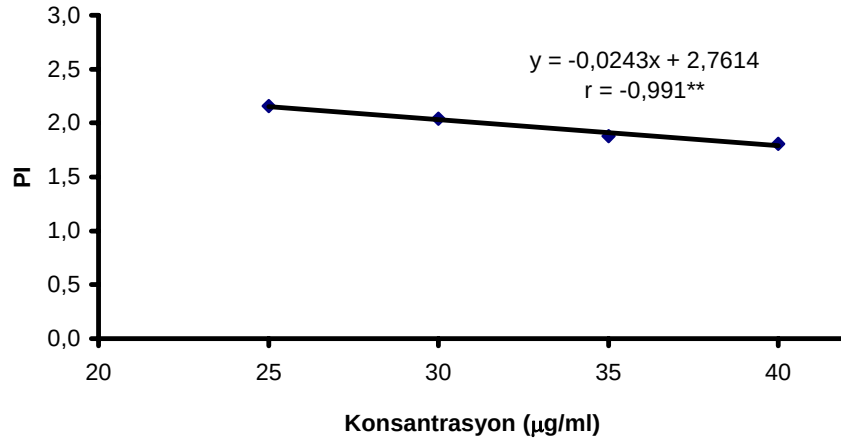
Acetamiprid 48 saatlik uygulamada da düşük iki konsantrasyonda (25, 30 µg/ml) PI'ni kontrole ve eritici kontrole göre önemli derecede düşürmemiştir. Oysa 35 µg/ml konsantrasyonda sadece kontrol, en yüksek konsantrasyonda ise (40 µg/ml) kontrol ve eritici kontrole göre PI önemli derecede azalmıştır. 48 saatlik acetamiprid muamelesinde tüm konsantrasyonlarda PI pozitif kontrole göre önemli derecede yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.3). Acetamiprid PI'ni hem 24 hem de 48 saatlik muamelelerde doza bağlı olarak düşürmüştür (Şekil 4.23, Şekil 4.24).

Acetamipridin mitoz bölünmesi üzerine etkisine baktığımızda ise, MI 24 saatlik muamelede tüm konsantrasyonlarda (25, 30, 35, 40 µg/ml) kontrol ve eritici kontrole göre önemli derecede düşük bulunmuştur. 48 saatlik muamelede en düşük konsantrasyonda (25 µg/ml) MI hem kontrole hem de eritici kontrole göre azalmış, fakat bu düşüşlerden sadece kontrole göre olan önemli bulunmuştur. Diğer konsantrasyonlarda (30, 35, 40 µg/ml) ise MI'in kontrol ve eritici kontrole göre önemli derecede düşük olduğu belirlenmiştir. Tüm süre ve konsantrasyonlarda acetamipridin MI değeri ile pozitif kontrolün MI değeri arasındaki fark önemsiz bulunmuştur. Yani, acetamiprid MI'ni MMC kadar düşürmüştür. Acetamiprid ile 24 ve 48 saat muamele edilen kültürlerde MI doza bağlı olarak azalmıştır (Şekil 4.25, Şekil 4.26).

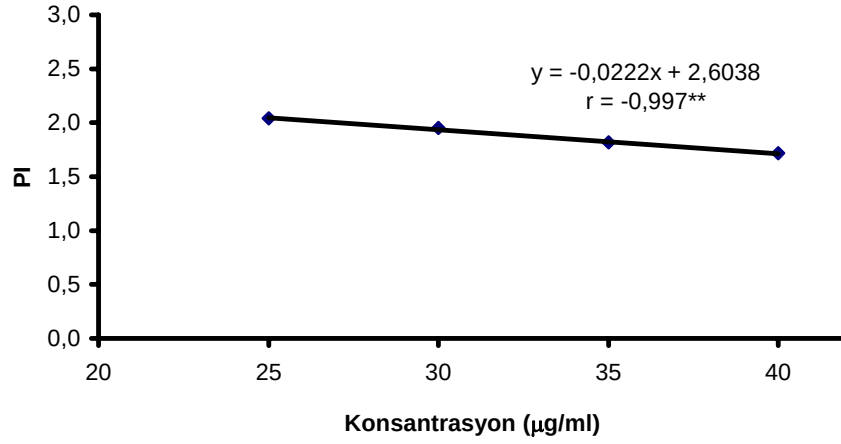
Çizelge 4.3. Değişik Dozlarda Acetamidrid ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilmiş Olan İnsan Periferik Lenfositlerinde Proliferasyon İndeksi (PI) ve Mitotik İndeks (MI).

Test Maddesi	Muamele		M1	M2	M3	PI±SH	MI±SH
	Süre (saat)	Kons. (µg/ml)					
Kontrol	--		139	227	234	2.16±0.093	5.94±0.335
DMSO (EK)	24	8µl/ml	137	223	240	2.17±0.122	5.02±0.486
MMC (PK)		0.250	186	336	78	1.82±0.068	3.23±0.159
Acetamidrid	24	25	134	238	228	2.16±0.117 c ₁	4.04±0.345 a ₂ b ₁
		30	164	246	190	2.04±0.124	3.60±0.283 a ₃ b ₂
		35	210	252	138	1.88±0.053 a ₂ b ₂	3.03±0.295 a ₃ b ₃
		40	231	255	114	1.81±0.076 a ₂ b ₂	2.68±0.233 a ₃ b ₃
DMSO (EK)	48	8µl/ml	152	281	167	2.03±0.038	4.24±0.421
MMC (PK)		0.250	460	135	5	1.24±0.028	2.54±0.151
Acetamidrid	48	25	158	260	182	2.04±0.066 c ₃	3.56±0.439 a ₂
		30	167	294	139	1.95±0.080 c ₃	3.24±0.373 a ₃ b ₁
		35	220	270	110	1.82±0.107 a ₁ c ₂	2.70±0.282 a ₃ b ₂
		40	236	299	65	1.72±0.100 a ₂ b ₁ c ₂	2.53±0.294 a ₃ b ₂

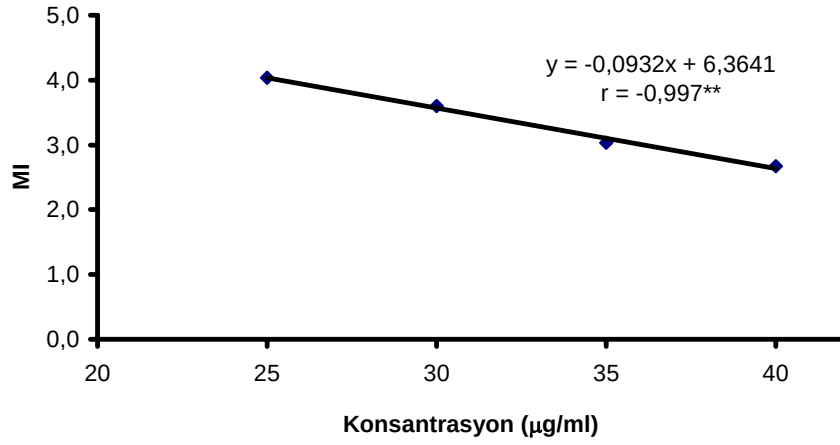
a: Kontrol ile; b: Eritici Kontrol ile; c: Pozitif Kontrol ile aradaki fark önemlidir.
a₁b₁c₁ : P≤0.05 a₂b₂c₂ : P≤0.01 a₃b₃c₃ : P≤0.001



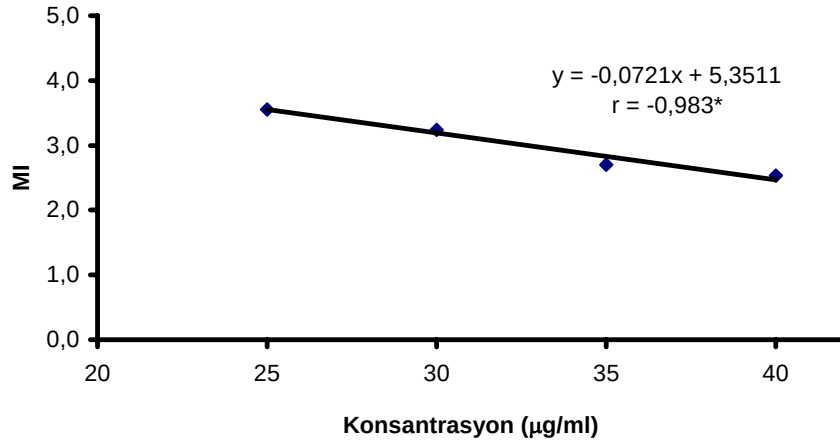
Şekil 4.23. Farklı dozlarda Acetamiprid ile 24 saat muamele edilmiş insan periferallenfositlerinde PI'nin doza bağılı azalışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.
**: $P < 0.01$



Şekil 4.24. Farklı dozlarda Acetamiprid ile 48 saat muamele edilmiş insan periferallenfositlerinde PI'nin doza bağılı azalışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.
**: $P < 0.01$



Şekil 4.25. Farklı dozlarda Acetamiprid ile 24 saat muamele edilmiş insan periferall lenfositlerinde MI'in doza bağılı azalışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.
 ** : $P < 0.01$



Şekil 4.26. Farklı dozlarda Acetamiprid ile 48 saat muamele edilmiş insan periferall lenfositlerinde MI'in doza bağılı azalışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.
 * : $P < 0.05$

4.1.4. Acetamipridin Mikronükleus (MN) Oluşumu ve Nükleus Bölünmesi Üzerindeki Etkileri

Acetamipridin 24 saatlik muamelesinde MN içeren iki nükleuslu hücre yüzdesi (% MNBN) en düşük konsantrasyonda (25 µg/ml) kontrole ve eritici kontrole göre artış göstermiş fakat bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Çizelge 4.4). 24 saatlik muamelede diğer konsantrasyonlarda (30, 35, 40 µg/ml) ise mikronükleuslu iki nükleuslu hücre %'sinin hem kontrole hem de eritici kontrole göre önemli derecede arttığı bulunmuştur. Acetamipridin 48 saatlik muamelesinde en düşük konsantrasyonda (25 µg/ml) MNBN hücre %'si, kontrole göre istatistiksel bakımdan önemli derecede artmış, eritici kontrole göre ise önemli olmayan artış meydana getirmiştir. 48 saatlik muamelenin diğer konsantrasyonlarında (30, 35, 40 µg/ml) MN oluşumu hem kontrol hem de eritici kontrole göre önemli derecede uyarılmıştır. Acetamipridin 24 ve 48 saatlik muamelelerinde belirlenen MN içeren iki nükleuslu hücre yüzdesi tüm konsantrasyonlarda pozitif kontrolden önemli derecede düşük bulunmuştur. Acetamiprid sadece 24 saatlik muamelede MN'lu iki nükleuslu hücre oluşumunu doza bağlı olarak uyarmıştır (Şekil 4.27).

Acetamiprid ile muamele edilen kültürlerdeki MN %'sindeki artış MN'lu iki nükleuslu hücrelerin artışına benzer durum göstermiştir (Çizelge 4.4). Yani, en düşük konsantrasyon hariç yüksek üç konsantrasyonda (30, 35, 40 µg/ml) MN %'si hem kontrol hem de eritici kontrolden önemli derecede yüksek bulunmuştur. Acetamiprid tüm süre ve konsantrasyonlarda MNBN hücre %'sinde olduğu gibi MN %'si bakımından da pozitif kontrole göre önemli derecede düşük bulunmuştur (Çizelge 4.4). Bundan da acetamipridin MN oluşumu üzerindeki etkisinin pozitif kontrol kadar olmadığı anlaşılır. Acetamiprid ile muamele edilen kültürlerdeki MN yüzdesi, hem 24 hem de 48 saatlik muamelede doza bağlı olarak artış göstermiştir (Şekil 4.28, Şekil 4.29).

Acetamiprid, insan periferik lenfositlerinde iki nükleuslu hücrelerde farklı sayılarda ve büyüklüklerde mikronükleus (Şekil 4.30, Şekil 4.31) oluşumlarına neden olmuştur.

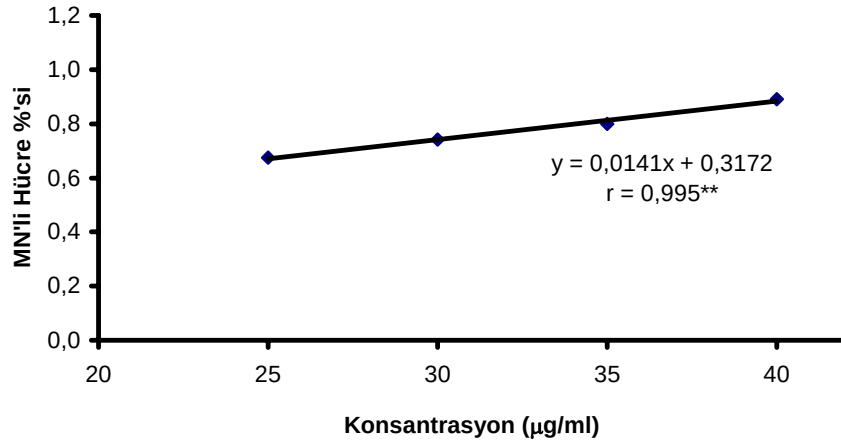
Çizelge 4.4. Değişik Dozlarda Acetamidrid ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilmiş Olan İnsan Periferik Lenfositlerinde MN İçeren İki Nükleuslu Hücre %'si, MN %'si ve NBI.

Test Maddesi	Muamele		MN Sayısına Göre İki Nükleuslu Hücre Sayısı					MN İçeren İki Nükleuslu Hücre %'si	% MN	Nükleus Sayısına Göre Hücrelerin Dağılımı					NBI±SH
	Süre (saat)	Kons. (µg/ml)	0	1	2	3	>3			1	2	3	4		
Kontrol	--	--	11926	73	1	0	0	0.62±0.024	0.63±0.021	4056	1533	186	225	1.43±0.063	
DMSO (EK)	24	8µl/ml	11926	73	0	1	0	0.62±0.027	0.63±0.016	3731	1833	183	253	1.49±0.073	
MMC (PK)		0.25	11255	648	79	17	1	6.21±0.229	7.18±0.307	4454	1524	16	6	1.26±0.034	
Acetamidrid	24	25	11919	78	2	1	0	0.68±0.033 c ₃	0.71±0.035 c ₃	4293	1583	62	62	1.32±0.033 a ₁ b ₂	
		30	11911	86	2	1	0	0.74±0.035 a ₁ b ₁ c ₃	0.78±0.047 a ₁ b ₁ c ₃	4429	1473	43	55	1.29±0.033 a ₂ b ₂	
		35	11904	95	1	0	0	0.80±0.059 a ₁ b ₁ c ₃	0.81±0.066 a ₁ b ₁ c ₃	4394	1512	48	46	1.29±0.034 a ₂ b ₂	
		40	11893	104	2	1	0	0.89±0.035 a ₃ b ₃ c ₃	0.93±0.033 a ₃ b ₃ c ₃	4745	1222	17	16	1.22±0.030 a ₃ b ₃	
DMSO (EK)	48	8µl/ml	11924	75	1	0	0	0.63±0.030	0.64±0.032	3679	1917	186	218	1.49±0.065	
MMC (PK)		0.25	9417	2410	117	20	36	21.52±0.754	23.8±1.110	5450	536	9	5	1.09±0.015	
Acetamidrid	48	25	11905	95	0	0	0	0.79±0.062 a ₁ c ₃	0.79±0.062 a ₁ c ₃	4238	1657	58	47	1.32±0.033 a ₁ b ₂ c ₃	
		30	11894	105	1	0	0	0.88±0.033 a ₃ b ₃ c ₃	0.89±0.037 a ₃ b ₃ c ₃	4628	1294	34	44	1.25±0.034 a ₂ b ₂ c ₂	
		35	11893	104	3	0	0	0.89±0.035 a ₃ b ₃ c ₃	0.92±0.038 a ₃ b ₃ c ₃	4560	1374	26	40	1.26±0.034 a ₂ b ₂ c ₂	
		40	11870	130	0	0	0	1.08±0.061 a ₃ b ₃ c ₃	1.08±0.061 a ₃ b ₃ c ₃	4985	988	14	13	1.18±0.025 a ₃ b ₃ c ₁	

a: Kontrol ile; b: Eritici Kontrol ile; c: Pozitif Kontrol ile aradaki fark önemlidir.
a₁b₁c₁: P≤0.05 a₂b₂c₂: P≤0.01 a₃b₃c₃: P≤0.001

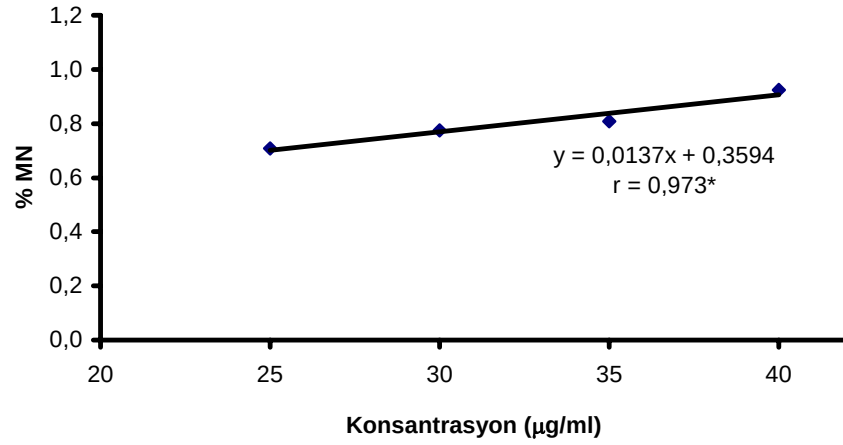
Acetamipridin nükleus bölünmesi üzerindeki etkisi NBI bulunarak saptanmıştır (Çizelge 4.4). Buna göre, 24 saatlik muamelede tüm konsantrasyonlarda (25, 30, 35, 40 µg/ml) NBI kontrol ve eritici kontrole göre önemli derecede düşmüştür. Ayrıca bu muamele süresinde acetamiprid NBI'ni pozitif kontrol kadar düşürmüştür. 48 saatlik muamelede ise bütün konsantrasyonlarda NBI, kontrol ve eritici kontrole göre önemli derecede düşük, pozitif kontrole göre ise önemli derecede yüksek bulunmuştur.

NBI, 24 ve 48 saatlik muamelelerde acetamiprid konsantrasyonu arttıkça azalmış fakat bu azalma istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır.

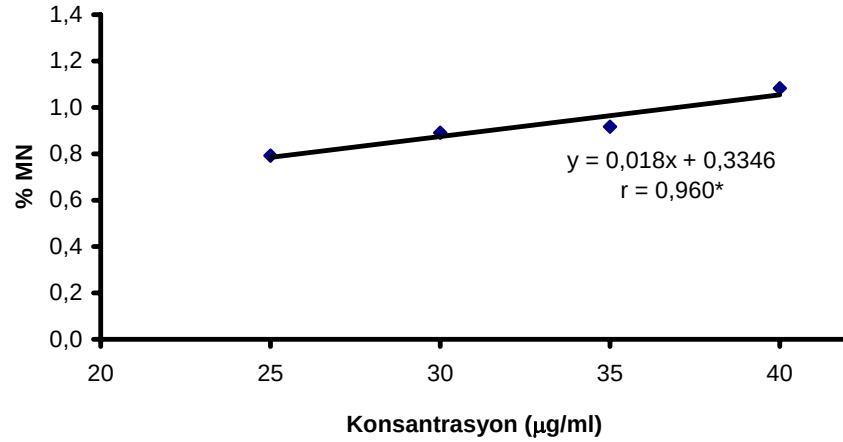


Şekil 4.27. Farklı dozlarda Acetamiprid ile 24 saat muamele edilmiş insan periferik lenfositlerinde MN içeren iki nükleuslu hücre yüzdesinin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.

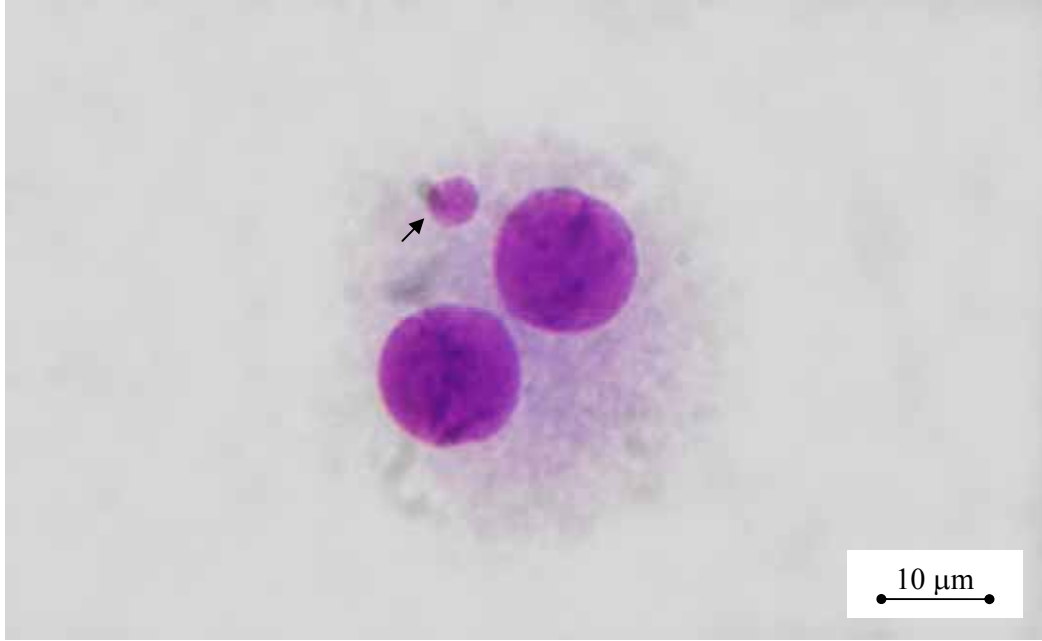
****:** $P < 0.01$



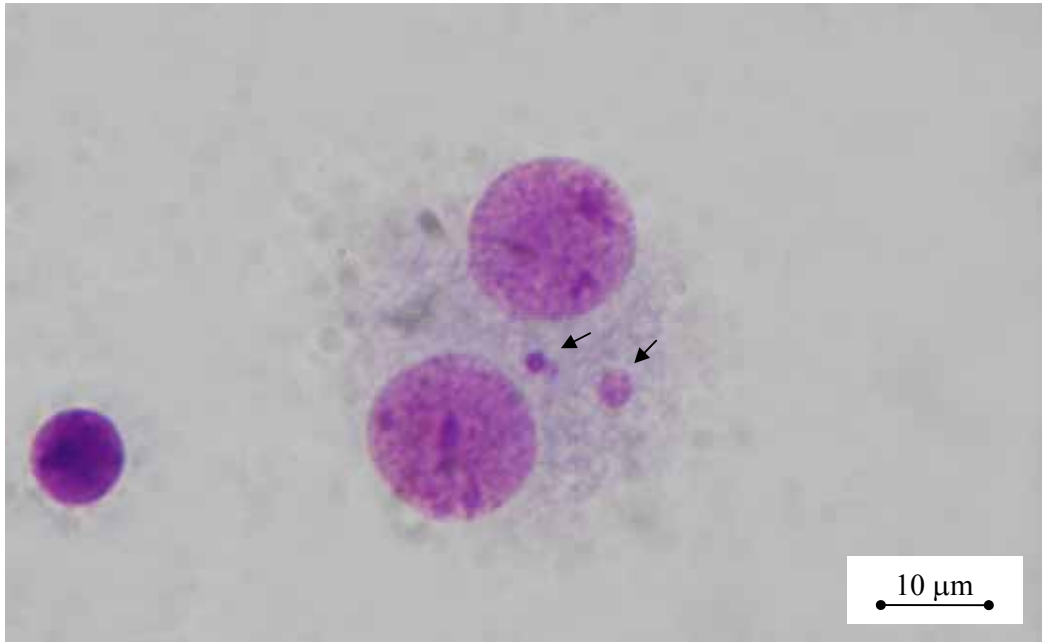
Şekil 4.28. Farklı dozlarda Acetamiprid ile 24 saat muamele edilmiş insan periferik lenfositlerinde MN %'sinin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.
*: $P < 0.05$



Şekil 4.29. Farklı dozlarda Acetamiprid ile 48 saat muamele edilmiş insan periferik lenfositlerinde MN %'sinin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.
*: $P < 0.05$



Şekil 4.30. Mikronükleus içeren iki nükleuslu hücre (30 µg/ml Acetamiprid, 24 saatlik muamele, ♀). X1000



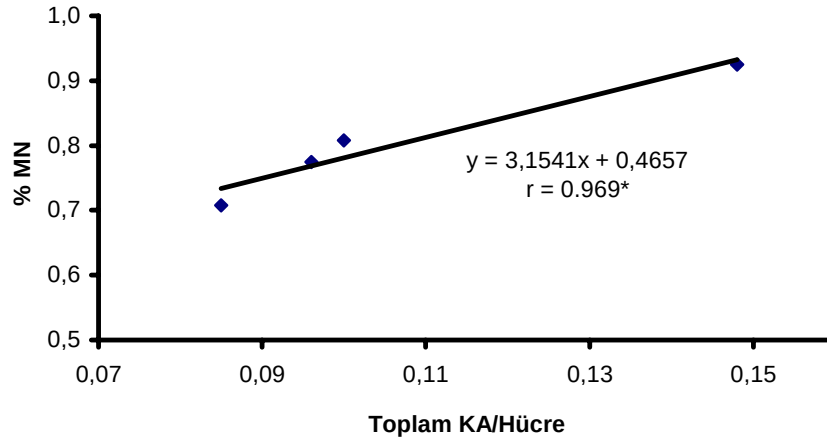
Şekil 4.31. İki mikronükleus içeren iki nükleuslu hücre (40 µg/ml Acetamiprid, 48 saatlik muamele, ♀). X1000

4.1.5. Hücre Başına Düşen Toplam KA ile MN %'si Arasındaki İlişki

Acetamipridin 24 ve 48 saat süre ile insan periferal lenfositlerine muamelesi sonucu ortaya çıkan toplam KA/hücre ve MN %'si arasında istatistiksel olarak önemli bir ilişki belirlenmiştir (Şekil 4.32, Şekil 4.33). Yani acetamiprid bütün konsantrasyonlarda (25, 30, 35, 40 µg/ml) hücre başına düşen toplam KA oranını arttırmış ve bu artış MN %'sinde de aynı oranda bulunmuştur.

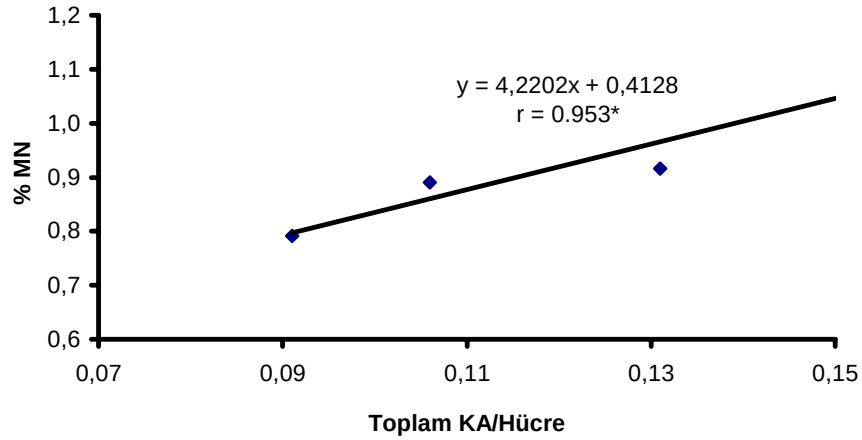
4.1.6. Proliferasyon İndeksi (PI) ile Nükleus Bölünme İndeksi (NBI) Arasındaki İlişki

Acetamiprid insektisidi ile 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferal lenfositlerinde saptanan PI ve NBI arasında bir korelasyon bulunamamıştır. Yani PI doza bağlı düşerken NBI'de aynı derecede düşmemektedir.



Şekil 4.32. Farklı dozlarda Acetamiprid ile 24 saat muamele edilmiş insan periferal lenfositlerinde MN %'sinin toplam KA/Hücre oranı ile ilişkisini gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.

*: P<0.05



Şekil 4.33. Farklı dozlarda Acetamiprid ile 48 saat muamele edilmiş insan periferik lenfositlerinde MN %'sinin toplam KA/Hücre oranı ile ilişkisini gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.

*: P<0.05

4.2. Alpha-Cypermethrinin Tek Başına Kullanıldığında İnsan Periferik Lenfositlerindeki Genotoksik Etkileri

4.2.1. Alpha-Cypermethrinin Kardeş Kromatid Değişimi (KKD) Üzerindeki Etkileri

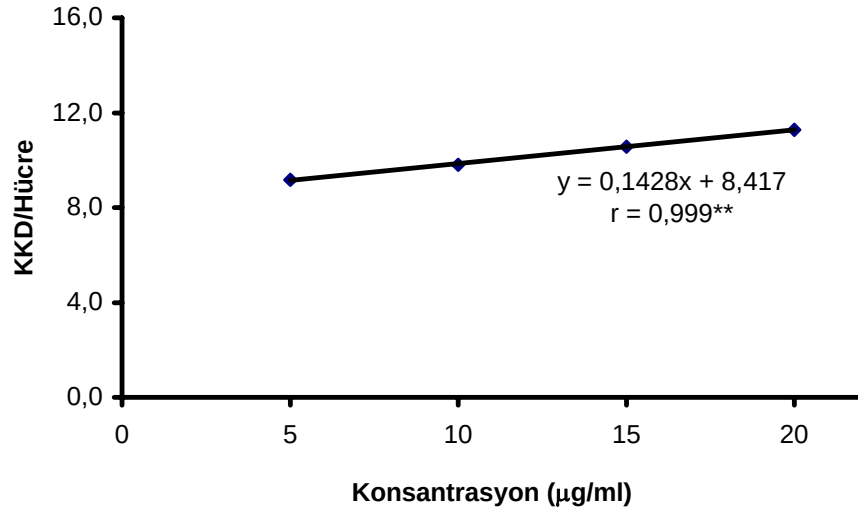
Alpha-cypermethrin, insan periferik lenfositlerinde hem 24 hem de 48 saatlik muamele sürelerinde kullanılan tüm konsantrasyonlarda (5, 10, 15, 20 µg/ml) KKD'ni hem kontrol hem de eritici kontrole göre istatistiksel olarak önemli derecede arttırmıştır (Çizelge 4.5). Fakat bu artış pozitif kontrol kadar olmamıştır. Yani, muameleli kültürlerdeki KKD sayısı pozitif kontrolden önemli derecede düşük bulunmuştur.

Alpha-cypermethrin, insan periferik lenfositlerinde KKD frekansını 24 ve 48 saat muamele sürelerinde doza bağlı olarak arttırmıştır (Şekil 4.34, Şekil 4.35).

Çizelge 4.5. Değişik Dozlarda Alpha-Cypermethrin ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilmiş Olan İnsan Periferik Lenfositlerinde Hücre Başına Düşen Ortalama KKD Sayısı.

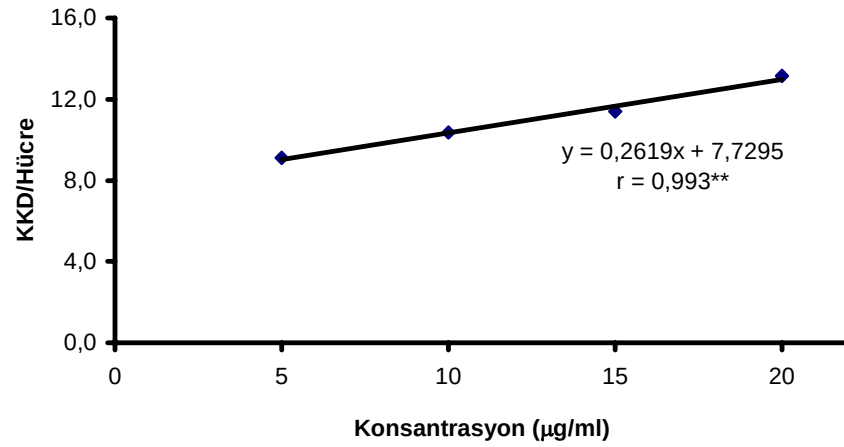
Test Maddesi	Muamele Süresi (saat)	Konsantrasyon (µg/ml)	Min-Max KKD	KKD/Hücre±SH
Kontrol	--	--	2-15	6.67±0.200
DMSO (EK) MMC (PK)	24	8µl/ml 0.250	2-12 28-107	6.22±0.343 63.43±3.86
Alpha-cypermethrin	24	5	2-17	9.16±0.415 a ₂ b ₃ c ₃
		10	3-19	9.80±0.484 a ₃ b ₃ c ₃
		15	5-26	10.56±0.410 a ₃ b ₃ c ₃
		20	4-20	11.28±0.330 a ₃ b ₃ c ₃
DMSO (EK) MMC (PK)	48	8µl/ml 0.250	1-13 75-148	6.48±0.258 104.41±2.37
Alpha-cypermethrin	48	5	3-19	9.13±0.467 a ₂ b ₂ c ₃
		10	4-22	10.35±0.503 a ₃ b ₃ c ₃
		15	4-25	11.38±0.239 a ₃ b ₃ c ₃
		20	6-30	13.14±0.443 a ₃ b ₃ c ₃

a: Kontrol ile; b: Eritici Kontrol ile; c: Pozitif Kontrol ile aradaki fark önemlidir.
a₁b₁c₁ : P≤0.05 a₂b₂c₂ : P≤0.01 a₃b₃c₃ : P≤0.001



Şekil 4.34. Farklı dozlarda Alpha-cypermethrin ile 24 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde KKD/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.

****:** $P < 0.01$



Şekil 4.35. Farklı dozlarda Alpha-cypermethrin ile 48 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde KKD/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.

****:** $P < 0.01$

4.2.2. Alpha-Cypermethrinin Kromozom Anormalliklerinin (KA) Oluşumu Üzerindeki Etkileri

Alpha-cypermethrin, insan periferik lenfositlerinde yapısal kromozom anormalliklerini hem 24 hem de 48 saatlik muamele süresinde tüm dozlarda (5, 10, 15, 20 µg/ml) kontrole ve eritici kontrole göre istatistiksel olarak önemli derecede uyarılmıştır (Çizelge 4.6). Fakat, bu uyarılma pozitif kontroldeki kadar olmamıştır. Alpha-cypermethrin her iki muamele süresinde yapısal kromozom anormalliklerini doza bağlı olarak arttırmıştır (Şekil 4.36, Şekil 4.37). Ancak alpha-cypermethrin sayısal kromozom aberasyonunu uyarmamıştır.

