



**T. C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ADLİ TIP ANABİLİM DALI**

**PESTİSİT UYGULANAN TAVŞANLARDA
POSTMORTEM KAN VE KEMİK İLİĞİNDE PESTİSİT
DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. RAMAZAN AKÇAN

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. AHMET HİLAL

ADANA – 2008



**T. C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ADLİ TIP ANABİLİM DALI**

**PESTİSİT UYGULANAN TAVŞANLARDA
POSTMORTEM KAN VE KEMİK İLİĞİNDE PESTİSİT
DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. RAMAZAN AKÇAN

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. AHMET HİLAL

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ ARAŞTIRMA FONU

ADANA – 2008

TEŞEKKÜR VE DESTEKLEYEN KURULUŞ

Tez çalışmamda bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren, asistanlığım boyunca, iyi bir adli tıp uzmanı ve daha iyi bir insan olabilmem noktasında yoluma ışık tutan başta tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Ahmet HİLAL olmak üzere Anabilim Dalı hocalarım Sayın Prof. Dr. Behnan ALPER'e, Sayın Prof. Dr. Mete Korkut GÜLMEN'e, Sayın Prof. Dr. Necmi ÇEKİN'e,

Tez çalışmalarım sırasında, maddi-manevi desteğiyle her an yanımda olan sevgili eşime, yardımlarını esirgemeyen çalışma arkadaşlarıma özellikle Nebile Dağlıoğlu'na ve Anabilim dalımız çalışanlarına,

Deneysel uygulamalarda önemli katkıları olan Vet.Dr. Kenan Dağlıoğlu'na ve TIPDAM çalışanlarına,

TF2003LTP13 no'lu Tıpta Uzmanlık Tez Araştırma Fonu ile tezin gerçekleştirilmesine katkıda bulunan Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonuna teşekkür ederim.

Saygılarımla
Dr. Ramazan AKÇAN

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR VE DESTEKLEYEN KURULUŞ	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLO LİSTESİ	iii
ŞEKİL LİSTESİ	iv
KISALTMA LİSTESİ	v
ÖNSÖZ VE ANAHTAR KELİMELEER	vi
ABSTRACT AND KEYWORDS	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Adli Bilimlerin Kısa Tarihçesi ve Gelişimi	3
2.2. Adli Toksikoloji	4
2.3. Pestisitler	10
2.3.1. Pestisitlerin Üretimi ve Kullanımı	10
2.3.2. Pestisitlerin Kimyasal Yapıları ve Genel Özellikleri	12
2.3.3. Pestisitlerin Çevresel Yayılımı	14
2.3.4. İnsanların pestisitlere maruz kalımı	15
2.3.5. Pestisitlerin Toksikokinetiği	17
2.3.6. Pestisitlere Bağlı Zehirlenmeler	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM	32
3.1. Deney aşaması ve akut zehirlenme modeli	32
3.2. Toksikolojik Analiz	33
3.2.1. Deneylerde kullanılan malzemeler	33
3.2.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler	33
3.2.1.2. Kullanılan araç ve gereçler	34
3.2.1.3. Çözücü sistemi	34
3.2.2. Gaz Kromatografi ve Çalışma Şartları	35
3.2.3. Geri Kazanım (Recovery) çalışmaları	36
3.2.4. Ekstraksiyon Yöntemleri	37
3.2.5. Kalibrasyon Eğrilerinin Hazırlanması	45
3.3. Histopatolojik İnceleme	48
3.3.1. Kullanılan malzemeler	48
3.3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler	48
3.3.1.2. Kullanılan araç ve gereçler	48
3.3.2. Histopatolojik preparatların hazırlanması	48
3.3.3. Histopatolojik bulguların derecelendirilmesi	48
4. BULGULAR	49
4.1. Toksikolojik Analiz Sonuçları	49
4.2. Histopatolojik inceleme sonuçları	61
5. TARTIŞMA	70
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	78
7. KAYNAKLAR	80
ÖZGEÇMİŞ	89

TABLO LİSTESİ

<u>Tablo no:</u>	<u>Sayfa no:</u>
Tablo 1: Organoklorlu pestisitlerin yapısal sınıflandırılması ve genel formülleri	13
Tablo 2: Diazinonun serum ve organ dağılımları	52
Tablo 3: Diazinonun kemik iliği örnekleri ve çürümüş yapılardaki düzeyleri	53
Tablo 4: Endosulfan izomer ve metabolitlerinin serum ve organ dağılımları	58
Tablo 5: Endosulfan izomer ve metabolitlerinin kemik iliği ve çürümüş yapılardaki dağılımları (mg/L)	59
Tablo 6: Endosulfan ve metabolitlerinin serum ve organlardaki ortalama düzeyleri	60
Tablo 7: Endosulfan ve metabolitlerinin kemik iliği örnekleri ve çürümüş yapılardaki ortalama düzeyleri	60
Tablo 8: Pestisit uygulanan tavşanlarda akciğer histomorfolojik bulguları	61
Tablo 9: Pestisit uygulanan tavşanlarda karaciğer histomorfolojik bulguları	62
Tablo 10: Pestisit uygulanan tavşanlarda beyin histomorfolojik bulguları	63

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil no:</u>	<u>Sayfa no:</u>
Şekil 1: Kormatografi teknikleri	9
Şekil 2. Organik fosforlu pestisitlerin genel formülleri	12
Şekil 3. Diazinon'un Formülü	12
Şekil 4: Endosulfan A	14
Şekil 5: Endosulfan B	14
Şekil 6: Pestisit maruziyeti algoritması	16
Şekil 7: Endosulfanın biyotransformasyonu	18
Şekil 8: Diazinonun biyotransformasyonu	19
Şekil 9: Diazinon için serum ekstraksiyon algoritması	37
Şekil 10: Diazinon için doku clean up yöntemi	39
Şekil 11: Diazinon için doku ekstraksiyon algoritması	40
Şekil 12: Endosulfan için serum ekstraksiyon algoritması	41
Şekil 13: Endosulfan için doku clean up yöntemi	43
Şekil 14: Endosulfan için doku ekstraksiyon algoritması	44
Şekil 15: Diazinon kalibrasyon eğrisi	45
Şekil 16: Alfa Endosulfan kalibrasyon eğrisi	46
Şekil 17: Beta Endosulfan kalibrasyon eğrisi	46
Şekil 18: Endosulfan Ether kalibrasyon eğrisi	47
Şekil 19: Endosulfan Sulfate kalibrasyon eğrisi	47
Şekil 20: 1ppm diazinon standardı ve fenthion piki	50
Şekil 21: Diazinon kütle spektrometri iyon penceresi	50
Şekil 22: İkinci tavşanın serum diazinon piki	51
Şekil 23: Organların ortalama diazinon dağılımı	52
Şekil 24: İkinci tavşanın postmortem kemik iliği diazinon piki	53
Şekil 25: 1 ppm endosulfan standart karışımı pikleri ve retansiyon zamanları	54
Şekil 26: Alfa Endosulfan kütle spektrometri iyon penceresi	55
Şekil 27: Beta Endosulfan kütle spektrometri iyon penceresi	55
Şekil 28: Endosulfan Etherin kütle spektrometri iyon penceresi	56
Şekil 29: Endosulfan Sulfatın kütle spektrometri iyon penceresi	56
Şekil 30: İkinci tavşanın karaciğer örneği endosulfan grubu pik ve retansiyon zamanları	59
Şekil 31: Endosulfan, 3. olgu, Akciğer parankiminde kanama. X 150 H+E	64
Şekil 32: Endosulfan, 2. olgu, Akciğer parankiminde yoğun taze kanama. X 350 H+E	64
Şekil 33: Endosulfan, 3. olgu, Karaciğer, vasküler yapılarda belirgin dolgunluk. X 350 H+E	65
Şekil 34: Endosulfan, 3. olgu, Karaciğer, vakuolizasyon. X 475 H+E	65
Şekil 35: Endosulfan, 4. olgu, Karaciğer, subkapsüler taze kanama. X 350 H+E	66
Şekil 36: Endosulfan, 4. olgu, Karaciğer, taze kanama. X 475 H+E	66
Şekil 37: Endosulfan, 2. olgu, Böbrek, Kaliksiyel kanama. X 150 H+E	67
Şekil 38: Endosulfan, 3. olgu, Beyin, meningeal mesafede taze kanama. X 350 H+E	67
Şekil 39: Diazinon, 1. olgu, Akciğer, taze eritrosit ekstrevasyasyonları. X 475 H+E	68
Şekil 40: Diazinon, 4. olgu, Karaciğer, subkapsüler taze kanama. X 350 H+E	68
Şekil 41: Diazinon, 1. olgu, Böbrek, kaliksiyel kanama. X 350 H+E	69

KISALTMA LİSTESİ

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AE	: Alfa Endosulfan
BE	: Beta Endosulfan
ÇVY	: Çürümüş visseral yapılar
DDVP	: Diklorvos
ECD	: Electron tutma dedektörü (Electron Capture Detector)
EE	: Endosulfan Ether
ES	: Endosulfan Sulfate
FID	: Alev iyonizasyon dedektörü (Flame Ionisation Detector)
Fk-Ki	: Mezardan çıkarılma esnasında alınan kemik iliği
g	: Gram
Kg	: Kilogram
L	: Litre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
MÖ	: Milattan önce
GC/MS	: Gaz kromatografi kütle spektrofotometrisi
HCl	: Hidroklorik asit
HDA	: Hesaplama düzeyinin altında
HE	: Hematoksilen-Eosin
i.m.	: İntramüsküler
i.v.	: İntravenöz
IAEA	: International Atomic Energy Association
LD50	: Letal doz (bir toksik maddenin uygulandığı deney hayvanlarının %50'sinde ölüm oluşturan doz)
LLE	: Sıvı-sıvı ekstraksiyon (liquid-liquid extraction)
N	: Normal
NPD	: Azot fosfor dedektörü (Nitrogen Phosphorus Detector)
PAM	: Pralidoksim
PİTK	: Parankim içerisine taze kanama
Pm-Ki	: Postmortem ilk anda alınan kemik iliği
P=O	: Okso bağı
P=S	: Tiyoester bağı
SMD	: Sinüzoidal mesafelerde dolgunluk
SPE	: Katı-sıvı ekstraksiyon (solid phase extraction)
TEE	: Taze eritrosit ekstravazasyonları
TEPP	: Tetra etil pirofosfat
VYD	: Vasküler yapılarda dolgunluk

ÖZET

Pestisit Uygulanan Tavşanlarda Postmortem Kan ve Kemik İliğinde Pestisit Düzeylerinin Araştırılması

Zehirlenmeye bağlı ölüm olgularında, toksikolojik analizlerde geleneksel olarak kan, vücut sıvıları ve bazı organlar incelenmektedir. Ancak gömülen cesetlerin tekrar incelenmesinin gerektiği olgularda, kontaminasyon ve çürüme nedeniyle analiz için yeterli doku örnekleri elde edilememektedir. Bu durumlarda ilaçlar için potansiyel bir depo olan kemik iliği alternatif bir örnek olarak incelenmelidir. Bu çalışmada, akut pestisit zehirlenmesi oluşturulmuş tavşanlarda; ölümden hemen sonra ve çürüme sonrası kemik iliğinde pestisit saptanabilirliğinin ortaya konması ve kemik iliğinin toksikolojik analizinin çürümüş cesetlerdeki tanısal değerinin gösterilmesi amaçlandı.

Onüç tavşandan altısına 110 mg/kg endosulfan, diğer altısına 2500 mg/kg diazinon gavajla mideye verildi. Bir tavşan ise kontrol grubu olarak kullanıldı. Tavşanlar öldükten veya dekapite edildikten hemen sonra venöz kan, karaciğer, akciğer, böbrek, beyin ve kemik iliği örnekleri alındı ve tavşanlar toprağa gömüldü. Tavşan cesetleri gömülmeden bir ay sonra çıkarılarak çürümüş visseral yapı ve kemik iliği örnekleri alındı. Serum ve doku örnekleri katı faz ekstraksiyon yöntemi ile ekstrakte edildikten sonra GC-MS cihazı ile analiz edildi. Dokuların ayrıca ışık mikroskopik incelemeleri yapıldı.

Diazinon düzey ortalamalarının; ölümden hemen sonra alınan karaciğer örneklerinde 85,14 mg/L, kemik iliğinde 71,08 mg/L, böbrekte 23,05 mg/L, akciğerde 20,95 mg/L, beyinde 19 mg/L ve serumda 0,40 mg/L olup, mezardan çıkarılma sonrası alınan çürümüş dokularda 3327,26 mg/L, kemik iliğinde 1783,26 mg/L şeklinde sıralandığı görüldü. Endosulfan izomer ve metabolitlerinin ortalamalarına bakıldığında; ölümden hemen sonraki ortalamaların, endosulfan sulfat 0,461 mg/L, endosulfan izomerleri (alfa ve beta) 0,315 mg/L, endosulfan ether 0,14 mg/L iken, çürümüş örneklerdeki ortalamaların, endosulfan sulfat 0,26 mg/L, endosulfan izomerleri (alfa ve beta) 0,242 mg/L, endosulfan ether 0,10 mg/L şeklinde idi. Endosulfan ve diazinonun dokularda karakteristik histopatolojik lezyon oluşturmadığı görüldü.

Sonuç olarak, otopsi yapılmadan gömülen veya mezardan çıkarılarak tekrar incelenmesi gerekliliğinin ortaya çıktığı akut pestisit zehirlenme olgularında hem çürümüş yapılardan hem de kemik iliğinden elde edilen örneklerin toksikolojik analizi ile ölüm nedeninin saptanabileceği görülmektedir.