Alpha-cypermethrinin toplam kromozom anormallikleri ve anormal hücre oluşumu üzerindeki etkisi de yapısal kromozom anormalliğinde olduğu gibidir. Yani, insektisid tarafından meydana getirilen etki sayısal anormallikten çok yapısal anormallik oluşumu üzerinedir. Alpha-cypermethrin 24 ve 48 saat muamele süresi ve bütün konsantrasyonlarda (5, 10, 15, 20 µg/ml), hem anormallik içeren hücre yüzdesini hem de hücre başına düşen toplam KA (KA/hücre) sayısını önemli derecede arttırmıştır. Ayrıca, 24 ve 48 saatlik muamele sürelerinde toplam kromozom anormallikleri ve anormal hücre yüzdesindeki artış doza bağlı bulunmuş (Şekil 4.38, Şekil 4.39, Şekil 4.40, Şekil 4.41) fakat bu artışın pozitif kontrol kadar olmadığı belirlenmiştir.

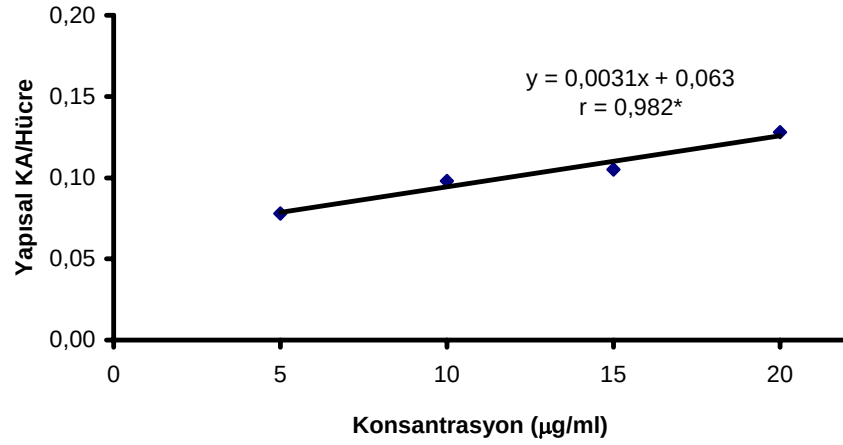
Alpha-cypermethrin insan periferik lenfositlerinde kromatid kırığı (Şekil 4.42, Şekil 4.43, Şekil 4.44, Şekil 4.45, Şekil 4.48), kromozom kırığı (Şekil 4.49), fragment (Şekil 4.50, Şekil 4.51), kardeş kromatid birleşmesi (Şekil 4.46), kromatid değişimi (Şekil 4.47, Şekil 4.52, Şekil 4.53) endoreduplikasyon (Şekil 4.54) gibi kromozom anormalliklerine neden olmuştur.

Çizelge 4.6. Değişik Dozlarda Alpha-cypermethrin ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilmiş Olan İnsan Periferel Lenfositlerinde Kromozom Anormallikleri.

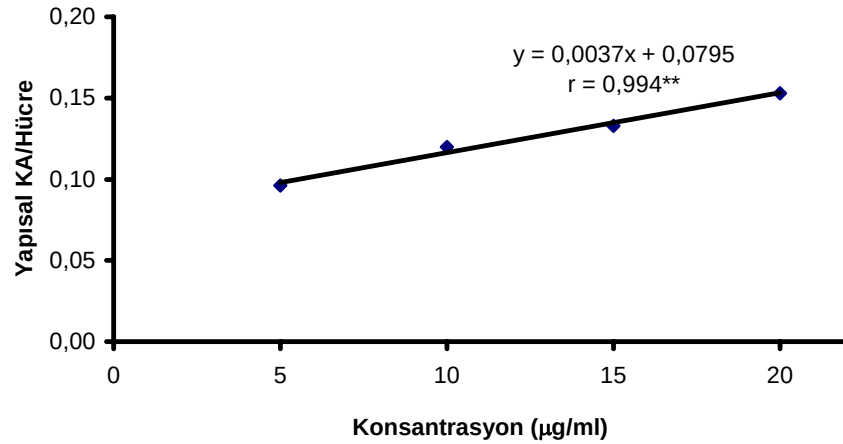
Test Maddesi	Muamele		Kromozomal Anormallikler				Yapısal KA/Hücre ± SH	Toplam KA/Hücre ± SH	Anormal Hücre % ± SH
			Yapısal KA		Sayısal KA				
	Süre (saat)	Kons. (µg/ml)	Kromatid tipi	Kromozom tipi					
Kontrol	--		23	-	--		0.04±0.003	0.04±0.003	3.83±0.307
DMSO (EK)	24	8µl/ml	17	4	--		0.04±0.002	0.04±0.002	3.50±0.223
MMC (PK)		0.250	489	73	--		0.94±0.119	0.94±0.119	49.50±5.077
Alpha-cypermethrin	24	5	42	5	--		0.08±0.011 a ₁ b ₁ c ₃	0.08±0.011 a ₁ b ₁ c ₃	7.50±1.056 a ₁ b ₁ c ₃
		10	58	1	--		0.10±0.012 a ₂ b ₂ c ₃	0.10±0.012 a ₂ b ₂ c ₃	8.83±1.137 a ₂ b ₂ c ₃
		15	57	6	1		0.11±0.006 a ₃ b ₃ c ₃	0.11±0.007 a ₃ b ₃ c ₃	9.33±0.333 a ₃ b ₃ c ₃
		20	74	3	--		0.13±0.011 a ₃ b ₃ c ₃	0.13±0.011 a ₃ b ₃ c ₃	11.83±1.07 a ₃ b ₃ c ₃
DMSO (EK)	48	8µl/ml	22	2	1		0.04±0.002	0.04±0.003	4.17±0.307
MMC (PK)		0.250	1604	241	--		3.08±0.357	3.08±0.357	92.66±1.646
Alpha-cypermethrin	48	5	51	7	1		0.10±0.016 a ₁ b ₁ c ₃	0.10±0.014 a ₁ b ₁ c ₃	8.17±1.046 a ₂ b ₁ c ₃
		10	66	6	1		0.12±0.013 a ₂ b ₂ c ₃	0.12±0.013 a ₂ b ₂ c ₃	10.66±0.954 a ₃ b ₃ c ₃
		15	74	6	--		0.13±0.008 a ₃ b ₃ c ₃	0.13±0.008 a ₃ b ₃ c ₃	12.00±0.632 a ₃ b ₃ c ₃
		20	82	10	--		0.15±0.017 a ₃ b ₃ c ₃	0.15±0.017 a ₃ b ₃ c ₃	14.00±1.437 a ₃ b ₃ c ₃

a: Kontrol ile; b: Eritici Kontrol ile; c: Pozitif Kontrol ile aradaki fark önemlidir.

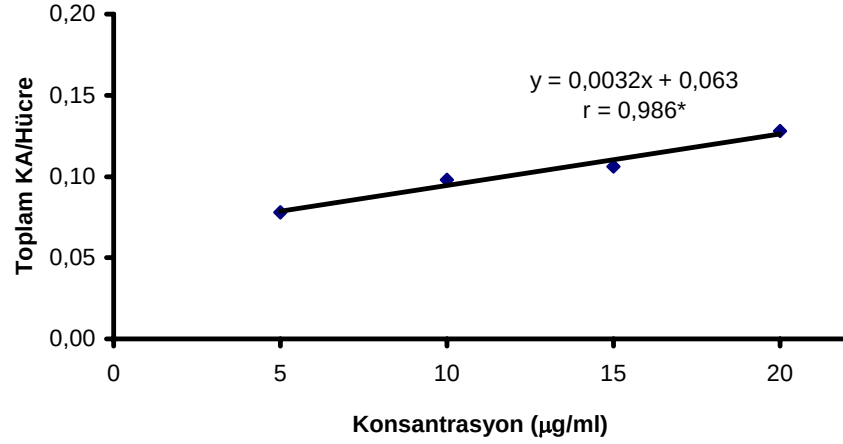
a₁b₁c₁: P $\leq$ 0.05 a₂b₂c₂: P $\leq$ 0.01 a₃b₃c₃: P $\leq$ 0.001



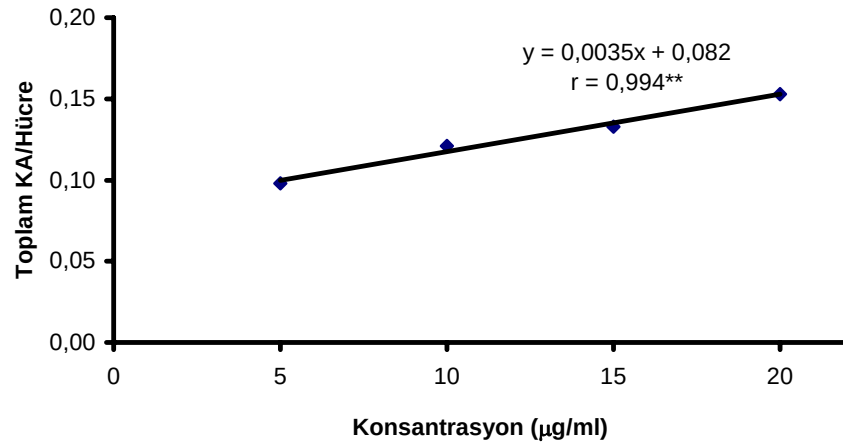
Şekil 4.36. Farklı dozlarda Alpha-cypermethrin ile 24 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde Yapısal KA/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.
*: $P < 0.05$



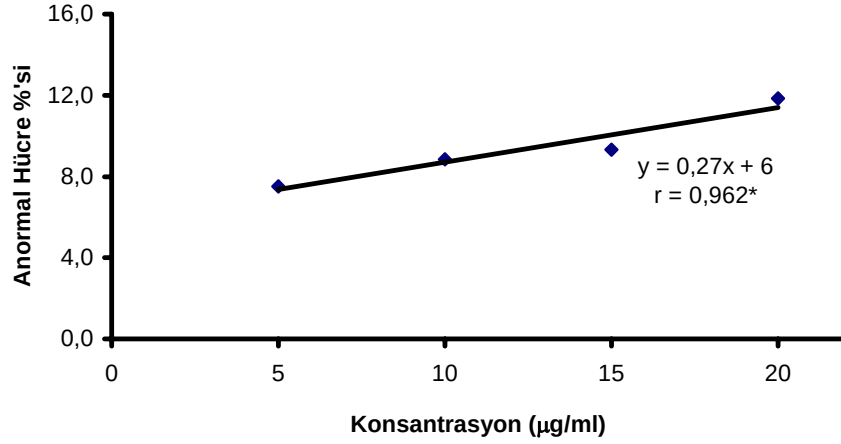
Şekil 4.37. Farklı dozlarda Alpha-cypermethrin ile 48 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde Yapısal KA/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.
**: $P < 0.01$



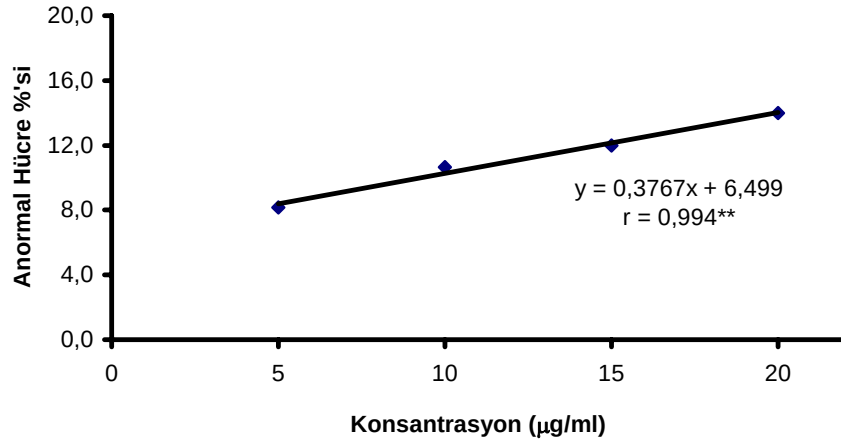
Şekil 4.38. Farklı dozlarda Alpha-cypermethrin ile 24 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde Toplam KA/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.
*: $P < 0.05$



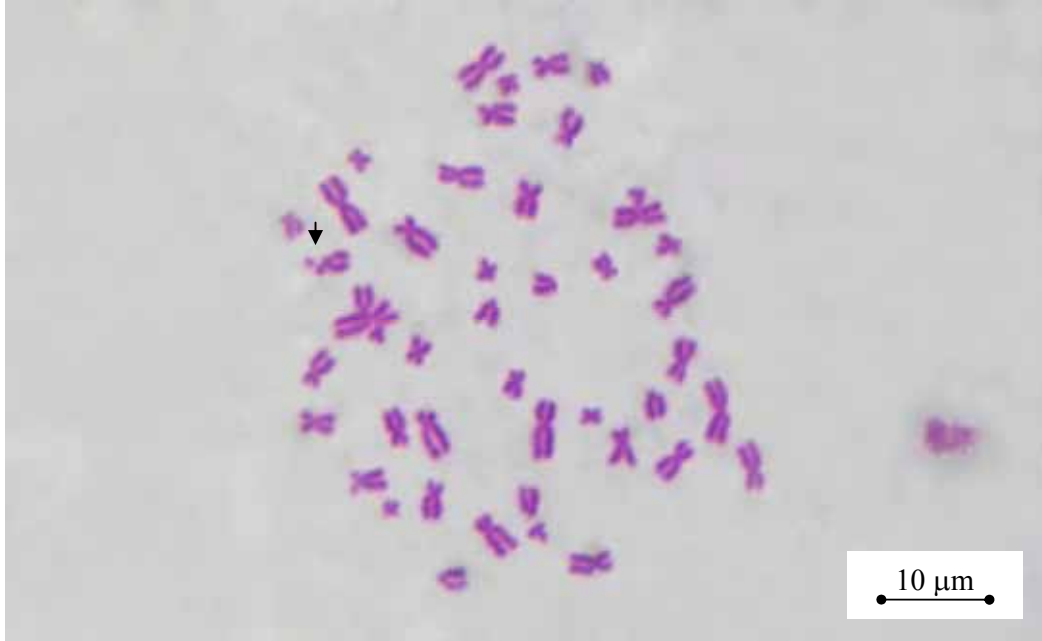
Şekil 4.39. Farklı dozlarda Alpha-cypermethrin ile 48 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde Toplam KA/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.
**: $P < 0.01$



Şekil 4.40. Farklı dozlarda Alpha-cypermethrin ile 24 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde Anormal Hücre %'sinin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.
*: $P < 0.05$



Şekil 4.41. Farklı dozlarda Alpha-cypermethrin ile 48 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde Anormal Hücre %'sinin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.
**: $P < 0.01$



Şekil 4.42. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (20 µg/ml Alpha-cypermethrin, 24 saatlik muamele, ♀). X1000



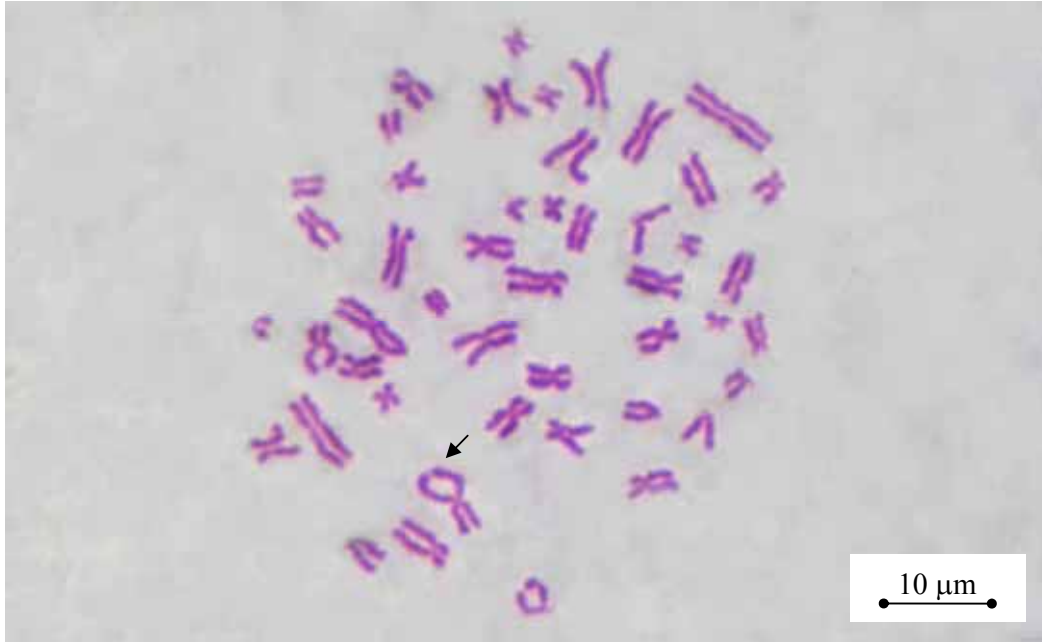
Şekil 4.43. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (15 µg/ml Alpha-cypermethrin, 48 saatlik muamele, ♂). X1000



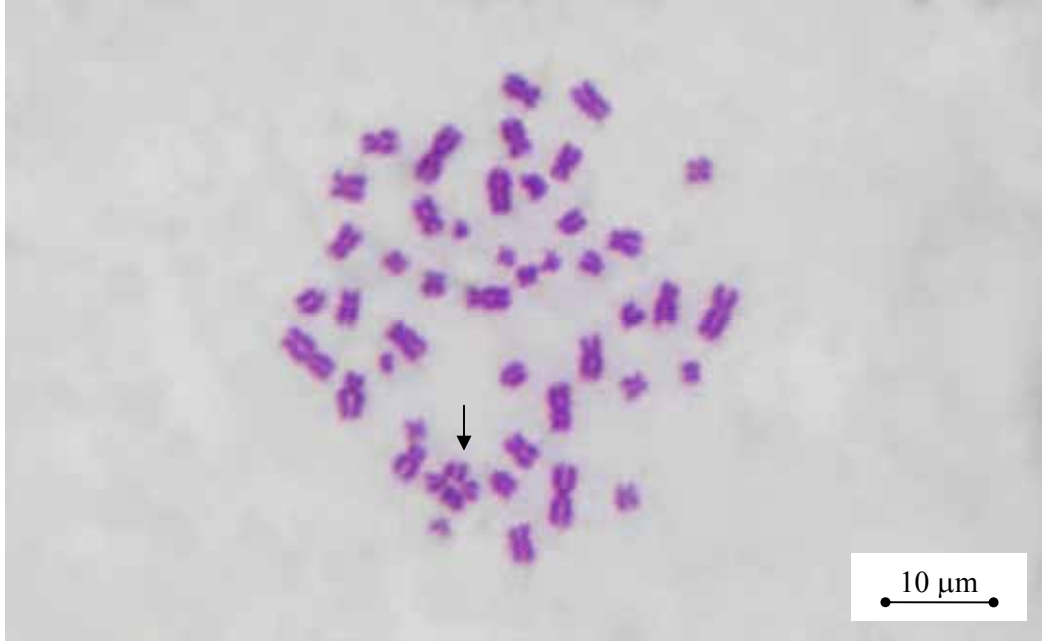
Şekil 4.44. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (15 µg/ml Alpha-cypermethrin, 24 saatlik muamele, ♂). X1000



Şekil 4.45. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (5 µg/ml Alpha-cypermethrin, 24 saatlik muamele, ♂). X1000



Şekil 4.46. Kardeş kromatid birleşmesi (KKB) bulunan metafaz plağı (10 µg/ml Alpha-cypermethrin, 24 saatlik muamele, ♀). X1000



Şekil 4.47. Kromatid değişimi (KD) bulunan metafaz plağı (20 µg/ml Alpha-cypermethrin, 48 saatlik muamele, ♀). X1000



Şekil 4.48. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (10 µg/ml Alphacypermethrin, 48 saatlik muamele, ♀). X1000



Şekil 4.49. Kromozom kırığı (B'') bulunan metafaz plağı (5 µg/ml Alphacypermethrin, 48 saatlik muamele, ♀). X1000



Şekil 4.50. Fragment (F) bulunan metafaz plağı (15 µg/ml Alpha-cypermethrin, 24 saatlik muamele, ♂). X1000



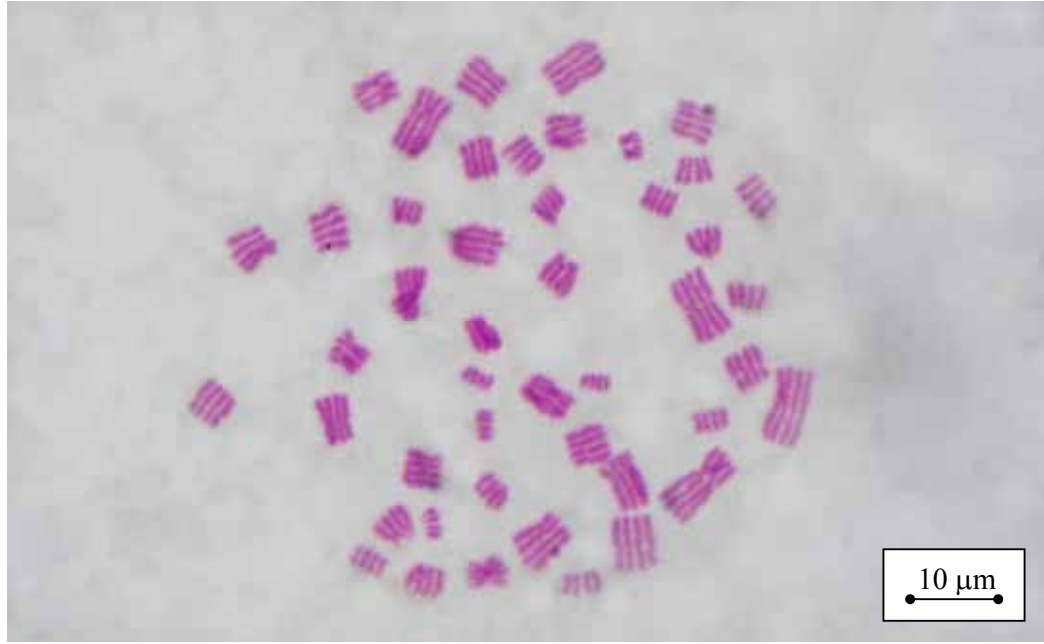
Şekil 4.51. Çok sayıda kromozom anormallliği içeren metafaz plağı (5 µg/ml Alpha-cypermethrin, 48 saatlik muamele, ♀). X1000



Şekil 4.52. Kromatid değişimi (KD) bulunan metafaz plağı (5 µg/ml Alpha-cypermethrin, 24 saatlik muamele, ♀). X1000



Şekil 4.53. Kromatid değişimi (KD) bulunan metafaz plağı (15 µg/ml Alpha-cypermethrin, 48 saatlik muamele, ♂). X1000



Şekil 4.54. Endoreduplikasyonlu (ER) metafaz plağı (15 µg/ml Alpha-cypermethrin, 24 saatlik muamele, ♀). X1000

4.2.3. Alpha-Cypermethrinin DNA Replikasyonu ve Mitoz Bölünme Üzerindeki Etkileri

Alpha-cypermethrinin DNA replikasyonu üzerine etkisi proliferasyon indeksinin (PI), mitoz bölünme üzerine etkisi ise mitotik indeksin (MI) hesaplanması yoluyla saptanmıştır.

Alpha-cypermethrin, insan periferel lenfositlerinde 24 saatlik muamele süresinde PI'ni genel olarak düşürmüş ve bu düşüş yüksek üç konsantrasyonda (10, 15, 20 µg/ml) kontrole ve eritici kontrole göre önemli derecede farklı bulunmuştur (Çizelge 4.7). Alpha-cypermethrin PI'ni, 10 µg/ml konsantrasyonda pozitif kontrol kadar, 15 ve 20 µg/ml konsantrasyonlarda ise pozitif kontrolden daha fazla düşürmüştür (Çizelge 4.7). Yani en yüksek iki konsantrasyonda alpha-cypermethrinin insan periferel lenfositlerinde DNA replikasyonu üzerine pozitif kontrolden daha fazla zararlı etkisi vardır.

Alpha-cypermethrinle 48 saat muamele edilen kültürlerde PI genel olarak azalmış, fakat bu azalma yüksek üç konsantrasyonda (10, 15, 20 µg/ml) hem kontrol hem de eritici kontrole göre önemli bulunmuştur. 48 saatlik muamelede PI'nin, düşük üç konsantrasyonda (5, 10, 15 µg/ml) pozitif kontrol kadar düşmemiş olduğu bulunmuştur. Oysa en yüksek konsantrasyonda (20 µg/ml) PI'deki düşüş pozitif kontrol kadar olmuştur (Çizelge 4.7).

Alpha-cypermethrin ile 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferel lenfositlerinde PI'de doza bağlı olarak düşüş kaydedilmiştir (Şekil 4.55, Şekil 4.56).

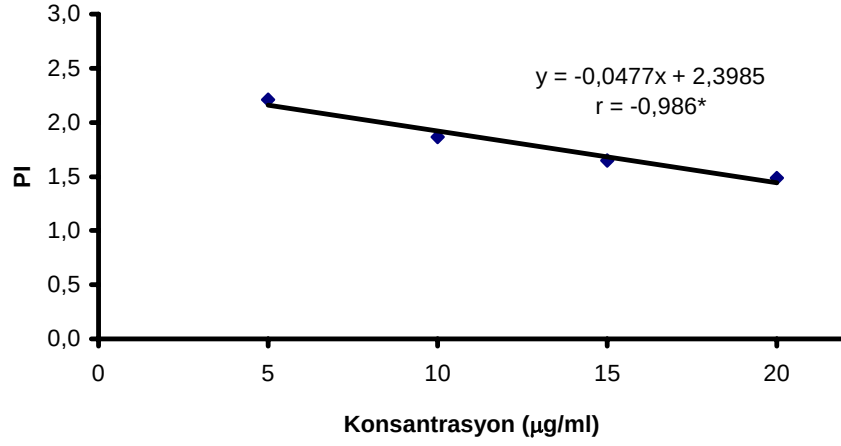
MI, hem 24 hem de 48 saat alpha-cypermethrin ile muamele edilen kültürlerde bütün konsantrasyonlarda (5, 10, 15, 20 µg/ml) kontrole ve eritici kontrole göre önemli derecede düşmüştür (Çizelge 4.7). MI, 24 saatlik muamelede en düşük konsantrasyonda (5 µg/ml) pozitif kontrolden önemli derecede yüksek, diğer konsantrasyonlarda (10, 15, 20 µg/ml) ise önemli derecede düşüktür. 48 saatlik muamelede ise düşük iki konsantrasyonda pozitif kontrolden önemli derecede yüksek, yüksek iki konsantrasyonda ise istatistiksel olarak pozitif kontrolden önemli derecede düşüktür (Çizelge 4.7). Yani en yüksek iki konsantrasyonda alpha-

cypermethrin, pozitif kontrolden daha toksik etki göstermiştir. MI'deki düşüş her iki muamele süresinde doza bağlı bulunmuştur (Şekil 4.57, Şekil 4.58).

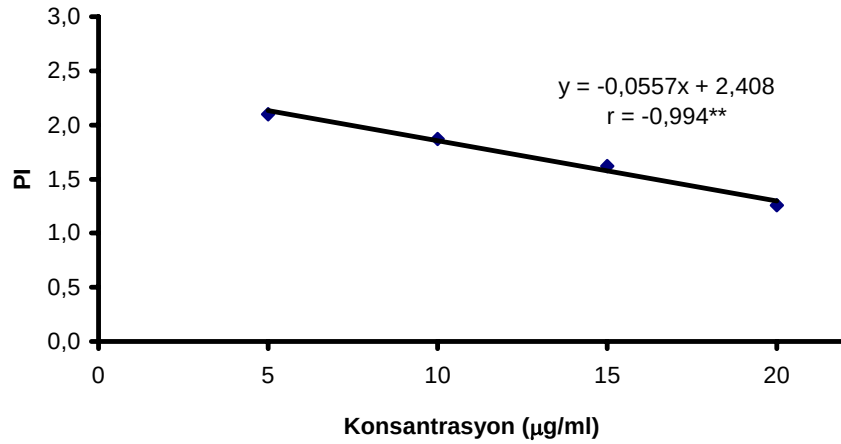
Çizelge 4.7. Değişik Dozlarda Alpha-cypermethrin ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilmiş Olan İnsan Periferik Lenfositlerinde Proliferasyon İndeksi (PI) ve Mitotik İndeks (MI).

Test Maddesi	Muamele		M1	M2	M3	PI±SH	MI±SH
	Süre (saat)	Kons. (µg/ml)					
Kontrol	--	--	133	210	257	2.21±0.099	5.16±0.509
DMSO (EK)	24	8µl/ml	139	206	255	2.19±0.107	4.35±0.373
MMC (PK)		0.250	218	309	73	1.76±0.125	3.08±0.229
Alpha-cypermethrin	24	5	112	251	237	2.21±0.114 c ₁	3.69±0.207 a ₃ b ₁ c ₁
		10	203	274	123	1.87±0.059 a ₂ b ₂	2.86±0.083 a ₃ b ₃ c ₁
		15	269	273	58	1.65±0.030 a ₃ b ₃ c ₁	2.40±0.102 a ₃ b ₃ c ₃
		20	333	243	24	1.49±0.033 a ₃ b ₃ c ₃	1.73±0.121 a ₃ b ₃ c ₃
DMSO (EK)	48	8µl/ml	123	240	237	2.19±0.078	4.50±0.215
MMC (PK)		0.250	447	149	4	1.26±0.035	2.48±0.171
Alpha-cypermethrin	48	5	152	235	213	2.10±0.106 c ₃	3.55±0.224 a ₃ b ₂ c ₂
		10	182	314	104	1.87±0.030 a ₃ b ₃ c ₃	2.83±0.120 a ₃ b ₃ c ₁
		15	270	287	43	1.62±0.033 a ₃ b ₃ c ₃	2.04±0.038 a ₃ b ₃ c ₃
		20	450	146	4	1.26±0.041 a ₃ b ₃	1.39±0.061 a ₃ b ₃ c ₃

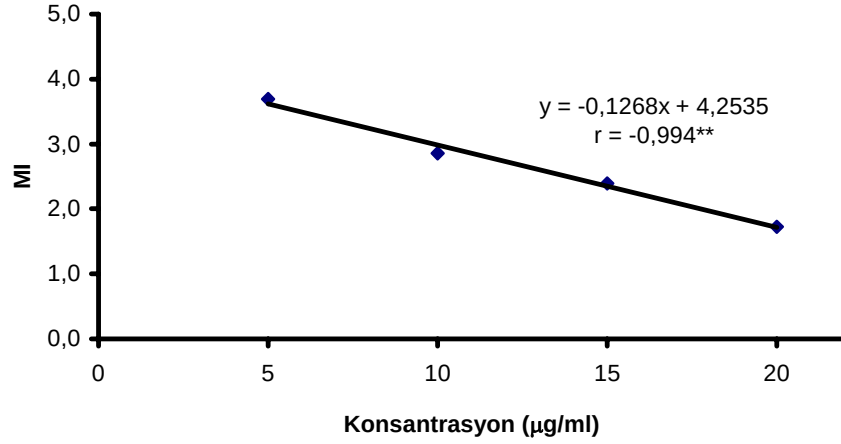
a: Kontrol ile; b: Eritici Kontrol ile; c: Pozitif Kontrol ile aradaki fark önemlidir.
a₁b₁c₁ : P≤0.05 a₂b₂c₂ : P≤0.01 a₃b₃c₃ : P≤0.001



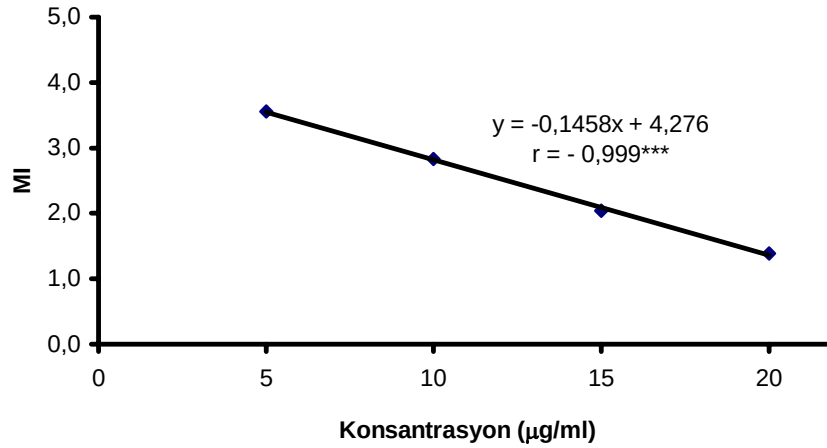
Şekil 4.55. Farklı dozlarda Alpha-cypermethrin ile 24 saat muamele edilmiş insan periferal lenfositlerinde PI'nin doza bağlı azalışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.
*: $P < 0.05$



Şekil 4.56. Farklı dozlarda Alpha-cypermethrin ile 48 saat muamele edilmiş insan periferal lenfositlerinde PI'nin doza bağlı azalışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.
**: $P < 0.01$



Şekil 4.57. Farklı dozlarda Alpha-cypermethrin ile 24 saat muamele edilmiş insan periferik lenfositlerinde MI'in doza bağlı azalışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.
 **: P<0.01



Şekil 4.58. Farklı dozlarda Alpha-cypermethrin ile 48 saat muamele edilmiş insan periferik lenfositlerinde MI'in doza bağlı azalışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.
 ***: P<0.001

4.2.4. Alpha-Cypermethrinin Mikronükleus (MN) Oluşumu ve Nükleus Bölünmesi Üzerindeki Etkileri

Alpha-cypermethrin ile 24 ve 48 saatlik muamele edilen kültürlerde hem MN içeren iki nükleuslu hücre %'si (% MNBN) hem de MN %'si düşük iki konsantrasyonda (5, 10 µg/ml) kontrole ve eritici kontrole göre önemli derecede yüksek, pozitif kontrole göre ise önemli derecede düşük bulunmuştur (Çizelge 4.8). Yani alpha-cypermethrin mikronükleus oluşumunu pozitif kontrol kadar uyarmamıştır. Fakat yüksek iki konsantrasyondaki (15, 20 µg/ml) alpha-cypermethrin ile muamele edilen kültürlerde yeterli sayıda iki nükleuslu hücre bulunamamıştır. Bundan dolayı, yüksek iki konsantrasyona ait preparatlarda bu parametreler hesaplanamadığından doz etki ilişkisi belirlenememiştir.

Alpha-cypermethrin, insan periferik lenfositlerinde farklı sayılarda ve büyüklüklerde (Şekil 4.59, Şekil 4.60, Şekil 4.61, Şekil 4.62) mikronükleus oluşumlarına sebep olmuştur.

Alpha-cypermethrinin nükleus bölünmesi üzerine etkisini belirlemek için nükleus bölünme indeksi (NBI) saptanmıştır. Alpha-cypermethrin hem 24 hem de 48 saatlik muamelede tüm konsantrasyonlarda (5, 10, 15, 20 µg/ml) NBI'ni kontrole ve eritici kontrole göre önemli derecede düşürmüştür (Çizelge 4.8). Ayrıca 24 saatlik muamelede tüm konsantrasyonlarda NBI pozitif kontrole göre de önemli derecede düşük bulunmuştur. 48 saatlik muamelede sadece en düşük konsantrasyonda, NBI pozitif kontrole göre önemli derece yüksek, fakat diğer tüm konsantrasyonlarda pozitif kontrolden önemli derecede düşük bulunmuştur (Çizelge 4.8). Bu nedenle alpha-cypermethrinin nükleus bölünmesini pozitif kontrolden daha fazla engellediğini söyleyebiliriz. İşte bundan dolayı muameleli kültürlerde yüksek iki konsantrasyonda (15, 20 µg/ml) yeterli sayıda iki nükleuslu hücre bulunamamış ve MNBN hücre %'si ile MN %'si hesaplanamamıştır.

NBI 24 saatlik muamelede doz arttıkça düşmüş ($r=-0.944$, $p=0.056$) fakat bu azalma istatistiksel bakımdan önemli bulunmamıştır.

Çizelge 4.8. Değişik Dozlarda Alpha-cypermethrin ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilmiş Olan İnsan Periferik Lenfositlerinde MN İçeren İki Nükleuslu Hücre %'si, MN⁺si ve NBI.

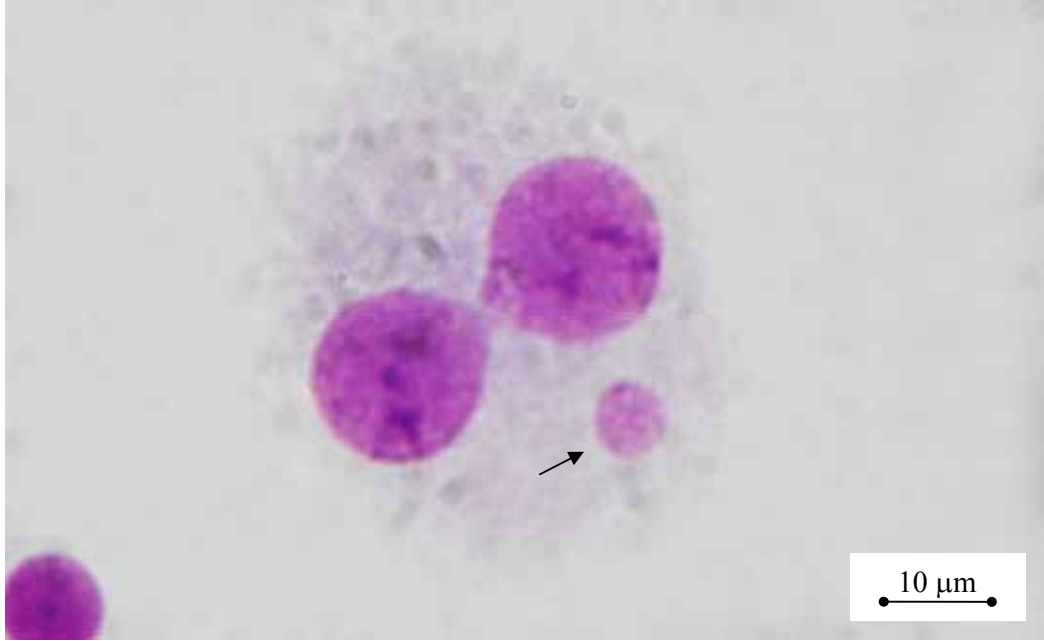
Test Maddesi	Muamele		MN Sayısına Göre İki Nükleuslu Hücre Sayısı					MN İçeren İki Nükleuslu Hücre %'si	% MN [±] SH	Nükleus Sayısına Göre Hücrelerin Dağılımı				NBI [±] SH
	Süre (saat)	Kons. (µg/ml)	0	1	2	3	>3			1	2	3	4	
Kontrol	--	--	11937	63	0	0	0	0.53 [±] 0.055	0.53 [±] 0.055	3956	1743	128	173	1.42 [±] 0.046
DMSO (EK)	24	8µl/ml	11934	64	2	0	0	0.55 [±] 0.065	0.57 [±] 0.067	3884	1803	127	186	1.44 [±] 0.033
MMC (PK)	24	0.25	11305	631	61	2	1	5.79 [±] 0.345	6.36 [±] 0.361	4793	1193	9	5	1.20 [±] 0.026
Alpha-cypermethrin	5	5	11917	80	3	0	0	0.69 [±] 0.037 a ₂ b ₁ c ₃	0.72 [±] 0.045 a ₂ b ₁ c ₃	5306	684	7	3	1.12 [±] 0.006 a ₃ b ₃ c ₃
	10	10	5955	42	2	1	0	*0.75 [±] 0.034 a ₃ b ₃ c ₃	*0.82 [±] 0.065 a ₃ b ₃ c ₃	5655	345	0	0	1.06 [±] 0.002 a ₃ b ₃ c ₃
	15	15	#	#	#	#	#	#	#	5954	46	0	0	1.01 [±] 0.001 a ₃ b ₃ c ₃
	20	20	#	#	#	#	#	#	#	5967	33	0	0	1.01 [±] 0.001 a ₃ b ₃ c ₃
DMSO (EK)	48	8µl/ml	11931	69	0	0	0	0.58 [±] 0.051	0.58 [±] 0.051	3851	1867	120	162	1.43 [±] 0.047
MMC (PK)	48	0.25	9817	1850	228	83	22	18.19 [±] 1.155	22.03 [±] 1.530	5518	471	9	2	1.08 [±] 0.009
Alpha-cypermethrin	5	5	11910	86	3	1	0	0.75 [±] 0.053 a ₂ b ₁ c ₃	0.79 [±] 0.055 a ₂ b ₁ c ₃	5257	737	5	1	1.13 [±] 0.014 a ₃ b ₃ c ₁
	10	10	5949	47	4	0	0	*0.85 [±] 0.042 a ₃ b ₃ c ₃	*0.92 [±] 0.060 a ₃ b ₃ c ₃	5690	308	1	1	1.05 [±] 0.001 a ₃ b ₃ c ₃
	15	15	#	#	#	#	#	#	#	5974	26	0	0	1.00 [±] 0.000 a ₃ b ₃ c ₃
	20	20	#	#	#	#	#	#	#	5980	20	0	0	1.00 [±] 0.000 a ₃ b ₃ c ₃

a: Kontrol ile; b: Eritici Kontrol ile; c: Pozitif Kontrol ile aradaki fark önemlidir.

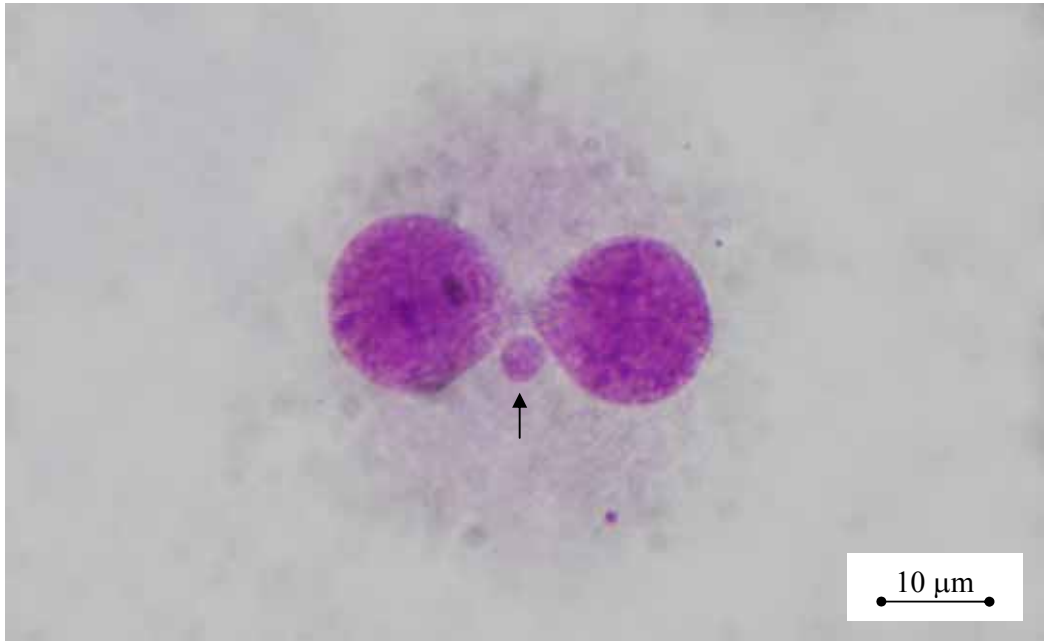
a₁b₁c₁: P≤0.05 a₂b₂c₂: P≤0.01 a₃b₃c₃: P≤0.001

* Yüksek toksisiteden dolayı 6000 iki nükleuslu hücre incelendi

Yeterli sayıda iki nükleuslu hücre bulunamadı.



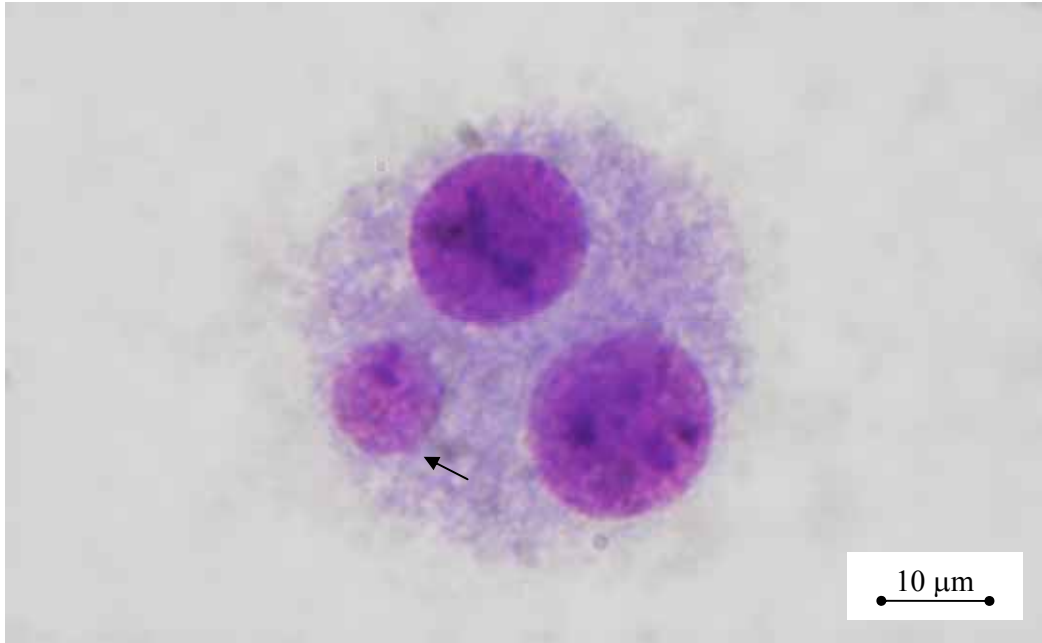
Şekil 4.59. Mikronükleus içeren iki nükleuslu hücre (10 µg/ml Alpha-cypermethrin, 24 saatlik muamele, ♀). X1000



Şekil 4.60. Mikronükleus içeren iki nükleuslu hücre (5 µg/ml Alpha-cypermethrin, 48 saatlik muamele, ♂). X1000



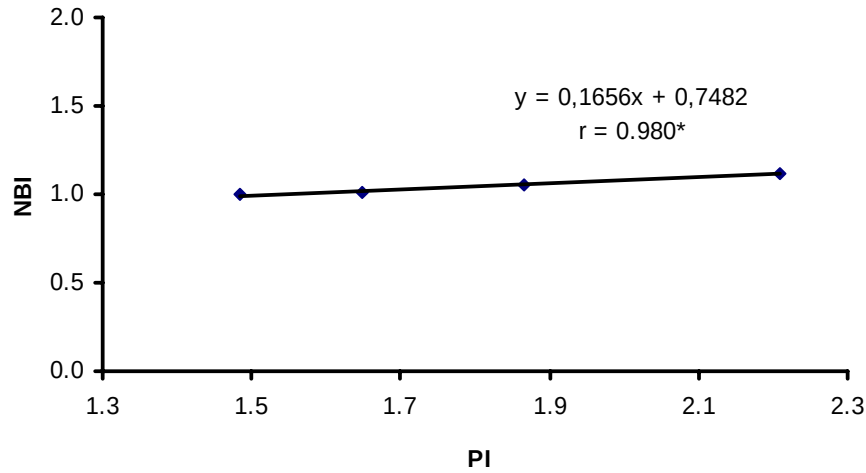
Şekil 4.61. İki mikronükleus içeren iki nükleuslu hücre (10 µg/ml Alpha-cypermethrin, 48 saatlik muamele, ♀). X1000



Şekil 4.62. Mikronükleus içeren iki nükleuslu hücre (5 µg/ml Alpha-cypermethrin, 24 saatlik muamele, ♀). X1000

4.2.5. Proliferasyon İndeksi (PI) ile Nükleus Bölünme İndeksi (NBI) Arasındaki İlişki

Değişik konsantrasyonlarda alpha-cypermethrin ile 24 saat muamele edilen insan periferik lenfositlerinde belirlenen PI ile NBI arasında istatistiksel olarak önemli bir korelasyon belirlenmiştir (Şekil 4.63). Fakat, bu ilişki alpha-cypermethrinin 48 saat süre ile insan periferik lenfositlerine uygulanması ile edilen PI ve NBI değerleri arasında önemli bulunmamıştır.



Şekil 4.63. Farklı dozlarda Alpha-cypermethrin ile 24 saat muamele edilmiş insan periferik lenfositlerinde NBI'nin PI ile ilişkisini gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.

*: $P < 0.05$

4.3. Acetamiprid+Alpha-Cypermethrin (Acm+A-cyp) Karışımının Birlikte Kullanıldığında İnsan Periferal Lenfositlerindeki Genotoksik Etkileri

4.3.1. Acetamiprid+Alpha-Cypermethrin Karışımının Kardeş Kromatid Değişimi (KKD) Üzerindeki Etkileri

Acetamiprid ve alpha-cypermethrinin tek başına kullanıldıkları konsantrasyonların yarısı karıştırılarak birlikte kullanıldığında (Çizelge 4.9) insan periferal lenfositlerinde KKD frekansını 24 ve 48 saatlik muamelelerde bütün konsantrasyonlarda (Acm+A-cyp; 12.5+2.5, 15+5, 17.5+7.5, 20+10 µg/ml) hem kontrol hem de eritici kontrole göre önemli derecede ($P<0.001$) arttırmıştır (Çizelge 4.10). Karışımın etkisiyle artan KKD frekansı pozitif kontrole göre ise önemli derecede düşük bulunmuştur. Ayrıca, acetamiprid ve alpha-cypermethrin karışımı insan periferal kan lenfositlerinde KKD frekansını 24 ve 48 saatlik muamelelerde doza bağlı olarak arttırmıştır (Şekil 4.64, Şekil 4.65).

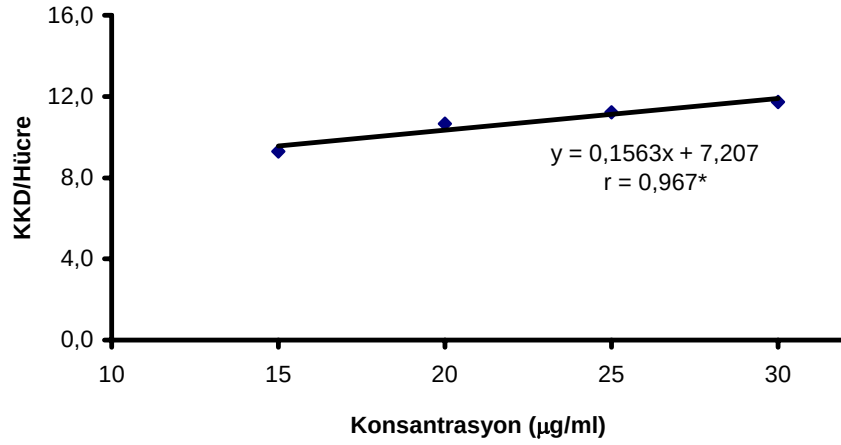
Çizelge 4.9. Acetamiprid (Acm) ve Alpha-cypermethrin (A-cyp) karışımı ile muamele edilen insan periferal lenfositlerinde kullanılan dozlarının kısaltması.

Test Maddesi	Konsantrasyon (µg/ml)	Kısaltma (Kons. µg/ml)
Acm+A-cyp	12.5+2.5	15
	15+5	20
	17.5+7.5	25
	20+10	30

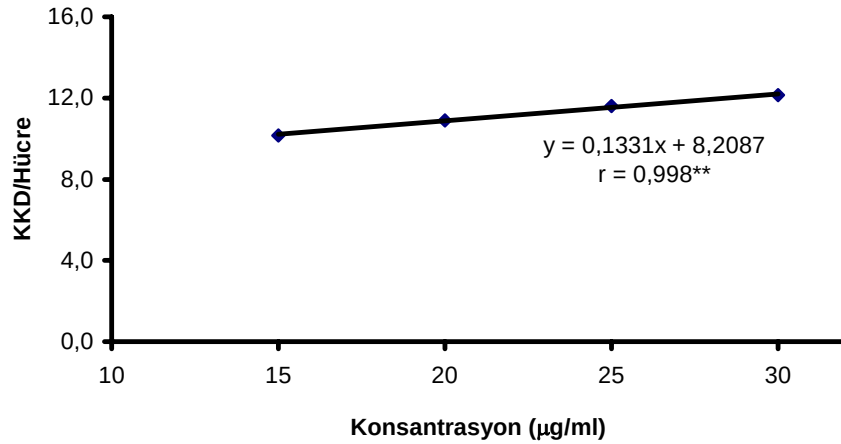
Çizelge 4.10. Değişik Dozlarda Acetamiprid+Alpha-cypermethrin Karışımı ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilmiş Olan İnsan Periferik Lenfositlerinde Hücre Başına Düşen Ortalama KKD Sayısı.

Test Maddesi	Muamele Süresi (saat)	Konsantrasyon (µg/ml)	Min-Max KKD	KKD/Hücre±SH
Kontrol	--	--	2-15	6.81±0.339
DMSO (EK)	24	8µl/ml	1-18	6.88±0.224
MMC (PK)		0.250	22-89	55.13±2.870
Acetamiprid + Alpha-cypermethrin	24	12.5+2.5	3-18	9.30±0.261 a ₃ b ₃ c ₃
		15+5	4-19	10.66±0.538 a ₃ b ₃ c ₃
		17.5+7.5	5-21	11.21±0.404 a ₃ b ₃ c ₃
		20+10	5-23	11.72±0.263 a ₃ b ₃ c ₃
DMSO (EK)	48	8µl/ml	2-15	6.88±0.269
MMC (PK)		0.250	64-164	107.25±1.458
Acetamiprid + Alpha-cypermethrin	48	12.5+2.5	3-21	10.17±0.432 a ₃ b ₃ c ₃
		15+5	5-21	10.90±0.290 a ₃ b ₃ c ₃
		17.5+7.5	6-21	11.59±0.211 a ₃ b ₃ c ₃
		20+10	4-23	12.15±0.227 a ₃ b ₃ c ₃

a: Kontrol ile; b: Eritici Kontrol ile; c: Pozitif Kontrol ile aradaki fark önemlidir.
a₁b₁c₁ : P≤0.05 a₂b₂c₂ : P≤0.01 a₃b₃c₃ : P≤0.001



Şekil 4.64. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 24 saat muamele edilmiş insan periferik lenfositlerinde KKD/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.
*: $P < 0.05$



Şekil 4.65. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 48 saat muamele edilmiş insan periferik lenfositlerinde KKD/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.
**: $P < 0.01$

4.3.2. Acetamiprid+Alpha-Cypermethrin Karışımının Kromozom Anormalliklerinin (KA) Oluşumu Üzerindeki Etkileri

Acetamiprid ve alpha-cypermethrin karışımı ile 24 saat muamele edilen insan periferik lenfositlerinde yapısal kromozom anormalliklerindeki artış bütün konsantrasyonlarda (Acm+A-cyp; 12.5+2.5, 15+5, 17.5+7.5, 20+10 µg/ml) hem kontrol hem de eritici kontrole göre istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.11). 24 saat muamelede Acm+A-cyp karışımı yapısal kromozom anormalliklerini pozitif kontrol kadar uyarmamıştır (Çizelge 4.11). Hücre başına düşen toplam KA ve anormal hücre yüzdesindeki artış da yapısal kromozom anormalliği içeren hücrelerin oranındaki artışa benzer durum göstermiştir.

İnsan periferik lenfositleri Acm+A-cyp karışımı ile 48 saat muamele edildiğinde, karışımın etkisiyle oluşan yapısal kromozom anormallikleri bütün konsantrasyonlarda (Acm+A-cyp; 12.5+2.5, 15+5, 17.5+7.5, 20+10 µg/ml) kontrol ve eritici kontrole göre istatistiksel olarak önemli derecede artış göstermiştir. Fakat bu artış pozitif kontrol kadar olmamıştır (Çizelge 4.11). 48 saatlik muamelede de hücre başına düşen toplam anormallik ve anormal hücre yüzdesi yapısal kromozom anormalliğiyle uygunluk göstermektedir. Yani hem 24 hem de 48 saatlik muamelede Acm+A-cyp'nin etkisiyle oluşan kromozom anormallikleri genel olarak yapısal kromozom anormalliğidir ve az sayıda olan sayısal anormalliklerin istatistiksel bakımdan toplam kromozom anormalliğine önemli derecede katkısı olmamıştır.

Acm+A-cyp insektisid karışımı ile hem 24 hem de 48 saat muamele edilen kültürlerde yapısal KA/hücre, toplam KA/hücre ve anormal hücre yüzdesi doza bağlı artış göstermiştir (Şekil 4.66, Şekil 4.67, Şekil 4.68, Şekil 4.69, Şekil 4.70, Şekil 4.71).

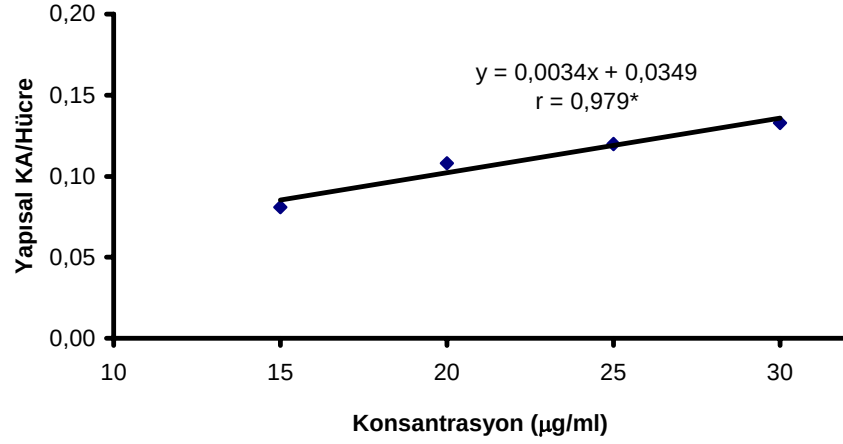
Acm+A-cyp karışımı insan periferik lenfositlerinde kromatid kırığı (Şekil 4.72, Şekil 4.73, Şekil 4.74, Şekil 4.75, Şekil 4.76), kromozom kırığı (Şekil 4.77), fragment (Şekil 4.78), kardeş kromatid birleşmesi (Şekil 4.79), kromatid değişimi (Şekil 4.80, Şekil 4.81), disentrik kromozom (Şekil 4.82) ve poliploidi (Şekil 4.83) gibi kromozom anormalliklerine neden olmuştur.

Çizelge 4.11. Değişik Dozlarda Acetamidrid+Alpha-cypermethrin Karışımı ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilmiş Olan İnsan Periferik Lenfositlerinde Kromozom Anormallikleri.

Test Maddesi	Muamele		Kromozomal Anormallikler				Yapısal KA/Hücre ± SH	Toplam KA/Hücre ± SH	Anormal Hücre % ±SH
			Yapısal KA		Sayısal KA				
	Süre (saat)	Kons. (µg/ml)	Kromatid tipi	Kromozom tipi					
Kontrol	--		23	--	--	0.04±0.004	0.04±0.004	3.83±0.401	
DMSO (EK) MMC (PK)	24	8µl/ml 0.250	22 491	-- 75	--	0.04±0.004 0.94±0.160	0.04±0.004 0.94±0.160	3.67±0.421 52.66±4.869	
Acetamidrid + Alpha-cypermethrin	24	12.5+2.5	46	3	--	0.08±0.004 a ₃ b ₃ c ₃	0.08±0.004 a ₃ b ₃ c ₃	7.50±0.500 a ₃ b ₃ c ₃	
		15+5	53	12	1	0.11±0.014 a ₂ b ₂ c ₃	0.11±0.014 a ₂ b ₂ c ₃	9.50±1.118 a ₂ b ₂ c ₃	
		17.5+7.5	71	1	1	0.12±0.020 a ₂ b ₂ c ₃	0.12±0.020 a ₂ b ₂ c ₃	10.66±1.022 a ₃ b ₃ c ₃	
		20+10	76	4	1	0.13±0.013 a ₃ b ₃ c ₃	0.14±0.012 a ₃ b ₃ c ₃	11.83±0.600 a ₃ b ₃ c ₃	
DMSO (EK) MMC (PK)	48	8µl/ml 0.250	20 1813	1 218	1 --	0.04±0.004 3.39±0.462	0.04±0.003 3.39±0.462	3.67±0.333 88.00±2.909	
Acetamidrid + Alpha-cypermethrin	48	12.5+2.5	39	6	--	0.08±0.008 a ₂ b ₂ c ₃	0.08±0.008 a ₂ b ₂ c ₃	6.833±0.792 a ₁ b ₂ c ₃	
		15+5	55	7	2	0.10±0.016 a ₁ b ₂ c ₃	0.11±0.018 a ₁ b ₂ c ₃	10.33±1.686 a ₁ b ₁ c ₃	
		17.5+7.5	66	9	--	0.13±0.017 a ₂ b ₂ c ₃	0.13±0.017 a ₂ b ₂ c ₃	12.00±1.570 a ₂ b ₂ c ₃	
		20+10	96	10	--	0.18±0.017 a ₃ b ₃ c ₃	0.18±0.017 a ₃ b ₃ c ₃	15.00±0.894 a ₃ b ₃ c ₃	

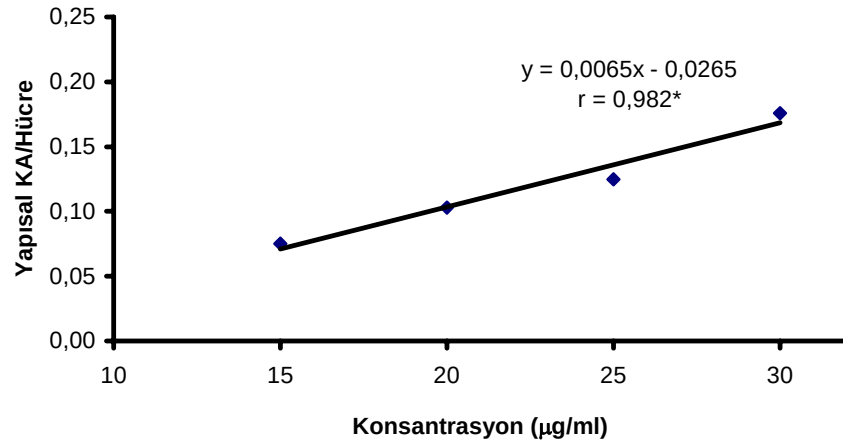
a: Kontrol ile; b: Eritici Kontrol ile; c: Pozitif Kontrol ile aradaki fark önemlidir.

a₁b₁c₁: P≤0.05 a₂b₂c₂: P≤0.01 a₃b₃c₃: P≤0.001



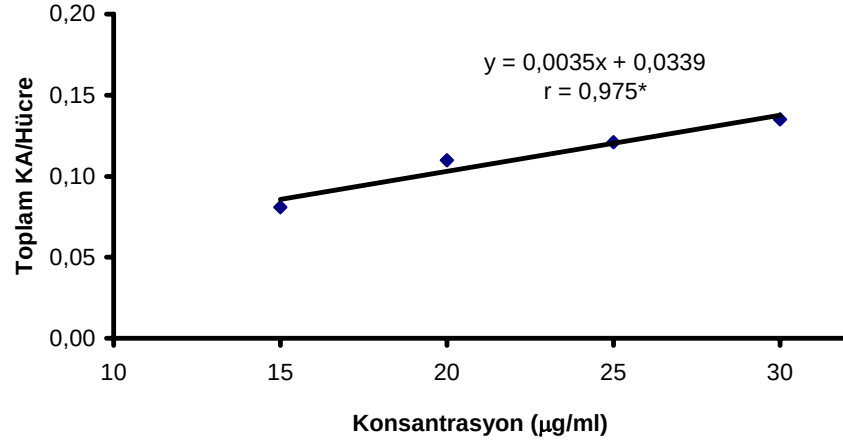
Şekil 4.66. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 24 saat muamele edilmiş insan periferik lenfositlerinde Yapısal KA/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.

*: P<0.05



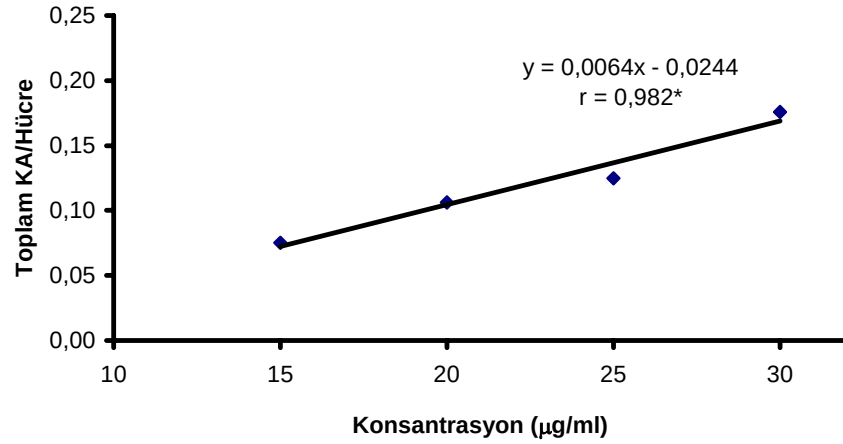
Şekil 4.67. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 48 saat muamele edilmiş insan periferik lenfositlerinde Yapısal KA/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.

*: P<0.05



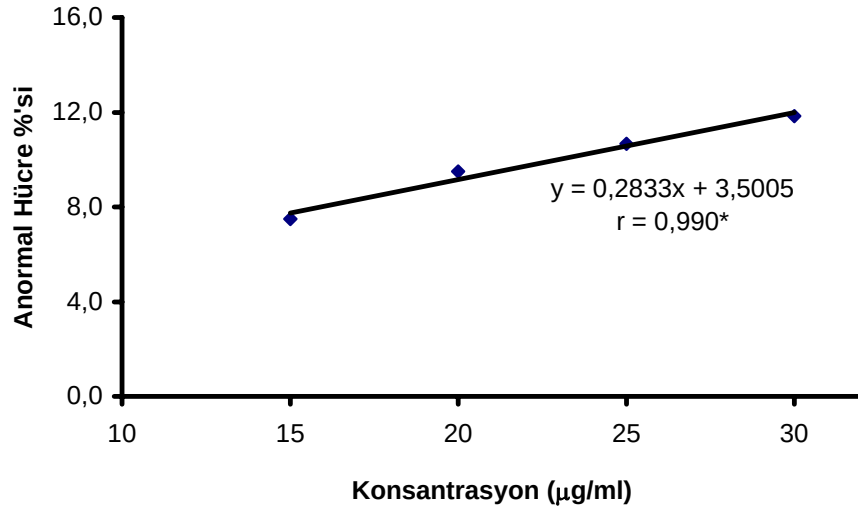
Şekil 4.68. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 24 saat muamele edilmiş insan periferallenfositlerinde Toplam KA/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.

*: P<0.05



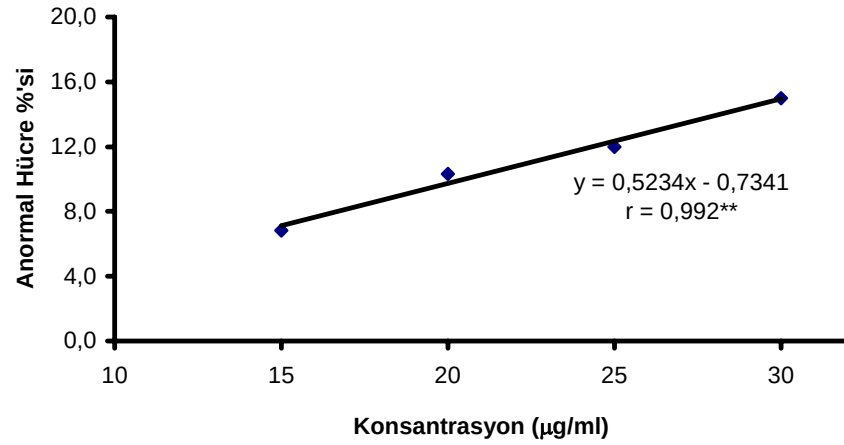
Şekil 4.69. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 48 saat muamele edilmiş insan periferallenfositlerinde Toplam KA/Hücre'nin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.