Anahtar Sözcükler: Zehirlenme, Pestisit, Çürüme-Kokuşma, Kemik İliği, GC-MS

ABSTRACT

Determination of Pesticides in Postmortem Blood and Bone Marrow of Pesticide Treated Rabbits

Traditionally, forensic toxicologic analysis have been focused on the use of blood, body fluids and certain organs, in examination of deaths due to intoxication. However, as in exhumation cases, situations in which purefaction and contamination make proper sampling imposible from tissues. In such cases, since bone marrow is a potential depot for drugs, it might be useful as an altermative specimen. This study was aimed to demonstrate determination of pesticides in postmortem and putrefied bone marrow of pesticide treated rabbits, so as to reveal diagnostic value of toxicological analysis of bone marrow in exhumation cases.

Out of thirteen rabbits, a dose of 110 mg/kg endosulfan was orally given through a gavage tool to six, and a dose of 2500 mg/kg diazinon was given to six by the same way. As a control, one rabbit was not treated with anything. Venous blood, liver, lung, kidney, brain and bone marrow samples were taken just after spontaneous death or decapitation of rabbits. Later, rabbits were buried in soil. All of them were exhumated one month later and putrefied viscera and bone marrow were sampled. Blood and tissue samples were underwent solvent extraction, solid phase extraction and analysed by GCMS. Tissue samples were also microscobically examined.

Mean residue levels of diazinon in early postmortem samples were 85,14 mg/L, 71,08 mg/L, 23,05 mg/L, 20,95 mg/L, 19 mg/L, and 0,40 mg/L in liver, bone marrow, kidney, lung, brain and blood respectively. Mean residue levels of diazinon in purefied body were 3327,26 mg/L in putrefied viscera, and 1783,26 mg/L in bone marrow. Mean residue levels of endosulfan isomers and its metabolites in early postmortem samples were quantified as 0,461 mg/L (endosulfan sulfat), 0,315 mg/L (alfa and beta isomers of endosulfan), and 0,14 mg/L (endosulfan ether). While they were 0,26 mg/L (endosulfan sulfat), 0,242 mg/L (alfa and beta isomers of endosulfan), and 0,10 mg/L (endosulfan ether) in putrefied samples. On the other hand, neither endosulfan nor diazinon caused a characteristic hitopathological change in tissue samples.

In conclusion, cause of deaths due to acute pesticide poisoning can be determined by toxicological analysis of samples from bone marrow and purefied viscera in exhumation cases.

Key Words: Intoxication, Pesticide, Exhumation, Bone marrow, GC-MS

1. GİRİŞ

Adli Tıbbın günlük uğraşlarında, zehirlenmeler, ölüm nedenleri arasında sıklıkla karşımıza çıkmaktadır. Bu olgular, adli olarak kabul edilip, etken maddenin ve miktarının saptanması, ölüm nedeninin ve mekanizmalarının aydınlatılması gerekmektedir. Zehirlenmeler çok değişik etkenlerle meydana gelebilmektedir ve bunların önemli bir kısmını oluşturan akut pestisit zehirlenmeleri tüm dünyada önemli bir mortalite sebebidir. Dünya çapında, yılda ortalama 2,5 milyon ton pestisit kullanılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütünün raporlarında, her yıl yaklaşık olarak 3 milyon pestisit zehirlenmesi meydana geldiği ve bu zehirlenmelerin 220.000'inin ölümle sonuçlandığı belirtilmektedir. Pestisitlerin %80 gibi büyük bir bölümünün gelişmiş ülkelerde kullanılmasına karşın, zehirlenme olgularının çoğu gelişmekte olan veya gelişmemiş ülkelerde meydana gelmektedir.^{1,2}

Pestisitlerin en önemli uygulama alanı “tarım savaş ilaçları” olarak kullanılmalarıdır ve ülkemizde tarımsal amaçla yaklaşık olarak 346 pestisit aktif maddesi içeren 1483 formülasyon kullanılmaktadır. Pestisit kullanımı esnasında koruyucu önlemlerin alınmaması veya hatalı uygulamalar nedeniyle mesleki zehirlenme ve ölüm meydana gelebileceği gibi, evlerde ve/veya amacı dışında kullanılması durumunda da mesleki olmayan zehirlenmeler görülmektedir. Meydana gelen zehirlenme olgularının çoğu kaza orijinli olmasına karşın, kolay elde edilebilir olmaları nedeniyle intihar ve cinayet amaçlı kullanımları da azımsanamayacak düzeydedir.¹

Organik fosfatlı pestisitler yüksek akut toksisiteleri, geniş etki alanları ve yaygın bir şekilde kullanılmaları, organik klorlu pestisitler de çevrede uzun süre bozulmadan kalmaları, bioakümüle olabilmeleri ve biyolojik parçalanmalarının yavaş olması nedeniyle en önemli iki pestisit grubudur. Kullanma tekniği ve formüllerine göre insan vücuduna dermal, inhalasyon veya oral yolla girebilirler. Lipofilik olmaları nedeniyle tüm membranlardan kolayca emilirler. Bu nedenle deri, konjoktiva, akciğer ve özellikle de oral yoldan alındıklarında hızla absorbe olurlar. Başlıca toksik etkileri, organik fosfatlılar için kolinesteraz enzimini inhibe etmelerine, organik klorlular için ise nörotoksik özelliklerine dayanır.

Geniş tarım alanları bulunan Çukurova Bölgesinde, tarım zararlılarına karşı yaygın pestisit kullanımı söz konusudur. Koruyucu önlemlerin alınmaması veya eksikliği nedeni ile akut ve kronik zehirlenmeler oluşmaktadır. Bu şekilde, akut zehirlenme sonucunda meydana gelen ölüm olguları, ani beklenmedik ve şüpheli ölüm olarak karşımıza çıkabilmekte, orijininin (kaza, intihar, cinayet) ve ölüm nedeninin ortaya konması gerekmektedir. Bu tür olgular adli vaka olarak kabul edilerek otopsi uygulanması gerekmektedir. Erken postmortem dönemde otopsi yapılan olgularda, toksikolojik incelemeler için alınan kan veya organ örneklerinde letal dozda pestisit tespit edilmesi ile şahsın ölüm nedeni belirlenebilmektedir. Otopsi yapılmadan gömülen olgularda ise, belli bir süre sonra zehirleme yolu ile öldürüldüğü veya kaza sonucu maruz kaldığı iddiaları ortaya atılabilmektedir. Bu durumda şahsın ölüm nedeninin saptanabilmesi için, mezar açılarak (fethi kabir) otopsi işleminin uygulanması gerekmektedir. Organlar ileri derecede rmş olsalar bile tam bir toksikolojik analizle lme etken faktörlerin ortaya konması gerekmektedir. rrmenin ilerlemesiyle beraber, yapısal bütünlüğün bozulması nedeniyle organ örnekleri almak imknsız hale gelmektedir. Bu nedenle de rrmenin ilerleyen dönemlerinde dahi yapısal bütünlüğünü koruyan kemik ve kemik iliği dokularında pestisit varlığının gösterilebilmesi, mezardan çıkarılan olgularda tanısai anlamda ciddi kolaylıklar sağlayacaktır. Yapılan çalışmalarda; postmortem tavşan kemik iliğinde morfin saptanabildiği, kemik yapıda da opiatların tespit edildiği belirtilmektedir. Ancak yapılan literatür taramasında kemik iliğinde pestisit düzeyinin araştırıldığı herhangi bir çalışma olmadığı görülmüştür. Bu bağlamda postmortem olgularda veya rrmş cesetlerde kemik iliği dokularında pestisitlerin varlığının araştırılabileceği kanaatindeyiz.

Bu çalışmada pestisit uygulanmış deney hayvanlarında, postmortem dönemde pestisitlerin doku ve organ dağılımları, kemik iliği dokusunda pestisit saptanabilirliğinin ortaya konması ve bu verilerle tarım ilacı zehirlenmesi iddiaları nedeniyle yapılan otopsilerde ve mezardan çıkarılan olgularda ölüm sebebinin ortaya konması konusunda laboratuvar çalışmalarına katkıda bulunulması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Adli Bilimlerin Kısa Tarihçesi ve Gelişimi

Adli tıbbın tarihçesi kronolojik açıdan iki dönemde ele alınmaktadır. Erken döneme ait bilgilere; tarihi kayıtlarda, bilinen ilk hukuk kurallarında ve insanların kutsal kitaplarında rastlanmaktadır. Adli tıba ait ilk gelişmelerin Mezopotamya Uygarlıkları, Babil, Hindistan, Mısır, Çin, İran, Yunanistan ve Roma’da başladığı ve gelişerek bugüne geldiği bilinmektedir. Onaltıncı yüzyıl sonlarında, adli tıbbın, sistematik olarak incelenebilen bir bilim dalı olarak karşımıza çıkması ile ikinci dönem başlamıştır. Ancak 19. yüzyıla kadar adli tıptaki gelişmeler yavaş olmuştur. Ondukuzuncu yüzyılın ikinci yarısından itibaren teknoloji ve hukuk alanındaki gelişmelere paralel olarak modern adli bilimlerin temellerinin atıldığı ve hızlı bir şekilde geliştiği görülmektedir. Yirminci yüzyılın birinci çeyreğinde, kriminalistik tekniklerde çok yönlü gelişmeler ile tıbbi başlangıcın çok yönlü alanlara yayıldığı izlenmektedir. Bu gelişmeler sonucunda adli bilimlerin, ilk kez 1948 yılında, Amerika Birleşik Devletleri (ABD)’nde “Amerikan Adli Bilimler Akademisi” içinde organize olduğunu görülmektedir. Adli bilimler şemsiyesi altında; adli patoloji, klinik adli tıp, psikiyatri, hemogenetik, toksikoloji, mühendislik, odontoloji, entemoloji, antropoloji, arkeoloji, palinoloji gibi pek çok uzmanlık alanı bulunmaktadır. Tıbbi alan zemininde uzmanlık dalları mevcut olup, farklı uzmanlık alanları adli bilimler temelinde hizmet vermektedir. Yargı organları, bilim ve teknolojiadaki hızlı gelişmelere paralel olarak, adli bilimlere, geçmişe göre daha farklı ve daha ayrıntılı sorularla gelmektedir. Bu soruların cevaplanması noktasında, mevcut uzmanlık dalları günümüzde yeterli olmadığından adli bilimlerin kendi içinde de alt dallara ayrılma gerekliliği ortaya çıkmaktadır.³⁻¹²

Adli tıp eğitimi ve hizmetleri ülkemizde 1990’lı yıllara kadar “Adli Tıp” adı altında sürdürülmüş olup, daha sonraki dönemde “Adli Bilimler” kavramının kabul edilmesi ve verilen bilirkişilik hizmetlerinin bu şemsiye altında sunulması gerekliliği ortaya konulmuştur. Çağımızdaki bilgi yoğunluğu, teknolojik ve bilimsel gelişimin hızı göz önüne alındığında, artık geçmişteki gibi her konuyu bilip yorumlayabilen uzmanların varlığının geçersiz olduğu açıktır. Bu nedenle etkin bilirkişilik için, uzmanlık alanlarının artması ve birbirlerine destek vermeleri gerekmektedir.^{12,13}

Günlük adli tıp uygulamalarında en sık karşılaşılan soru, adli olgu etiketi almış ölüm olgularının aydınlatılmasıdır. Bu olgularda, ölüm mekanizması ve nedeni ile ilgili yorum yapılabilmesi noktasında otopsi, adli tıbbın en önemli ve en sık başvurulmuş uygulamasıdır. Çeşitli olgularda ölüm mekanizması ve nedeninin aydınlatılması otopsi ile olanaklı ise de sonuca ulaşmak her zaman bu denli kolay olmamaktadır. Özellikle ani-beklenmedik şüpheli ölümler, ciddi bir sorun oluşturmaktadır. Bu tür ölümler içerisinde belirgin makroskobik veya mikroskobik patolojilerin saptanamadığı olgular, kimi zaman çözümsüz kalabilmektedir.^{4,12,14-18} Ölüm nedeninin saptanmasında, histopatolojik incelemelere ek olarak adli toksikolojik incelemeler de çok önemli bir yer tutmaktadır. Birçok ilaç ve zehirli madde vücutta karakteristik histopatolojik bulgu oluşturmadığından, vücuda alınıp alınmadıkları ancak bir takım kimyasal yöntemlerle saptanabilmektedir. Bu noktada toksikolojik analiz için uygun örneklerin seçilmesi ve saklanması büyük önem taşımaktadır.