*: P<0.05



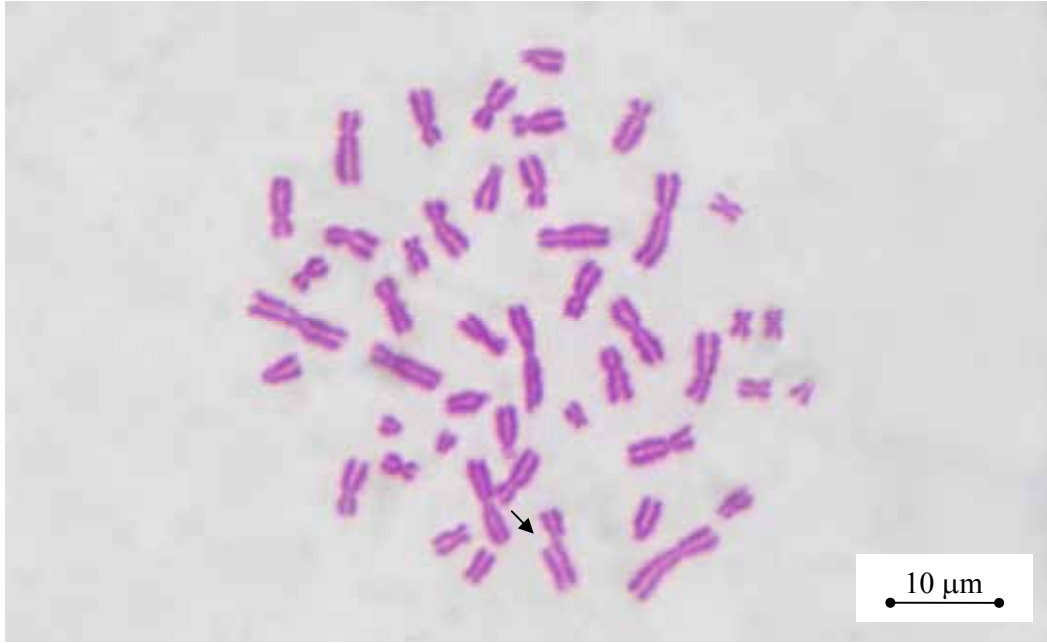
Şekil 4.70. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 24 saat muamele edilmiş insan periferallenfositlerinde Anormal Hücre %'sinin doza bağıllı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.

*: $P < 0.05$



Şekil 4.71. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 48 saat muamele edilmiş insan periferallenfositlerinde Anormal Hücre %'sinin doza bağıllı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.

** : $P < 0.01$



Şekil 4.72. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (12.5 Acm + 2.5 A-cyp $\mu\text{g/ml}$, 24 saatlik muamele, ♀). X1000



Şekil 4.73. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (15 Acm + 5 A-cyp $\mu\text{g/ml}$, 24 saatlik muamele, ♂). X1000



Şekil 4.74. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (12.5 Acm + 2.5 A-cyp µg/ml, 48 saatlik muamele, ♂). X1000



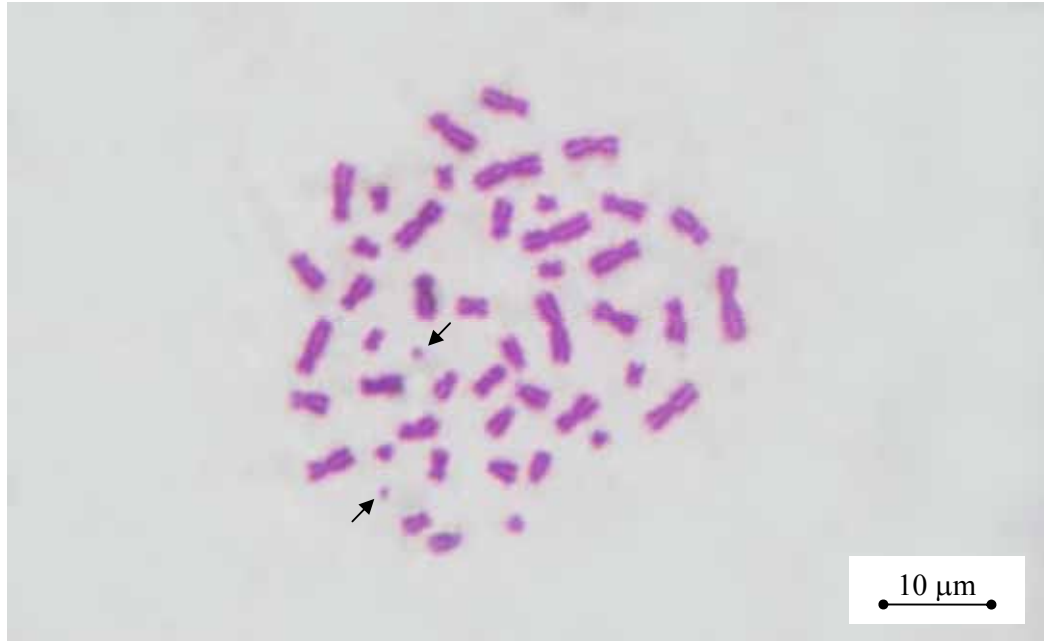
Şekil 4.75. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (20 Acm + 10 A-cyp µg/ml, 24 saatlik muamele, ♀). X1000



Şekil 4.76. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (20 Acm + 10 A-cyp $\mu\text{g/ml}$, 48 saatlik muamele, ♀). X1000



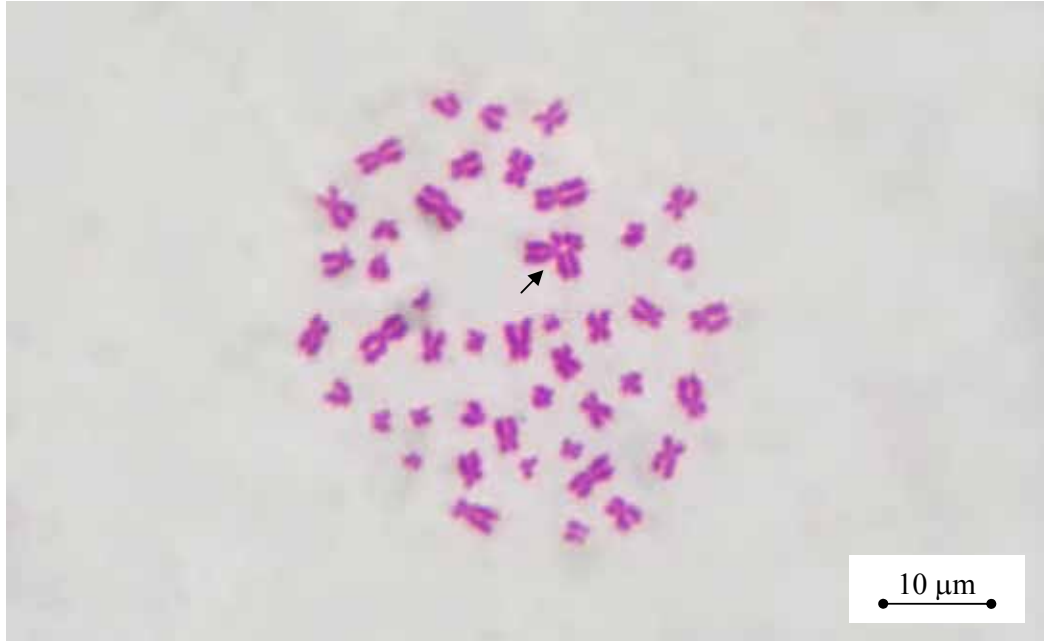
Şekil 4.77. Kromozom kırığı (B'') bulunan metafaz plağı (12.5 Acm + 2.5 A-cyp $\mu\text{g/ml}$, 24 saatlik muamele, ♂). X1000



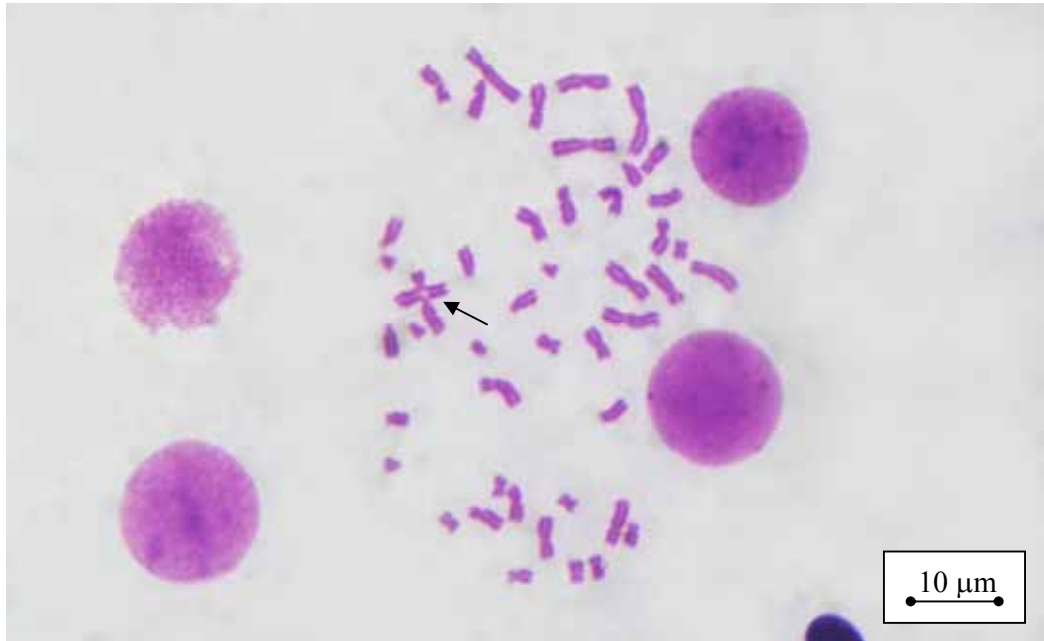
Şekil 4.78. Fragment (F) bulunan metafaz plağı (17.5 Acm + 7.5 A-cyp µg/ml, 24 saatlik muamele, ♀). X1000



Şekil 4.79. Kardeş kromatid birleşmesi (KKB) bulunan metafaz plağı (12.5 Acm +2.5 A-cyp µg/ml, 48 saatlik muamele, ♀). X1000



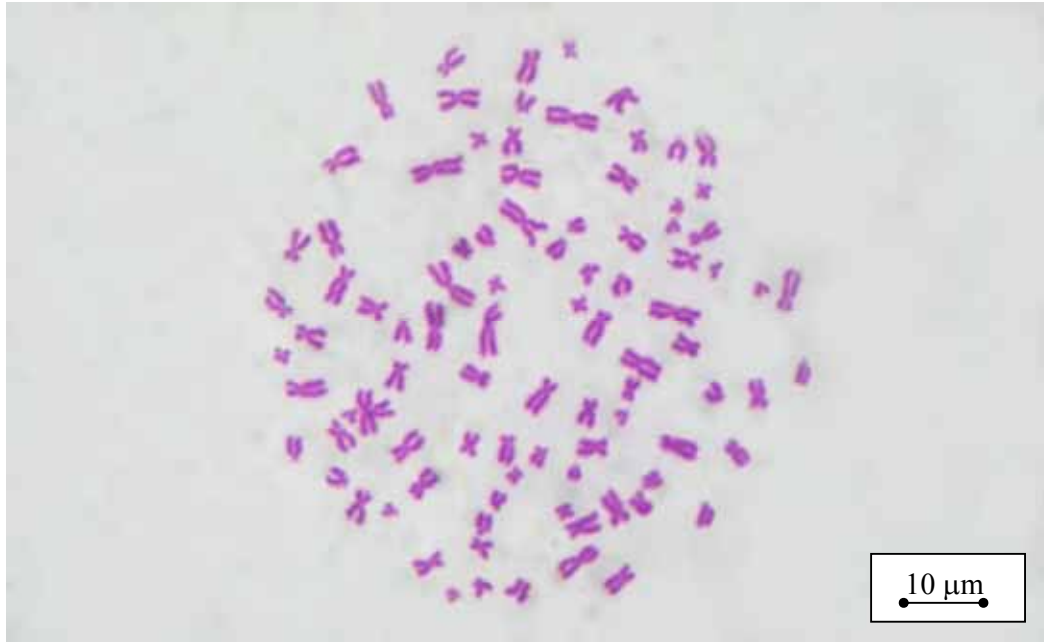
Şekil 4.80. Kromatid değişimi (KD) bulunan metafaz plağı (20 Acm + 10 A-cyp $\mu\text{g/ml}$, 48 saatlik muamele, ♀). X1000



Şekil 4.81. Kromatid değişimi (KD) bulunan metafaz plağı (12.5 Acm + 2.5 A-cyp $\mu\text{g/ml}$, 48 saatlik muamele, ♂). X1000



Şekil 4.82. Disentrik kromozom (DS) bulunan metafaz plağı (20 Acm + 10 A-cyp $\mu\text{g/ml}$, 48 saatlik muamele, ♀). X1000



Şekil 4.83. Poliploid hücre (20 Acm + 10 A-cyp $\mu\text{g/ml}$, 24 saatlik muamele, ♀). X1000

4.3.3. Acetamiprid+Alpha-Cypermethrin Karışımının DNA Replikasyonu ve Mitoz Bölünme Üzerindeki Etkileri

Acetamiprid ve alpha-cypermethrin (Acm+A-cyp) karışımı ile 24 saat muamele edilen insan periferik lenfositlerinde PI genel olarak kontrole göre azalmıştır. PI'deki bu azalma en düşük konsantrasyonda (12.5+2.5 µg/ml) sadece kontrole göre istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.12). PI diğer konsantrasyonlarda (15+5, 17.5+7.5, 20+10 µg/ml) hem kontrol hem de eritici kontrole göre önemli derecede azalmıştır. 24 saat muamele süresinde Acm+A-cyp karışımı düşük iki konsantrasyonda (12.5+2.5, 15+5 µg/ml) PI üzerine pozitif kontrol kadar etkili olamamıştır. Bu konsantrasyonlarda PI pozitif kontrole göre önemli derecede yüksektir. 24 saat muamelede, yüksek iki konsantrasyonda (17.5+7.5, 20+10 µg/ml) PI pozitif kontrolden daha yüksek bulunsada aradaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Yani en yüksek iki konsantrasyonda Acm+A-cyp karışımı PI'ni pozitif kontrol kadar düşürmüştür (Çizelge 4.12). Acm+A-cyp karışımı ile 24 saatlik muamele süresinde PI'de doza bağlı bir düşüş kaydedilmiştir (Şekil 4.84).

48 saatlik muamelede Acm+A-cyp karışımı, insan periferik lenfositlerinde bütün konsantrasyonlarda (12.5+2.5, 15+5, 17.5+7.5, 20+10 µg/ml) PI'nin hem kontrol hem de eritici kontrole göre önemli derecede düşmesine neden olmuştur (Çizelge 4.12). Fakat, Acm+A-cyp 48 saat muamelede bütün konsantrasyonlarda pozitif kontrol kadar etkili olamamıştır (Çizelge 4.12). 48 saat muamelede Acm+A-cyp karışımı PI'nin doza bağlı düşmesine neden olmuştur (Şekil 4.85).

Acm+A-cyp karışımının mitoz bölünme üzerine etkisini belirleyen MI, 24 saatlik muamelede bütün konsantrasyonlarda (12.5+2.5, 15+5, 17.5+7.5, 20+10 µg/ml) kontrol ve eritici kontrole göre istatistiksel olarak önemli derecede düşmüştür. 24 saatlik muamelede Acm+A-cyp karışımının etkisiyle azalan MI değerinin düşük üç konsantrasyonda (12.5+2.5, 15+5, 17.5+7.5 µg/ml) pozitif kontrol kadar, en yüksek konsantrasyonda (20+10 µg/ml) ise pozitif kontrolden daha düşük olduğu bulunmuştur. Yani en yüksek konsantrasyonda Acm+A-cyp karışımı pozitif kontrole nazaran mitoz bölünmeyi olumsuz yönde daha fazla etkilemiştir

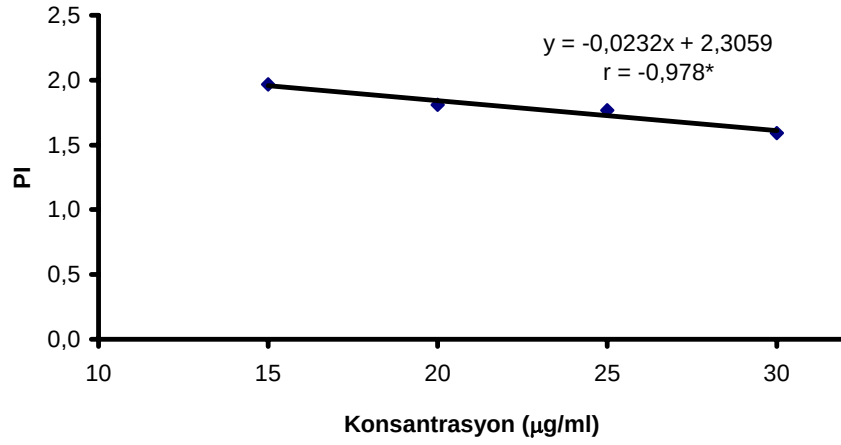
(Çizelge 4.12). 24 saatlik muamele süresinde MI doza bağlı olarak azalmıştır (Şekil 4.86).

Acm+A-cyp karışımı ile 48 saat muamele edilen kültürlerde bütün konsantrasyonlarda (12.5+2.5, 15+5, 17.5+7.5, 20+10 µg/ml) MI, kontrol ve eritici kontrole göre önemli derecede düşük bulunmuştur (Çizelge 4.12). Pozitif kontrolle kıyaslandığında ise, Acm+A-cyp karışımının insan periferik lenfositlerinde 48 saatte meydana getirdiği MI'deki azalma en düşük konsantrasyonda pozitif kontrol kadar olmamıştır, sonraki iki konsantrasyonda MI pozitif kontroldeki kadar düşmüş, en yüksek konsantrasyonda ise bu düşüş pozitif kontroldekinden daha fazla olmuştur. Yani Acm+A-cyp karışımı yüksek konsantrasyonlarda mitoz bölünmeyi ya pozitif kontrol kadar ya da ondan daha fazla olumsuz yönde etkilemiştir. 48 saat muamelede Acm+A-cyp karışımının konsantrasyonu arttıkça MI doza bağlı olarak azalmıştır (Şekil 4.87).

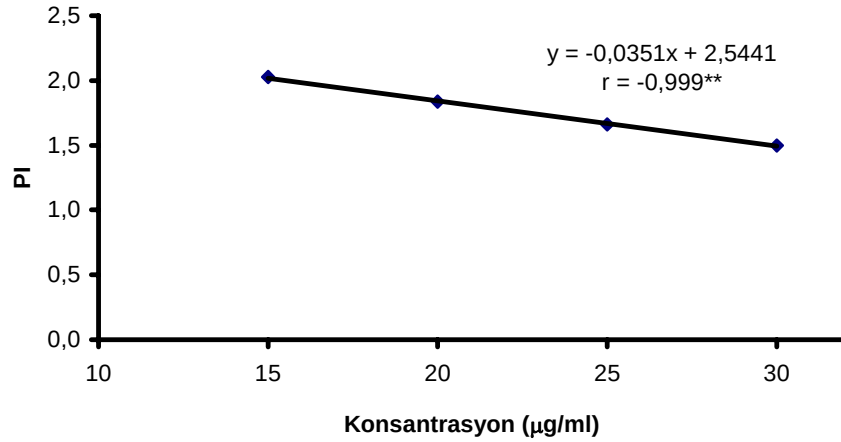
Çizelge 4.12. Değişik Dozlarda Acetamiprid+Alpha-cypermethrin Karışımı ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilmiş Olan İnsan Periferik Lenfositlerinde Proliferasyon İndeksi (PI) ve Mitotik İndeks (MI).

Test Maddesi	Muamele		M1	M2	M3	PI±SH	MI±SH
	Süre (saat)	Kons. (µg/ml)					
Kontrol	--	--	109	232	259	2.25±0.080	5.33±0.452
DMSO (EK)	24	8µl/ml	155	234	211	2.09±0.116	4.74±0.531
MMC (PK)		0.250	304	243	53	1.58±0.082	2.85±0.288
Acetamiprid + Alpha-cypermethrin	24	12.5+2.5	180	260	160	1.97±0.091 a ₁ c ₂	3.34±0.355 a ₂ b ₁
		15+5	243	229	128	1.81±0.074 a ₂ b ₁ c ₁	2.62±0.214 a ₃ b ₃
		17.5+7.5	252	237	111	1.77±0.089 a ₂ b ₁	2.39±0.242 a ₃ b ₃
		20+10	298	248	54	1.59±0.059 a ₃ b ₃	1.93±0.064 a ₃ b ₃ c ₃
DMSO (EK)	48	8µl/ml	132	234	234	2.17±0.052	4.96±0.482
MMC (PK)		0.250	474	126	0	1.21±0.043	2.42±0.225
Acetamiprid + Alpha-cypermethrin	48	12.5+2.5	142	300	158	2.03±0.026 a ₃ b ₂ c ₃	3.97±0.297 a ₂ b ₁ c ₂
		15+5	174	351	75	1.84±0.068 a ₂ b ₂ c ₃	2.84±0.299 a ₃ b ₃
		17.5+7.5	244	316	40	1.66±0.043 a ₃ b ₃ c ₃	2.57±0.201 a ₃ b ₃
		20+10	310	280	10	1.50±0.061 a ₃ b ₃ c ₂	1.68±0.097 a ₃ b ₃ c ₃

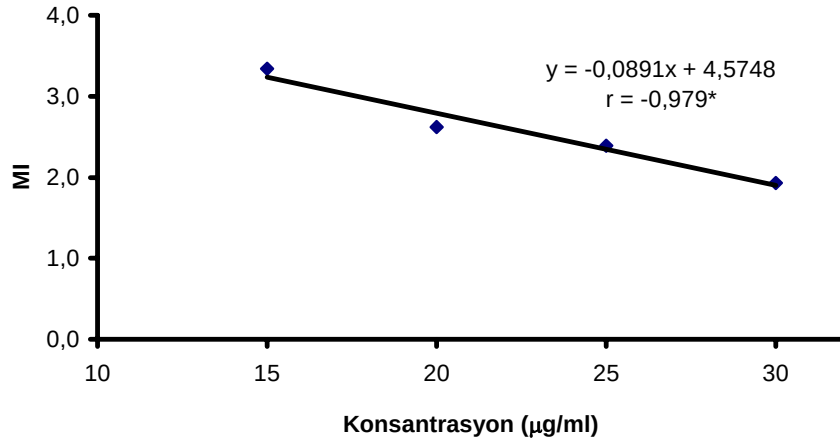
a: Kontrol ile; b: Eritici Kontrol ile; c: Pozitif Kontrol ile aradaki fark önemlidir.
a₁b₁c₁ : P≤0.05 a₂b₂c₂ : P≤0.01 a₃b₃c₃ : P≤0.001



Şekil 4.84. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 24 saat muamele edilmiş insan periferik lenfositlerinde PI'nin doza bağlı azalışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.
*: $P < 0.05$

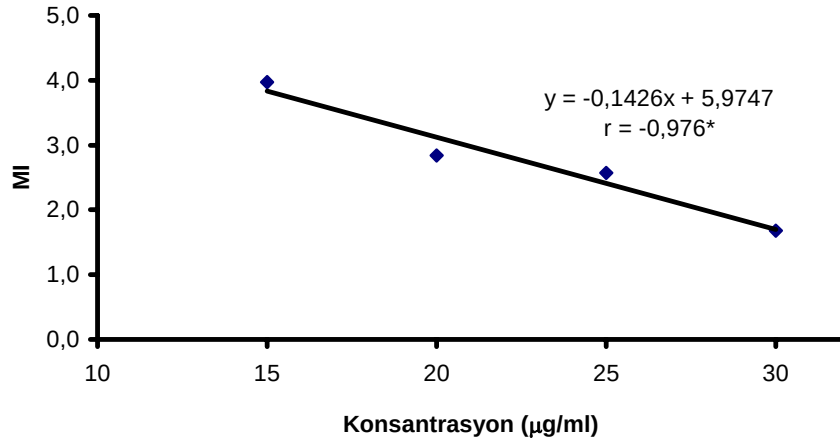


Şekil 4.85. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 48 saat muamele edilmiş insan periferik lenfositlerinde PI'nin doza bağlı azalışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.
**: $P < 0.01$



Şekil 4.86. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 24 saat muamele edilmiş insan periferik lenfositlerinde MI'in doza bağlı azalışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.

*: $P < 0.05$



Şekil 4.87. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 48 saat muamele edilmiş insan periferik lenfositlerinde MI'in doza bağlı azalışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.

*: $P < 0.05$

4.3.4. Acetamiprid+Alpha-Cypermethrin Karışımının Mikronükleus (MN) Oluşumu ve Nükleus Bölünmesi Üzerindeki Etkileri

Acm+A-cyp karışımı, insan periferel lenfositlerinde hem 24 hem de 48 saat muamele süresinde, üç konsantrasyonda (12.5+2.5, 15+5, 17.5+7.5, µg/ml) mikronükleus oluşumunu uyarmıştır (Çizelge 4.13). Her iki süre ve ilk üç konsantrasyonda MN içeren iki nükleuslu hücre yüzdesi ve MN yüzdesi, kontrol ve eritici kontrole göre istatistiksel olarak önemli derecede artmıştır. Fakat bu artış pozitif kontrol kadar olmamıştır. Hem 24 hem de 48 saat muamelede Acm+A-cyp karışımının en yüksek konsantrasyonunda ise (20+10 µg/ml) yeterli sayıda iki nükleuslu hücre bulunamamıştır. Bu nedenle iki nükleuslu hücre incelenememiş ve MN oluşumları gözlenememiştir. İncelenebilen iki nükleuslu hücre sayısı ve genel olarak nükleus sayısına göre hücrelerin dağılımı Çizelge 4.13’de verilmiştir. Acm+A-cyp karışımı ile 48 saatlik muamele süresinde MN %’sinde doza bağlı bir artış bulunmuştur (Şekil 4.88).

Acm+A-cyp karışımı insan periferel lenfositlerinde iki nükleuslu hücrelerde farklı sayılarda ve büyüklüklerde (Şekil 4.89, Şekil 4.90, Şekil 4.91) mikronükleus oluşumlarına sebep olmuştur.

Acm+A-cyp karışımının nükleus bölünmesi üzerine etkisi NBI hesaplanarak belirlenmiştir. NBI, 24 saatlik muamelede bütün konsantrasyonlarda (12.5+2.5, 15+5, 17.5+7.5, 20+10 µg/ml) kontrole, eritici kontrole ve hatta pozitif kontrole göre önemli derecede düşük bulunmuştur. Yani Acm+A-cyp bu süre ve konsantrasyonlarda nükleus bölünmesini pozitif kontrolden daha fazla engellemiştir. Acm+A-cyp karışımı insan periferel lenfositlerine 48 saat muamele edildiğinde NBI, yine bütün konsantrasyonlarda kontrole ve eritici kontrole göre önemli derecede düşüktür. Pozitif kontrolle kıyaslandığında ise, Acm+A-cyp karışımı nükleus bölünmesini sadece en düşük konsantrasyonda (12.5+2.5 µg/ml) pozitif kontrol kadar etkileyememiş, diğer konsantrasyonlarda (15+5, 17.5+7.5, 20+10µg/ml) ise NBI’ni pozitif kontrolden daha fazla düşürmüştür (Çizelge 4.13). Acm+A-cyp karışımı 24 ve 48 saat muamele sürelerinde NBI’ni genel olarak doza bağlı bir

şekilde düşürmüştür, fakat bunlardan sadece 48 saatlik muamele süresindeki düşüş önemli bulunmuştur (Şekil 4.92).

Çizelge 4.13. Değişik Dozlarda Acetamidrid+Alpha-cypermethrin Karışımı ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilmiş Olan İnsan Periferik Lenfositlerinde MN İçeren İki Nükleuslu Hücre %'si, MN %'si, MN %'si ve NBI.

Test Maddesi	Muamele		MN Sayısına Göre İki Nükleuslu Hücre Sayısı					MN İçeren İki Nükleuslu Hücre %'si	% MN	Nükleus Sayısına Göre Hücrelerin Dağılımı				NBI±SH
	Süre (saat)	Kons. (µg/ml)	0	1	2	3	>3			1	2	3	4	
Kontrol	--	--	11936	64	0	0	0	0.53±0.033	0.53±0.033	3717	1906	181	196	1.48±0.054
DMSO (EK)	24	8µl/ml	11943	55	2	0	0	0.48±0.028	0.49±0.030	4041	1674	113	172	1.40±0.043
MMC (PK)		0.25	11277	645	74	4	0	6.03±0.297	6.71±0.387	4735	1259	4	2	1.21±0.040
Acetamidrid + Alpha-cypermethrin		12.5±2.5	11923	74	3	0	0	0.64±0.023 a ₂ b ₃ c ₃	0.67±0.027 a ₂ b ₃ c ₃	5028	967	3	2	1.16±0.018 a ₂ b ₃ c ₁
		15±5	11916	81	2	1	0	0.70±0.040 a ₂ b ₂ c ₃	0.73±0.049 a ₂ b ₂ c ₃	5577	415	4	4	1.07±0.007 a ₂ b ₃ c ₃
	24	17.5±7.5	5956	42	2	0	0	*0.73±0.033 a ₂ b ₂ c ₃	*0.77±0.049 a ₂ b ₂ c ₃	5644	353	3	0	1.06±0.003 a ₂ b ₃ c ₃
		20±10	#					#	#	5901	99	0	0	1.02±0.000 a ₂ b ₃ c ₃
DMSO (EK)	48	8µl/ml	11934	66	0	0	0	0.55±0.018	0.55±0.018	3609	2021	145	225	1.50±0.057
MMC (PK)		0.25	10184	1479	273	53	11	15.13±0.920	18.6±1.317	5302	677	17	4	1.12±0.010
Acetamidrid + Alpha-cypermethrin		12.5±2.5	11916	79	4	1	0	0.70±0.028 a ₂ b ₂ c ₃	0.75±0.018 a ₂ b ₃ c ₃	4801	1174	15	10	1.21±0.025 a ₂ b ₃ c ₁
		15±5	7439	59	2	0	0	●0.81±0.038 a ₂ b ₂ c ₃	●0.84±0.053 a ₂ b ₂ c ₃	5482	511	7	0	1.09±0.005 a ₂ b ₃ c ₂
	48	17.5±7.5	2974	25	0	1	0	■0.87±0.033 a ₂ b ₂ c ₃	■0.93±0.088 a ₂ b ₂ c ₃	5751	246	3	0	1.04±0.010 a ₂ b ₃ c ₃
		20±10	#					#	#	5958	42	0	0	1.00±0.001 a ₂ b ₃ c ₃

a: Kontrol ile; b: Eritici Kontrol ile; c: Pozitif Kontrol ile aradaki fark önemlidir.

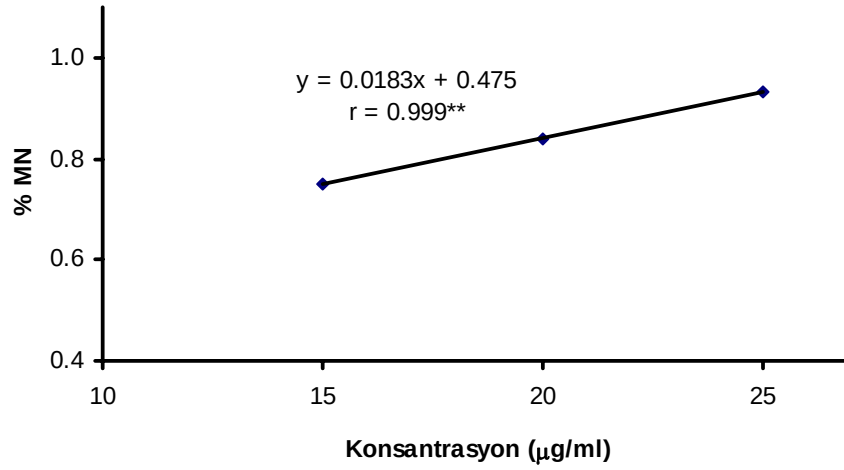
a₁b₁c₁: P≤0.05 a₂b₂c₂: P≤0.01 a₃b₃c₃: P≤0.001

* Yüksek toksisiteden dolayı 6000 iki nükleuslu hücre incelendi

● Yüksek toksisiteden dolayı 7500 iki nükleuslu hücre incelendi

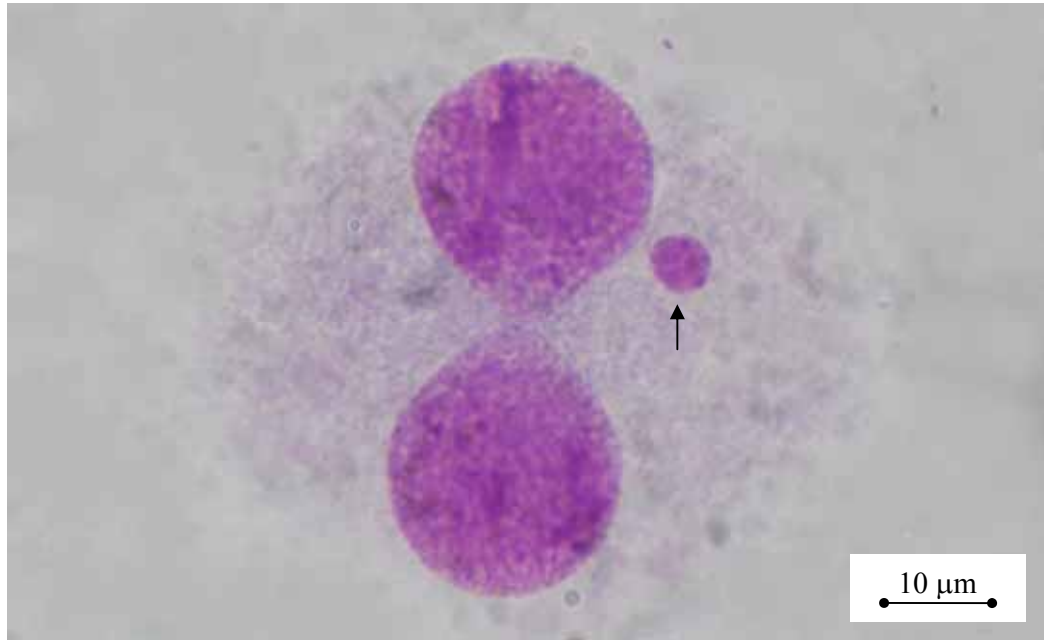
■ Yüksek toksisiteden dolayı 3000 iki nükleuslu hücre incelendi

Yeterli sayıda iki nükleuslu hücre bulunamadı.