2.2.Adli Toksikoloji

Tanım; Toksik maddelerin; kaynaklarını, fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini, canlılardaki biyotransformasyonlarını, biyoakümülyasyonlarını, etki mekanizmalarını, letal ve toksik dozlarını, analiz yöntemlerini, kullanım risk ölçütlerini ele alan bilim dalına Toksikoloji denir.^{1,19}

Tarihçe; Toksikolojinin uğraşı alanı olan “Zehir” kavramı insanlık tarihi ile yaşittir. Zehirler, tarihin her döneminde, insanların düşmanlarını yok etmek, zaman zaman kendilerini cezalandırmak ve totemlere kurbanlar sunmak için kullanılan bir araç olmuştur. Toksikoloji hakkında en eski yazılı kaynaklar Mısır papirüsleridir. Örneğin Ebers papirüsü (M.Ö. 1552) birçok toksik maddeyi konu almaktadır. Eski Yunanlılar döneminde rasyonel tıbbı geçiş gerçekleştirmiş ve Hipokrat (M.Ö. 460-315) toksik maddeleri tıp alanına dahil etmiştir. Hipokrat mesleksi kurşun zehirlenmesini tanımlamış, endüstriyel hijyen ve toksikolojinin temelini atmıştır. İlerleyen çağlarda Romalılar ve Araplar bir takım gelişmelere kaynaklık ederek toksikolojiyi Rönesansa hazırlamışlardır. Rönesans devri bilginlerinden Paracelsus (M.S. 1493-1541) “toksikan” veya “toksik madde” kavramında kimyasal bir yapının gerekliliğini öne sürmüş, kimyasal maddelerin “terapötik” ve “toksik” özelliklerinin belirlenmesi gerekliliği gibi temel toksikolojik prensipleri ortaya koymuştur.^{1,19}

Onsekizinci yüzyıl sonlarında ve 19. yüzyıl başlarında kimya, fizyoloji, patoloji ve klinik tıptaki gelişmelerle toksik maddelerin organlarda saptanmasına yönelik ilk adımlar atılmıştır. Modern toksikolojinin kurucusu olarak bilinen, İspanyol asıllı Mattieu Joseph Bonaventura Orfila (1787-1853) toksik maddelerin gastrointestinal sistemden absorbe olduktan sonra birçok organda biriktiğini ortaya koyarak, bu maddelerin yalnızca mide içeriğinde araştırıldığı bir dönemi kapatmıştır. Orfila daha sonra yazdığı “Lecons de Medicine Legale” isimli adli tıp kitabı ile kimya ile adli tıp ilişkisine dikkati çekmiştir. İntoksikasyon olgularında delil olarak kimyasal analiz yapılması gerektiğini ifade etmiş ve toksik maddelerin saptanmasına yönelik birçok yöntem geliştirmiştir. Bu bağlamda Orfila “Analitik Toksikoloji” ve “Adli Toksikoloji”nin temellerini atmıştır. Adli toksikolojide, intoksikasyonun hukuksal açıdan yorumlanabilmesi için maruz kalınan kimyasal maddenin “neden-etki” ilişkisinin belirlenmesinin çok önemli olduğu kabul edilmektedir. Bu bağlamda, biyolojik materyalden (kan, idrar ve organlar) alınan örneklerde toksik maddenin saptanması ve bulunan miktarın “doz-etki” açısından yorumlanması oldukça önemlidir. Bu nedenle günümüzde adli ve analitik toksikoloji bilimleri çok yakın ilişki içerisinde. ^{1,19}

Postmortem Toksikolojik İnceleme:

Günümüzde adli toksikolojinin en önemli uğraşı alanlarından birisi de postmortem toksikolojik incelemelerdir. Bu incelemelerde amaç, herhangi bir kimyasal maddenin ölüme sebep olup olmadığı veya katkıda bulunup bulunmadığının ortaya konmasıdır. İntoksikasyon ölümlerinin çoğu kimyasal bir maddenin kasıtlı veya istemsiz (kaza) olarak fazla alınmasından kaynaklanmaktadır. Bu olgularda otopsi ile ölüme neyin sebep olduğu, ölüm mekanizması, bulguların elverdiği ölçüde orijinin belirlenmesi gerekmektedir. Postmortem toksikolojik inceleme, alınan örneklerde kimyasal madde varlığının tespit edilmesi ile başlar. Daha sonra bulunan maddeyi belirlemek için doğrulayıcı testler yapılmalıdır. Sonraki adımda yapılacak işlem, uygun örnekte kimyasal madde miktarının saptanmasıdır. ²⁰⁻²²

Toksikolojik inceleme İçin Alınan Örnekler:

Kan:

Postmortem toksikolojide incelenmesi gereken en önemli örnek kandır. Geleneksel olarak biri kalpten diğeri periferik venlerden olmak üzere iki örnek alınır. Periferik kan örnekleri, otopsiye başlanmadan önce femoral venlerden elde

edilebilmektedir. Femoral venlerde çok sayıda kapakçık bulunduğundan postmortem dönemde kanın hareketi engellenir ve önemli miktarda kan birikir. Kasık bölgesinden iğne ile lümeneye girildiğinde yeterli miktarda kan alınabilmektedir. Bu işlemde ölü katılığı izin veriyorsa bacak kaldırılıp, bacağa ve uyluğa masaj yapılarak (sağma yöntemi) örnek alımı kolaylaştırılabilir. Ceset, bacaklardan kan alınamayacak durumda ise juguler (özellikle konjestif ölümlerde) veya subklavian venler kullanılabilir. Otopside kalpten kan almak için, perikard açıldıktan sonra, perikardiyal boşluk temizlenmeli ve daha sonra bir şırınga ile kalbin hem sol hem de sağ tarafından kan alınmalıdır.

Alınan kan örneklerine koruyucu madde olarak %2 wt/vol sodyum florür eklenmelidir. Örnekler, kısa dönem saklanacak ise (+)4°C'de, uzun dönem saklanacak ise (-)20°C'de bekletilmelidir.^{20,22-24}

İdrar:

Bir takım toksik maddeler, idrarda, kanda olduğundan daha yüksek miktarlarda saptanabildiği için postmortem analizler için idrar alınması önemlidir. Otopsi öncesi veya otopsi uygulanmayan vakalar da, bir kateterle ya da suprapubik bölgeden girilen bir iğne ile idrar elde edilebilir. Otopsi esnasında ise, pelvik çukur temizlendikten sonra fundustan bir enjektörle mesaneye girilerek örnek alınır. Mesanedeki idrar miktarının çok az olduğu durumlarda, mesane bir insizyon ile açılıp iğnesiz bir şırınga ile mevcut idrar örneklenmektedir.^{20,23}

Safra:

Safra sıvısı, özellikle karaciğer tarafından konsantre edilip safra kesesine salınan morfin ve klorpromazin gibi maddelerin, benzodiazepinler dâhil birçok ilacın ve metabolitlerinin saptanması açısından önemlidir. Safra sıvısının kıvamı çok koyu olduğundan, iğne ile şırıngaya aspire etmek yerine -kontamine olmamasına dikkat edilerek- bir şişeye doğrudan akıtılması tavsiye edilmektedir. Yaklaşık 15 ml örneğin analiz için yeterli olduğu ifade edilmektedir^{22,23}

Vitröz Humor:

Vitreous humor, diğer vücut sıvılarına göre çürümeye daha dayanıklı olduğundan, özellikle çürümüş cesetlerde çok yararlıdır. Örnekleme ince iğneli enjektör kullanılarak her iki gözde dış kantustan girilerek iğnenin ucu göz küresinin merkezine gelecek kadar sokularak 2-3 ml alınır.

Bu örnekler özellikle glukoz, üre, ürik asit, kreatinin, sodyum ve klorid'in tespitinde faydalıdır.^{22,23}

Mide İçeriği:

Ağız yoluyla alınan ilaçların aşırı dozda alınmasına ve toksik maddelerin suistimaline bağlı ölümlerde mide içeriğinin incelenmesi önem kazanmaktadır. İçerik geniş ağızlı, cam veya plastik bir kavanoza direk olarak dökülür. Mide içeriği homojen olmadığı için örnekleme yaparken mümkünse tüm mide içeriği alınıp analiz edilmelidir.^{22,23}

Kusmuk materyali:

Cesedin havayollarında aspire edilmiş çok miktarda kusmuk olmadığı sürece otopsilerde elde edilmesi olası değildir. Şahsın agoni evresinde kusmasına bağlı, ambülâns çalışanları ve olay yeri inceleme birimleri tarafından da cesetle birlikte kusmuk getirilebilmektedir. Bu materyal intoksikasyon şüphesi olan olgularda uygun şekilde toplanıp incelemelidir.²³

Organlar:

Her organdan minimum 50 gram alınmalıdır. Karaciğer örneklenirken, postmortem difüzyon ile mide içeriğinin karaciğeri kontamine edebileceği hususu gözönünde bulundurulup, sağ lobun iç kısımlarından örnekleme yapılmalıdır. Uçucu madde zehirlenmesinden şüpheleniliyorsa, otopsi işlemine başladıktan sonra mümkün olan en kısa süre için de organ örnekleri alınarak, ağız kapalı plastik poşetlerle laboratuara ulaştırılmalıdır.^{20,23}

İskelet Kası:

Göreceli olarak homojen, elde edilmesi kolay ve kontaminasyon riski az olan bir dokudur. İntoksikasyon olgularında yapılan postmortem analizlerde, bir takım kimyasal maddelerin kas doku ve kan düzeylerinin birbirine eşdeğerde olabildikleri saptanmıştır. Ancak akut zehirlenmelerde dokularda bu dengenin oluşması için gerekli zaman bulunmamaktadır. İncelemeler için ekstremite kaslarının örneklenmesi daha uygundur.²²

Saç:

Adli toksikolojide çok uzun süredir kullanılan bir materyaldir. Ancak saç örneklerinde saptanan ilaçların düzeylerinin çok düşük düzeyde (genelde pikogram düzeyinde) olması gibi bazı faktörlerden dolayı kullanımı çok yaygın değildir. Saç ve uzun tırnaklar, arsenik, civa, kurşun gibi ağır metal zehirlenmelerinin tespitinde tercih edilmektedir. Tırnak ve saçlarda bulunan keratin, cysteine için iyi bir depodur ve kronik

arsenik ve civa zehirlenmelerinde ideal bir ölçüm kaynağıdır. Saç incelemelerinin en önemli avantajı, ilaç veya toksik maddelerin saçta uzun ömürlü olmaları ve sadece saçın kesilmesi ile elimine edilebilmeleridir. Saç, aynı zamanda kronik ilaç kullanımında da kullanılmaya başlanmıştır. İstismar edilen ilaçların önemli bir kısmı saçta tespit edilebilmektedir.^{20,22}

Kemik ve Kemik İliği:

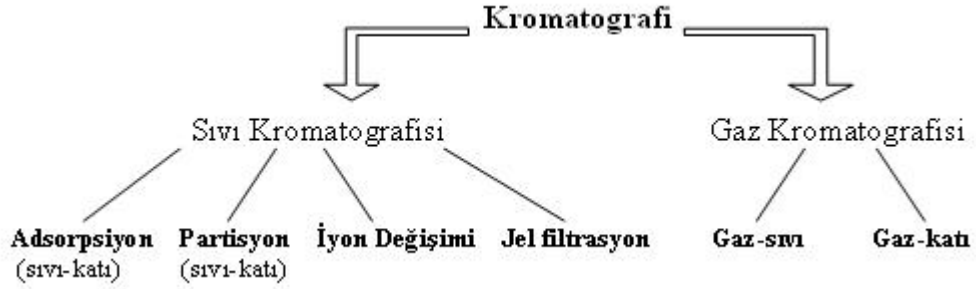
Postmortem toksikolojik incelemelerde, kemik iliği, kemik tarafından sıkıca korunduğu ve yoğun bir damar ağı ile ilişkili olduğu için travma vakaların da, özellikle kanın kontamine olduğu durumlarda, analiz edilebilecek alternatif bir doku olarak yararlı olabilmektedir. Çürümenin ilerleyen evrelerinde, yapısal bütünlüğün bozulması nedeniyle toksikolojik analiz için uygun organ örnekleri almak güçleşmekte ve bu noktada yapısal bütünlüğü göreceli olarak korunmuş olan kemik iliği dokusunda inceleme yapılması tavsiye edilmektedir. Özellikle tavşanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, postmortem 24 saate kadar; trisiklik antidepresanlar, barbitüratlar, benzopiazepinler ve etil alkolün kandaki konsantrasyonu ile kemik iliği konsantrasyonu arasında lineer bir ilişki olduğu gösterilmiştir.^{22,24}

Toksikolojide Kullanılan Başlıca Yöntemler²⁵

Kromatografi, elektroforez ve spektrofotometre toksikolojik analizlerde kullanılan temel yöntemlerdir. Burada kromatografi basit şekilde ele alınacaktır.

Kromatografi:

Kromatografi ilk defa 1906 yılında bir Rus botanist olan Tswett tarafından bitkilerin renk verici komponentlerinin ayrılmasında kullanılmış olup 1931 yılında Kuhn ve Ledener'in çalışmaları ile geliştirilmiştir. Molekül ağırlığı yüksek olan maddeleri ve özellikle proteinleri ayırma amacıyla kullanılmaktadır. Kromatografi teknikleri, ayrılmayı sağlayan kuvvetlere, hareketli fazın türüne ve kullanılan cihazlara göre sınıflandırılmaktadır.



Şekil 1: Kromatografi teknikleri

Sıvı Kromatografi Teknikleri

a. Partisyon Kromatografisi: Bir maddenin, birbiri ile karışmayan iki veya daha fazla çözücü arasında dağılımına partisyon etkisi denir. Bu maddenin iki ayrı sıvıdaki konsantrasyonlarının birbirine oranı partisyon katsayısı (K değeri) olup, her madde için farklıdır. Bu değer esas alınarak bir karışımı oluşturan maddeleri ayrı ayrı toplamak mümkündür. Kâğıt, ince tabaka, kolon ve gaz kromatografileri prensip itibariyle birer partisyon kromatografisidir.

b. Adsorpsiyon Kromatografisi: Bir maddenin, yüzeyindeki gerilimi azaltmak için, aynı ortamdaki başka bir maddeyi yüzeyine çekmesi olayına adsorpsiyon denir. Çekim gücü olan bu katı maddelere adsorban denir. Bu yöntemle, bir takım adsorban ve çözücü maddeler kullanılarak analizler yapılır.

c. İyon Değiştirme Kromatografisi: Bu yöntemde, kullanılan iyon değiştirici maddedeki iyonlar ile çözeltideki aynı yükten iyonlar arasında dengeli bir yer değiştirme olur. Böylece farklı iyon yüklü maddelerin ayrımı yapılmış olur.

d. Gel filtrasyon kromatografisi: Bu kromatografi yönteminde, ayrılma molekül büyüklüğüne ve ağırlığına bağlıdır. Geldeki porlara girebilecek moleküller, porlarda tutulurken büyük moleküller porlara giremezler.

Gaz Kromatografisi

Gaz halinde olan ya da ısı ile gaz haline geçebilen, ısıya dayanıklı maddelerin ayrıştırılmasında kullanılan modern bir yöntemdir. Gaz-katı (gas-solid) ve gaz-sıvı (gas-liquid) olmak üzere ikiye ayrılır. Bu teknikte, bir enjektör aracılığı ile kolona verilen gaz halindeki maddeler taşıyıcı gaz ile dedektöre taşınır. Dedektöre alınan madde bir sinyal ile elektrometreye iletilir. Bu sinyal elektrometreden yazıcıya veya kontrol

ekranına, maddenin kolonu terk ettiği ana kadar geçen süre içindeki konsantrasyonunu gösteren pikleri içeren bir grafik şeklinde yansıtılır.