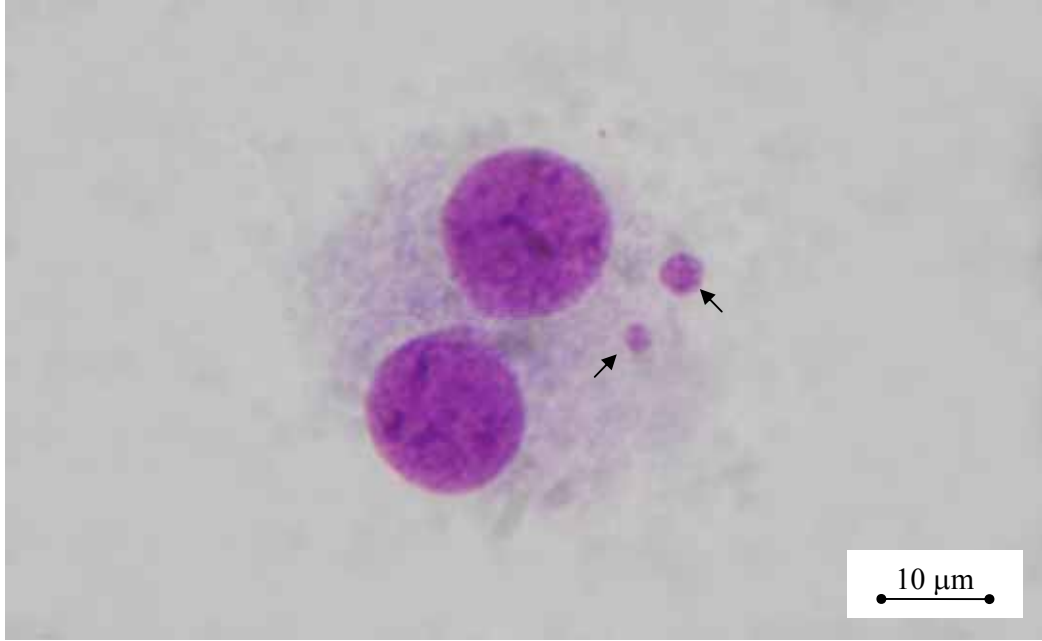


Şekil 4.88. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 48 saat muamele edilmiş insan periferik lenfositlerinde MN %'sinin doza bağlı artışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.

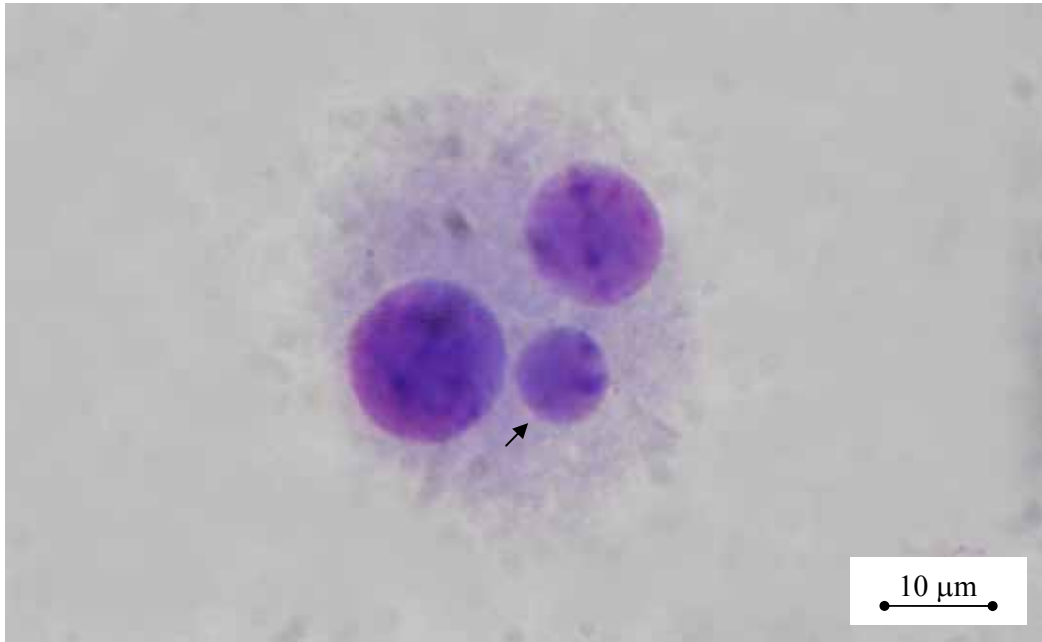
** : P<0.01



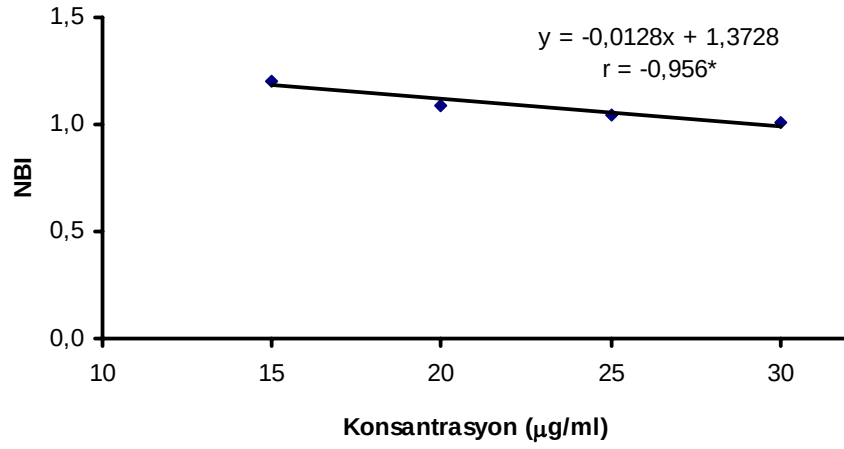
Şekil 4.89. Mikronükleus içeren iki nükleuslu hücre (12.5 Acm + 2.5 A-cyp µg/ml, 24 saatlik muamele, ♀). X1000



Şekil 4.90. İki mikronükleus içeren iki nükleuslu hücre (15 Acm + 5 A-cyp µg/ml, 48 saatlik muamele, ♀). X1000



Şekil 4.91. Mikronükleus içeren iki nükleuslu hücre (15 Acm + 5 A-cyp µg/ml, 24 saatlik muamele, ♂). X1000

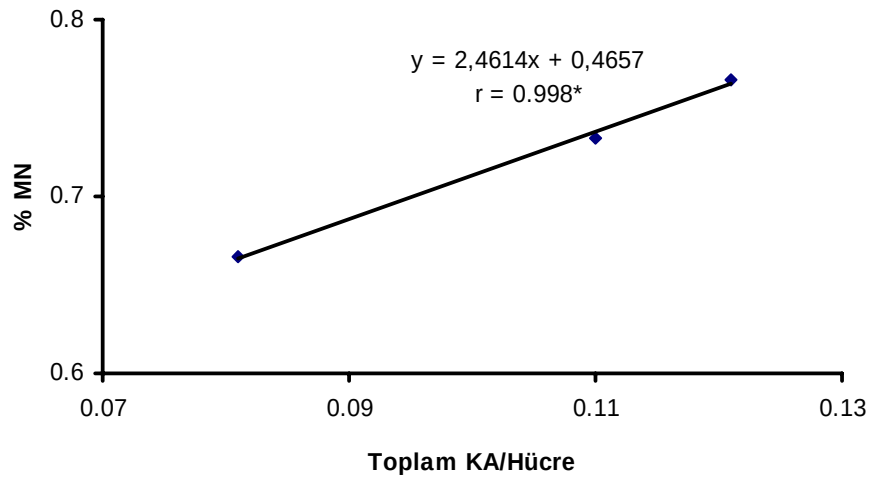


Şekil 4.92. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 48 saat muamele edilmiş insan periferik lenfositlerinde NBI'nin doza bağlı azalışını gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.

*: $P < 0.05$

4.3.5. Hücre Başına Düşen Toplam KA ile MN %'si Arasındaki İlişki

Acetamiprid+Alpha-cypermethrin karışımı ile 24 saat muamele edilen insan periferel lenfositlerinde saptanan toplam KA/hücre ile MN %'si arasında istatistiksel olarak önemli bir ilişki belirlenmiştir (Şekil 4.93). Bu ilişki 48 saatlik muamelede bulunmamıştır.

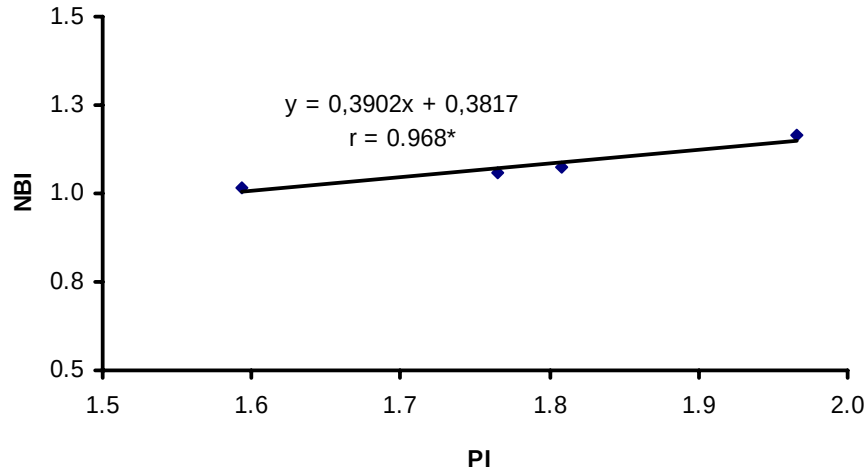


Şekil 4.93. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 24 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde MN %'sinin Toplam KA/Hücre oranı ile ilişkisini gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.

*: $P < 0.05$

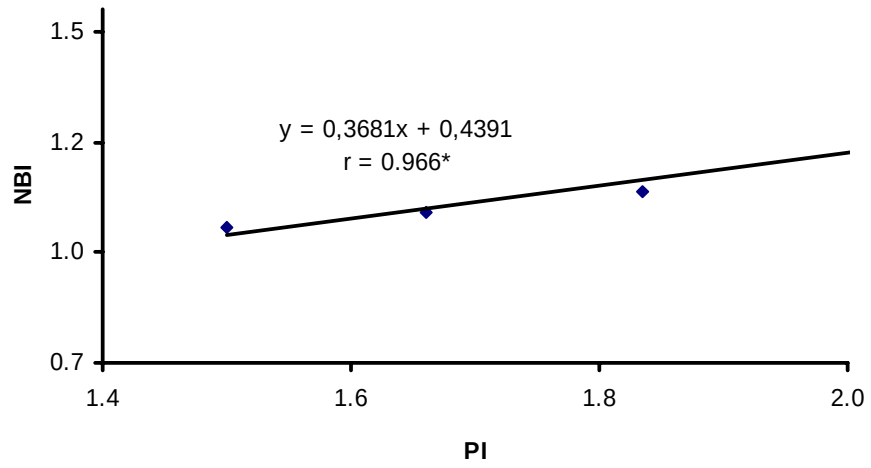
4.3.6. Proliferasyon İndeksi (PI) ile Nükleus Bölünme İndeksi (NBI) Arasındaki İlişki

Acetamiprid+Alpha-cypermethrin karışımı ile 24 ve 48 saat muamle edilen insan periferik lenfositlerinde belirlenen PI ve NBI değerleri arasında istatistiksel olarak önemli korelasyon olduğu bulunmuştur (Şekil 4.94, Şekil 4.95).



Şekil 4.94. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 24 saat muamele edilmiş insan periferik lenfositlerinde NBI'nin PI ile ilişkisini gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.

*: $P < 0.05$



Şekil 4.95. Farklı dozlarda Acm+A-cyp ile 48 saat muamele edilmiş insan periferik lenfositlerinde NBI'nin PI ile ilişkisini gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.

*: $P < 0.05$

4.4. Acetamiprid+Alpha-Cypermethrin Karışımının Birlikte Kullanıldığı Zamanki Genotoksik Etkileri ile Bu Maddelerin Her Birinin Tek Başına Kullanıldığındaki Genotoksik Etkilerinin Karşılaştırılması

Bu çalışmada insektisidlerin tek başlarına insan periferik lenfositlerindeki genotoksik etkilerini belirlemek için acetamiprid 25, 30, 35, 40 µg/ml, alpha-cypermethrin 5, 10, 15, 20 µg/ml konsantrasyonlarında kullanılmıştır. Her iki pestisidin birlikte meydana getireceği genotoksik etkileri saptamak için ise her bir pestisidin tek başına kullanıldığı konsantrasyonun yarısı kadar alınarak hazırlanan karışım (Acm+A-cyp; 12.5+2.5, 15+5, 17.5+7.5, 20+10µg/ml) kullanılmıştır.

4.4.1. Acetamiprid+Alpha-Cypermethrin Karışım Halinde Kullanıldığı Zamanki KKD Üzerindeki Etkilerinin Bu Maddelerin Her Birinin Tek Başına Kullanıldığı Zamanki Etkileriyle Karşılaştırılması

İnsan periferik lenfositlerine acetamiprid ya da alpha-cypermethrinin tek tek uygulanması ile bu maddelerin karışım halinde uygulanması sırasında 24 saatlik muamelede bütün konsantrasyonlarda KKD frekansı bakımından istatistiksel olarak önemli bir fark görülmemiştir (Çizelge 4.14). Yani pestisidler yarı konsantrasyonlarda kullanılsa bile karışım halinde oldukları zaman aynı etkiyi meydana getirmişlerdir.

48 saatlik muamelede acetamipridin tek başına lenfositlerde meydana getirdiği KKD frekansı ile alpha-cypermethrin ile birlikte kullanıldığında meydana getirdiği KKD frekansı arasında önemli bir fark yoktur. Yalnız Acm+A-cyp karışımının en yüksek konsantrasyonundaki (20 Acm+10 A-cyp µg/ml) ile 48 saat muamele edilen kültürdeki KKD'indeki artış, A-cyp'in tek başına kullanıldığı zamanki artış kadar olmamıştır (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14. Değişik Dozlarda Acetamiprid+Alpha-cypermethrin Karışımı ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilen İnsan Periferal Lenfositlerindeki KKD/Hücre'nin, Bu Maddelerin Her Biri ile Tek Başına Muamele Edilen Kültürlerdeki KKD/Hücre ile Karşılaştırılması.

Test Maddesi	Muamele		KKD/Hücre±SH
	Süre (saat)	Kons. (µg/ml)	
Acetamiprid	24	25	9.32±0.443
		30	10.37±0.469
		35	10.72±0.535
		40	11.11±0.602
Alpha-cypermethrin	24	5	9.16±0.415
		10	9.80±0.484
		15	10.56±0.410
		20	11.29±0.330
Acetamiprid + Alpha-cypermethrin	24	12.5+2.5	9.30±0.261
		15+5	10.66±0.538
		17.5+7.5	11.22±0.404
		20+10	11.72±0.263
Acetamiprid	48	25	9.51±0.541
		30	10.68±0.497
		35	11.67±0.628
		40	12.37±0.672
Alpha-cypermethrin	48	5	9.13±0.467
		10	10.35±0.503
		15	11.39±0.239
		20	13.15±0.443
Acetamiprid + Alpha-cypermethrin	48	12.5+2.5	10.17±0.432
		15+5	10.90±0.290
		17.5+7.5	11.59±0.211
		20+10	12.15±0.227 e ₂

d: Tek Başına Acetamiprid ile;
önemlidir.

d₁e₁ : P≤0.05

d₂e₂ : P≤0.01

e: Tek Başına Alpha-cypermethrin ile karşılaştırmada aradaki fark

d₃e₃ : P≤0.001

4.4.2. Acetamiprid+Alpha-Cypermethrin Karışımı ile Bu Maddelerin Her Birinin Kromozom Anormalliklerinin (KA) Oluşumu Üzerindeki Etkileri Bakımından Karşılaştırılması

Acetamiprid ya da alpha-cypermethrinin insan periferik lenfositlerine tek tek uygulanması ile bu maddelerin karışım halinde uygulanması arasında bütün konsantrasyonlarda, 24 saatlik muamelede hücre başına düşen yapısal KA, hücre başına düşen toplam KA ve anormal hücre %'leri arasında önemli bir fark yoktur (Çizelge 4.15).

Acm+A-cyp karışımı ile 48 saat muamele edilen kültürlerde elde edilen yapısal KA/hücre, toplam KA/hücre ve anormal hücre % değerleri ile bu maddeler ile tek başına muamele edilen kültürlerden elde edilen değerler arasında genel olarak herhangi bir fark yoktur (Çizelge 4.15). Sadece karışımın en düşük konsantrasyonundaki toplam KA/hücre değeri, tek başına kullanılan A-cyp'nin en düşük konsantrasyonundaki KA/hücre değerinden önemli derecede düşüktür (Çizelge 4.15).

Sonuç olarak Acm+A-cyp karışımı, KA'ni bu maddelerin her birinin tek başına KA'ni uyardıkları kadar uyarmıştır.

Çizelge 4.15. Değişik Dozlarda Acetamiprid+Alpha-cypermethrin Karışımı ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilen İnsan Periferik Lenfositlerindeki Yapısal KA/Hücre, Toplam KA/Hücre ve Anormal Hücre %'lerinin, Bu Maddelerin Her Biri ile Tek Başına Muamele Edilen Kültürlerdeki Aynı Değerlerle Karşılaştırılması.

Test Maddesi	Muamele		Yapısal KA/ Hücre $\pm$ SH	Toplam KA/Hücre $\pm$ SH	Toplam Anormal Hücre % $\pm$ SH
	Süre (saat)	Kons. (μ g/ml)			
Acetamiprid	24	25	0.08 $\pm$ 0.009	0.09 $\pm$ 0.008	8.17 $\pm$ 0.749
		30	0.10 $\pm$ 0.008	0.10 $\pm$ 0.008	9.50 $\pm$ 0.806
		35	0.10 $\pm$ 0.010	0.10 $\pm$ 0.010	9.00 $\pm$ 0.930
		40	0.15 $\pm$ 0.015	0.15 $\pm$ 0.015	12.66 $\pm$ 1.453
Alpha-cypermethrin	24	5	0.08 $\pm$ 0.011	0.08 $\pm$ 0.011	7.50 $\pm$ 1.056
		10	0.10 $\pm$ 0.012	0.10 $\pm$ 0.012	8.83 $\pm$ 1.137
		15	0.11 $\pm$ 0.006	0.11 $\pm$ 0.007	9.33 $\pm$ 0.333
		20	0.13 $\pm$ 0.011	0.13 $\pm$ 0.011	11.83 $\pm$ 1.07
Acetamiprid + Alpha-cypermethrin	24	12.5+2.5	0.08 $\pm$ 0.004	0.08 $\pm$ 0.004	7.50 $\pm$ 0.500
		15+5	0.11 $\pm$ 0.014	0.11 $\pm$ 0.014	9.50 $\pm$ 1.118
		17.5+7.5	0.12 $\pm$ 0.020	0.12 $\pm$ 0.020	10.66 $\pm$ 1.022
		20+10	0.13 $\pm$ 0.013	0.14 $\pm$ 0.012	11.83 $\pm$ 0.600
Acetamiprid	48	25	0.09 $\pm$ 0.012	0.09 $\pm$ 0.012	8.83 $\pm$ 1.013
		30	0.11 $\pm$ 0.006	0.11 $\pm$ 0.006	9.83 $\pm$ 0.542
		35	0.13 $\pm$ 0.019	0.13 $\pm$ 0.019	11.83 $\pm$ 1.492
		40	0.15 $\pm$ 0.014	0.15 $\pm$ 0.014	14.16 $\pm$ 1.352
Alpha-cypermethrin	48	5	0.10 $\pm$ 0.016	0.10 $\pm$ 0.014	8.17 $\pm$ 1.046
		10	0.12 $\pm$ 0.013	0.12 $\pm$ 0.013	10.66 $\pm$ 0.954
		15	0.13 $\pm$ 0.008	0.13 $\pm$ 0.008	12.00 $\pm$ 0.632
		20	0.15 $\pm$ 0.017	0.15 $\pm$ 0.017	14.00 $\pm$ 1.437
Acetamiprid + Alpha-cypermethrin	48	12.5+2.5	0.08 $\pm$ 0.008	0.08 $\pm$ 0.008 e ₁	6.83 $\pm$ 0.792
		15+5	0.10 $\pm$ 0.016	0.11 $\pm$ 0.018	10.33 $\pm$ 1.686
		17.5+7.5	0.13 $\pm$ 0.017	0.13 $\pm$ 0.017	12.00 $\pm$ 1.570
		20+10	0.18 $\pm$ 0.017	0.18 $\pm$ 0.017	15.00 $\pm$ 0.894

d: Tek Başına Acetamiprid ile;
önemlidir.

d₁e₁ : P $\leq$ 0.05

d₂e₂ : P $\leq$ 0.01

e: Tek Başına Alpha-cypermethrin ile karşılaştırmada aradaki fark

d₃e₃ : P $\leq$ 0.001

4.4.3. Acetamiprid+Alpha-Cypermethrin Karışımı ile Bu Maddelerin Her Birinin DNA Replikasyonu ve Mitoz Bölünme Üzerindeki Etkileri Bakımından Karşılaştırılması

Acm+A-cyp karışımı ile 24 saat muamele edilen kültürlerde PI ya acetamiprid ile tek başına muamele edilen kültürdeki PI kadar düşmüştür ya da tek başına muamele edilendekinden daha düşük bulunmuştur (Çizelge 4.16). Halbuki, Acm+A-cyp karışımı ile 24 saat muamele edilen kültürlerde karışım genel olarak PI'ni alpha-cypermethrinin tek başına düşürdüğü kadar düşürmüştür. Sadece karışım halindeki etki en düşük konsantrasyonda daha fazla olmuştur. Karışım halinde kullanımanın 48 saat muameledeki hücre proliferasyonundaki etkisi ya alpha-cypermethrin ve acetamiprid kadar ya da ondan daha fazla olmuştur (Çizelge 4.16). Sadece karışımın en yüksek konsantrasyonundaki etkisi, 48 saat muameledeki alpha-cypermethrinin en yüksek konsantrasyondaki etkisi kadar olmamıştır.

Acm+A-cyp karışımı ile 24 saat muamele edilen kültürlerdeki MI, ya tek başına acetamiprid ile muamele edilen kültürlerdeki kadardır, ya da ondakinden daha düşüktür (Çizelge 4.16). Halbuki, karışım halindeki etki, genel olarak alpha-cypermethrinin tek başına kullanıldığı zamanki kadar olmuştur. Sadece karışımın en yüksek konsantrasyonundaki MI'deki düşüş, tek başına en yüksek konsantrasyondaki A-cyp ile muamele edilen kültürdeki MI'deki düşüş kadar olmamıştır. Acm+A-cyp karışımı ile 48 saat muamele edilen kültürlerdeki MI, düşük üç konsantrasyonda, tek başına acetamiprid ile muamele edilen kültürlerdeki kadardır. En yüksek konsantrasyondaki karışım hali mitoz bölünmeyi acetamipridten daha fazla olumsuz yönde etkilemiştir. Karışım hali, düşük iki konsantrasyonda (12.5+2.5, 15+5 µg/ml) MI'i alpha-cypermethrin kadar düşürmüş, yüksek iki konsantrasyonda ise mitoz bölünmeyi alpha-cypermethrin kadar olumsuz etkilememiştir.

Çizelge 4.16. Değişik Dozlarda Acetamiprid+Alpha-cypermethrin Karışımı ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilen İnsan Periferik Lenfositlerindeki PI ve MI'nin, Bu Maddelerin Her Biri ile Tek Başına Muamele Edilen Kültürlerdeki PI ve MI ile Karşılaştırılması.

Test Maddesi	Muamele		PI±SH	MI±SH
	Süre (saat)	Kons. (µg/ml)		
Acetamiprid	24	25	2.16±0.117	4.04±0.345
		30	2.04±0.124	3.60±0.283
		35	1.88±0.053	3.03±0.295
		40	1.81±0.076	2.68±0.233
Alpha-cypermethrin	24	5	2.21±0.114	3.69±0.207
		10	1.86±0.059	2.86±0.083
		15	1.64±0.030	2.40±0.102
		20	1.48±0.033	1.73±0.121
Acetamiprid + Alpha-cypermethrin	24	12.5+2.5	1.97±0.091 e ₁	3.34±0.355
		15+5	1.81±0.074 d ₁	2.62±0.214 d ₂
		17.5+7.5	1.77±0.089	2.39±0.242 d ₁
		20+10	1.59±0.059 d ₁	1.93±0.064 d ₃ e ₁
Acetamiprid	48	25	2.04±0.066	3.56±0.439
		30	1.95±0.080	3.24±0.373
		35	1.82±0.107	2.70±0.282
		40	1.72±0.100	2.53±0.294
Alpha-cypermethrin	48	5	2.10±0.106	3.55±0.224
		10	1.87±0.030	2.83±0.120
		15	1.62±0.033	2.11±0.037
		20	1.26±0.041	1.39±0.061
Acetamiprid + Alpha-cypermethrin	48	12.5+2.5	2.03±0.026 e ₁	3.97±0.297
		15+5	1.84±0.068	2.84±0.299
		17.5+7.5	1.66±0.043 d ₁	2.57±0.201e ₁
		20+10	1.50±0.061 d ₁ e ₁	1.68±0.097 d ₃ e ₁

d: Tek Başına Acetamiprid ile; e: Tek Başına Alpha-cypermethrin ile karşılaştırmada aradaki fark önemlidir.

d₁e₁ : P≤0.05 d₂e₂ : P≤0.01 d₃e₃ : P≤0.001

4.4.4. Acetamiprid+Alpha-Cypermethrin Karışımı ile Bu Maddelerin Her Birinin Mikronükleus (MN) Oluşumu ve Nükleus Bölünmesi Üzerindeki Etkileri Bakımından Karşılaştırılması

Acm+A-cyp karışımı ile 24 saat muamele edilen kültürlerdeki MN oluşumunun uyarılması bu test maddelerinin tek başına muamele edildikleri kültürlerdeki kadar olmuştur (Çizelge 4.17). Fakat, 24 saatlik muamelede alpha-cypermethrinin yüksek iki konsantrasyonunda (15, 20 µg/ml) incelemek için yeterli iki nükleuslu hücre bulunamamıştır. Acm+A-cyp karışımı ile muamele edilen insan periferik lenfositlerinde ise benzer duruma sadece en yüksek karışım konsantrasyonunda (20+ 10 µg/ml) rastlanmıştır. 24 saat süre ile acetamipridin insan periferik lenfositlerine 25, 30, 35 µg/ml konsantrasyonlarda muamelesi ile Acm+A-cyp karışımının 12.5+2.5, 15+5, 17.5+7.5 µg/ml konsantrasyonlarda muamelesi sonucu belirlenen MN içeren iki nükleuslu hücre %'si ve MN %'si değerleri arasında da önemli bir fark yoktur. Fakat karışımın en yüksek konsantrasyonunda (20+10 µg/ml) incelemek için yeterli iki nükleuslu hücre bulunamamıştır. Oysa böyle bir etki acetamipridin en yüksek konsantrasyonunda (40 µg/ml) gözlenmemiştir.

Acetamiprid ve alpha-cypermethrin ile tek tek ya da onların karışımları ile 48 saat muamele edilen insan lenfositlerinde mikronükleus oluşumunun uyarılması genel olarak 24 saat süre ile muameledekine uygunluk göstermiştir. Sadece en düşük konsantrasyondaki karışım (12.5+2.5 µg/ml) ile 48 saat muamele edilen insan lenfositlerinde MN içeren iki nükleuslu hücre %'si acetamipridin tek başına muamelesine göre önemli derecede düşük bulunmuştur (Çizelge 4.17).

Bütün konsantrasyonlardaki Acm+A-cyp karışımı (12.5+2.5, 15+5, 17.5+7.5, 20+10 µg/ml Acm+A-cyp) ile 24 saat muamele edilen insan periferik lenfositlerindeki NBI, acetamipridin tek başına muamelesinin tüm konsantrasyonlarında (25, 30, 35, 40 µg/ml) saptanan NBI'lerinden daha düşüktür. En düşük iki konsantrasyon ile karışım halinde muamele edilen kültürlerde saptanan NBI'deki düşüş, en düşük konsantrasyonda tek başına A-cyp ile muamele edilen kültürlerdeki kadar olmuştur. Fakat yüksek iki konsantrasyonda ise NBI A-cyp'in tek başına kullanılması durumundakinden daha yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.17). Yani

alpha-cypermethrin ve acetamiprid, tek başlarına kullanılan konsantrasyonlarının yarısı kadar konsantrasyonlarda bile bir araya geldiklerinde, 24 saatlik muamele süresinde insan periferel lenfositlerinde nükleus bölünmesini engellemiş ve NBI'nin düşmesine neden olmuştur.

48 saatlik muamele süresinde bütün konsantrasyonlardaki Acm+A-cyp karışımı ile muamele edilen insan periferel lenfositlerindeki NBI, acetamipridin tek başına muamelesine göre önemli derecede düşük, A-cyp ile tek başına muameledekinden daha yüksektir (Çizelge 4.17). Yani karışım halinin nükleus bölünmesi üzerindeki etkisi, test maddelerinin tek başına kullanılması halindeki etkilerinin arasında bir durum göstermiştir.

Çizelge 4.17. Değişik Dozlarda Acetamiprid+Alpha-cypermethrin Karışımı ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilen İnsan Periferik Lenfositlerindeki MN İçeren İki Nükleuslu Hücre %'si, MN %'si ve NBI'nin Bu Maddelerin Her Biri ile Tek Başına Muamele Edilen Kültürlerdeki Aynı Değerler ile Karşılaştırılması.

Test Maddesi	Muamele		MN İçeren İki Nükleuslu Hücre %'si	% MN	NBI±SH
	Süre (saat)	Kons. (µg/ml)			
Acetamiprid	24	25	0.68±0.03	0.71±0.04	1.32±0.03
		30	0.74±0.04	0.78±0.05	1.29±0.03
		35	0.80±0.06	0.81±0.07	1.29±0.04
		40	0.89±0.04	0.93±0.03	1.22±0.03
Alpha-cypermethrin	24	5	0.69±0.04	0.72±0.05	1.12±0.01
		10	0.75±0.03	0.82±0.07	1.06±0.00
		15	#	#	1.01±0.00
		20	#	#	1.01±0.00
Acetamiprid + Alpha-cypermethrin	24	12.5+2.5	0.64±0.02	0.67±0.03	1.16±0.02 d ₃
		15+5	0.70±0.04	0.73±0.05	1.07±0.01 d ₃
		17.5+7.5	0.73±0.03	0.77±0.05	1.06±0.00 d ₃ e ₃
		20+10	#	#	1.02±0.00 d ₃ e ₃
Acetamiprid	48	25	0.79±0.06	0.79±0.06	1.32±0.03
		30	0.88±0.03	0.89±0.04	1.25±0.03
		35	0.89±0.04	0.92±0.04	1.26±0.03
		40	1.08±0.06	1.08±0.06	1.18±0.03
Alpha-cypermethrin	48	5	0.75±0.05	0.79±0.06	1.13±0.01
		10	0.85±0.04	0.92±0.06	1.05±0.00
		15	#	#	1.00±0.00
		20	#	#	1.00±0.00
Acetamiprid + Alpha-cypermethrin	48	12.5+2.5	0.70±0.03 d ₁	0.75±0.02	1.21±0.03 d ₂ e ₁
		15+5	0.81±0.04	0.84±0.05	1.09±0.01 d ₃ e ₃
		17.5+7.5	0.87±0.03	0.93±0.09	1.04±0.01 d ₃ e ₁
		20+10	#	#	1.01±0.00 d ₃ e ₁

d: Tek Başına Acetamiprid ile; e: Tek Başına Alpha-cypermethrin ile karşılaştırmada aradaki fark önemlidir.

d₁e₁ : P≤0.05 d₂e₂ : P≤0.01 d₃e₃ : P≤0.001

Yeterli sayıda iki nükleuslu hücre bulunamadı

5. TARTIŞMA

Bu çalışma, neonikotinoid pestisid grubuna giren acetamiprid ile piretroid pestisid grubuna giren alpha-cypermethrin insektisidlerinin tek tek ve karışım halinde kullanıldıkları zaman insan periferel lenfositlerindeki genotoksik etkilerini *in vitro* KKD, KA ve MN testleri kullanarak araştırmak, karışım halinde kullanıldıklarında ortaya çıkan genotoksik etkileri, tek tek kullanıldıklarında ortaya çıkan genotoksik etkiler ile karşılaştırarak bu insektisidlerin additif, sinerjistik ya da antagonistik etki gösterip göstermediklerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bu nedenle, bu bölümde önce test maddelerinin tek tek kullanıldıkları zaman meydana getirdikleri genotoksik etkiler ve daha sonra karışım halinde kullanıldıkları zaman ortaya çıkardıkları genotoksik etkiler tartışılacaktır.

5.1. Acetamipridin Tek Başına Kullanıldığı Zamanki Genotoksik Etkileri**5.1.1. Acetamipridin Kardeş Kromatid Değişimi, Kromozom Anormallliği ve Mikronükleus Oluşumu Üzerindeki Etkileri**

Acetamiprid ile 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferel lenfositlerinde test maddesinin bütün konsantrasyonlarında (25-40 µg/ml) KKD frekansı ve hücre başına düşen yapısal KA oranı kontrol ve eritici kontrole göre istatistiksel olarak önemli derecede artmıştır. Acetamiprid ile muamele edilmiş periferel lenfositlerinde, hücre başına düşen toplam KA oranı ve toplam anormal hücre yüzdesi de tüm süre ve konsantrasyonlarda kontrole ve eritici kontrole göre yüksektir ve bu artış hücre başına düşen yapısal kromozom anormallüğindeki kadardır. Bundan dolayı hücre başına düşen kromozom anormallüğindeki artışın yapısal kromozom anormalliklerinden kaynaklandığını söyleyebiliriz. KKD frekansındaki artış her iki muamele süresinde KA'deki artış ise sadece 48 saatlik muamele süresinde doza bağlı olarak bulunmuştur. Acetamipridin insan periferel lenfositlerine 24 saat uygulanması sonucunda MNBN hücre %'si ve MN %'si genel olarak artmış ve yüksek konsantrasyonlarda (30, 35, 40 µg/ml) MNBN hücre %'si ve MN %'si hem kontrole hem de eritici kontrole göre önemli derecede yüksek bulunmuştur. Acetamipridin 48

saatlik muamelesinde en dūřuk konsantrasyonda (25 µg/ml) MNBN hūcre %'si ve MN %'si kontrole gōre dięer konsantrasyonlarda ise (30, 35, 40 µg/ml) hem kontrol hem de eritici kontrole gōre ōnemli derecede artıř meydana gelmiřtir. Yani acetamiprid MN oluřumunu uyar mıřtır. Acetamipridin 24 ve 48 saatlik muamelelerinde belirlenen MNBN hūcre %'si ve MN %'si tūm konsantrasyonlarda pozitif kontrolden ōnemli derecede dūřuk bulunmuřtur. Acetamiprid 24 saatlik muamelede MNBN hūcre %'si bakımından, her iki muamele sūresinde ise MN yūzdesi bakımından doza baęlı artıř gōstermiřtir

Bu çalıřmada, toplam KA/hūcre ve MN %'si arasında istatistiksel olarak ōnemli bir iliřki belirlenmiřtir ($p < 0.05$). Yani acetamiprid, her iki muamele sūresinde ve būtūn konsantrasyonlarda (25-40 µg/ml) hūcre bařına dūřen toplam KA oranını arttırmıř ve bu artıř MN %'sinde de aynı oranda bulunmuřtur.