Gaz kromatografisinin saptanması istenen değişik maddelere yönelik duyarlılığını arttırmak için, alev iyonizasyon dedektörü (Flame Ionisation Detector, FID), azot fosfor dedektörü (Nitrogen Phosphorus Detector, NPD), electron tutma dedektörü (Electron Capture Detector, ECD) gibi dedektörler kullanılmaktadır. Gaz kromatografi cihazına ktle spektrometrisi eklenerek, kapsamı ve duyarlılığı daha geniş bir dedektör (GC/MS) geliştirilebilir.

Gaz kromatografi ktle spektrofotometrisi (GC/MS) yönteminde taşıyıcı gaz olarak helyum kullanılmaktadır. Kromatografi işleminden sonra helyum dışarı atılıp, yoğunlaştırılmış örnek ktle spektrometrisi kısmına geçirilerek analiz edilir.

2.3. Pestisitler

2.3.1. Pestisitlerin retimi ve Kullanımı

Tarih boyunca, insanlar, çevreyi ve gıda kaynağı olarak kullanılan bitkileri, omurgalı, omurgasız hayvanlardan ve çeşitli zararlı mikroorganizmalardan koruma çabası içerisinde olmuşlardır. Bu amaçla günümüze kadar, genelde pestisit olarak adlandırılan çok sayıda kimyasal madde kullanılagelmiştir. Milttan nce (M..) 1500 yıllarına ait bir papirüste bit, pire ve eşek arılarına karşı pestisit hazırlanışına ve kullanımına ait kayıtlar mevcuttur. Tarihte pestisit olarak kullanılan ilk maddeler kükürt ve arseniktir. Çinliler tarafından M.. 1000 yıllarında fumigant olarak kullanılan sülfürün, 1800'l yıllarda Avrupa'da fungusit olarak kullanıldığı, günümüzde de önemli bir pestisit olarak kullanılmaya devam edildiği bilinmektedir. Onaltıncı yüzyılda, japonlar tarafından balina yağı ve sirke karışımı ve Çinliler tarafından arsenik içeren bileşikler, onyedinci yüzyıl sonlarında, tütün yapraklarından elde edilen sıvı, ondokuzuncu yüzyılda, bakır sülfat, kireç gibi maddeler pestisit olarak kullanılmıştır.²⁶⁻²⁸

Modern sentetik kimya biliminde 1930'lu yıllardaki ilerlemelerle birlikte birçok pestisit geliştirilmiştir. Organik insektisitlerin önemli bir kısmı, Almanya'da Schrader önderliğinde bir grup kimyager tarafından sentezlenmiştir. Bu maddelerin son derece toksik olduğu anlaşılmış ve bunların bir kısmı II. Dünya Savaşında nazilerin

kontrolünde, kimyasal savaş silahı olarak kullanılmıştır. Etkin kimyasal silah olan ve sinir gazı olarak nitelendirilen Tabun ve Sarinin sentezi sır olarak saklanmıştır. Schrader 1944 yılında, daha dayanıklı bir bileşik olan Paration ve oksijen analogu paraoksonu sentezlemiştir. II. Dünya savaşından sonra da organik yapıdaki petisitlerin üretimi ve kullanımı önemli ölçüde artmıştır. Pestisit kullanımının artması sonucu su, toprak, hava ve besin zincirinde kalıntı kirliliği meydana gelerek üretim ve kullanım aşamalarındaki hatalar ile akut ve kronik zehirlenmelerde artış olmuştur.^{1,27,28}

Dünyadaki Durum

Pestisitlerin en önemli kullanım alanları tarımsal savaşıdır. Vektörlerle yayılım gösteren, sıtma, veba, sarıhumma, tifüs gibi bazı hastalıkların kontrolünde de yer tutmaktadır. Bu bileşikler piyasada serbest olarak satıldığından dolayı kullanımları oldukça yaygındır. Günümüzde büyük bir kısmı organik bileşikler olmak üzere yaklaşık 1500 pestisit aktif maddesi 2000 tarım zararlısına karşı kullanılmaktadır.^{1,28}

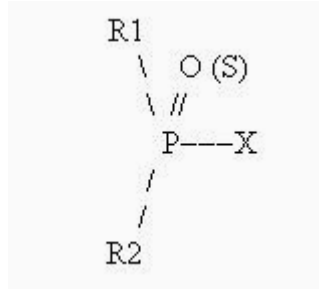
Organofosforlu bileşikler gelişmekte olan ülkelerde kullanılan olan en önemli pestisit grubudur ve gelecek on yılda kullanımlarının iki kat artacağı tahmin edilmektedir.² Organoklorlu pestisitler ise çevrede daha uzun süre aktif halde kalmaları, bioakümüle olabilmeleri ve parçalanmalarının yavaş olması nedeniyle daha az kullanılmaktadır. Dünya çapında, yılda ortalama 2,5-3 milyon ton pestisit kullanıldığı ve bu bileşiklerin %46'sının herbisit, %31'inin insektisit, %18'inin fungusit olduğu tahmin edilmektedir. Pestisitlerin %80 gibi büyük bir bölümünün gelişmiş ülkelerde kullanılmasına karşın, zehirlenme olgularının çoğu gelişmekte olan veya gelişmemiş ülkelerde meydana gelmektedir. Dünya Sağlık Örgütü raporlarında, her yıl yaklaşık olarak 3 milyon pestisit zehirlenmesinin meydana geldiği ve bu zehirlenmelerin 220.000'inin ölümle sonuçlandığı belirtilmektedir.^{1,2,28,29}

Türkiye'deki Durum

Ülkemizde de pestisitlerin en önemli kullanım alanı tarımsal savaşıdır. Bu amaçla 346 pestisit aktif maddesi içeren 1483 ilaç kullanılmaktadır. Türkiye'de tarım ilacı tüketimi, 1979'dan 2002 yılına kadar geçen sürede %45 oranında artış göstermiştir. Eldeki verilere göre ülkemizde yıllık pestisit tüketiminin %40'ı Akdeniz bölgesinde yoğunlaşmaktadır.^{1,30,31}

2.3.2. Pestisitlerin Kimyasal Yapıları ve Genel Özellikleri

Organofosforlu Pestisitler; Fosforik, fosfonik, fosforotioik ve fosfonotioik asitlerin ester, amid ve tiyol türevleridir. Genel formülleri şekil 2’de verilmiştir.

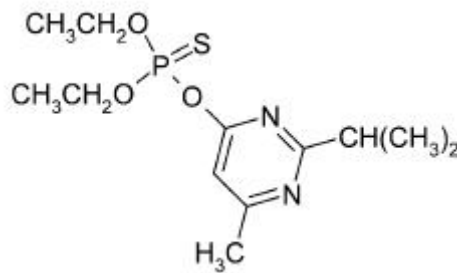


Şekil 2. Organik fosforlu pestisitlerin genel formülleri

Bu pestisitlerin büyük çoğunluğu oda ısısında sıvı formdadır. Organik fosforlu bileşiklerin kimyasal stabiliteleri; çevresel kalıcılıklarını, toksik etkilerini ve kullanımlarını önemli ölçüde etkiler.^{1,28,32} Bölgemizde en sık kullanılan organofosfatlı pestisitlerden biri olması nedeniyle bu çalışmada akut zehirlenme amacı ile uygulanan diazinonun özellikleri aşağıda verilmiştir.

Diazinonun Kimyasal Yapısı ve Özellikleri;

Diazinonun kimyasal adı, O,O-diethyl 0-[6-methyl-2-(1-methylethyl)-4-pyrimidinyl] phosphorothioate’dir. Kimyasal formülü şekil 3’te verilmiştir.

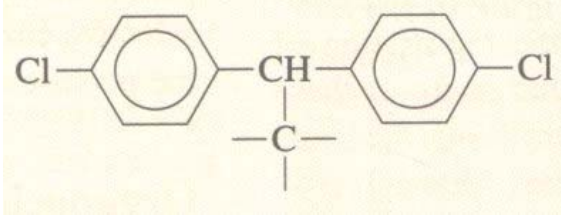
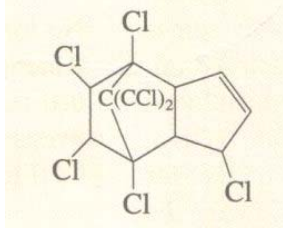
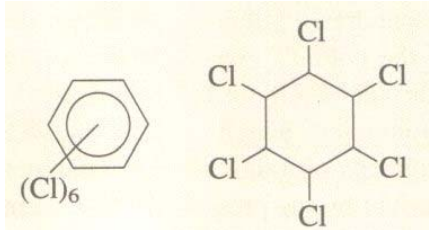


Şekil 3. Diazinon’un Formülü

Diazinon saf olduğunda renksizdir. Teknik ürün olarak, kahverengi tonlarında ve en az %95 saflıkta bir sıvıdır. Suda, oda ısısında çözünmektedir. 120°C'nin üzerinde yıkılmaya başlar ve oksidasyona karşı hassastır. Suda ve dilüe asidik ortamda yavaş bir şekilde hidrolize olur ancak bazik ortamda stabildir. Oral, dermal ve inhalasyon yolları ile emilip toksisite oluşturabilmektedir. Maruz kaldıktan sonra vücutta oksijen analogu olan diazoksine dönüşerek kolinesteraz inhibisyonu yapar. Yapılan hayvan çalışmalarında; temel atılım yolunun idrar olduğu, oral alımdan sonra diazinonun yaklaşık %95-98'inin 168 saatte atılabildiği gösterilmiştir. LD₅₀'nin ratlarda, oral alımda 300-850 mg/kg, deri temasında 2105 mg/kg olduğu rapor edilmiştir.³³

Organoklorlu Pestisitler; Yapılarında klor bulunan aromatik veya alifatik klorluhidrokarbon bileşiklerdir. Kimyasal yapılarına göre üç gruba ayrılırlar. Bu bileşiklerin yapısal sınıflama ve genel formülleri tablo 1'te verilmiştir.

Tablo 1: Organoklorlu pestisitlerin yapısal sınıflandırılması ve genel formülleri.

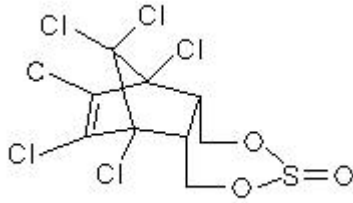
Diklorodifeniletan'lar		DDT, DDD Dicofol Perthane Metohoxychlor Methlochlor
Siklodien'ler		Aldrin, Dieldrin Hepatchlor Chlordane Endosulfan
Sikloheksan'lar veya Klorlu benzen'ler		HCB, HCH Lindane (α-BCH)

Organoklorlu pestisitler, kimyasal olarak dayanıklı olmaları, yağda yüksek, suda düşük çözünürlüğe sahip olmaları, biyotransformasyonlarının, parçalanmalarının ve vücuttan atılmalarının yavaş olması nedeniyle çevrede ve canlılarda birikerek uzun süre etki göstermektedirler.^{1,27,34} Bölgemizde en sık kullanılan organoklorlu pestisitlerden

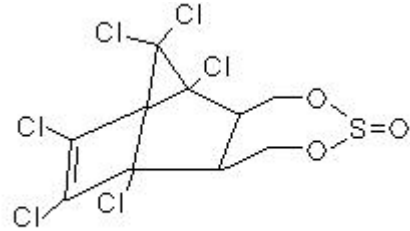
biri olması nedeniyle bu çalışmada akut zehirlenme amacı ile uygulanan endosulfanın özellikleri aşağıda verilmiştir.

Endosulfanın Kimyasal Yapısı ve Özellikleri;

Endosulfan; kimyasal adı, 6,7,8,9,10,10-Hexachloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahydro-6,9-methano-2,4,3-benzodioxathiepin-3-oxide olan geniş spektrumlu bir insektisittir. Temel olarak Endosulfan alfa (α ,A,I) ve endosulfan beta (β ,B,II) isimli iki stereoizomerden oluşmaktadır. Bu iki izomerin formülleri şekil 4 ve şekil 5'te gösterilmektedir.



Sekil 4: Endosulfan Alfa



Sekil 5: Endosulfan Beta

Endosulfan teknik ürün olarak, alfa ve beta izomerlerinin 7:3 oranında karışımı ile elde edilip, kahverengi renkte kristaloid yapıdadır. Suda yavaşça hidrolize olurken, asidik ve bazik ortamda kolayca hidrolize olmaktadır. Dilüe olmamış endosulfan sindirim sisteminden yavaş bir şekilde absorbe olmaktadır. Ancak alkol, yağ ve diğer çözücü maddelerin varlığında hem sindirim hem de deri yolu ile emilimi hızlanır ve artar. En önemli toksik etkisi nörotoksisiteye ikincil gelişen konvülsiyonlardır. Endosulfan metabolize olduktan sonra çoğunlukla oksidasyon ile “Endosulfan Sulfat”a dönüşerek idrar ve gaita ile atılır. Yapılan çalışmalarda LD50'nin tavşanlarda, tek doz dermal uygulamada 147-359 mg/kg, ratlarda oral uygulamada 40-110 mg/kg arasında değiştiği belirtilmektedir.^{1,25,27,34-36}

2.3.3. Pestisitlerin Çevresel Yayılımı

Hava yoluyla yayılım; Pestisitler, sis-duman makineleri ve basınçlı kutulardan püskürtme yolu ile uygulandığında havaya yayılmaktadır. Dağılım alanı, parçacıkların büyüklüğüne, püskürtülen hacime, hava akımına ve hava sıcaklığına göre değişmektedir.

Su yoluyla yayılım; Pestisitlerin suya geçişi, evlerden, bitkilerden ve tarımsal bölgelerden bulaşma ile veya kimyasalların doğrudan suya aktarılması ile olabilmektedir.

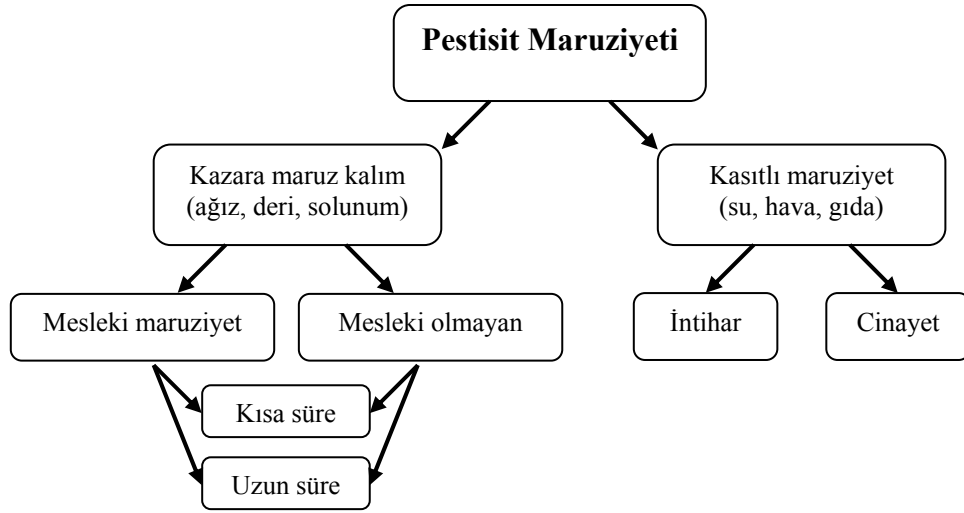
Yiyecekler aracılığıyla yayılım; Pestisitlerin veya uygulamalarda kullanılan kapların yiyeceklerle birlikte taşınması veya depolanması ile yayılım olmaktadır. Yiyecek maddelerin kontamine olması ile kitlesel etkilenimler olabilmektedir.

Toprakla yayılım; Toprak yolu ile yayılım, sızma, evaporasyon, erozyon, bitkilerce alınma şeklinde olur. Sonuçta; hava, su, yiyecekler ve canlı organizmalar etkilenebilmektedir.

Evde kullanım; Pestisitlerin evde kullanılması, yakın çevre ve kapalı alan kirliliği oluşturarak kazalara bağlı zehirlenme riskini arttırmaktadır. Ev ortamında kolay ulaşılabilecek bir kimyasal olacağından intihar ve cinayet amaçlı kullanım riski de artacaktır.³⁷

2.3.4. İnsanların pestisitlere maruz kalımı

Pestisitlere maruziyet, kaza veya kasıt sonucu meydana gelebilmektedir. Pestisit uygulamalarında işlemin yanlış yapılması veya uygulama esnasında gerekli önlemlerin alınmaması nedeni ile ciddi mesleki veya mesleki olmayan maruziyet olabileceği gibi, intihar veya cinayet amaçlı kasıtlı kullanımı da söz konusudur.^{1,28,38} Pestisit maruziyetinin sınıflandırılması şekil 6’da gösterilmektedir.



Şekil 6: Pestisit maruziyeti algoritması

Pestisitlere maruz kalım yolları

Pestisitlere maruziyet; ev ortamında, bahçede, tarlada çeşitli amaçlarla kullanım esnasında, üretim, depolama, nakil veya atılmaları durumunda bulaşma yolu ile meydana gelebilmektedir. Pestisit ambalaj ve kutularının uygun biçimde imha edilmeyip ev veya çalışma ortamında kalmaları, dikkatsizlik veya kaza ile yiyecek ve içme sularının kontamine olması maruziyet riskini arttırmaktadır. Bu maddelerin canlı organizmalara geçişi, oral, dermal, inhalasyon, gözler ve parenteral yollarla olmaktadır.^{1,27,28}

a. Oral

Mesleki maruziyet genellikle kaza orijinli olup; hava yolu ile kontamine olmuş tükürüğün yutulması veya dikkatsiz uygulamalar sonucu iş ortamında kirlenen yiyecek ve içeceklerin alınması nedeniyle meydana gelmektedir.³⁹

Toplumdaki genel pestisit maruziyeti ise sıklıkla kaza (genelde çocuklarda) ve intihar orijinli olarak meydana gelmektedir. Geniş tarım alanları olan Çukurova bölgesinde bu kimyasalların kullanımı çok yaygın olduğundan elde edilmesi çok kolaydır. Bu nedenle pestisit alımı intihar girişimlerinde sıklıkla tercih edilmektedir.

Özellikle organofosforlu pestisitler bu yolla alındıklarında hızlı bir şekilde emilip etkilerini gösterirler. Organoklorlu pestisitler ise dilüe edilmeden alınmış ise sindirim yolu ile emilimleri yavaş olur.

b. Dermal

Deri yolu ile maruziyet genelde mesleki uygulamalar esnasında havadaki parçacıkların cilde yapışması veya uygulama esnasında kullanılan giysilerin kontamine olması nedeniyle meydana gelmektedir. Deri bütünlüğünü bozan yaraların varlığı, hava sıcaklığının ve nem oranının artması deriden emilimi arttırmaktadır. Sonuçta deri irritasyonuna bağlı bulgular veya sistemik toksisite belirtileri gelişebilmektedir.³⁹

c. İnhalasyon

Sineklerle mücadele ve tarım zararlıları ile savaş gibi solunan havada pestisit miktarının arttığı durumlarda karşılaşılmalıdır. Sıklıkla mesleki uygulamalar esnasında meydana gelir. Zehirlenme bulguları, uygulamanın kapalı veya açık ortamda olmasına, pestisit aktif maddesi, formülasyonu ve tanecik büyüklüğüne, uygulanan metoda ve hava şartlarına bağlı olarak değişmektedir.^{1,39}

2.3.5. Pestisitlerin Toksikokinetiği

İnsanlar yukarıda belirtilen şekillerde pestisitlere maruz kalmaktadır. Bu toksik maddeler canlı organizmada emilim, dağılım, biyotransformasyon, depolanma ve atılım süreçlerinden geçmekte ve bu esnada etkilerini göstermektedir. Ancak, pestisitlerin insanlardaki toksikokinetiği ile ilgili çok az veri bulunmaktadır.^{1,39}

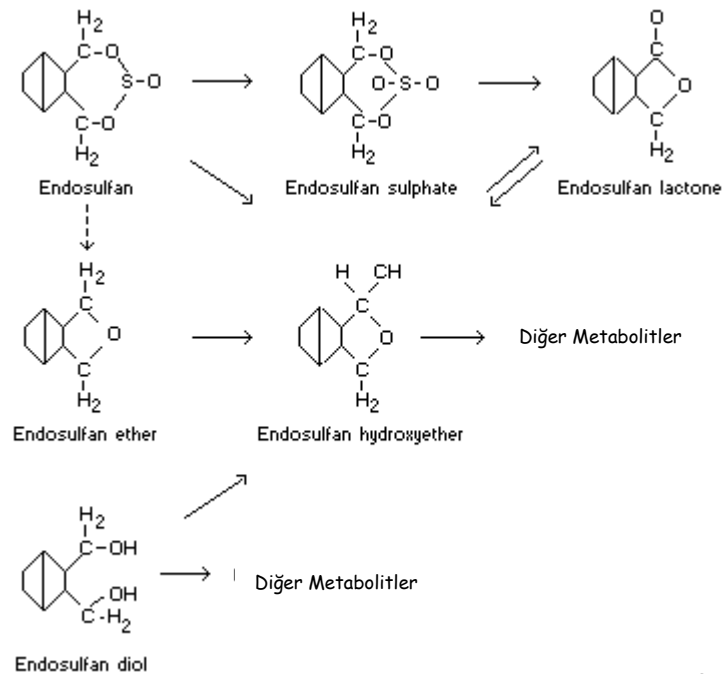
Emilim (Absorbsiyon); Pestisitlerin önemli bir kısmı sindirim sisteminden kolayca emilmektedir. Organofosforlu pestisitler lipofilik olup, iyonize olmadıkları için oral ve inhaler alım sonrası kolayca emilirken, organoklorlu pestisitler özellikle yağda çözünüp vücuda alındıktan sonra daha kolay emilir. Deri yolu ile emilim yavaş olmasına karşın uzun süreli maruziyetlerde ciddi zehirlenmeler görülebilmektedir. Deriden emilim; kişinin hijyenine, maruziyet süresine, maruz kalınan deri bölgesinin kalınlığına, deride yara varlığına, hava sıcaklığına ve nem oranına, pestisit formülasyonu, molekül büyüklüğüne ve lipofilitesine önemli ölçüde bağlıdır.^{39,40}

Dağılım; Pestisitler, emildikten sonra sıklıkla yağ doku, karaciğer, böbrekler ve tükürük bezlerine geçerler. Sindirim sisteminden emilim lenfatik sistemden çok portal ven aracılığı ile karaciğerlere olmaktadır.

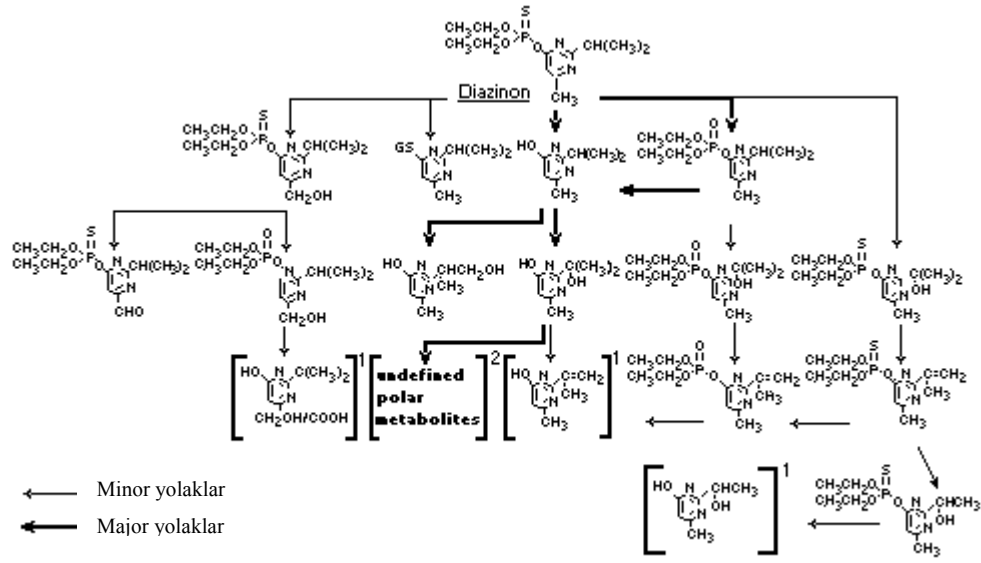
Biyotransformasyon; Dokuya geçen pestisitler çeşitli şekillerde metabolize olarak biyotransformasyona uğrarlar ve sonuçta bir kısmı detoksifiye olurken bir kısmı da daha toksik bileşiklere dönüşerek aktif hale gelirler.

Organoklorlu pestisitlerin bir kısmı sitokrom P-450 izoformları, endoperoksidaz sentaz gibi çeşitli enzimlerin etkisi ve katalizörlüğünde epoksidasyona ve oksidasyona uğrayarak daha etkin metabolitlerine dönüşürler. Siklodien grubu (endosulfan vb.) insektisitlerin karaciğerde metabolize olması ile bir dizi deklorine ve hidroksile bileşik oluşmaktadır.³⁹ Endosulfan biyotransformasyon sonucunda, endosulfan sulfat, ether, diol ve lacton metabolitlerine dönüşmektedir (şekil 7).

Fosfat bileşikleri dışındaki organofosforlu insektisitler (diazinon vb.) flavin içeren mono-oksijenaz enzimi ile P-450 izoformları yardımıyla oksidatif desülfürasyona uğrayarak aktif oxon metabolitlerine dönüşürler. Diazinon bu yolla diazoxon, hidroxydiazinon ve hidroxydiazoxona dönüşmektedir. Bu bileşikler aynı zamanda sitokrom P-450 yardımıyla oksidatif dealkilasyon, dearilasyon, halka hidroksilasyon, oksidasyon, deanimasyon ve benzeri reaksiyonlar ile aktif olmayan metabolitlere dönüşürler (şekil 8).⁴⁰



Şekil 7: Endosulfanın biyotransformasyonu



Şekil 8: Diazinonun biyotransformasyonu

Eliminasyon; Biyotransformasyon sonucu oluşan metabolitlerin bir kısmı çeşitli dokularda depolanırken bir kısmı da sıklıkla idrarla daha nadir olarak feçes ve solunum yolu ile

çeşitli durumlar meydana gelebilmektedir. Pestisitlerin %75-80 gibi büyük bir bölümünün gelişmiş ülkelerde kullanılmasına karşın, zehirlenme olgularının çoğu gelişmekte olan veya gelişmemiş ülkelerde meydana gelmektedir. Dünya Sağlık Örgütü raporlarında, her yıl yaklaşık olarak 3 milyon pestisit zehirlenmesi meydana geldiği ve bu zehirlenmelerin 220.000'inin ölümle sonuçlandığı belirtilmektedir.^{1,2,28,29} Yine Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre 1990 yılında pestisit zehirlenmelerine bağlı ölümlerden 798.000'inin intihar orijinli olduğu, bu rakamın 2000 yılında sadece Güneydoğu Asya ve Batı Pasifik'te 500.000'e yükseldiği ifade edilmektedir.⁴¹ Ülkemizde 1950'li yıllarda Güneydoğu Anadolu'da, 1963 yılında Bursa'da meydana gelen ve Dünya'nın da ilgisini çeken birçok akut ve kronik pestisit zehirlenmesi epidemik tarzda meydana gelmiştir. Günümüzde pestisit zehirlenmesinin özellikle kırsal kesimde sıkça tercih edilen bir intihar metodu olduğu bilinmektedir. Geniş tarım alanlarına sahip olan Çukurova bölgesinde gerek mesleki maruziyet gerekse intihar orijinli pestisit zehirlenmeleri çok sık görülmektedir.¹

Pestisitlerin Toksisitesi

a- Etki Mekanizmaları;

Nörotoksisite:

Organoklorlu bileşikler; nörotoksik etkileri ile sinir iletimini bozmakta ve özellikle beyin üzerinde toksik etki göstermektedir. Bu noktada en önemli etki alanı sinapslardır. Ayrıca Endosulfan, dieldrin ve endrin benzer bir mekanizma ile GABA reseptör ionofor kompleksinin pikrotoksin bağlanma noktasına bağlanmaktadır. Yapılan çalışmalarda bu bağlanma derecesi ile akut toksik etkiler ve konvülziyon arasında korelasyon olabileceği belirtilmektedir. Endosulfan ayrıca serotonerjik sistemi etkileyerek saldırgan davranış özelliklerini arttırmaktadır. Kan basıncında artış, geçici hipotermi izlenebilen diğer bulgulardır.^{1,25,39} Endosulfanın temel etki mekanizması, konvülziyon oluşturan santral sinir sistemi stimülasyonudur.