řimdiye kadar acetamipridin KKD, KA ve MN oluřumu ūzerindeki etkisini arařtıran bařka bir çalıřmaya rastlanmamıřtır. Feng ve ark. (2005), neonikotinoid pestisidler grubuna giren imidaclopridin, *in vitro* olarak insan periferall lenfositlerinde dūřuk dozlarda (0.05 mg/ml) KKD frekansında ve MN oluřumunda ōnemli bir artıř meydana getirmezken, daha yūksək konsantrasyonlarda (0.1, 0.5 mg/ml) KKD ve MN oluřumunu ve comet testinde (0.05, 0.5 mg/ml) DNA hasarını kontrole gōre ōnemli derecede ve doza baęlı olarak arttırdıęını bildirmiřlerdir. Bu sonuçlarla bizim çalıřmamızda acetamiprid için elde ettięimiz sonuçlar uygunluk gōstermektedir. Bizim bu çalıřmamızda acetamiprid ile dūřuk konsantrasyonlarda saptadıęımız genotoksik etkiyi, Feng ve ark. (2005) imidacloprid ile ancak çok yūksək konsantrasyonlarda bulabilmiřlerdir. Acetamiprid ile imidacloprid aynı insektisid grubuna (neonikotinoid) dahil olmakla beraber, acetamiprid cyanoamidin, imidacloprid ise nitroguanidin tūrevidir. İki insektisid arasındaki bu kimyasal farklılık acetamipridin daha dūřuk konsantrasyonlarda daha fazla genotoksik etki gōstermesinin sebebi olabilir. Ayrıca, Zang ve ark. (2000), kuru toprakta 0.2, 0.5 mg/kg konsantrasyonlarda imidacloprid bulunan toprakta yetiřtirilen toprak solucanlarında (*E. fetida*) sperm anormallięinin, 0.05-0.5 mg/l konsantrasyonlarda ise comet testine gōre *E. fetida* sōlomositlerinde DNA hasarlarının %'sinin ōnemli derecede ve doza baęlı olarak arttıęını bildirmiřlerdir. Feng ve ark. (2004),

imidaclopridin 0.05-0.5 mg/l konsantrasyonlarında *in vitro* olarak comet analizine göre *Rana Hallowell*'in eritrositlerinde, ayrıca 8 ve 32 mg/l konsantrasyonlarda amfibialarının iribaşlarında MN frekansının kontrole göre arttırdığını bildirmişlerdir. Karabay ve Oğuz (2005) tarafından 50 ve 100 mg/kg konsantrasyonlardaki imidaclopride ağız yoluyla maruz bırakılan sıçanların kemik iliğı hücrelerinde, KA ve mikronükleuslu eritrositlerin kontrole göre önemli derecede arttığı ve Ames testine göre S9 varlığında mutajenik etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmalarda bizim çalışmamızda elde edilen bulgulara uygun olarak, acetamiprid ile aynı insektisid grubuna dahil olan imidaclopridin genotoksik olduğu saptanmıştır. Ayrıca, 500-2500 ppm konsantrasyonlarındaki thiamethoxam (neonikotinoid) ile 18 ay boyunca beslenen farelerde karaciğer tümörlerinin oluşumunda artış saptanmıştır (Green ve ark., 2005a).

Zang ve ark. (2000)'nın yaptıkları çalışmada, imidaclopridin 12.5-100 mg/ml konsantrasyonlarında *Vicia faba*'nın kök ucu hücrelerinde MN oluşumları bakımından kontrole göre önemli fark görülmemiştir. Aynı şekilde fare kemik iliğı hücrelerinde de 12.5-100 mg/kg konsantrasyonlarındaki imidacloprid MN'lu polikromatik eritrositlerin oluşumunu arttırmamıştır. Bu sonuçlar bizim çalışmada elde ettiğimiz sonuçlarla uyuşmamaktadır. Bunun sebebi çalışmalarda kullanılan hücre hatlarının farklı olması ve neonikotinoid grubuna girse de imidaclopridin kimyasal yapısının acetamipridten farklı olmasından kaynaklanabilir.

Görüldüğü gibi bu çalışmada ve diğeri araştırıcıların çalışmalarında neonikotinoid grubuna giren pestisidlerin genotoksik etkilere sahip olduğu bulunmuştur. Acetamipridin KA, KKD ve MN oluşumunu arttırması bu maddenin klastojenik potansiyele sahip olduğunu gösterir. Çünkü bu çalışmada acetamipridin sayısal anormallikten daha çok yapısal kromozom anormalliklerine neden olduğu bulunmuştur. Bu nedenle MN oluşumunun acetamipridin anöjenik etkisinden çok klastojenik etkisinden dolayı olduğu düşünölebilir. Ayrıca bu çalışmada, acetamipridin daha çok kromatid tipi anormalliklere (kromatid kırıkları) neden olduğu saptanmıştır.

Acetamipridin genotoksik etkisinin moleköler mekanizması henüz bilinmemektedir. Fakat, acetamipridin etkisiyle KA, KKD ve MN oluşumunun

artması bu maddenin DNA hasarına neden olduğunu açıkça göstermektedir. Bu gibi maddeler yoluyla DNA hasarının meydana gelmesi reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu yoluyla olabilmektedir (Giray ve ark., 2001). Yao ve ark. (2006) tarafından, acetamipridin üç bakteri türünde (*E. coli* K12, *Pse.FH2* ve *B. subtilis*) süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzim aktivitesini kısa bir süre için arttırdığını saptamışlardır. SOD ve CAT enzim aktivitesinin artması, orada süperoksit radikalinin bulunduğunu gösterir. Çünkü, SOD süperoksit anyonlarını (O_2^-) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve CAT da H_2O_2 radikalini hidroksil ($HO^\cdot$) radikalinin oluşumunu engellemek için H_2O ve O_2 'ne katalizleyen enzimlerdir (Halliwell ve Gutteridge, 1999). Fakat, bu enzimlerin aktiviteleri azaldığı zaman süper oksit ve hidrojen peroksit anyonları, serbest hidroksil radikallerinin oluşumuna neden olur (Yıldız, 2004) ve bunun sonucunda da DNA zincir kırıkları meydana gelir.

5.1.2. Acetamipridin DNA Replikasyonu, Mitoz Bölünme ve Nükleus Bölünmesi Üzerindeki Etkileri

Acetamiprid, PI'ni kontrole ve eritici kontrole göre genel olarak düşürmüş, fakat bu düşüş 24 saatlik muamele için sadece yüksek iki konsantrasyonda (35, 40 $\mu g/ml$), 48 saatlik muamele için 40 $\mu g/ml$ konsantrasyonda istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Acetamipridin hücre proliferasyonu üzerindeki etkisi hem 24 hem de 48 saatlik muamelelerde doza bağlı durum göstermiştir.

Acetamiprid 24 saatlik muamele süresi sonunda MI'i tüm konsantrasyonlarda (25-40 $\mu g/ml$) kontrol ve eritici kontrole göre önemli derecede düşürmüştür. Acetamipridin insan periferik lenfositlerine 48 saatlik muamelesinde ise MI en düşük konsantrasyonda (25 $\mu g/ml$) kontrole, diğer konsantrasyonlarda (30, 35, 40 $\mu g/ml$) hem kontrol hem de eritici kontrole göre önemli derecede düşmüştür. Acetamiprid tüm süre ve konsantrasyonlarda MI'i pozitif kontrol kadar etkilemiştir. Acetamiprid ile 24 ve 48 saat muamele edilen kültürlerde MI doza bağlı olarak düşmüştür.

Acetamipridin nükleus bölünmesine etkisini gösteren NBI değerlerine göre, 24 ve 48 saatlik muamele sürelerinde tüm konsantrasyonlarda (25-40 $\mu g/ml$) NBI kontrol ve eritici kontrole göre önemli derecede düşmüştür. NBI, 24 ve 48 saatlik

muamelelerde acetamiprid konsantrasyonu arttıkça azalmış fakat bu azalma istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır.

Acetamiprid ve genel olarak acetamipridin de dahil olduğu neonikotinoid pestisidler grubuna giren insektisidlerle ilgili PI, MI ve NBI parametrelerini belirleyen herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada gözlenen PI, MI ve NBI'nin önemli azalışı acetamipridin sitotoksik potansiyele sahip olduğunu gösterir. Bizim çalışmamızdaki bulgulara uygun olarak bazı insektisidlerin sitotoksik potansiyelini gösteren bazı çalışmalarda, MI (Agarwal ve ark., 1994; Chauhan ve ark., 1999; 2005; Saxena ve ark., 2005), PI (Puig ve ark., 1989) ve NBI (Surrallés ve ark., 1995b)'nin insektisid etkisi ile düştüğü bildirilmiştir.

Süperoksit anyonları acetamipridin sitotoksik potansiyelinden de sorumlu olabilir. Halliwell ve Gutteridge (1999) tarafından hem *E. coli* hem de memeli ribonükleotid redüktaz enzimlerinin (RNR) süperoksit radikalleri tarafından inaktive edildiği bildirilmiştir. Bu yüzden, süperoksit radikalleri sitotoksositeye de neden olabilmektedir. RNR'lar bütün organizmalarda, hücrelerdeki DNA sentezinin önemli bir basamağı olan, nükleotidlerin deoksinükleotidlere indirgenmesini katalizleyen enzimlerdir (Elledge ve ark., 1992; Reichard, 1993; Stubbe ve Van der Donk, 1998). Buna göre, acetamiprid tarafından süperoksit radikalının oluşumu RNR aktivitesinin inhibisyonuna ve böylece DNA sentezi ve hücre proliferasyonunun engellenmesine neden olabilmektedir.

5.2. Alpha-cypermethrinin Tek Başına Kullanıldığı Zamanki Genotoksik Etkileri

5.2.1. Alpha-cypermethrinin Kardeş Kromatid Değişimi, Kromozom Anormalliği ve Mikronükleus Oluşumu Üzerindeki Etkileri

Bu çalışmada, alpha-cypermethrin insan periferik lenfositlerinde hem 24 hem de 48 saatlik muamele sürelerinde kullanılan tüm konsantrasyonlarda (5-20 µg/ml) KKD frekansını, hücre başına düşen yapısal KA oranını, hücre başına düşen toplam KA oranını ve anormal hücre yüzdesini hem kontrol hem de eritici kontrole göre

istatistiksel olarak önemli derecede ve doza bağlı olarak arttırmıştır. Ayrıca, MN içeren iki nükleuslu hücre %'si (% MNBN) ve MN %'si alpha-cypermethrinin en düşük iki konsantrasyonunda (15, 20 µg/ml) hem 24 hem de 48 saat süre ile muamele edilen insan periferik lenfositlerinde kontrol ve eritici kontrole göre önemli derecede yüksek bulunmuştur. En yüksek iki konsantrasyonda ise (15, 20 µg/ml) alpha-cypermethrin nükleus bölünmesini baskıladığı için yeterince iki nükleuslu hücre bulunamamıştır.

Dianovsky ve Sivikova (1995) tarafından, koyun periferik lenfositlerinde *in vitro* olarak alpha-cypermethrinin KKD üzerine etkisinin incelendiği çalışmada, araştırmacılar 6×10^{-6} ve 6×10^{-5} M/L (yani 2.5 ve 25 µg/ml) konsantrasyonlarında KKD frekansının kontrolden önemli derecede farklı olmadığını, fakat daha yüksek konsantrasyonda (6×10^{-4} M/L=250 µg/ml) ise KKD'nin kontrole göre önemli derecede yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Fakat bizim çalışmamızda alpha-cypermethrin için kullandığımız daha düşük konsantrasyonların hepsinde KKD frekansının kontrolden önemli derecede yüksek olduğunu belirledik. Bunun sebebi farklı canlıların lenfositlerinin test materyali olarak kullanılmasından kaynaklanabilir. Aynı araştırmacılar tarafından alpha-cypermethrinin klastojenik etkisi *in vivo* fare kemik iliği hücrelerinde de incelendiğinde, $\frac{1}{2}$ LD₅₀ dozunda KA'nin istatistiksel olarak önemli olmayan derecede arttığı bulunmuştur.

Alpha-cypermethrinin mikronükleus oluşumu üzerine etkisini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, *Rana temporaria* ve *Xenopus laevis* larvaları alpha-cypermethrinin üç farklı konsantrasyonunu içeren (0.001, 0.005, 0.01 ppm) su içinde 14 gün boyunca bırakılmıştır (Rudek ve Rozek, 1992). Sonra bu hayvanlardan alınan kan örneklerinde, bu insektisidin yüksek konsantrasyonda (0.01 ppm=0.01 µg/ml) mikronükleuslu kırmızı kan hücrelerinin frekansında önemli ve doza bağlı artışa neden olduğu saptanmıştır. Görüldüğü gibi bizim çalışmamızda elde edilen sonuçlar, alpha-cypermethrinin mikronükleus oluşumu üzerine etkilerini araştıran Rudek ve Rozek (1992)'in bulguları tarafından desteklenmektedir. Ayrıca, alpha-cypermethrin, % 0.01-0.1 konsantrasyonlarında *Hordeum vulgare*'de çimlenme ve çimlenen tohumların köklerinin uzama yüzdesini doza bağlı olarak azaltmıştır. *Vicia faba* ve *Hordeum vulgare* embriyoları kültüre alındığında bitki boyu ve canlı kalma

yüzdesinde istatistiksel olarak önemli azalma belirlenmiştir. Her iki bitki türünün (*Hordeum vulgare* ve *Vicia faba*) kök ucu meristemlerinde % 1'lik alpha-cypermethrin muamelesinin anormal anafaz ve telofaz oluşumunu az miktarda arttırdığı gözlenmiştir (Miadoková ve ark., 1991). Bu çalışmalarda da, alpha-cypermethrin çeşitli test sistemlerinde bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuca uygun olarak genotoksik bulunmuştur.

Alpha-cypermethrinin mutajenik aktivesini belirlemek amacıyla yapılan Ames testinde, alpha-cypermethrin *Salmonella typhimurium*'un TA1538, TA1535, TA100, TA98 ve TA97 suşlarında S9 karışımının varlığında ve yokluğunda, 15-750 µg/petri konsantrasyonları arasında mutasyonu uyarmamıştır. Ayrıca, % 0.001-0.1 konsantrasyonlarında alpha-cypermethrinin *Drosophila melanogaster*'de genotoksik olmadığı saptanmıştır (Miadoková ve ark., 1992).

Görüldüğü gibi alpha-cypermethrin bazı test sistemlerinde genotoksik bulunurken, bazı test sistemlerinde böyle bir etki göstermemiştir. Bunun sebebi olarak çeşitli genotoksik maddelerin farklı organizmaların metabolizmasındaki farklılıklar ya da bu maddelerin etkisine karşı hücresel seviyede oluşan farklılıklar düşünülebilir (Omenn, 1991). DNA yapısı temel olarak bütün organizmalarda benzerdir, fakat toksik ajanın ne kadar ve hangi formda DNA'ya ulaşacağını etkileyen sekonder faktörler genetik toksisiteyi değerlendirmek için kullanılan geniş çeşitlilikte organizmalarda oldukça farklıdır. Bunların yanında hedef DNA'nın büyüklüğü (DNA target size) ve DNA onarım mekanizması da genotoksik tehlikenin ortaya çıkmasında oldukça önemlidir ve bu parametreler de organizmadan organizmaya değişir (Brusick, 1988).

Alpha-cypermethrin alpha-cyano taşıyan Tip II grubu piretroid insektisidir. Alpha-cyano grubu taşıyan diğer piretroidlerden biri olan cypermethrin ile alpha cypermethrin birbirinin izomeri olan bileşiklerdir. Yapılan bazı çalışmalara göre, cypermethrin *in vivo* olarak fare kemik iliği hücrelerinde MN oluşumunu (Amer ve Aboul-ela, 1985), kromozom anormalliklerini (Bhunya ve Pati, 1988) ve KKD frekansını kontrole göre önemli derecede arttırmıştır (Amer ve ark., 1993; Chauhan ve ark., 1997; Giri ve ark., 2003). Cypermethrin sıçan kemik iliği hücrelerinde de kromozomal anormalliklerin artışına neden olmuştur (Institoris ve ark., 1999).

Cypermethrinin genotoksik etkisi, farede birçok organ (beyin, böbrek, karaciğer, dalak) ve dokuda (kemik iliği, lenfositler) alkalın comet yöntemi kullanılarak incelenmiş ve tüm organlarda DNA hasarındaki artış istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Patel ve ark., 2006). Ayrıca, cypermethrin 0.25-400 µg/ml konsantrasyonları arasında kültüre alınmış fare dalak hücrelerinde kromozomal anormallikler içeren metafaz yüzdesini arttırmıştır (Amer ve ark., 1993). İnsan tüm kan kültüründe ise cypermethrinin 200 µg/ml konsantrasyonda MN frekansını istatistiksel olarak önemli derecede arttırdığı bildirilmiştir (Surrallés ve ark., 1995b). Suman ve ark. (2006) tarafından 3.36 µM konsantrasyonundaki cypermethrinin insan periferik lenfositlerinde kromozom anormalliklerini önemli derecede uyardığı bildirilmiştir. Cypermethrinin *Allium sativum*'un kök meristem hücrelerinde 1, 2, 4, 8 ve 16 ppm konsantrasyonlarındaki test maddesine 24 saat maruz bırakıldıktan sonra analiz edilen hücrelerde mitotik ve kromozomal anormalliklerinin doza bağlı olarak arttığı bulunmuştur (Saxena ve ark., 2005).

Görüldüğü gibi cypermethrin çeşitli organizmalar ile yapılan çalışmalarda genotoksik etki göstermiş ve KA, KKD ile MN oluşumunu arttırmıştır. Cypermethrin ile ilgili elde edilen sonuçlar bizim çalışmamızdaki alpha-cypermethrinin insan periferik lenfositlerinde KA, KKD ve MN oluşumunu arttırması şeklinde elde ettiğimiz sonuçlar bakımından uygunluk göstermektedir. Alpha-cypermethrin ve cypermethrin birbirlerinin izomeri olduklarından dolayı molekül formülleri aynı fakat atomların molekül içindeki düzenlenişleri farklı olan ve bundan dolayı farklı kimyasal ve fiziksel özelliklere sahip olan maddelerdir. Ayrıca, alpha-cypermethrinin, cypermethrinden 3-4 kat daha toksik bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (IPCS, 1992). Bundan dolayı bizim çalışmamızda, alpha-cypermethrinin çok düşük konsantrasyonlarda (5-20 µg/ml) hem KA, hem de KKD ve MN oluşumunu önemli derecede arttırması olası bir durumdur. Bizim çalışmamızda, 15 ve 20 µg/ml konsantrasyonlarındaki alpha-cypermethrin ile muamele edilen insan periferik lenfositlerinde hücre bölünmesi önemli derecede azalmış ve MN oluşumunu inceleyebilmek için yeterli sayıda iki nükleuslu hücre bulunamamıştır. Fakat cypermethrin daha yüksek konsantrasyonda (100 µg/ml) bile böyle bir etki göstermezken 200 µg/ml konsantrasyonda bir donörde toksik etki

göstermiş ve iki nükleuslu hücreler sayılamamıştır (Surrallés ve ark., 1995b). Bu sonuçlar, alpha-cypermethrinin cypermethrinden daha toksik olduğunu göstermektedir. Surrallés ve ark. (1995b) aynı çalışmada, alpha-cyano grubu taşıyan piretroidlerden fenprothrin ve fenvaleratenin 100 µg/ml konsantrasyonda toksik etki gösterdiğini saptamışlardır.

Bu çalışmada alpha-cypermethrin kromozom anormallliği olarak en çok kromatid kırıklarına neden olmuştur. Alpha-cypermethrinin kromatid kırıklarını arttırması bu maddenin klastojenik potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Piretroidlerin genotoksitesinin moleküler mekanizması henüz bilinmemektedir. Fakat bitkilerde ve hayvanlarda KA, KKD ve mikronükleus formasyonunun görülmesi, bu maddelerin DNA ile etkileşime girerek DNA hasarı meydana getirdiğini göstermektedir. Böyle etkileşimlerle DNA hasarının meydana gelmesi serbest radikallerin oluşması yoluyla da olabilmektedir (Giray ve ark., 2001). Alpha-cypermethrinin ya da onun izomeri olan cypermethrinin genotoksik potansiyelinin doğrudan kendisinden mi yoksa metabolitlerinden mi kaynaklandığı henüz bilinmemektedir. Fakat Saxena ve ark. (2005) yaptıkları UV spektroskopi çalışmalarının sonucunda cypermethrinin doğrudan DNA ile etkileşime girerek genotoksik etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca aynı araştırmacılar, cypermethrinin DNA'ya bağlanabilmesinin cypermethrindeki Cl atomlarının güçlü bir şekilde polarizasyonu ile ilgili olduğunu ve bu gruba giren diğer piretroidlerin de bu şekilde DNA'ya bağlanabileceklerini bildirmişlerdir. Alpha-cypermethrin de yapısında Cl taşıyan bir pestisiddir ve DNA'ya bağlanması Cl atomlarının polarizasyonu ile olabilir. Bu piretroid insektisidlerinin polarizasyon yoluyla DNA'ya bağlanması, DNA yapısının kararsızlaşmasına (destabilizasyon) neden olabilir ve böylece kromozomal anormallikler artabilir. Böyle bağlanma UV absorpsiyon çalışmasının sonuçları ile ispatlanmıştır (Saxena ve ark., 2005). Ayrıca, diğer piretroidlerin hem insektisidal aktivitesinin hem de akut memeli toksisitesinin molekülün asit kısmının üç boyutlu konfigürasyonu, molekül şekli ve büyüklüğü tarafından belirlendiği bildirilmiştir (Soderlund ve ark., 2002).

5.2.2. Alpha-cypermethrinin DNA Replikasyonu, Mitoz Bölünme ve Nükleus Bölünmesi Üzerindeki Etkileri

Yaptığımız çalışmada, alpha-cypermethrin, insan periferel lenfositlerinde 24 ve 48 saatlik muamele sürelerinde PI'ni doza bağlı olarak düşürmüş ve bu düşüş yüksek üç konsantrasyonda (10, 15, 20 µg/ml) kontrole ve eritici kontrole göre önemli derecede farklı bulunmuştur. 24 saatlik muamele süresinde, 15 ve 20 µg/ml konsantrasyonlarda alpha-cypermethrin PI'ni, pozitif kontroldekinden daha fazla düşürmüştür. Yani yüksek iki konsantrasyonda alpha-cypermethrin DNA replikasyonunu pozitif kontrolden daha fazla olumsuz yönde etkilemiştir. MI, hem 24 hem de 48 saat alpha-cypermethrin ile muamele edilen kültürlerde, bütün konsantrasyonlarda (5-20 µg/ml) kontrole ve eritici kontrole göre önemli derecede ve aynı zamanda doza bağlı olarak düşmüştür. MI, 24 saatlik muamelede üç konsantrasyonda (10, 15, 20 µg/ml), 48 saatlik muamelede ise yüksek iki konsantrasyonda istatistiksel olarak pozitif kontrolden önemli derecede düşük bulunmuştur. Bu nedenle, yüksek iki konsantrasyonda alpha-cypermethrinin, pozitif kontrolden daha fazla mitoz bölünmeyi engellediğini söyleyebiliriz. Alpha-cypermethrin hem 24 hem de 48 saatlik muamelede tüm konsantrasyonlarda (5-20 µg/ml) NBI'ni kontrole ve eritici kontrole göre önemli derecede düşürmüştür. Ayrıca 24 saatlik muamelede tüm konsantrasyonlarda, 48 saatlik muamelede yüksek üç konsantrasyonda NBI pozitif kontrole göre de önemli derecede düşük bulunmuş ve alpha-cypermethrin nükleus bölünmesini pozitif kontrolden daha fazla engellemiştir. Bu nedenle, iki nükleuslu hücre bulunamamış ve MNBN hücre %'si ile MN %'si hesaplanamamıştır. Ayrıca, alpha-cypermethrin ile 24 saat muamele edilen insan periferel lenfositlerinde, PI ve NBI değerleri arasında istatistiksel olarak önemli korelasyon bulunmuştur ($P<0.05$).

Alpha-cypermethrinin hücre proliferasyonu ve nükleus bölünmesi üzerine etkisini belirleyen bir çalışmaya rastlanmamış, mitoz bölünme üzerine etkisi ise Dianovsky ve Sivikova (1995) tarafından, koyun periferel lenfositlerinde *in vitro* olarak çalışılmıştır. Araştırmacılar, alpha-cypermethrinin (6×10^{-4} M/L=250 µg/ml) MI'i

bizim çalışmamızda olduğu gibi kontrole göre önemli derecede düşürdüğünü bildirmişlerdir.

Bu sonuçlara göre, alpha-cypermethrinin DNA replikasyonunu, nükleus bölünmesini ve mitoz bölünmeyi olumsuz yönde etkileyerek hücre bölünmesini baskı altına aldığını söyleyebiliriz. Alpha-cypermethrinin izomeri olan cypermethrin, 10 µg/ml'den daha yüksek konsantrasyonlarda, hücre döngüsününün geç kalmasına neden olmuş ve bizim çalışmamızdakine benzer olarak proliferasyon indeksini düşürmüştür (Puig ve ark., 1989). Ayrıca, cypermethrinin, insan tüm kan kültüründe 200 µg/ml konsantrasyonunda nükleus bölünme indeksini (NBI) doza bağlı olarak azalttığı (Surrallés ve ark., 1995b), *Allium sativum* kök meristem hücrelerinde 1, 2, 4, 8 ve 16 ppm konsantrasyonlarında MI'ı düşürdüğü bildirilmiştir (Saxena ve ark., 2005). Tip II piretroidlerden olan deltamethrin (Chauhan ve ark., 1986) ve fenvalerate (Chauhan ve ark., 1999) *Allium cepa* kök meristem hücrelerinde MI'de doza bağlı azalmaya neden olmuşlardır. Ayrıca, fenvalerate 10 µg/ml'den daha yüksek konsantrasyonlarda, insan periferik lenfositlerinde hücre döngüsününün geç kalmasına neden olarak proliferasyon indeksini düşürmüş (Puig ve ark., 1989), bu maddenin 2-50 µg/ml konsantrasyonlarında ise iğ iplikçığının meydana gelmesinin bozulduğunu gösteren C-mitoz oluşumunda önemli artış gözlenmiştir (Carbonell ve ark., 1989).

Görüldüğü gibi birçok alpha-cyano grubu taşıyan piretroidler, çeşitli canlı hücrelerinde, bizim çalışmamızdaki alpha-cypermethrin için elde ettiğimiz MI, PI ve NBI'nin düşmesine uygunluk gösteren sonuçlara neden olmuşlardır. Bu çalışmada MI ve PI doza bağlı olarak önemli derecede düşmüştür. Konsantrasyona bağlı mitotik inhibisyon alpha-cypermethrinin sitotoksik potansiyelini göstermektedir. Bizim elde ettiğimiz sonuçlar, alpha-cyano grup taşıyan diğer piretroidlerin, *A. cepa* kök meristem hücrelerinde (Chauhan ve ark., 1986; 1999) insan lenfosit hücrelerinde (Carbonell ve ark., 1989; Surrallés ve ark., 1995b) fare kemik iliği hücrelerinde (Agarwal ve ark., 1994) ve *A. sativum* kök meristem hücrelerinde (Saxena ve ark., 2005) mitotik inhibisyon meydana getirdiği bildirilen çalışmalarla uygunluk göstermektedir. Hem PI hem de MI ve NBI'nin kontrole göre önemli derecede düşmesi, alpha-cypermethrinin toksik etkisinin hücre döngüsünün S fazında

olduğunu gösterir. Alpha-cypermethrin, S fazında DNA replikasyonunu engelleyerek hücre bölünmesinin durmasına ya da geri kalmasına neden olabilir. Ayrıca, bu piretroidlerin toksisitesinin siklopropan halkadaki metil gruplarından kaynaklandığı ileri sürülmektedir (Surrallés ve ark., 1995b).

5.3. Acetamiprid+Alpha-cypermethrinin Birlikte Kullanıldığı Zamanki Genotoksik Etkileri

5.3.1. Acetamiprid+Alpha-cypermethrin Karışımının Kardeş Kromatid Değişimi, Kromozom Anormalliği ve Mikronükleus Oluşumu Üzerindeki Etkileri

Bu çalışmada, acetamiprid ve alpha-cypermethrin birlikte kullanıldığında insan periferel lenfositlerinde KKD frekansını, hücre başına düşen yapısal KA oranını, hücre başına düşen toplam KA oranını ve KA'li toplam anormal hücre yüzdesini 24 ve 48 saatlik muamelelerde bütün konsantrasyonlarda (Acm+A-cyp; 12.5+2.5, 15+5, 17.5+7.5, 20+10 µg/ml) kontrole ve eritici kontrole göre önemli derecede ve doza bağlı olarak arttırmıştır. Acm+A-cyp karışımı, insan periferel lenfositlerinde hem 24 hem de 48 saat muamele süresinde, üç konsantrasyonda (12.5+2.5, 15+5, 17.5+7.5 µg/ml) MN içeren iki nükleuslu hücre yüzdesi ve MN yüzdesini, kontrole göre istatistiksel olarak önemli derecede arttırmıştır. Fakat bu artış pozitif kontrol kadar olmamıştır. Hem 24 hem de 48 saat muamelede en yüksek konsantrasyonda ise (20+10 µg/ml) Acm+A-cyp karışımı hücre bölünmesini baskıladığı için yeterli iki nükleuslu hücre bulunamamıştır. Ayrıca, Acm+A-cyp karışımı ile 24 saat insan periferel lenfositlerinin muamele edilmesi sonucunda ortaya çıkan toplam KA/hücre ve MN %'si arasında istatistiksel olarak önemli bir korelasyon belirlenmiştir ($P<0.05$).

Çeşitli pestisidlere (içerisinde piretroid ve/veya neonikotinoid grubu pestisidler de bulunan) maruz kalan tarım işçileriyle yapılan çalışmalarda bizim çalışmamızdakine uygun olarak, işçilerin periferel kan lenfositlerindeki KA'nin (Rupa ve ark., 1989; De Ferrari ve ark., 1991; Carbonell ve ark., 1993; Carbonell ve

ark., 1995; Lander ve ark., 2000; Paz-y-Miño ve ark., 2002) ve KKD'nin (De Ferrari ve ark., 1991; Rupa ve ark., 1991; Gomez-Arroyo ve ark., 2000; Shaham ve ark., 2001) kontrole göre önemli derecede arttığı bildirilmiştir.

Pastor ve ark. (2001a), pestisid karışımına (fungisidler, bakterisidler ve permethrin ile imidacloprid içeren insektisidler) maruz kalmış tarım işçilerinin periferik kan lenfositleri ve yanak mukozası epitel hücrelerinde, bizim çalışmamızdakine uygun olarak MN frekansının kontrole göre arttığını belirlemişlerdir. Bolognesi ve ark. (2002) tarafından yapılan çalışmada da, pestisid karışımına maruz kalan (deltamethrin, permethrin, cypermethrin, fenprothrin içeren) süs bitkisi yetiştiren işçilerde mikronükleus taşıyan iki nükleuslu hücre (MNB) sayısının, kontrol popülasyona göre istatistiksel olarak önemli derecede yüksek olduğu bulunmuştur. Fakat Pastor ve ark. (2001b) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise pestisid karışımına (tarım işçilerinin maruz kaldığı insektisidler arasında piretroid grubundan deltamethrin, lambda-cyhalothrin, fenvalerate, bifenthrin, permethrin, alfa-methrin, cypermethrin; neonikotinoid grubundan ise acetamiprid bulunmaktadır) maruz kalmış grupta kontrol gruba göre hem lenfosit hem de yanak mukozası epitel hücrelerinde MN frekansı bakımından önemli bir artış gözlenmemiştir. Bu sonuç ise bizim çalışmamıza uymamaktadır. Fakat araştırmacılar tarafından, pestiside maruz kalan bayan işçilerin çocuk düşürme sayısında önemli bir artış gözlemlendiği belirtilmiştir. Ayrıca araştırmacılar tarafından, tarım işçilerinin % 78'inin pestiside doğrudan maruz kalmayı azaltan ikiden daha fazla koruyucu önlem kullandıkları ve bu yüzden MN frekansında önemli bir artış gözlenmediğini bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada da, maruz kaldıkları pestisidler arasında piretroid ve neonikotinoid grubu insektisidler de olan tarım işçilerinin periferik kan lenfositleri ve ağız mukozası epitel hücrelerinde, MN frekansında kontrole göre önemli bir artış olmadığı belirlenmiştir (Pastor ve ark., 2003).

Görüldüğü gibi, pestiside maruz kalmış popülasyonlarda bazı çalışmalarda genetik zararların arttığı bulunurken bazılarında böyle bir etki görülmemiştir. Bunun sebebi, pestiside maruz kalmış popülasyonun yaşam tarzı, beslenme alışkanlığı, değişik iklimsel ve çevresel koşullar ve değişik pestisid karışımının kullanılması ile

açıklanabilir. Ayrıca işçilerin çalışırken uyguladıkları koruyucu önlemler de genetik zararların oluşmasını önleyen nedenlerden biridir.

Bu çalışmada acetamiprid ve alpha-cypermethrin bütün konsantrasyonlarda ve sürelerde, tek başlarına insan periferel lenfositlerinde KKD ve kromozom anormalliklerini kontrole göre önemli derecede arttırmıştır. Ayrıca, acetamiprid ve alpha-cypermethrin yarı konsantrasyonlarda bile bir araya geldiklerinde yine KKD ve KA oranını kontrole göre önemli derecede arttırmıştır. Acetamipridin tek başına insan periferel lenfositlerine 24 saatlik muamelesinde, yüksek konsantrasyonlarda (30, 35, 40 µg/ml), 48 saatlik muamelesinde ise tüm konsantrasyonlarda (25, 30, 35, 40 µg/ml) MNBN hücre %'si ve MN %'si kontrole göre önemli derecede artmıştır. Alpha-cypermethrinin tek başına insan periferel lenfositlerine hem 24 hem de 48 saat süre muamelesinde en düşük iki konsantrasyonda (15, 20 µg/ml) MN içeren iki nükleuslu hücre %'si ve MN %'si, kontrole göre önemli derecede yüksek bulunmuş, en yüksek iki konsantrasyonda ise (15, 20 µg/ml) alpha-cypermethrin hücre bölünmesini baskılamıştır. Buna göre insektisidler hem tek başlarına insan periferel lenfositlerine uygulandıklarında hem de yarı konsantrasyonlarda bile bir araya geldiklerinde genotoksik etki meydana getirmişlerdir.