Organofosforlu bileşikler; toksik etkilerini kolinesteraz ve psödokolinesteraz enzim inhibisyonu yaparak gerçekleştirirler. Bu bileşiklerin tiyoesterleri "okso" (P=O) haline dönüştükten sonra inhibitör özellik kazanırlar. Bu nedenle Tiyoester (P=S) bağı

içeren ilaçların etkin olabilmesi için $P=O$ 'ya dönüşmelidir. Organofosfatlı ajanlar bu noktada etki şekillerine göre iki tipe ayrılırlar.^{1,27,28,42}

1) Direkt etkililer; $P=O$ yapısında olduklarından aktivasyona ihtiyaç duymadan doğrudan kolinesterazı inhibe eden sarin, tabun gibi sinir gazları ve tetraetil pirofosfat (TEPP), diklorvos (DDVP) gibi insektisitler bu gruptandır.

2) İndirek etkililer; $P=S$ içeren bileşiklerdir. Biyotransformasyon sonucunda $P=O$ dönüşümü ile aktive olarak asetilkolin esterazı inhibe ederler. Diazinon, bir oksijen analogu olan “diazoxon”a dönüştükten sonra kolinesteraz inhibisyonu yapan indirek etkili bir maddedir.

Bu aşamada sinaps aralığındaki asetilkolin yıkılamayacak ve postsinaptik aksiyon potansiyeli artmaya devam edecektir. Organofosfatlı bileşikler asetilkolinesteraz enziminin aktif kısmına karbamatlara göre daha kuvvetli bir şekilde bağlanırlar. Bu bağlanma irreversible olduğu için sinaptik fonksiyon yeni asetilkolin yapımından - birkaç hafta- sonra düzelmektedir. Asetilkolinin aşırı birikimi; merkezi sinir sistemi kolinerjik iletimi, somatik sinirler, otonomik gangliyonlar, parasempatik sinir uçları ve yer yer sempatik sinirleri uyarır ve ilerleyen dönemde felce yol açar.^{25,28,39,43-45}

İmmunotoksisite:

Organofosforlu pestisitler asetilkolinesteraza ek olarak immün sistem ve kompleman aktivasyonunda önemli rol oynayan serin hidrolazları da inhibe edebilmektedir. Bu direkt etkinin yanında kolinerjik cevaplara ikincil olarak indirek immünotoksisite de meydana gelmektedir. Bu mekanizmalarla immün sistem elemanlarında yapısal ve fonksiyonel bozukluklar oluşmaktadır.⁴⁶

Mutajenezis:

Yapılan çalışmalarda pestisitlerin bir kısmının mutajenik etkileri ile kromozom bozukluklarına neden olduğu saptanmıştır. Endosulfanın CYP3A indüksiyonu DNA bozukluklarına sebep olmasına karşın karsinojenik özelliğinin net bir şekilde açıklanamadığı ifade edilmektedir.³⁹

Serbest radikaller:

Pestisidlerin toksisitelerinde önemli rol oynarlar. Pestisidler, oksidatif strese, serbest radikal üretimine, antioksidanlarda değişime yol açabilirler. Pestisit zehirlenmelerinde mekanizmalardan biri de lipid peroksidasyonudur.⁴⁷ Bu mekanizmalarla açığa çıkan serbest radikallerle hücre zarları, DNA, RNA gibi yapılarda

hasar meydana gelir. Bu durum, pestisidlerin parankimatöz organlar, kaslar, sinirler ve benzeri yerlerde neden oldukları hasarın temel nedenleri arasında yer almaktadır.⁴⁸

DDT ve metoksiklorun oksidatif stres ve lipid peroksidasyona neden olduğu bildirilmektedir. Metoksiklorun ayrıca erkek üreme sistemi üzerindeki olumsuz etkileri gösterilmiştir ve bu etkilerin spermlerde antioksidan koruyuculuğun azalmasına bağlı olduğu ifade edilmektedir.^{49,50} Yapılan çalışmalarda DDT ve lindanın gibi bir takım pestisitlerin immunotoksik etkilerinde serbest radikallerin sorumlu olduğu gösterilmiştir.⁵¹ Endosulfan ile dieldrinin de oksidatif strese yol açtığı bildirilmektedir. Oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu sonucunda artan malondialdehit düzeyi endosulfan hasarının önemli bir göstergesidir. LD₅₀' nin altındaki dozlarda bile endosulfan, miyokard hücrelerini etkiler.^{52,53}

b- Toksik Değerler ve Toksisiteyi Etkileyen Faktörler;

Detaylı bir literatür incelemesi yapıldığında pestisitler için belirlenen toksik değerlerin ve letal dozların çok geniş bir aralıkta değiştiği gözlenmektedir.

Endosulfan için toksik değerler; yapılan literatür taramasında insanlar için net toksik değerler belirtilememekle beraber, memeliler için LD₅₀ değerleri 0,4-5 g/kg arasında değişmektedir. Oral tek doz alımda ratlar için, LD₅₀ 40-50 mg/kg dır. Tek doz dermal maruz kalımda ise ratlar için LD₅₀ 130-681 mg/kg, tavşanlar için ise 147-359 mg/kg olarak belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda 5 mg/kg/gün düzeyinde iki yıllık kronik oral alımda ratlarda kanser insidansının artmadığı, 0,1-2,5 mg/kg/gün ile kronik maruziyetin üç nesil boyunca ne yavruların ne de ebeveynlerin üremeleri üzerinde herhangi bir yan etki oluşturmadığı belirtilmiştir.^{25,36}

Diazinon için toksik değerler; İnsanlar için toksik değerler net olmamakla birlikte LD₅₀ nin 5mg/kg'ın altında olduğu tahmin edilmektedir. Ratlarda oral alımda LD₅₀ 300-1250 mg/kg arasında değişirken, dermal maruziyette LD₅₀ 2150 mg/kg civarındadır.

Toksisiteyi etkileyen faktörler; Kullanılan pestisin; türü, formülasyonu, suda-yağda çözünbilme özelliği, direk veya indirek etkili olması, metabolitlerinin toksik olup olmaması, vücuda giriş yolu, biyolojik yarı ömrü, vücutta depolanabilme özelliği, maruz kalan bireyin biyolojik özellikleri vb. gibi faktörler toksisiteyi etkilemektedir.

c- Klinik Etkiler;

Akut Etkiler: Pestisitlerin erken dönem etkileri vücuda alınma yolu ve emilim düzeyine bağlı olarak hafif irritasyonlardan ölüme kadar değişmektedir.

Organoklorlu insektisitlerin akut etkileri, toksik ajan alındıktan yaklaşık 30-60 dakika sonra bulantı ve kusma ile başlar. İlerleyen zamanda tremor, dilde ve dudaklarda uyuşma, solunum depresyonu, kas fasikülasyonları, hareket bozuklukları, tonik klonik konvülziyonlar meydana gelmektedir. Ayrıca miyokardın katekolaminlere duyarlılığını arttırarak aritmilere neden olabilmektedir. Postmortem incelemelerde histopatolojik olarak karaciğer nekrozu, tubuluslarda hiyalen dejenerasyonu, beyinde minimal histopatolojik bozukluklar, peteşial kanamalar ve akciğer ödemi görülebilmektedir. Buna benzer olarak sinir sistemi stimulanı olan endosulfanın da hafif akut etkileri arasında, baş ağrısı, bilinç bulanıklığı, bulantı, kusma, iştah kaybı, bacaklarda güçsüzlük, uykusuzluk, motor hipereksitabilite ve geçici sağırılık bulunmaktadır. Daha şiddetli olarak konvülziyonlar ve ölüm görülebilmektedir.

Organofosforlu insektisitlerin hafif zehirlenmelerdeki temel etkileri kolinerjik nöronlar tarafından serbest hale getirilen asetilkolinin yıkılmasını engellemeye ikincil ortaya çıkan nikotinik ve muskarinik etkilerdir. Daha şiddetli zehirlenmelerde bunlara ek olarak merkezi sinir sistemi belirtileri de ortaya çıkmaktadır.

i. Muskarinik etkiler; düz kas miyonöral kavşaklarında, dış ve iç salgı bezlerinde meydana gelmektedirler. Sekresyonlarda artış, terleme, bronşial bezlerde sekresyon artışı ve buna bağlı akciğer ödemi, gastrointestinal salgılarda ve barsak peristaltizminde artış ve bunlara bağlı kusma, ishal ve kolit, gözde miyozis ve akomodasyon bozukluğuna bağlı görme bozukluğu meydana gelir.

ii. Nikotinik etkiler; iskelet kası miyonöral kavşak, otonomik ganglionlarda oluşan etkilerdir. Kas fasikülasyonları, kramp, arefleksi, şiddetli zehirlenmelerde felç durumu, hipertansiyon, taşikardi, solunum kaslarının etkilenmesi nedeniyle solunum sıkıntısı veya depresyonu görülebilir.

iii. Merkezi sinir sistemi belirtileri; Ajitasyon, huzursuzluk, tremor, deliryum, psikoz, ataksi, baş ağrısı, koma, solunum merkezi depresyonu, diyafragma felci ve buna bağlı ölüm meydana gelebilir.

Akut alerjik veya subakut deri irritasyonu veya temas dermatitleri görülebilir. Solunum ve kardiyovasküler hastalığı veya alerjik bünyesi olan bireyler pestisitlere daha duyarlıdır ve etkilenim düzeyleri daha şiddetlidir.^{1,2,25,28,54}

Kronik Etkiler: Pestisitlerin kronik etkileri bu toksik ajanların vücutta birikebilmeleri, atılımlarının uzun sürmesi, irreversible reaksiyonlara neden olabilmeleri, uzun süreli ve/veya tekrar eden maruz kalım sonucu meydana gelmektedir. Özellikle endosulfanın da dâhil olduğu siklodien grubu insektisitlerin kronik etkileri arasında psikolojik bozukluklar, EEG patern değişiklikleri, görme bozuklukları, sinirlilik, iritabilite ve spermatogeneziste durma bulunmaktadır. Çeşitli kanserler, kısırlık, teratojenite, gecikmiş nöropatiler, immünolojik bozukluklar, mental ve psikiyatrik problemler karşılaşılabilen kronik etkilerdendir.

Sistemik Etkilenim: Sistemik etkilenim hem akut hem de kronik klinik tabloyu içermektedir.

i. Solunum sistemi; Organoklorlu pestisitlerle şiddetli zehirlenmelerde uzamış konvülziyon süreci ve merkezi solunum sistemi etkilenimi görülebilmektedir. Organofosforlu pestisit zehirlenmelerinde solunum yollarında salgı artışı, bronkokonstrüksiyon ve akciğer ödemeine bağlı solunum yetmezliği olabileceği gibi, temel ve yardımcı solunum kaslarında felç, merkezi solunum depresyonuna ikincil solunum durması ve ölüm meydana gelebilir.

ii. Kardiyovasküler sistem; Organofosforlu bileşiklerin etkisi ile hipertansiyon ve taşikardi (nikotinik mekanizma) görülebilir. Nadiren aritmiler, kalp blokları ve bunlara ikincil kardiyak arrest gelişebilir.

iii. Kas-iskelet sistemi; Organoklorlu pestisit zehirlenmelerinde merkezi sinir sistemi uyarılması ile gelişen tonik klonik konvülziyonlara bağlı kas yıkımı gelişebilir. Organofosforular da ise önlenemeyen postsinaptik aksiyon potansiyeli artışı nedeniyle iskelet kaslarında fasikülasyonlar, güçsüzlük ve felç görülebilir. Düz kasların uyarılması sonucu bronkospazm, mide krampları vb. meydana gelebilir.

iv. Gastrointestinal sistem; Organofosfatlı bileşiklerin kolinesteraz inhibisyonuna bağlı, bulantı, kusma, ishal, geçici anal inkontinans meydana gelebilir. Organoklorlu insektisit zehirlenmelerinde akut evrede bulantı ve kusma görülebilir. Pestisit zehirlenmelerinin önemli bir kısmında geçici

karaciğer hasarı olabilmektedir. Ölümcül olmayan yüksek dozda organoklorlu pestisit maruziyetinde subakut veya kronik dönemde hepatosit hipertrofisi, inklüzyon cisimcikleri, sentrilobüler nekroz izlenebilir. Daha yüksek dozlarda karaciğer tümör insidansında artış meydana gelebilmektedir.

v. Deri; Deri, insektisit maruziyetlerinde sıklıkla etkilenen bir bölgedir. İritasyon, temas dermatiti, terleme, kronik dönemde deri döküntüleri görülebilmektedir.

vi. Göz, Kulak ve Burun; Akomodasyon bozukluğu, miyozis veya midriyazis nedeniyle görme bozukluğu, geçici sağırılık, burun sekresyonlarında artış, burun tıkanıklığı görülebilmektedir.

vii. Ürogenital sistem; Yapılan hayvan çalışmalarında özellikle organoklorlular başta olmak üzere insektisitlerin, kronik maruz kalımlarda testis boyutlarında küçülmeye, azospermiye, oligospermi ve buna bağlı kısırlığa neden olabildiği gösterilmiştir.

Yapılan bir takım çalışmalarda insektisitlerin hayvanlarda doğum defektlerine neden olduğu gösterilmiştir. Amerika'da tarım işçilerinin çocuklarında doğumsal ekstremiter defektleri oranının normal popülasyondan daha yüksek olduğu belirlenmiştir.^{37,55,56} Pestisitlerin bir kısmının (organofosforlular) plasentayı geçebildiği gerçeği göz önünde bulundurulduğunda özellikle birinci trimesterde pestisitlere maruz kalımın riski arttıracak ifade edilmektedir. Ancak yapılan çalışmalar, pestisitlerin doğum defektlerine neden olup olmadığına ve mekanizmasına net bir açıklama getirememektedir.^{37,57,58}

viii. Sinir sistemi;

Merkezi sinir sistemi belirtileri kolinesteraz inhibisyonu, serotonerjik mekanizma ve GABA reseptör etkilenimi sonucunda meydana gelmektedir. Bu belirtiler, baş dönmesi, baş ağrısı, tremor, hipotermi, uyku düzensizliği, ataksi, konuşma bozuklukları, solunum baskılanması, konvulziyondur. Sinirlilik hali, davranış değişiklikleri, depresyon, bellek problemleri, psikoz tablosu gibi nöropsikiyatrik belirtilerde meydana gelmektedir. Bu belirtilerin ortaya çıkması zehirlenmenin şiddeti ile ilgili olup, tüm belirtiler hem akut hem de kronik zehirlenmelerde görülebilmektedir.^{28,37,59,60}

Periferik sinir sisteminde kas fasikülasyonları şeklinde hafif belirtiler olabileceği gibi, uzun ve geniş çaplı lifleri tutan gecikmiş nöropati gibi kalıcı ve ilerleyici olabilmektedir. Zehirlenmeden yaklaşık 2-4 hafta sonra demiyelinizasyona bağlı kas zayıflığı gelişerek felce neden olmaktadır. Yapılan çalışmalarda, organofosforlu bileşiklerin insanlarda tavuklara göre daha yüksek oranda felce neden olduğu gösterilmiştir. Bu gecikmeli nöropati öncelikle daha hassas olan alt ekstremitelerde başlar, daha sonra ayaklarda yanma, iğnelenme, zayıflık ve ataksi gelişir ve nöropati üst ekstremitelere de geçer.^{25,28,37,61,62}

d- Pestisit Zehirlenmelerinde Tanısal Yaklaşım;

Akut pestisit zehirlenmelerinde en etkili, en hızlı ve en ucuz tanı metodu uygun bir anamnez alınmasıdır. Zehirlenme şüphesi ile gelen olgularda eğer alınan pestisit türü öykü ile belirlenemiyorsa detaylı analizler yapılması zorunludur. Ölüm öncesinde kan, idrar gibi vücut sıvıları, ölüm sonrasında da vücut sıvılarının veya dokuların toksikolojik analizleri ile tanı konabilmektedir.

Organofosforlu bileşiklerle özellikle hafif ve orta derecedeki zehirlenmelerde tanı konulması zordur. Bu durumda, bu bileşiklerle zehirlenmeyi ortaya koymak için erisositlerdeki asetilkolinesteraz veya plazma psödokolinesteraz düzeylerine bakılmalıdır. Serum kolinesteraz aktivitesindeki azalma ile belirtilerin şiddeti paralellik göstermektedir. Organofosforlu pestisitlerle meydana gelen akut zehirlenmelerde, klinik belirtiler serum kolinesteraz düzeyinin %50'den fazlasının inhibisyonunu takiben belirgin bir şekilde ortaya çıkar. Çok düşük şiddetli zehirlenmelerde kolinesteraz düzeyleri %10 kadar azalırken, hafif veya orta şiddetteki zehirlenmelerde %10-50 oranında bir azalma ve buna ikincil orta şiddette klinik belirtiler meydana gelir. Erken çocuklukta ve gebeliğin erken dönemlerinde kadınlarda kolinesteraz seviyeleri normalden düşüktür. Bundan dolayı bu dönemlerdeki zehirlenmelerde daha düşük dozlarda daha şiddetli belirtiler görülmektedir.^{28,34,63,64}

Kronik zehirlenmelerde, küçük dozlara tekrarlı maruz kalmalarda kolinesteraz düzeyi yavaş yavaş azalır. Bu durumda görülen hafif belirtiler önemsenmemektedir. Bu olgularda meydana gelen akut zehirlenmelerde, kolinesteraz seviyelerinin ve klinik belirtilerin doğru yorumlanması için pestisit maruziyet öyküsü sorgulanmalıdır.

Pestisitlerin önemli bir kısmı hızlı bir şekilde biyotransformasyona uğrayıp metabolitlerine dönüşerek vücuttan idrar veya gaita yolu ile atılmaktadır. Bu durumda yapılacak olan idrar analizleri ile tanı konabilmektedir. Bu nedenle idrar analizleri, kronik maruz kalım tanısında ve biyolojik takipte yararlıdır.^{28,65-70}

Histopatolojik İncelemeler ve Parankimatöz Organ Etkilenimi; Pestisit zehirlenmeleri sonucu meydana gelen ölüm olgularında yardımcı tanı araçlarından biri de histopatolojik incelemelerdir. Yapılan çalışmalarda, deneysel akut pestisit zehirlenmesi olgularında saptanan histopatolojik değişimlerin nonspesifik olduğu belirtilmektedir. Literatürde fosfin, endosulfan, metil paration, methamidophos ile deneysel olarak rat ve balıklarda gerçekleştirilen akut letal veya subletal zehirlenme olgularından alınan doku örneklerinin H+E boyalı preparatlarında saptanan ışık mikroskopik histopatolojik değişimler aşağıdaki gibidir.⁷¹⁻⁷⁵

Karaciğer; Sıklıkla portal ödem, portal vasküler yapılarda dolgunluk, sinüzoidal mesafelerde dolgunluk, hepatositlerde vakuolizasyon saptanırken, daha nadir olarak hepatositlerde nükleer fragmentasyon, hepatosit nekrozu, hipertrofisi, çekirdeklerde piknozis ve subkapsüler hemoraji izlendiği belirtilmektedir.

Böbrek; Tübüllerde ve tübül aralarında eksüdasyon, daha nadir olarak ta tübüler ve glomerüler nekrozis izlendiği ifade edilmektedir.

Dalak; Nekrozis ve beyaz pulpada daha yoğun izlenen eksüdasyon meydana gelebildiği belirtilmektedir.

Beyin; Yapılan çalışmalarda akut pestisit zehirlenmelerinde beyinde herhangi bir histopatolojik değişim izlenmediği belirtilmektedir.

Testis; Tübül hücrelerinde vakuolizasyon, tübüllerde dejenerasyon ve atrofi, tübüller arası mesafede artış ve piknozis meydana gelebilmektedir.

e- Tedavi;

Akut pestisit zehirlenmelerinde etkin bir tedavinin en önemli şartı, öykü ve/veya toksikolojik analizlerle maruz kalınan bileşiğin ne olduğunun ortaya konmasıdır. Pestisitlerin toksikokinetiğinin ve biyotransformasyonun iyi bilinmesi, uygun erken müdahalenin yapılması, maddenin emiliminin önlenmesi ve uygun antidot kullanımı da tedavi etkinliğini arttıran önemli hususlardır.^{1,27,28}

Tüm pestisit zehirlenmelerinde erken müdahalenin en önemli basamakları dekontaminasyon, emilimin engellenmesi, eliminasyonun artırılması ve varsa spesifik antidotun verilmesidir.

Dekontaminasyon; Akut zehirlenmelerde şahıs öncelikle kontamine ortamdan uzaklaştırılır. Bulaşık giysiler çıkarılarak rahat bir ortamda oturtulur. Varsa kontak lens, gözlük ve diğer aksesuarlar çıkarılır. Tırnakların altı yıkanır.³⁴

Emilimin Engellenmesi; Deri yolu ile maruz kalımda yıkama önemlidir. Yıkamada en uygun sıvı sudur. Alkol gibi pestisitlerin ciltten absorpsiyonunu arttırabilen maddeler kullanılmamalıdır. Öncelikle bütün vücut soğuk su, yeşil sabun veya nongermisidal sabun ile yıkanmalıdır. Oral yolla meydana gelen zehirlenmelerde gastrik lavaj ya da mide aspirasyonu ile mide boşaltılır. Gastrik boşalmadan sonra yavaş yavaş aktif kömür verilir, tuzlu pürgatiflerle mide-barsak sistemi boşaltılır. Absorpsiyonu arttıran süt, alkol ve yağlı pürgatifler verilmemelidir.^{1,34}

Akut Endosulfan Zehirlenmelerinde Tedavi; Tüm pestisit zehirlenmelerinde olduğu gibi; tedavide ilk olarak vital bulguların kontrolü, dekontaminasyon ve emilimin engellenmesi işlemleri uygulanmalıdır. Birçok mekanizma ile meydana gelebilen solunum problemleri nedeniyle solunum desteği verilerek yeterli oksijenizasyon sağlanmalıdır.^{34,36}

Bileşik oral yolla alınmış ise 2-4 litre musluk suyu ile gastrik lavaj yapıldıktan sonra 30 g sodyum sülfat ve 250 ml su karışımı ile tuzlu pürgatif uygulanmalıdır. Organoklorlu pestisitlere özgü bir antidot yoktur. Hiperaktivite, tremor ve konvülsiyon gibi belirtilerin kontrol altına alınması için barbitüratlar (tercihen fenobarbital i.m. yolla 0,1-0,2 g veya pentobarbital) veya diazepam kullanılır. Ayrıca dört saatte bir 10 ml %10'luk kalsiyum glukonat enjeksiyonu yapılabilir.^{1,34,36}

Yağlı pürgatifler, epinefrin, diğer adrenerjik ilaçlar, santral sinir sistemi uyarıcıları ve alkol, süt gibi pestisit emilimini kolaylaştıran maddeler kesinlikle kontrendikedir.^{34,36}

Akut Diazinon Zehirlenmelerinde Tedavi; Rutin stabilizasyon aşamalarını takiben, zehirlenme oral yol ile meydana gelmiş ise %5'lik sodyum bikarbonat kullanılarak hızlı gastrik lavaj yapılmalıdır. Orta ve ağır zehirlenme olgularında solunum desteği yapılması çok önemlidir. Kan sayımı, karaciğer fonksiyon testleri, elektrolit dengesi, arteriyel kan gazlarının kontrol edilmesi önemlidir. Hasta koma

tablosunda ise %50 dekstroz içinde 100 mg tiamin ve 2 mg nalokson verilmeli ve ritm bozukluklarının takibinde elektrokardiyografi kullanılmalıdır. Konvülsiyon varsa önlenmesi için diazepam kullanılabilir.^{1,25,28,32-34}

Organofosforlu bileşiklerin muskarinik etkilerini ve santral sinir sistemi belirtilerini antagonize etmek için kullanılan en etkin farmakolojik antidot atropindir. Orta ve ağır zehirlenme olgularında başlangıçta 2-4 mg “atropin sülfat” i.v. veya i.m. yolla verilir. Bu işlem atropinizasyon belirtileri (deride ve mukozalarda kuruluk, midriyazis, taşikardi vb..) ortaya çıkana kadar 5-10 dakikada bir 2 mg dozda atropin sülfat enjekte edilmelidir. Atropinizasyon birkaç gün sürdürülmelidir. Ancak atropin iskelet kaslarındaki paralizilere ve solunum depresyonu üzerine etkili değildir.^{28,33,34}

Asetilkolinesteraz enziminin reaktivasyonu için 2-PAM (pralidoksim,1000mg), toxoformin (toxogonin,250mg) ve obidoksim gibi oksim bileşikleri kullanılmaktadır. Pralidoksim, asetilkolinesteraz enzimine bağlanmış olan organofosforlu molekülü koparır. Zehirlenmenin ilk 24-48 saatinde pralidoksim uygulamasına başlanmaması halinde kolinesterazlar irreversible olarak inhibe olur. Literatürde zehirlenmenin 2-5. gününde başlanan pralidoksim uygulaması ile tam iyileşen olgular da olduğu ifade edilmektedir. Toksoformin, atropin uygulamasından sonra 200-300 mg, obidoksim ise 250-500 mg dozunda i.v. veya i.m. yolla başlanmalıdır. Oksim bileşikleri serebral kolinesterazları etkilemediği için ağır akut zehirlenmelerde ortaya çıkan santral sinir sistemi bozuklukları üzerine etkili değildirler.^{33,34}

Organofosforlu bileşiklerle zehirlenme olgularında morfin, barbitürat, diğer trankilizanlar, tüm santral sinir sistemi uyarıcıları, teofilin gibi antifosfodiesterazlar ve süksinilkolin gibi nöromusküler bloke edici ilaçlar kesinlikle kontrendikedir.³³

f- Prognoz;

Akut pestisit zehirlenmelerinde erken müdahale çok önemlidir. Uygun tedavi ile akut dönem belirtilerinde düzelme olan olgular genelde sorunsuz bir şekilde iyileşmektedir. Prognozu etkileyen en önemli faktörler alınan insektisidin toksisitesi, dozu, maruz kalım şekli ve tedavi başlanıp başlanmadığıdır. Her hangi bir tedavi almayan olgular genelde zehirlenmenin ilk günü içinde, yetersiz tedavi alanlar ise yaklaşık 10 gün içerisinde ölmektedirler.^{1,25,27,28,32-34,36}