Bundan dolayı bu insektisidlerin karışım halinde birbirlerinin etkilerini arttırdıklarını ve daha genotoksik olduklarını söyleyebiliriz. Karışım halinde yapılan diğerk çalışmalarda genellikle pestisidler tek tek çalışıldıkları konsantrasyonlarda biraraya getirilerek karışım etkisine bakılmıştır. Oysa bizim çalışmamızda karışımı oluşturan pestisidlerin konsantrasyonları tek tek çalışılan konsantrasyonların yarısı kadardır. Bu şekilde yapılan başka bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ayrıca, sadece neonikotinoid ve piretroid grubu pestisidleri içeren karışımın genotoksik etkilerini inceleyen başka bir çalışmaya da rastlanmamıştır. Örneğın; Dolara ve ark. (1992), dimethoate ve omethoate (organofosforlu insektisid), deltamethrin (pyrethroid insektisid) ve benomyl (karbamatlı pestisid)'in *in vitro* insan lenfositlerinde tek başlarına KKD frekansında önemli artış meydana getirmedikleri halde, karışım halinde KKD'ni kontrole göre önemli derecede arttırdıklarını bildirmişlerdir. Aynı şekilde, carbosulfan ve ethyl carbamate ile carbosulfan ve ethyl methanosulfonat karışımları insan periferel lenfositlerinde KKD'ni (Rencüzoğulları ve Topaktaş,

1998) ve kromozom anormalliğini (Rencüzoğulları ve Topaktaş, 2000) sinerjistik olarak arttırmıştır.

Genellikle kombinasyon halinde kullanılan, cypermethrin (CYP, sentetik piretroid insektisidi) ve/veya quinalphos (QUI, organofosforlu insektisid)'un *in vivo* sitogenetik etkileri tek başlarına ve kombinasyon halinde farelerde MN ve KA yoluyla incelendiğinde; CYP/QUI karışımı ile 24 saat muamele edilen farelerde doza bağlı olarak MI düşmüş ve KA artmıştır. CYP/QUI karışımındaki en yüksek konsantrasyonda bulunan CYP'nin tek başına farelere uygulanması MI'yi istatistiksel olarak önemli derecede düşürürken, KA üzerine etkisi görülmemiştir. QUI pestisidinin tek başına farelere verilmesi MI'yi önemli derecede düşürmüş ve KA'ni arttırmıştır. Tek başına CYP'e maruz kalan fare kemik iliği hücrelerindeki MNPCE'lerin yüzdesi kontrolle kıyaslandığında önemli farklılıklar göstermezken, QUI tek başına muamelesi MNPCE'lerin frekansını önemli derecede arttırmıştır. CYP/QUI karışımının 48 saat muamelesi MN oluşumunu ve mikronükleuslu polikromatik eritrositlerin (MNPCE) frekansını arttırmıştır. Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre toksik konsantrasyonlarda CYP ile QUI farelerde sinerjistik olarak genotoksik etki göstermişlerdir. (Chauhan ve ark., 2005).

Karabay ve Oğuz (2005) tarafından, imidacloprid ve methamidophos (organofosforlu insektisid)'un hem tek başlarına ve hem de insektisidlerin ticari kombinasyonu halinde sıçan kemik iliğinde kromozom aberasyonlarını arttırdığı ve Salmonella/mikrozom mutajenite testine göre S9 karışımı varlığında mutajenik oldukları belirlenmiş; üstelik, methamidophos ve imidaclopridin sinerjistik etki göstererek kombinasyon halinde kullanıldıklarında potansiyel zararlarını arttırdıkları bildirilmiştir.

Fakat, bizim çalışmamızdan farklı olarak karışım halinde genotoksitenin artmadığı çalışmalar da vardır. Piatti ve ark. (1994), kültüre alınmış sıçan hepatositlerinde benomylin (karbamatlı pestisid) tek başına kullanıldığında doza bağlı olarak mikronükleus frekansını arttırdığını; bununla beraber, pirimiphos-methyl'in (organofosforlu pestisid) tek başına genotoksik olmadığını bildirmişler ve araştırmacılar, her iki pestisidin birlikte (benomyl/pirimiphos-methyl, 6:1) kullanıldıklarında mikronükleus frekansındaki artmanın benomylin tek başına

meydana getirdiği artış kadar olduğunu belirlemişlerdir. Görüldüğü gibi pirimiphos-methylin karışımının genotoksisitesine bir katkısı olmamıştır.

5.3.2. Acetamiprid+Alpha-cypermethrin Karışımının DNA Replikasyonu, Mitoz Bölünme ve Nükleus Bölünmesi Üzerindeki Etkileri

Acm+A-cyp karışımı ile 24 saat muamele edilen insan periferall lenfositlerinde PI, en düşük konsantrasyonda (12.5+2.5 µg/ml) sadece kontrole göre diğer konsantrasyonlarda (15+5, 17.5+7.5, 20+10 µg/ml) ise hem kontrol hem de eritici kontrole göre önemli derecede ve doza bağılı olarak azalmıştır. 48 saatlik muamelede ise Acm+A-cyp karışımı insan periferall lenfositlerinde bütün konsantrasyonlarda (12.5+2.5, 15+5, 17.5+7.5, 20+10 µg/ml) PI'nin hem kontrol hem de eritici kontrole göre önemli derecede ve doza bağılı olarak düşmesine neden olmuştur.

Acm+A-cyp karışımının mitoz bölünme üzerine etkisini belirleyen MI, 24 ve 48 saatlik muamelelerde bütün konsantrasyonlarda (12.5+2.5, 15+5, 17.5+7.5, 20+10 µg/ml) kontrol ve eritici kontrole göre istatistiksel olarak önemli derecede düşmüştür. MI'deki azalma her iki muamele süresinde doza bağılı bulunmuştur. Acm+A-cyp'nin etkisiyle azalan MI değeri 24 ve 48 saatlik muamelede ise en yüksek konsantrasyonda (20+10 µg/ml) pozitif kontrole göre daha düşük bulunmuştur.

Acm+A-cyp karışımı NBI'ni, 24 saatlik muamelede bütün konsantrasyonlarda (12.5+2.5, 15+5, 17.5+7.5, 20+10 µg/ml) kontrole, eritici kontrole ve pozitif kontrole göre önemli derecede düşürmüştür. Yani Acm+A-cyp karışımı bu süre ve konsantrasyonlarda nükleus bölünmesini pozitif kontrolden daha fazla engellemiştir. Acm+A-cyp karışımı insan periferall lenfositlerine 48 saat muamele süresinde NBI'ni, yine bütün konsantrasyonlarda kontrole ve eritici kontrole göre önemli derecede ve doza bağılı olarak düşürmüştür. Pozitif kontrolle kıyaslandığında ise, Acm+A-cyp karışımı nükleus bölünmesini sadece en düşük konsantrasyonda (12.5+2.5 µg/ml) pozitif kontrol kadar etkileyememiş, diğer konsantrasyonlarda (15+5, 17.5+7.5, 20+10 µg/ml) pozitif kontrolden önemli

derecede düşük bulunmuştur. Ayrıca, Acm+A-cyp karışımı ile 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferik lenfositlerinde, PI ve NBI arasında istatistiksel olarak önemli korelasyon bulunmuştur

Neonikotinoid ve/veya piretroid grubu insektisidler içeren pestisidlere maruz kalan tarım işçilerinin periferik lenfositlerinde yapılan *in vitro* çalışmalarda da bizim çalışmamıza uygun olarak MI (Rupa ve ark., 1991; Gomez-Arroyo ve ark., 2000)'in kontrole göre düştüğü bulunmuştur. Ayrıca, Pastor ve ark. (2003) tarafından, tarım işçilerinin periferik kan lenfositleri ve ağız mukozası epitel hücrelerinde, hücrenin bölünmesinin azaldığını gösteren, sitokinez bloklayıcı proliferasyon indeksi (CBPI) önemli derecede bir azalma olduğu saptanmıştır. CBPI bizim çalışmamızda elde ettiğimiz nükleus bölünme indeksi (NBI) ile aynı olan bir parametredir ve kontrole göre daha düşük değerde olması hücre bölünmesinin engellendiğini gösterir.

Bu çalışmada, acetamiprid tek başına insan periferik lenfositlerinde PI'ni kontrol ve eritici kontrole göre genel olarak düşürmüş fakat bu düşüş 24 saatlik muamele için sadece en yüksek iki konsantrasyonda (35, 40 µg/ml), 48 saatlik muamele için 40 µg/ml konsantrasyonda önemli olmuş ve her iki muamele süresinde de PI'deki düşüş doza bağlı durum göstermiştir. MI ve NBI ise tüm konsantrasyonlarda kontrol ve eritici kontrole göre önemli derecede düşüş göstermiştir. Alpha-cypermethrin ise tek başına insan periferik lenfositlerine 24 ve 48 saatlik muamele sürelerinde PI'ni yüksek üç konsantrasyonda (10, 15, 20 µg/ml), MI ve NBI'ni bütün konsantrasyonlarda (5-20 µg/ml) kontrole ve eritici kontrole göre önemli derecede ve doza bağlı olarak düşürdüğü bulunmuştur. Alpha-cypermethrin ve acetamiprid karışımı ise insan periferik lenfositlerinde bütün konsantrasyonlarda (12.5+2.5, 15+5, 17.5+7.5, 20+10 µg/ml) ve sürelerde PI, MI ve NBI'ni genel olarak kontrole ve eritici kontrole göre önemli derecede ve doza bağlı olarak düşürmüştür. Görüldüğü gibi acetamiprid ve alpha-cypermethrin tek başına kullanıldıklarının yarısı konsantrasyonlarda dahi bir araya getirildiklerinde yine sitostatik etkiyi gösteren PI, MI ve NBI'nin düşmesine neden olmuştur.

Rencüzoğulları ve Topaktaş (1998) tarafından carbosulfan ve ethyl carbamate karışımı ile carbosulfan ve ethyl methanosulfonat karışımının insan periferik lenfositlerinde replikasyon indeksini sinerjistik olarak düşürdüğü bildirilmiştir.

Rencüzoğulları ve Topaktaş (1998) tarafından yapılan bu çalışmada test maddeleri tek tek kullanıldıkları konsantrasyonlarda alınarak karışım elde edilmiş ve bu karışımın insan periferik lenfositlerinde replikasyon indeksini sinerjistik olarak düşürdüğü bulunmuştur. Benzer olarak; Chauhan ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışmada cypermethrin ve quinalphos'un tek tek ve ticari karışımı halinde, sıçanlarda *in vivo* olarak MI'yi kontrole göre önemli derecede düşürdükleri bildirilmiştir. Fakat araştırmacıların yaptıkları bu çalışmada da cypermethrin ve quinalphos ticari karışımında bulunan konsantrasyonlarında tek tek çalışılmıştır. Oysa bizim çalışmamızda acetamiprid ve alpha-cypermethrin karışımı, tek tek kullanıldıkları konsantrasyonların yarısı konsantrasyonlarda alınarak karışım oluşturulmuş ve bu şekilde bile önemli derecede sitostatik bulunmuştur.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaptığımız çalışmada, acetamipridin 24 ve 48 saatlik süre ile insan periferal lenfositlerine muamelesinde bütün konsantrasyonlarda (25, 30, 35, 40 µg/ml) KKD ve KA'ni kontrole ve eritici kontrole göre önemli derecede arttırdığı; KKD'deki artışın her iki muamele süresinde KA'deki artışın ise 48 saatlik muamele süresinde doza bağlı olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, acetamiprid yüksek üç konsantrasyonda MN oluşumunu önemli derecede arttırmış, bu artış 24 saatlik muamelede doza bağlı bulunmuştur. Bu çalışmada, acetamipridin PI'ni her iki muamele süresinde 40 µg/ml'de, MI'i ve NBI'ni ise tüm konsantrasyonlarda istatistiksel olarak önemli derecede düşürdüğü bulunmuştur. PI ve MI'deki düşüşlerin her iki muamele süresinde doza bağlı olduğu saptanmıştır.

Bizim çalışmalarımızın sonucunda, acetamipridin ticari formülasyonunun çalışılan üç test sistemine göre insan periferal lenfositlerinde *in vitro* olarak genotoksik ve sitotoksik olduğu bulunmuştur. Fakat acetamipridin genotoksitesiyle ilgili başka bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle acetamipridin genotoksik olup olmadığına daha kesin karar verebilmek için ilaveten *in vivo* ve gen mutasyonlarıyla ilgili çalışmalar da yapmak gerekmektedir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, acetamipridin insanlar için genotoksik riske sahip olma ihtimalinin yüksek olduğunu söyleyebiliriz.

Bu çalışmada test edilen diğer bir insektisid olan alpha-cypermethrinin insan periferal lenfositlerinde, tüm süre ve konsantrasyonlarda (5, 10, 15, 20 µg/ml) KKD ve KA'ni kontrole ve eritici kontrole göre istatistiksel olarak önemli derecede ve doza bağlı olarak arttırdığı bulunmuştur. MN oluşumu, alpha-cypermethrinin düşük iki konsantrasyonunda her iki muamele süresinde insan periferal lenfositlerinde önemli derecede yüksek bulunmuştur. Yüksek iki konsantrasyonda ise, alpha-cypermethrin nükleus bölünmesini baskıladığı için yeterince iki nükleuslu hücre bulunamamıştır. Alpha-cypermethrin, insan periferal lenfositlerinde 24 ve 48 saatlik muamele sürelerinde PI'ni yüksek üç konsantrasyonda, MI'i ve NBI'ni bütün konsantrasyonlarda önemli derecede düşürmüştür. PI ve MI'deki düşüşler doza bağlı bulunmuştur.

Alpha-cypermethrinin KA, KKD ve MN oluşumunu arttırması bu maddenin klastojenik; PI, MI ve NBI'ni önemli derecede düşürmesi ise sitostatik potansiyelini göstermektedir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre alpha-cypermethrinin özellikle klastojenik etkisi nedeni ile hücre bölünmesinin durmasına ya da geri kalmasına neden olduğunu söyleyebiliriz.

Alpha-cypermethrinin genotoksik riske sahip olduğunu gösteren başka çalışmalar (Rudek ve Rozek, 1992; Miadoková ve ark., 1991; Dianovsky ve Sivikova, 1995) ve bizim yaptığımız çalışma birlikte değerlendirilecek olursa bu maddenin insanlar için genotoksik riski yüksek bir insektisid olduğu düşüncesindeyiz. Bundan dolayı, kullanımı sırasında tarım işçilerinin dikkatli olması, koruyucu önlemler alması gerekmektedir.

Görüldüğü gibi acetamiprid ve alpha-cypermethrin insan periferik lenfositlerine tek tek muamele edildiklerinde genotoksik aktiviteye sahip bulunmuşlardır. Fakat doğada, insanlar ve özellikle tarım işçileri pestisidlere tek tek değil genellikle onların karışımı halinde maruz kalmaktadırlar. Bu nedenle çalışmamızda test ettiğimiz insektisidlerin karışım halindeki genotoksik etkileri de belirlenmiştir. Çalışmamızda insektisidlerin karışım halindeki etkisini belirlerken tek tek muamele edildikleri konsantrasyonların yarısı konsantrasyonlarında alınarak birliktaki etkilerine bakılmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, acetamiprid ve alpha-cypermethrin karışımının insan periferik lenfositlerinde KKD frekansını ve KA oranını, 24 ve 48 saatlik muamelelerde bütün konsantrasyonlarda (Acm+A-cyp; 12.5+2.5, 15+5, 17.5+7.5, 20+10 µg/ml) önemli derecede ve doza bağlı olarak arttırdığı bulunmuştur. Ayrıca, bu karışımın, insan periferik lenfositlerinde her iki muamele süresinde, düşük üç konsantrasyonda MN oluşumunu, önemli derecede uyardığı belirlenmiştir. En yüksek konsantrasyonda ise Acm+A-cyp karışımı hücre bölünmesini baskılamış ve yeterli iki nükleuslu hücre bulunamamıştır. Acm+A-cyp karışımı ile 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferik lenfositlerinde PI, MI ve NBI'nin genel olarak bütün konsantrasyonlarda önemli derecede ve doza bağlı olarak düştüğü bulunmuştur.

Bu çalışmanın sonuçlarına göre, acetamiprid ve alpha-cypermethrin insektisidlerinin insan periferik lenfositlerine tek tek muamele edildikleri

konsantrasyonların yarısı kadar konsantrasyonlarda bile bir araya geldiklerinde ya tek tek muamele edildikleri kadar ya da daha fazla genotoksik etki gösterdikleri bulunmuştur.

Buna göre, herhangi bir kimyasal maddenin genotoksik, mutajenik veya kanserojenik etkisine hem tek tek hem de karışım halinde bakılması; elde edilecek sonuçlara göre kullanımının yasaklanması veya sınırlandırılması gerekir. Bizim çalışmamızda acetamiprid ve alpha-cypermethrin insektisidleri tek tek kullanıldığı zaman genotoksik bulunduğu gibi karışım halinde de genellikle genotoksisitelerinin arttığı belirlenmiştir. Bu çalışmada, pestisidlerin tek kullanıldığı zamanki etkili dozlarının yarısı kadar dozları bir araya geldiği zaman dahi genotoksik olduğu saptanmıştır. Bu da insektisidlerin genotoksik etkilerinin birbirini sinerjistik olarak etkilediğini göstermektedir. Bu nedenle çeşitli pestisidlere işi gereği maruz kalan kişilerin gerekli önleyici tedbirlerini alması gerekir. Aksi halde böyle kişiler için genotoksik risk kaçınılmazdır.

KAYNAKLAR

- AGARWAL, D. K., CHAUHAN, L. K. S., GUPTA, S. K. and SUNDARARAMAN V., 1994. Cytogenetic Effects of Deltamethrin on Rat Bone Marrow. *Mutat. Res.*, 311: 133-138.
- ALBERTINI, R. J., ANDERSON, D., DOUGLAS, G. R., HAGMAR, L., HEMMINKI, K., MERLO, F., NATARAJAN, A. T., NORPPA, H., SHUKER, D. E. G., TICE, R., WATERS, M. D. and AITIO, A., 2000. IPCS Guidelines for The Monitoring of Genotoxic Effects of Carcinogens in Humans. *Mutat. Res.*, 463: 111-172.
- ALDRIDGE, W. N., 1990. An Assessment of the Toxicological Properties of Pyrethroids and Their Neurotoxicity. *Toxicology*, 21: 89-104.
- AMER, S. M. and ABOUL-ELA, E. I., 1985. Cytogenetic Effects of Pesticides III. Induction of Micronuclei in Mouse Bone Marrow by Insecticides Cypermethrin and Rotenone. *Mutat. Res.* 155: 135-142.
- , IBRAHIM, A. A. and EL-SHERBENY, K. M., 1993. Induction of Chromosomal Aberrations and Sister Chromatid Exchange In Vivo and In Vitro by the Insecticide Cypermethrin. *J. Appl. Toxicol.*, 13 (5): 341-345.
- ANDERSON, D., 1988. Human Biomonitoring. *Mutat. Res.*, 204: 353-541.
- BARRUECO, C., HERRERA, A., CABALLO, C. and DE LA PEÑA, E. 1994. Induction of Structural Chromosome Aberrations in Human Lymphocyte Cultures and CHO Cells by Permethrin. *Teratogen. Carcinogen. and Mutagen.*, 14: 31-38.
- BATISTE-ALENTORN, M., XAMENA, N., VELAZQUEZ, A. and MARCOS, R., 1986. Mutagenicity Testing of the Pyrethroid Insecticide Cypermethrin in *Drosophila*. , *Mutagenesis*, 1 (5): 343-6.
- BHUNYA, S. P. and PATI, P. C., 1988. Genotoxic Effects of a Synthetic Pyrethroid Insecticide, Cypermethrin, in Mice In Vivo. *Toxicol. Lett.*, 41 (3): 223-230.
- BIANCHI, L., ZANNOLI, A., PIZZALA, R., STIVALA, L.A. and CHIESARA, E. 1994. Genotoxicity Assay of Five Pesticides and Their Mixtures in *Saccharomyces cerevisiae* D7. *Mutat. Res.*, 321(4): 203-211.

- BIANCHI-SANTAMARIA, A., GOBBI, M., CEMBRAN, M. and ARNABOLDI, A. 1997. Human Lymphocyte Micronucleus Genotoxicity Test with Mixtures of Phytochemicals in Environmental Concentrations. *Mutat. Res.* 388 (1): 27-32.
- BLAIR, A. and ZAHM, S. H., 1995. Agricultural Exposures and Cancer. *Environ. Health. Perspect.*, 103: 205-208.
- BŁASIAK, J., JAŁOSZYNSKI, P., TRZECIAK, A. and SZYFTER, K., 1999. In Vitro Studies on the Genotoxicity of the Organophosphorus Insecticide Malathion and Its Two Analogues. *Mutat. Res.*, 445: 275-283.
- BOFFETTA, P., VAN DER HEL, O., NORPPA, H., FABIONOVA, E., FUCIC, A., GUNDY, S., LAZUTKA, J., CEBULSKA-WASILEWSKA, A., PUSKAILEROVA, D., ZNAOR, A., KELECSENYI, Z., JUOZAS, K., RACHTAN, J., FORNI, A., VERMEULAN, R. and BONASSI, S., 2006. Chromosomal Aberrations and Cancer Risk: Result of a Cohort Study from Central Europe. *American Journal of Epidemiology*, Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health, U. S. A., DOI: 10.1093/aje/kwj367. p 1-10.
- BOLOGNESI, C., PERRONE, E. and LANDINI, E., 2002. Micronucleus Monitoring of a Floriculturist Population From Western Liguria, Italy. *Mutagenesis*, 17 (5): 391-397.
- , LANDINI, E., PERRONE, E. and ROGGIERI, P., 2004. Cytogenetic Biomonitoring of a Floriculturist Population in Italy: Micronucleus Analysis by Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) with an All-Chromosome Centromeric Probe. *Mutat. Res.*, 557: 109-117.
- , HAGMAR, L., STRÖMBERG, U., MONTAGUD, A. H., TINNERBERG, H., FORNI, A., HEIKKILÄ, P., WANDERS, S., WILHARDT, P., HANSTEEN, I-L., KNUDSEN, L. E. and NORPPA, H., 2000. Chromosomal Aberrations in Lymphocytes Predict Human Cancer Independently of Exposure to Carcinogens. *Cancer Res.*, 60: 1619-1625.
- , FENECH, M., LANDO, C., LIN, Y. P., CEPPI, M., CHANG, W. P., HOLLAND, N., KIRSCH-VOLDERS, M., ZEIGER, E., BAN, S., BARALE,

- R., BIGATTI, M. P., BOLOGNESI, C., JIA, C., Di GIORGIA, M., FREGUSON, L. R., FUCIC, A., LIMA, O. G., HRELIA, P., KRISHNAJA, A. P., LEE, T-K., MIGLIORE, L., MIKHALEVICH, L., MIRKOVA, E., MOSESSO, P., MULLER, W-U., ODAGIRI, Y., SCARFI, M. R., SZABOVA, E., VOROBTSOVA, I., VRAL, A. and ZIJNO, A., 2001. Human Micronucleus Project: International Database Comparison for Results With the Cytokinesis-Block Micronucleus Assay in Human Lymphocytes: I. Effect of Laboratory Protocol, Scoring Criteria, and Host Factors on the Frequency of Micronuclei. *Environ. and Mol. Mutagen.*, 37: 31-45.
- , ZNAOR, A., NORPPA, H. and HAGMAR, L. 2004. Chromosomal aberrations and risk of cancer in humans: an epidemiologic perspective. *Cytogenet. Genome Res.* 104:376-382.
- , UGOLINI, D., KIRSCH-VOLDERS, M., STRÖMBERG, U., VERMEULEN, R., TUCKER, J. D., 2005. Human Population With Cytogenetic Biomarkers: Review of the Literature and Future Prospectives. *Environ. and Mol. Mutagen.*, 45: 258-270.
- , ZNAOR, A., CEPPI, M., LANDO, C., CHANG, W. P., HOLLAND, N., KIRSCH-VOLDERS, M., ZEIGER, E., BAN, S., BARALE, R., BIGATTI, M. P., BOLOGNESI, C., CEBULSKA-WASILEWSKA, A., FABIANOVA, E., FUCIC, A., HAGMAR, L., JOKSIC, G., MARTELLI, A., MIGLIORE, L., MIRKOVA, E., SCARFI, M. R., ZIJNO, A., NORPPA, H., FENECH, M., 2007. An Increased Micronucleus Frequency in Peripheral Blood Lymphocytes Predicts the Risk of Cancer in Humans. *Carcinogenesis*, 28: 625-631.
- BROWN, L. M., BLAIR, A., GIBSON, R., EVERETT, G. D., CANTOR, K. P., SCHUMAN, L. M., BURMEISTER, L. F., VAN LIER, S. F. and DICK, F., 1990. Pesticide Exposures and Other Agricultural Risk Factors for Leukemia among Men in Iowa and Minnesota. *Cancer Res.*, 50: 6585-6591.
- BRUNET, J-L., BADIOU, A. and BELZUNCES, L. P., 2005. In Vivo Metabolic Fate of [¹⁴C]-acetamiprid in Six Biological Compartments of the Honeybee, *Apis mellifera* L. *Pest Management Science*, 61: 742-748.

- BRUSICK, D., 1988. Evolution of Testing Strategies for Genetic Toxicity. *Mutat. Res.*, 205: 69-78.
- BULL, S., FLETCHER, K., BOOBIS, A. R. and BATTERSHILL, J. M., 2006. Evidence for Genotoxicity of Pesticides in Pesticide Applicators: a Review. *Mutagenesis*, 21 (2): 93-103.
- CABALLO, C., HERRERA, A., BARRUECO, C., SANTA-MARIA, A., SANZ, F. and DE LA PEÑA, E., 1992. Analysis of Cytogenetic Damage Induced in CHO Cells by the Pyrethroid Insecticide Fenvalerate. *Teratogen. Carcinogen. and Mutagen.*, 12: 243-249.
- CABRAL, J. R. P. and GALENDO, D., 1990. Carcinogenicity Study of the Pesticide Fenvalerate in Mice. *Cancer Letters*, 49: 13-18.
- , GALENDO, D., LAVAL, M. and LYANDRAT, N., 1990. Carcinogenicity Studies with Deltamethrin in Mice and Rats. *Cancer Letters*, 49: 147-152.
- CAMPANA, M. A., PANZERI, A. M., MORENO, V. J. and DULOUT, F. N., 1999. Genotoxic Evaluation of the Pyrethroid Lambda-cyhalothrin Using the Micronucleus Test in Erythrocytes of the Fish *Cheiroden interruptus interruptus*. *Mutat. Res.*, 483: 155-161.
- CARBONELL, E., PUIG, M., XAMENA, N., CREUS, A. and MARCOS, R., 1989. Mitotic Arrest Induced by Fenvalerate in Human Lymphocyte Cultures. *Toxicology Letters*. 48: 45-48.
- , XAMENA, N., CREUS, A. and MARCOS, R., 1993. Cytogenetic Biomonitoring in a Spanish Group of Agricultural Workers Exposed to Pesticides. *Mutagenesis*, 8 (6): 511-517.
- , VALBUENA, A., XAMENA, N., CREUS, A. and MARCOS, R., 1995. Temporary Variations in Chromosomal Aberrations in a Group of Agricultural Workers Exposed to Pesticides. *Mutat. Res.*, 344: 127-134.
- CARRANO, A. V., THOMPSON, P. A. Lindl and MINKLER, J. L. 1978. Sister Chromatid Exchanges as an Indicator of Mutagenesis. *Nature (London)*, 271: 551-553.
- , and NATARAJAN A. T., 1988. Consideration for Population Monitoring Using Cytogenetic Techniques. *Mutat. Res.*, 204: 379-406.

- CASIDA, J. E., GAMMON, D. E., GLICKMAN, A. H. and LAWRENCE, L. J., 1983. Mechanisms of Selective Action of Pyrethroid Insecticides. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 23: 413-438.
- and QUISTAD, G. B., 1998. Golden Age of Insecticide Research: Past, Present, or Future? *Annu. Rev. Entomol.*, 43: 1-16.
- and QUISTAD, G. B., 2004. Why Insecticides are More Toxic to Insect Than People: The Unique Toxicology of Insects. *J. Pestic. Sci.*, 29: 81-86.
- CHAUHAN, L. K. S., DIKSHITH, T. S. S. and SUNDARARAMAN, V., 1986. Effect of Deltamethrin on Plant Cells I. Cytological Effects on the Root Meristems of *Allium cepa*. *Mutat. Res.*, 171: 25-30.
- , AGARWAL, D. K. and SUNDARARAMAN, V., 1997. In Vivo Induction of Sister Chromatid Exchange in Mouse Bone Marrow Following Oral Exposure to Commercial Formulations of Alpha-Cyano Pyrethroids. *Toxicology Letters*, 93: 153-157.
- , SAXENA, P. N. and GUPTA, S. K., 1999. Cytogenetic Effects of Cypermethrin and Fenvalerate on the Root Meristem Cells of *Allium cepa*. *Environ. and Exp. Botany*, 42: 181-189.
- , PANT, N., GUPTA, S. K. and SRIVASTAVA, S. P., 2000. Induction of Chromosome Aberrations, Micronucleus Formation and Sperm Abnormalities in Mouse Following Carbofuran Exposure. *Mutat. Res.*, 465: 123-129.
- , CHANDRA, S., SAXENA, P. N. and GUPTA, S. K., 2005. In Vivo Cytogenetic Effects of a Commercially Formulated Mixture of Cypermethrin and Quinalphos in Mice. *Mutat. Res.*, 587: 120-125.
- CHEN, S., ZHANG, Z., HE, F., YAO, P., WU, Y., SUN, J., LIU, L. and LI, Q. 1991. An Epidemiological Study on Occupational Acute Pyrethroid Poisoning in Cotton Farmers. *Br. J. Ind. Med.*, 48: 77-81.
- CHENG, M., CONNER, M. K. and ALARIA, Y., 1981. Potency of Some Carbamates as Multiple Tissue Sister Chromatid Exchanges in Bloom's Syndrome Lymphocytes. *Cancer Res.*, 71: 4508-4512.

- CHENG, T. J., CHRISTIANI, D. C., XU, X., WAIN, J. C., WIENCKE, J. K. and KELSEY, K. T., 1996. Increased Micronucleus Frequency in Lymphocytes from Smokers with Lung Cancer. *Mutat. Res.*, 349: 43-50.
- CHIU, B. C-H., WEISENBURGER D. D., ZAHM, S. H., CANTOR, K. P., GAPSTUR, S. M., HOLMES, F., BURMEISTER, L. F. and BLAIR, A., 2004. Agricultural Pesticide Use, Familial Cancer and Risk of Non-Hodgkin Lymphoma. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 13 (4): 525-531.
- COHEN, S., MEEK, M., KLAUNIG, J., PATTON, D. and FENNER-CRISP, P., 2003. The Human Relevance of Information on Carcinogenic Mode of Action: Overview. *Crit. Rev. Toxicol.*, 33: 581-589.
- CRAWFORD, M. J., 1981. The Metabolism of Pyrethroids Insecticides in Rats: Excreted Metabolites. *Pestic. Sci.*, 12: 399-411.
- ÇAVAŞ, T. and ERGENE-GÖZÜKARA, S., (2003). Evaluation of The Genotoxic Potential of Lambda-Cyhalothrin Using Nuclear and Nucleolar Biomarkers on Fish Cells. *Mutat. Res.*, 534: 93-99.
- ÇELİK, A., MAZMANCI, B., ÇAMLICA, Y., AŞKIN, A. and ÇÖMELEKOĞLU, Ü., 2003. Cytogenetic Effects of Lambda-Cyhalothrin in Wistar Rat Bone Marrow. *Mutat. Res.*, 539: 91-97.
- , MAZMANCI, B., ÇAMLICA, Y., ÇÖMELEKOĞLU, Ü and AŞKIN, A., 2005a. Evaluation of Cytogenetic Effects of Lambda-Cyhalothrin in Wistar Rat Bone Marrow by Gavage Administration. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 61: 128-133.
- , MAZMANCI, B., ÇAMLICA, Y., AŞKIN, A. and ÇÖMELEKOĞLU, Ü., 2005b. Induction of Micronuclei by Lambda-Cyhalothrin in Wistar Rat Bone Marrow and Gut Epithelial Cells. *Mutagenesis*, 20 (2): 125-129.
- De FERRARI, M., ARTUSO, M., BONASSI, S., BONATTI, S., CAVALIERI, Z., PESCATORE, D., MARCHINI, E., PISANO, V. and ABBONDANDOLO, A., 1991. Cytogenetic Biomonitoring of an Italian Population Exposed to Pesticides: Chromosome Aberration and Sister-Chromatid Exchange Analysis in Peripheral Blood Lymphocytes. *Mutat. Res.*, 260: 105-113.

- DEGRAEVE, N., CHOLLET, M-C. and MOUTSCHEN, J., 1985. Mutagenic Efficiency of Organophosphorus Insecticides Used in Combined Treatments. *Environ. Health Persp.*, 60: 395-398.
- DELEN, N, GÜNCAN, A., GÜNGÖR, N., TURGUT, C., BURÇAK, A. 2005. Türkiye’de Pestisit Kullanımı, Kalıntı ve Organizmalarda Duyarlılık Azalışı Sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongre. Ankara
- DELLARCO, V. L., MAVOURNIN, K. H. and TICE, R. R., 1985. Aneuploidy and Health Risk Assessment: Current Status and Future Directions, *Environ. Mutagen.*, 7: 405-424.
- DIANOVSKY, J. and SIVIKOVA, K., 1995. In Vivo and In Vitro Cytogenetic Effect of Supermethrin. *Biomed. Environ. Sci.*, 8 (4): 359-66.
- DOLARA, P., SALVADORI, M.; CAPOBIANCO, T. and TORRICELLI, F., 1992. Sister-Chromatid Exchanges in Human Lymphocytes Induced by Dimethoate, Omethoate, Deltamethrin, Benomyl and Their Mixture. *Mutat. Res.*, 283 (2): 113-118.
- DUFFAUD, F., ORSIERE, T., VILLANI, P., PELISSIER, A. L., VOLOT, F., FAVRE, R. and BOTTA, A., 1997. Comparison Between Micronucleated Lymphocytes Rates Observed in Healthy Subject and Cancer Patients. *Mutagenesis*, 12: 227-231.
- EASTMOND, D. A. and TUCKER, J. D., 1989. Identification of Aneuploidy-Inducing Agents Using Cytokinesis-Blocked Human Lymphocytes and an Anti-Kinetochore Antibody. *Environ. Mol. Mutagen.*, 13: 34-43
- EDDLESTON, M., KARALLIEDDE, L., BUCKLEY, N., FERNANDO, R., HUTCHINSON, G., ISBISTER, G., KONRADSEN, F., MURRAY, D., PIOLA, J. C., SENANAYAKE, N., SHERIFF, R., SINGH, S., SIWACH, S. B. and SMIT, L., 2002. Pesticide Poisoning in The Developing World-a Minimum Pesticides List. *The Lancet*, 360: 1163-1167.
- ELLEDGE, S. J., ZHOU, Z. and ALLEN, J. B., 1992. Ribonucleotide Reductase: Regulation, Regulation, Regulation. *Trends Biochem. Sci.*, 17: 119–123.
- ELLIOT, T. 1980. Established Pyrethroid Insecticides. *Pestic. Sci.*, 11: 119-128.

- EL-TAWIL, O. S., ABDEL-RAHMAN, M. S., 1997. Effect of Cypermethrin on Isolated Male and Female Rat Hepatocytes. *J. of Toxicol. and Environ. Health*, 52: 461-474.
- EPA, 2006. What is a Pesticide? (US EPA definitions) retrieved June 24, 2006.
- FAHMY, M.A. and ABDALLA, E.F., 1998. Genotoxicity Evaluation of Buprofezin, Petroleum Oil and Profenofos in Somatic and Germ Cells of Male Mice. *J. Appl. Toxicol.*, 18 (5): 301-305.
- and ABDALLA, E. F., 2001. Cytogenetic Effects Induced by the Natural Pyrethrins and the Synthetic Lambde Cyhalothrin in Mice In Vivo. *Cytologia*, 66: 139-149.
- FENECH, M. and MORLEY, A. A., 1985. Measurement of Micronuclei in Lymphocytes. *Mutat. Res.*, 147: 29-36.
- 1997. The Advantages and Disadvantages of the Cytokinesis-Block Micronucleus Method. *Mutat. Res.*, 392: 11-18.
- , HOLLAND, N., CHANG, W. P., ZEIGER, E. and BONASSI, S., 1999. The Human Micronucleus Project-An International Collaborative Study on the Use of the Micronucleus Technique for Measuring DNA Damage in Humans. *Mutat. Res.*, 428: 271-283.
- 2000. The in vitro Micronucleus Technique. *Mutat. Res.*, 455:81-95.
- 2002. Biomarkers of Genetic Damage for Cancer Epidemiology. *Toxicology*, 181-182: 411-416.
- FENG, S., KONG, Z., WANG, X., ZHAO, L. and PENG, P., 2004. Acute Toxicity and Genotoxicity of Two Novel Pesticides on Amphibian, *Rana N. Hallowell*. *Chemosphere*, 56: 457-463.
- , KONG, Z., WANG, X., PENG, P. and ZENG, E. Y., 2005. Assessing the Genotoxicity of Imidacloprid and RH-5849 in Human Peripheral Blood Lymphocytes In Vitro With Comet Assay and Cytogenetic Tests. *Ecotoxicol. and Environ. Safety*, 61: 239-246.
- GANDHI, G., CHOWDHURY, J. B., SAREEN, P. K. and DHILLON, V. P. S., 1995. Genotoxic Effects of Deltamethrin in the Mouse Bone Marrow Micronucleus Assay. *Mutat. Res.*, 346: 203-206.

- GARCIA, A. M., BENAVIDES, F. G., FLETCHER, T. and ORTS, E., 1998. Paternal Exposure to Pesticides and Congenital Malformations. *Scand. J. Work. Environ. Health.*, 24 (6): 473-480.
- GARVEY, E. P., OPLINGER, J. A., TANOURY, G. J., SHERMAN, P. A., FOWLER, M., MARSHALL, S., HARMON, M. F., PAITH, J. E. and FURFINE, E. S., 1994. Potent and Selective Inhibition of Human Nitric Oxide Synthase: Inhibition by Non-Amino Acid Isothioureas. *J. Biol. Chem.*, 269: 26669-26676.
- GHOSH, A. K., SHARMA, A. and TALUKDER, G., 1992. Cytotoxic Effects of Sumicidin, a Type II Synthetic Pyrethroid, on Mice In Vivo at 6, 12 and 24 h After Exposure. *Cytobios*, 71: 85-91.
- GIRAY, B., GURBAY, A. and HINCAL, F., 2001. Cypermethrin-induced Oxidative Stress in Rat Brain and Liver is Prevented by Vitamin E or Allopurinol. *Toxicol. Let.*, 118: 139-146.
- GIRI, S., SHARMA, G. D., GIRI, A. and PRASAD, S. B., 2002. Fenvalerate-Induced Chromosome Aberrations and Sister Chromatid Exchanges in The Bone Marrow Cells of Mice In Vivo. *Mutat. Res.*, 520: 125-132.
- , GIRI, A., SHARMA, G. D. and PRASAD, S. B., 2003. Induction of Sister Chromatid Exchanges by Cypermethrin and Carbosulfan in Bone Marrow Cells of Mice In Vivo. *Mutagenesis*, 18 (1): 53-58.
- GÓMEZ-ARROYO, S., DÍAZ-SÁNCHEZ, Y., MENESES-PÉREZ, M. A., VILLALOBOS-PIETRINI, R., LEÓN-RODRÍGUEZ, J. D., 2000. Cytogenetic Biomonitoring in a Mexican Floriculture Worker Group Exposed to Pesticides. *Mutat. Res.*, 466: 117-124.
- GREEN, T., TOGHILL, A., LEE, R., WAECHTER, F., WEBER, E. and NOAKES, J., 2005a. Thiamethoxam Induced Mouse Liver Tumors and Their Relevance to Humans Part 1: Mode of Action Studies in the Mouse. *Toxicological Sci.*, 86 (1): 36-47.
- , TOGHILL, A., LEE, R., WAECHTER, F., WEBER, E., PEFFER, R., NOAKES, J. and ROBINSON, M., 2005b. Thiamethoxam Induced Mouse

- Liver Tumors and Their Relevance to Humans Part II: Species Differences in Response. *Toxicological Sci.*, 86 (1): 48-55.
- GUPTA, R. K., MEHR, Z. A., KORTE, D. W. and RUTLEDGE, L. C., 1990. Mutagenic Potential of Permethrin in the *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae) Sex-linked Recessive Lethal Test. *J. of Econ. Entomol.*, 83 (3): 721-724.
- HADNAGY, W., SEEMAYER, N. H., KÜHN, K-H., LENG, G. and IDEL, H., 1999. Induction of Mitotic Cell Division Disturbances and Mitotic Arrest by Pyrethroids in V79 Cell Cultures. *Toxicol. Lett.*, 107: 81-87.
- HAGIWARA, A., YAMADA, M., HASEGAWA, R., FUKUSHIMA, S. and ITO, N., 1990. Lack of Enhancing Effects of Fenvalerate and Esfenvalerate on Induction of Preneoplastic Glutathione S-transferase Placental Form Positive Liver Cell Foci in Rats. *Cancer Letters*, 54:67-73.
- HAGMAR, L., BRØGGER, A., HANSTEEN, I-L., HEIM, S., HÖGSTEDT, B., KNUDAEN, L., LAMBERT, B., LINNAINMAA, K., MITELMAN, F., NORDENSON, I., REUTERWALL, C., SALOMAA, S., SKERFVING, S. and SORSA, M., 1994. Cancer Risk in Human Predicted by Increased Levels of Chromosomal Aberrations in Lymphocytes: Nordic Study Group on the Health Risk of Chromosome Damage. *Cancer Res.*, 54: 2919-2922.
- HAKOI, K., CABRAL, R., HOSHIYA, T., HASEGAWA, R., SHIRAI, T. and ITO, N., 1992. Analysis of Carcinogenic Activity of Some Pesticides in a Medium-Term Liver Bioassay in the Rat. *Teratogen. Carcinogen. and Mutagen.*, 12: 269-276.
- HALLIWEL, B. and GUTTERIDGE, J. M. C., 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3th edition. New York: Oxford University Press, Inc. 936 p.
- HE, F., 1994. Synthetic Pyrethroids. *Toxicology*, 91: 43-49.
- HEDDLE, J. A., CIMINO, M. C., HAYASHI, M., ROMAGNA, F., SHELBY, M. D., TUCKER, J. D., VANPARYS, Ph. and Mac GREGOR, J. T., 1991. Micronuclei as an Index of Cytogenetic Damage: Past, Present, and Future. *Environ. and Mol. Mutagen.*, 18: 277-291.

- HEDER, A. F., HIRSCH-ERNST, K. I., BAURER, D., KAHL, G. F. and DESEL, H., 2001. Induction of Cytochrome P450 2B1 by Pyrethroids in Primary Rat Hepatocyte Cultures. *Biochem. Pharmacol.*, 62: 71-79.
- HELLEDAY, T., 2003. Pathways for Mitotic Homologous Recombination in Mammalian Cells. *Mutat. Res.*, 532: 103-115.
- HERRERA, A., BARRUECO, C., CABALLO, C. and DE LA PEÑA, E., 1992. Effect of Permethrin on the Induction of Sister Chromatid Exchanges and Micronuclei in Cultured Human Lymphocytes. *Environ. and Mol. Mutagen.*, 20: 218-222.
- HOELLINGER, H., LECORSIER, A., SONNIER, M., LEGER, C., THANG, D-C. and NAM, N-H., 1987. Cytotoxicity, Cytogenotoxicity and Allergenicity Tests on Certain Pyrethroids. *Drug and Chemical Toxicology*, 10 (3&4): 291-310.
- HOLLOWAY, S. F., SALGADO, V. L., WU, C. H. and NARAHASHI, T., 1989. Kinetic Properties of Single Sodium Channels Modified by Fenvalerate in Mouse Neuroblastoma Cells. *Pflugers. Arch.*, 414: 613-621.
- HONDA, H., TOMIZAWA, M. and CASIDA, J. E., 2006. Neonicotinoid Metabolic Activation and Inactivation Established with Coupled Nicotinic Receptor-CYP3A4 and -Aldehyde Oxidase Systems. *Toxicology Letters*, 161: 108-114.
- INSTITÓRIS, L., UNDEGER, U., SIROKI, O., NEHÉZ M. and DÉSI, I., 1999. Comparison of Detection Sensivity of Immuno- and Genotoxicological Effects of Subacute Cypermethrin and Permethrin Exposure in Rats. *Toxicology*, 137: 47-55.
- IPCS, 1992. International Programme on Chemical Safety. Alpha-cypermethrin. *Environmental Health Criteria*, p. 142. Geneva, World Health Organization.
- ISHMAEL, J. and LITCHFIELD, M. H., 1988. Chronic Toxicity and Carcinogenic Evaluation of Permethrin in Rats and Mice. *Fundamen. and Appl. Toxicol.*, 11: 308-322.
- JENNER, P., 2001. Parkinson's Disease, Pesticides and Mitochondrial Dysfunction. *Trends in Neurosciences*, 24 (5): 245-246.

- Jl, B. T., SILVERMAN, D. T., STEWART, P.A., BLAIR, A., SWANSON, G. M., BARIS, D., GREENBERG, R. S., HAYES, R. B., BROWN, L. M., LILLEMoe, K. D., SCHOENBERG, J. B., POTTERN, L. M., SCHWARTZ, A. G. and HOOVER R. N., 2001. Occupational Exposure to Pesticides and Pancreatic Cancer. *Am. J. Ind. Med.*, 39 (1): 92-99.
- KAKKO, I. 2004. Toxic Mechanisms of Pyrethroids Studied In Vitro. Academic Dissertation. Finland. *Acta Universitatis Tamperensis* 1018.
- , TOIMELA, T. and TÄHTI, H., 2004. Oestradiol Potentiates the Effects of Certain Pyrethroid Compound in the MCF7 Human Breast Carcinoma Cell Line. *ATLA*, 32: 383-390.
- KANEKO, H., OHKAWA, H. and MIYAMOTO, J., 1981. Comparative Metabolism of Fenvalerate and the (2S, α S)-isomer in Rats and Mice. *J. Pestic. Sci.*, 6:317-326.
- KARABAY, U. N. and OĞUZ, M. G., 2005. Cytogenetic and Genotoxic Effects of the Insecticides, Imidacloprid and Methamidophos. *Gen. and Mol. Res.*, 4 (4): 653-662.
- KAUDERER, B., ZAMITH, H., PAUMGARTEN, F. J. and SPEIT, G., 1991. Evaluation of the Mutagenicity of Beta-Myrcene in Mammalian Cells In Vitro. *Environ. Mol. Mutagen.*, 18 (1): 28-34.
- KIRIYAMA, K., ITAZU, Y., KAGABU, S. and NISHIMURA, K., 2003. Insecticidal and Neuroblocking Activities of Acetamiprid and Related Compounds. *J. Pesticide Sci.*, 28: 8-17.
- KIRSCH-VOLDERS, M., ELHAJOUJI, A., CUNDARI, E. and VAN HUMMELEN, P. 1997. The In Vitro Micronucleus Test: A Multi-endpoint Assay to Detect Simultaneously Mitotic Delay, Apoptosis, Chromosome Breakage, Chromosome Loss and Non-disjunction. *Mutat. Res.*, 392 (1-2): 19-30.
- KOVGANKO, N. V. and KASHKAN, Zh. N., 2004. Advances in the Synthesis of Neonicotinoids. *Russian J. of Organic Chem.*, 40 (12): 1709-1726.
- LANDER, F., KNUDSEN, L. E., GAMBORG, M. O., JÄRVENTAU, H. and NORPPA H. 2000. Chromosome Aberrations in Pesticide-Exposed Greenhouse Workers. *Scand. J. Work Environ. Health.*, 26 (5): 436-442.

- LUCERO, L., PASTOR, S., SUÁREZ, S., DURBÁN, R., GÓMEZ, C., PARRÓN, T., CREUS, A. and MARCOS, R., 2000. Cytogenetic Biomonitoring of Spanish Greenhouse Workers Exposed to Pesticides: Micronuclei Analysis in Peripheral Blood Lymphocytes and Buccal Epithelial Cells. *Mutat. Res.*, 464: 255-262.
- LUSTER, M. L., SIMEONOVA, P. P., GALLUCI, R. and MATHESON, J., 1999. Tumour Necrosis Factor- α and Toxicology. *Crit. Rev. Toxicol.*, 29: 491-511.
- MARINOVICH, M., GUIZZETTI, M. and GALLI, C. L., 1994. Mixtures of Benomyl, Pirimiphos-methyl, Dimethoate, Diazinon and Azinophos-methyl Affect Protein Synthesis in HL-60 Cells Differently. *Toxicology*, 94: 173-185.
- , GHILARDI, F. and GALLI, C. L., 1996. Effect of Pesticide Mixtures on In Vitro Nervous Cells: Comparison With Single Pesticides. *Toxicology*, 108 (3): 201-206.
- MIADOKOVÁ, E., MIKLOVIČOVÁ, M., DÚHOVÁ, V., GARAJOVÁ, L., BÖHMOVÁ, B., PODSTAVKOVÁ, S. and VLČEK, D., 1991. Effects of The Insecticide Pyrethroid II in the Ames Test, and on *Hordeum vulgare* and *Vicia faba*. *Biologia Plantarum (PRAHA)*, 33 (2): 156-162.
- , VIČKOVÁ, V., DÚHOVÁ, V., TREBATICKÁ, M., GARAJOVÁ, L., GROLMUS, J., PODSTAVKOVÁ, S. and VIČEK, D., 1992. Effects of Supercypermethrin, a Synthetic Developmental Pyrethroid, on Four Biological Test Systems. *Mutat. Res.*, 280 (3): 161-168
- MORIO, L. A., CHIU, H., SPROWLES, K. A., ZHOU, P., HECK, D. E., GORDON, M. K. and LASKIN, L. D., 2001. Distinct Roles of Tumour Necrosis Factor- α and Nitric Oxide in Acute Liver Injury Induced by Carbon Tetrachloride in Mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 172: 44-51.
- MUKHOPADHYAY, I., CHOWDHURI, D. K., BAJPAYEE, M. and DHAWAN, A., 2004. Evaluation of In Vivo Genotoxicity of Cypermethrin in *Drosophila melanogaster* Using the Alkaline Comet Assay. *Mutagenesis*, 19 (2): 85-90.
- NARAHASHI, T., 1996. Neuronal Ion Channels as the Target Sites of Insecticides. *Pharmacol. Toxicol., Toxicology*, 79: 1-14.

- , 2000. Neuroreceptors Ion Channels as the Basis For Drug action: Past, Present, and Future. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 294: 1-26.
- NARAVANENI, R. and JAMIL, K., 2005. Evaluation of Cytogenetic Effects of Lambda-Cyhalothrin on Human Lymphocytes. *J. Biochem. Molecular Toxicology*, 19 (5): 304-310.
- NESHEIM, O. N., FISHEL, F. M. and MOSSLER, M., 2005. Toxicity of Pesticides. UF/IFAS EDIS Document PI-13 (<http://edis.ifas.ufl.edu/PI008>).
- NISHIWAKI, H., 2004. Studies on the Structure-Activity Relationship and Mode of Actions of Neonicotinoid Insecticides. *J. Pestic. Sci.*, 29 (3): 222-223.
- NORPPA, H. and FALCK, G. C-M., 2003. What Do Human Micronuclei Contain? *Mutagenesis*, 18 (3): 221-233.
- , 2004. Cytogenetic Biomarkers and Genetic Polymorphism. *Toxicology Letters*, 149: 309-334.
- , BONASSI, S., HANSTEEN, I-L., HAGMAR, L., STRÖMBERG, U., RÖSSNER, P., BOFFETTA, P., LINDHOLM, C., GUNDY, S., LAZUTKA, J., CEBULSKA-WASILEWSKA, A., FABIÁNOVÁ, E., ŠRÁM, R. J., KUNUDSEN, L. E., BARALE, R. and FUCIC, A., 2006. Chromosomal Aberrations and SCE as Biomarkers of Cancer Risk. *Mutat. Res.*, 600 (1-2): 37-45.
- OMENN, G. S., 1991. Future Research Directions in Cancer Ecogenetics. *Mutat. Res.*, 247: 283-291.
- PASTOOR, T., ROSE, P., LLOYD, S., PEFFER, R. and Green, T., 2005. Case Study: Weight of Evidence Evaluation of the Human Health Relevance of Thiamethoxam-Related Mouse Liver Tumors. *Toxicol. Sci.*, 86 (1): 56-60.
- PASTOR, S., GUTIÉRREZ, S.; CREUS, A., XAMENA, N., PIPERAKIS, S. and MARCOS, R., 2001a. Cytogenetic Analysis of Greek Farmers Using the Micronucleus Assay in Peripheral Lymphocytes and Buccal Cells. *Mutagenesis*, 16 (6): 539-545.
- , GUTIÉRREZ, S., CREUS, A., CEBULSKA-WASILEWSKA, A. and MARCOS, R., 2001b. Micronuclei in Peripheral Blood Lymphocytes and

- Buccal Epithelial Cells of Polish Farmers Exposed to Pesticides. *Mutat. Res.* 495: 147-156.
- , CREUS, A., PARRÓN, T., CEBULSKA-WASILEWSKA, A., SIFFEL, C., PIPERAKIS S. and MARCOS, R., 2003. Biomonitoring of Four European Populations Occupationally Exposed to Pesticides: Use of Micronuclei as Biomarkers. *Mutagenesis*, 18 (3): 249-258.
- PATEL, S., PANDEY, A. K., BAJPAYEE, M., PARMAR, D. and DHAWAN, A., 2006. Cypermethrin-Induced DNA Damage in Organs and Tissues of the Mouse: Evidence from the Comet Assay. *Mutat. Res.*, 607 (2): 176-183.
- PATI, P. C. and BHUNYA, S. P., 1989. Cytogenetic Effects of Fenvalerate in Mammalian In Vivo Test System. *Mutat. Res.*, 222: 149-154.
- PAZ-Y-MIÑO, C., BUSTAMANTE, G., SÁNCHEZ, M.E. and LEONE, P.E., 2002. Cytogenetic Monitoring in a Population Occupationally Exposed to Pesticides in Ecuador. *Environ. Health. Perspect.*, 110 (11): 1077-1080.
- PEDNEKAR, M. D., GANDHI, S. R. and NETRAWALI, M. S., 1987. Evaluation of Mutagenic Activities of Endosulfan, Phosalone, Malathion, and Permethrin, Before and after Metabolic Activation, in the Ames Salmonella Test. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 38: 925-933.
- PERRY, P. and EVANS, H. J., 1975. Cytological Detection of Mutagen-Carcinogen Exposure by Sister Chromatid Exchange. *Nature*, 258: 121-125.
- PIATTI, E.; MARABINI, L. and CHIESARA, E. 1994. Increase of Micronucleus Frequency in Cultured Rat Hepatocytes Treated In Vitro with Benomyl and Pirimiphos-methyl Separately and in Mixture. *Mutat. Res.*, 324 (1-2): 59-64.
- PLUIJMEN M., DREVON, C., MONTESANO, R., MALAVEILLE, C., HAUTEFEUILLE, A. and BARTSCH, H., 1984. Lack of Mutagenicity of Synthetic Pyrethroids in *Salmonella typhimurium* Strains and in V79 Chinese hamster cells. *Mutat. Res.*, 137: 7-15.
- PUIG, M., CARBONELL, E., XAMENA, N., CREUS, A. and MARCOS, R., 1989. Analysis of Cytogenetic Damage Induced in Cultured Human Lymphocytes by the Pyrethroid Insecticides Cypermethrin and Fenvalerate. *Mutagenesis*, 4 (1): 72-74.

- REICHARD, P., 1993. From RNA to DNA, Why So Many Ribonucleotide Reductases? *Science*, 260: 1773–1777.
- RENCÜZOĞULLARI, E. and TOPAKTAŞ, M., 1991. The Relationship Between Quantities of Bromodeoxyuridine and Human Peripheral Blood with Determination of the Best Differential Staining of Sister Chromatids Using Chromosome Medium-B. *Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, (5), 19-24.
- and TOPAKTAŞ, M., 1998. Sister Chromatid Exchange in Cultured Human Lymphocytes Treated with Carbosulfan, Ethyl carbamate and Ethyl methanesulfonat Separately and in Mixtures. *Tr. J. of Biology*, 22: 369-387.
- and TOPAKTAŞ, M., 2000. Chromosomal Aberrations in Cultured Human Lymphocytes Treated with the Mixtures of Carbosulfan, Ethyl carbamate and Ethyl methanesulfonate. *Cytologia*, 65: 83-92.
- ROTHFUSS, A., SCHUTZ, P., BOCHUM, S., VOLM, T., EBERHARDT, E., KREIENBERG, R., VOGEL, W. and SPEIT, G., 2000. Induced Micronucleus Frequencies in Peripheral Lymphocytes as a Screening Test for Carriers of a *BRCA1* Mutation in Breast Cancer Families. *Cancer Research*, 60: 390-394.
- RUDEK, Z. and ROZEK, M., 1992. Induction of Micronuclei in Tadpoles of *Rana temporaria* and *Xenopus laevis* by the Pyrethroid Fastac 10 EC. *Mutat. Res.*, 298 (1): 25-29.
- RUIGT, G. S. F., NEYT, H. C., VAN DER ZALM, J. M. and VAN DEN BERCKEN, J., 1987. Increase of Sodium Current After Pyrethroid Insecticides in Mouse Neuroblastoma Cells. *Brain Research*, 437: 309-322.
- RUPA, D. S., REDDY, P. P. and REDDI, O. S., 1989. Chromosomal Aberrations in Peripheral Lymphocytes of Cotton Field Workers Exposed to Pesticides. *Environ. Res.*, 49: 1-6.
- , REDDY, P. P. SREEMANNARAYANA, K. and REDDI, O. S., 1991. Frequency of Sister Chromatid Exchange in Peripheral Lymphocytes of Male Pesticide Applicators. *Environ. and Mol. Mutagen.*, 18: 136-138.
- SAXENA, P. N., CHAUHAN, L. K. S. and GUPTA, S. K., 2005. Cytogenetic Effects of Commercial Formulation of Cypermethrin in Root Meristem Cells

- of *Allium sativum*: Spectroscopic Basis of Chromosome Damage. Toxicology, 216: 244-252.
- SAVAGE, J. R. K., 1993. Update on Target Theory as Applied to Chromosomal Aberrations. Env. Mol. Mutagen., 22: 198-207.
- SCHROEDER, M. E. and FLATTUM, R. F., 1984. The Mode of Action and Neurotoxic Properties of the Nitromethylene Heterocycle Insecticides. Pestic. Biochem. Physiol., 22: 148-160.
- SHAHAM J., KAUFMAN, Z., GURVICH, R. and LEVI, Z., 2001. Frequency of Sister-Chromatid Exchange Among Greenhouse Farmers Exposed to Pesticides. Mutat. Res., 491: 71-80.
- SHUKLA, Y. and TANEJA, P., 2000. Mutagenic Evaluation of Deltamethrin Using Rodent Dominant Lethal Assay. Mutat. Res., 467: 119-127.
- and TANEJA, P., 2002. Mutagenic Potential of Cypermethrin in Mouse Dominant Lethal Assay. J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol., 21 (3): 259-265.
- , YADAV, A. and ARORA, A., 2002. Carcinogenic and Cocarcinogenic Potential of Cypermethrin on Mouse Skin. Cancer Letters, 182: 33-41.
- SODERLUND, D.M., CLARK, J.M., SHEETS, L.P., MULLIN, L.S., PICCIRILLO, V.J., SARGENT, D., STEVENS, J.T. and WEINER, M.L., 2002. Mechanism of Pyrethroid Neurotoxicity: Implication for Cumulative Risk Assessment. Toxicology, 171: 3-59.
- SONG, J-H. and NARAHASHI, T., 1996. Modulation of Sodium Channels of Rat Cerebellar Purkinje Neurons by the Pyrethroid Tetramethrin. J. Pharmacol. Exp. Ther., 227: 445-453.
- SONODA, E., SASAKI, M. S., MORRISON, C., YAMAGUCHI-IWAI, Y., TAKATA, M. and TAKEDA, S., 1999. Sister Chromatid Exchanges Are Mediated by Homologous Recombination in Vertebrate Cells. Molecular and Cellular Biology, 19 (7): 5166-5169.
- SPEIT, G., 1984. Considerations on the Mechanism of Differential Giemsa Staining of Bromodeoxyuridine-Substituted Chromosomes. Hum. Genet., 67: 264-269.
- and HAUPTER, S., 1985. On the Mechanism of Differential Giemsa Staining of BrdU-Substituted Chromosomes. Hum. Genet., 70: 126-129.

- STENERSEN, J., 2004. Chemical Pesticides Mode of Action and Toxicology, CRC Press, Florida, 279 p.
- STUBBE, J. and van der DONK, W. A., 1998. Protein Radicals in Enzyme Catalysis. *Chem. Rev.*, 98: 705–762.
- SUMAN, G., NARAVANENI, R. and JAMIL K., 2006. In Vitro Cytogenetic Studies of Cypermethrin on Human Lymphocytes. *Indian. J. Exp. Biol.*, 44 (3): 233-239.
- SURRALLÉS, J., CARBONELL, E., PUIG, M., XAMENA, N., CREUS, A. and MARCOS, R., 1990. Induction of Mitotic Micronuclei by the Pyrethroid Insecticide Fenvalerate in Cultured Human Lymphocytes. *Toxicology Letters*, 54: 151-155.
- , XAMENA, N., CREUS, A. and MARCOS, R. 1995a. The Suitability of the Micronucleus Assay in Human Lymphocytes as a New Biomarker of Excision Repair. *Mutat. Res.*, 342: 43-59.
- , XAMENA, N., CREUS, A., CATALAN, J., NORPPA, H. and MARCOS, R. 1995b. Induction of Micronuclei by Five Pyrethroid Insecticides in Whole-Blood and Isolated Human Lymphocyte Cultures. *Mutat., Res.*, 341: 169-184.
- SÜMER, S., DİRİL, N. ve İZBIRAK, A., 1990. Salmonella/Mikrozom Test Sistemleri ile Bazı İnsektisitlerin Mutajeniteleri Üzerine Bir Çalışma. *Mikrobiyol. Bült.*, 24: 103-110.
- TABAREAN, I. V. and NARAHASHI, T., 1998. Potent Modulation of Tetrodotoxin-sensitive and Tetrodotoxin-resistant Sodium Channels by the Type II Pyrethroid Deltamethrin. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 284: 958-965.
- TARLO, K.S.; BOEHNKE, M. and CHIN, B., 1988. Synergism of Mutant Frequencies in the Mouse Lymphoma Cell Mutagenicity Assay by Binary Mixtures of Methyl methanesulfonate. *Mutat. Res.*, 206: 239-246.
- TISCH, M., FAULDE, M. K. and MAIER, H., 2005. Genotoxic Effects of Pentachlorophenol, Lindane, Transfluthrin, Cyfluthrin, and Natural Pyrethrum on Human Mucosal Cells of the Inferior and Middle Nasal Conchae. *American J. of Rhinology*, 19: 141-151.

- TITENKO-HOLLAND, N., WINDHAM, G., KOLACHANA, P., REINISCH, F., PARVATHAM, S., OSORIO, A.M. and SMITH, M.T., 1997. Genotoxicity of Malathion in Human Lymphocytes Assessed Using the Micronucleus Assay In Vitro and In Vivo: a Study of Malathion-Exposed Workers. *Mutat. Res.*, 388 (1): 85-95.
- TOMIZAWA, M., LEE, D. L. and CASIDA, J. E., 2000. Neonicotinoid Insecticides: Molecular Features Conferring Selectivity for Insect Versus Mammalian Nicotinic Receptors. *J. Agric. Food Chem.*, 48: 6016-6024.
- , and CASIDA, J. E., 2003. Selective Toxicity of Neonicotinoids Attributable to Specificity of Insect and Mammalian Nicotinic Receptors. *Annu. Rev. Entomol.*, 48: 339-364.
- , ZHANG, N., DURKIN, K. A., OLMSTEAD, M. M. and CASIDA, J. E., 2003. The Neonicotinoid Electronegative Pharmacophore Plays the Crucial Role in the High Affinity Selectivity for the *Drosophila* Nicotinic Receptor: An Anomaly for the Nicotinoid Cation- π Interaction Model. *Biochemistry*, 42: 7819-7827.
- 2004. Neonicotinoids and Derivatives: Effects in Mammalian Cells and Mice. *J. Pestic. Sci.*, 29 (3): 177-183.
- and CASIDA, J. E., 2005. Neonicotinoid Insecticide Toxicology: Mechanism of Selective Action. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 45: 247-268.
- TOPAKTAŞ, M. ve SPEIT, G., 1990. Sister Chromatid Exchange (SCE) Testinin Mutajenite ve Kanserojenitenin Belirlenmesinde Kullanılması. *Ç. Ü. Sağlık Bil. Der.*, 5 (1, 2, 3), 73-84.
- ve RENCÜZOĞULLARI, E. 1995. Sitogenetik. Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü. s. 68.
- TUCKER, J. D., AULETTA, A., CIMINO, M. C., DEARFIELD, K. L., JACOBSON-KRAM, D., TICE, R. R. and CARRANO, A. V., 1993. Sister-Chromatid Exchange: Second Report of the Gene-Tox Program. *Mutat. Res.*, 297: 101-180

- VIEL, J. F. and CHALIER, B., 1995. Bladder Cancer among French Farmers: does Exposure to Pesticides in Vineyards Play a Part? *Occup. Environ. Med.*, 52: 587-592.
- VIJVERBERG, H. P., Van Der ZALM, J. M. and Van Den BERCKEN, J., 1982. Similar Mode of Action of Pyrethroids and DDT on Sodium Channel Gating in Myelinated Nerves. *Nature*, 295: 601-603.
- , Van Den BERCKEN, J., 1990. Neurotoxicological Effects and the Mode of Action of Pyrethroid Insecticides. *Toxicology*, 21: 105-126.
- VILLARINI, M., MORETTI, M., PASQUINI, R., SCASSELLATI-SFORZOLINI, G., FATIGONI, C., MARCARELLI, M., MONARCA, S. and RODRIGUEZ, A. V., 1998. In vitro Genotoxic Effects of the Insecticide Deltamethrin in Human Peripheral Blood Leukocytes: DNA Damage ('comet' assay) in Relation to the Induction of Sister-Chromatid Exchanges and Micronuclei. *Toxicology*, 130: 129-139.
- WADDEL, B. L., ZAHM, S. H., BARIS, D., WEISENBURGER, D. D., HOLMES, F., BURMEISTER, L. F., CANTOR, K. P. and BLAIR, A., 2001. Agricultural use of Organophosphate Pesticides and The Risk of Non-Hodgkin's Lymphoma among Male Farmers (United States). *Cancer Causes Control*, 12: 509-517.
- WHO, 2005. Safety of Pyrethroids for Public Health Use. World Health Organization (WHO / CDS / WHOPES / GCDPP / 2005.10) (WHO/PCS / RA / 2005.1).
- YAO, X. H., MIN, H. and LV, Z. M., 2006. Response of Superoxide Dismutase, Catalase, and ATPase activity in Bacteria Exposed to Acetamiprid. *Biomed. Environ. Sci.*, 19: 309-314.
- YILDIZ, D., 2004. Nicotine, Its Metabolism and an Overview of Its Biological Effects. *Toxicon*, 43: 619-632.
- ZANG, Y., ZHONG, Y., LUO, Y. and KONG, Z. M., 2000. Genotoxicity of Two Novel Pesticides For the Earthworm, *Eisenia fetida*. *Environ. Pollution*, 108: 271-278.

- ZHANG, Z., SUN, J., CHEN, S., WU, Y. and HE, F. 1991. Levels of Exposure and Biological Monitoring of Pyrethroids in Spraymen. *Br. J. Ind. Med.*, 48: 82-6.
- ZHENG, T., ZAHM, S. H., CANTOR, K. P., WEISENBURGER, D. D., ZHANG, Y. and BLAIR, A., 2001. Agricultural Exposure to Carbamate Pesticides and Risk of Non-Hodgkin Lymphoma. *JOEM*, 43: 641-649.
- ZLOTKIN, E., 1999. The Insect Voltage-Gated Sodium Channel as Target of Insecticides. *Annu. Rev. Entomol.*, 44: 429-455.

ÖZGEÇMİŞ

1974 yılında Antakya’da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi aynı ilde tamamladım. 1994 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümünde öğrenimime başladım ve 1998 yılında Fakülte Birincisi olarak, Biyolog ünvanıyla mezun oldum. Aynı yıl Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümünde araştırma görevlisi olarak çalışmaya ve aynı zamanda yüksek lisans öğrenimime başladım. 1999-2001 yılları arasında MKÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalında “*Hedysarum pogonocarpum* Boiss.’un Alttürleri Arasındaki İzoenzim Varyasyonlarının Araştırılması” adlı Yüksek Lisans tezimi tamamladım. 2002 yılında Çukurova Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim dalında doktora öğrenimime ve araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladım. Halen bu görevime devam etmekteyim.