Organoklorlu insektisitlerle meydana gelen şiddetli zehirlenmelerde uzun süreli generalize konvülziyonlara ikincil kalıcı anoksik beyin hasarı ve buna bağlı ölüm meydana gelebilmektedir. Organofosfat zehirlenmelerinde ise trakeobronşial salgı artışı, bronkokonstrüksiyon, kas felçleri ve zayıflıkları ve solunum merkezi etkilenimi nedeniyle solunum yetmezliği gelişebilmektedir. Bu olgulara yeterli ventilasyon desteği verilmediğinde uzamış anoksiye bağlı ölüm kaçınılmazdır.^{1,27,32-34,36}

Ölüm nedeninin saptanması, feth-i kabir (mezar açma) ve günlük uygulamalarda yaşanan sorunlar;

Adli Tıp Uzmanlarının sayısal eksikliği ve ülkemiz genelinde dağılımının iyi olmaması nedeniyle; adli amaçlı değerlendirmeler, konunun uzmanı olmayan hekimler ile yapılmak zorunda kalınmaktadır. 1923 yılında 554 olan hekim sayısının 2007 yılında 105.000 civarına ulaşmasına karşın; yeterli sayıda adli tıp uzmanı yetiştirilememiştir.⁷⁶ Bu noktada, adli tıp uzmanlığını gerektiren adli ölü muayenesi ve otopsi gibi işlemler Adli Tabip sorumluluğu verilen sağlık ocağı hekimlerine yaptırılmaktadır. Bu bağlamda olası hatalı ve eksik değerlendirmeler nedeniyle cevaplanamayan sorular ya da daha sonra ortaya atılan iddialar nedeniyle mezar açılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.^{77,78} Ölüm nedeni belirlenmeden gömülen bir olgunun mezardan çıkarılarak ölüm nedeninin ve/veya ölüme katkıda bulunan faktörlerin ortaya konması ve varsa iddiaların cevaplanması için mezar açma işlemi kaçınılmazdır. Bu işlem ile ilgili düzenlemeler, Ceza muhakemesi Kanunu madde 87/4 de tanımlanmaktadır.⁷⁹ Mezarda kalma süresinin uzadığı olgularda ölüm nedeni ve mekanizmasının belirlenmesi güçleşecektir. Bölgemizde yapılan bir çalışmada mezardan çıkarılan olguların yaklaşık %62'sinde ölüm nedeninin saptanamadığı belirtilmektedir.⁸⁰ Bu tür olgularda çürüme ve dış faktörler nedeniyle yaygın doku harabiyeti meydana geldiğinden, histopatolojik tanı araçları ancak postmortem erken dönemde kullanılabilmektedir. Zehirlenmelere bağlı ölümlerde organlar ileri derecede çürümüş olsalar bile tam bir toksikolojik analizle ölüme neden olan ajanlar belirlenebilmektedir. Yapılan çalışmalarda; çürümüş visseral yapılarda birçok toksikolojik ajanın görülebildiği, tavşan kemik iliğinde morfin saptanabildiği, kemik yapıda da opiatların tespit edildiği belirtilmektedir.^{81,82} Ancak literatürde kemik iliğinde pestisit düzeyinin araştırıldığı ve organ dağılımlarının kemik iliği düzeyleri ile karşılaştırıldığı bir çalışma bulunmamaktadır. Bu bağlamda

postmortem erken dönemde veya çürümüş cesetlerde kemik iliği dokularında pestisitlerin varlığının araştırılabileceği düşünüldü.

Bu çalışma ile kemik iliği dokusunda pestisit saptanabilirliğinin ortaya konması ile tarım ilacı zehirlenmesi iddiaları nedeniyle mezardan çıkarılan olgularda ölüm sebebinin ortaya konması ve belirlenen uygun yöntemin adli toksikoloji laboratuvarında uygulamaya konması planlandı.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, deneysel bir hayvan çalışması olması nedeniyle öncelikle Çukurova Üniversitesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi Etik Kurulundan onayı alınmıştır. Çalışmanın gerçekleştirilebilmesi için TF2006LTP3 no'lu proje önerisine Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi bütçesinden parasal destek sağlanmıştır.

Geniş tarım alanları bulunan Çukurova Bölgesinde, tarım zararlılarına karşı savaşta sıklıkla tercih edilen endosulfan (organoklorlu pestisit) ve diazinon (organofosforlu pestisit) kullanıldı. Deney hayvanlarında akut intoksikasyon oluşturuldu. Deney hayvanları öldükten veya dekapite edildikten hemen sonra kan, kemik iliği ve organ örnekleri alındı ve cesetler temiz bir beze sarılarak geride bırakılan ekstremiteler yukarı gelecek şekilde, bir metre derinliğindeki mezarlara gömüldü ve üzerleri 50 cm toprak ile örtüldü. Postmortem birinci ay sonunda gömüldüğü yerden çıkarılan tavşanlarda kemik iliği ve çürümüş visseral yapılardan örnekler alındı. Alınan örneklerle ekstraksiyon işlemi uygulanarak, Anabilim Dalımız Adli Toksikoloji Laboratuvarında bulunan Gaz Kromatografi Kütle Spektrometri cihazı ile toksikolojik analizleri yapıldı. Ayrıca akut pestisit zehirlenmesinin dokularda meydana getirdiği yapısal ve histopatolojik değişikliklerin değerlendirilebilmesi için alınan organ örnekleri mikroskopik olarak incelendi.

3.1. Deney aşaması ve akut zehirlenme modeli

Akut zehirlenme modeli oluşturmak için, deney hayvanı olarak ortalama 2,5 kg ağırlığında olan Yeni Zelanda türü 13 adet tavşan kullanıldı. Bu tavşanlar 6 (Endosulfan grubu), 6 (Diazinon grubu) ve 1 (kontrol grubu) olarak üç gruba ayrıldı.

Literatür taraması yapılarak belirlenen letal dozda etken madde içeren çözeltiler hazırlandı. Birinci gruba 100 mg/kg endosulfan, ikinci gruba ise 2500 mg/kg diazinon gavaj yöntemi ile doğrudan mideye verilerek akut zehirlenme oluşturuldu. Zehirlenme sonucu ölen tavşanlardan organ ve doku örnekleri alındı. Ölmeyen tavşanlar iki saat sonra dekapite edilerek aynı işleme tabi tutuldu. Örneklemeye işleminden sonra tavşanlar beze sarılarak her hangi bir işleme tabi tutulmayan ve tarım için kullanılmayan bir alana

açılan mezara gömüldü. Gömme işleminden bir ay sonra tavşanlardan çürümüş visseral yapılar ve kemik iliği örnekleri alındı.

Alınan doku örnekleri ve saklama koşulları;

Bütün tavşanlardan postmortem ilk anda venöz kan, karaciğer, akciğer, böbrek ve beyin örnekleri alındı. Ayrıca kemik iliği örneği elde etmek için her tavşandan sağ arka ve ön ekstremiteler alındı. Kemik yapılar çevre kas dokudan tamamen arındırıldıktan sonra kesilip kürete edilerek kemik iliği elde edildi.

Mezardan çıkarılan tavşanlarda çürüme nedeniyle organlar ayırt edilemediği için, çürümüş visseral yapılar örneklendi. Alınan kemik yapılar çürümüş kas ve diğer yapılardan arındırıldıktan sonra kesilip kürete edilerek kemik iliği elde edildi.

Kan örnekleri; Tavşanlar öldükten sonra sağ kalpten alınan 8'er cc venöz kan örneği heparinle yıkanmış düz cam tüplere aktarıldı. Bu örnekler daha sonra 3500 devirde 10 dakika santrifüj edildikten sonra serum kısmı farklı bir tüpe alınarak ekstraksiyon aşamasına kadar (-)20° de muhafaza edildi.

Organ örnekleri; Her bir tavşandan karaciğer, böbrek, beyin ve akciğer örnekleri alındı. Her organ örneğinin bir kısmı histopatolojik inceleme için %10'luk formalin tespitine alınırken kalan organ parçaları toksikolojik analiz için herhangi bir madde ile muamele edilmeden -düz kaplarda- ekstraksiyon aşamasına kadar (-)20° de muhafaza edildi. Yukarda anlatılan şekilde elde edilen kemik doku örnekleri de toksikolojik analiz için ekstraksiyon aşamasına kadar (-)20° de saklandı.

3.2. Toksikolojik Analiz

3.2.1.Deneylerde kullanılan malzemeler

3.2.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Basudin (630gr/L Diazinon etken madde içerikli),

Thiodan WP 35 (%32,9 Endosulfan etken madde içerikli),

Diazinon standardı (Dr. Ehrenstorfer, reference standarts),

Alfa endosulfan, beta endosulfan, endosulfan sulfate, endosulfan ether standartları (Dr. Ehrenstorfer, reference standarts),

Diazinon internal standardı; Fenthion (Dr. Ehrenstorfer, reference standarts),

Endosulfan ve metabolitleri için internal satandar; Aldrin (Dr. Ehrenstorfer, reference standarts),

n-Hekzan (Merck),

Etil asetat (Merck),

Metanol (Merck),

Distile su,

HCl (1Normal),

C₁₈ ekstraksiyon kartuşu (500 mg/ 3ml Agilent AccuBOND II ODS),

Membran filtre (0,45 µm, PTFE minisart SRP15),

Sodyum sülfat (Merck).

3.2.1.2. Kullanılan araç ve gereçler

Gaz Kromatografisi Mass Spektrometri (Agilent 6890 N GC, 5973 MS),

Kapiler Kolon (HP-5MS, 0,25mm x 30m x 0,25 µm),

Hassas terazi (Mettler-Toledo),

Vorteks (Elektromag M16),

Santrifüj (5500 devir/dak. – Hettich Universal 30F),

Katı- sıvı ekstraksiyon manifoldu (Agilent),

Şırınga (Hamilton),

Helyum gazı (%99.99 yüksek saflıkta),

Azot gazı,

Tüpler (Vacutainer B-D, 10 ml'lik düz cam tüp),

Vial (Agilent).

3.2.1.3. Çözücü sistemi

Diazinon ekstraksiyonunda; Hekzan,

Endosulfan ekstraksiyonunda; Etil Asetat.

3.2.2. Gaz Kromatografi ve Çalışma Şartları

Diazinon analizi;

- Kolon : HP-5MS 0,25 mm x 30m x 0,25 µm
- Taşıyıcı gaz : He 1ml/dak
- Kolon akış hızı : 1 ml/dak
- Enjeksiyon sıcaklığı : 250°C
- Enjeksiyon hacmi : 1 µl
- Çalışılan mod : Scan
- Uygulanan metod : Pulset splitless

Sıcaklık Programı;

<i>Başlangıç ısı</i>	<i>Artış düzeyi</i>	<i>Hedef ısı</i>	<i>Süre</i>
50 °C	-	-	2 dak
	20 °C/dak	220 °C	1 dak
	2 °C/dak	240 °C	1 dak
	10 °C/dak	280 °C	2 dak

Endosulfan analizi;

- Kolon : HP-5MS 0,25 mm x 30m x 0,25 µm
- Taşıyıcı gaz : He 1ml/dak
- Kolon akış hızı : 1 ml/dak
- İnlet sıcaklığı : 250 °C
- Enjeksiyon hacmi : 1 µl
- Çalışılan mod : Scan
- Uygulanan metod : Pulset splitless

Sıcaklık Programı;

<i>Başlangıç ısı</i>	<i>Artış düzeyi</i>	<i>Hedef ısı</i>	<i>Süre</i>
50 °C	-	-	2 dak
	10 °C/dak	200 °C	1 dak
	2 °C/dak	240 °C	1 dak
	10 °C/dak	280 °C	2 dak

3.2.3. Geri Kazanım (Recovery) çalışmaları

Bütün toksikolojik analizlerde olduğu gibi, pestisitlerin de kan ve dokudan ekstraksiyonunda geri kazanım oranlarının belirlenmesi çok önemlidir. Geri kazanım oranı, analit içeren bir örneğin saflaştırması sonrasında, istenmeyen bileşenlerin uzaklaştırmış olduğu sıvıda saptanabilen analit oranıdır. Bu oran hangi ekstraksiyon metodunda daha fazla ise analiz için o tercih edilmektedir. Çünkü ekstraksiyon sırasında aranan madde kaybedilirse analizlerde saptanacak miktar azaltılmış olacaktır. Literatürde hemen her pestisit için farklı bir veya birkaç ekstraksiyon metodu bulunmaktadır. Bu çalışmada hem organofosforlu hem de organoklorlu pestisit çalışmalarında kullanılan yöntemlerden birkaçı tekrarlandı. Geri kazanım oranlarının artması için zaman zaman bazı basamaklarda modifikasyonlar yapıldı. Bu modifikasyonlarda geri kazanım oranının arttırılması yanında kullanılan kimyasal madde miktarının da azaltılması amaçlandı ve en uygun metot seçildi.⁸³⁻⁸⁵

Hem edosulfan hem de diazinon analizlerinde, katı faz ekstraksiyonu (solid phase extraction, SPE) yöntemi, sıvı-sıvı ekstraksiyon (liquid-liquid extraction, LLE) yöntemine göre; kullanılan kimyasal miktarının az olması, daha kısa sürede uygulanabilmesi ve daha yüksek geri kazanım oranına sahip olmasından dolayı tercih edildi.⁸³⁻⁸⁷

Diazinon geri kazanım çalışması;

Herhangi bir toksik veya farmakolojik bileşik verilmeden dekapite edilerek öldürülen (blank) tavşandan çalışılacak örnekler alındı. Doku ve organ örnekleri homojenize edildikten sonra, daha önceden hazırlanan 10 ppm stok diazinon standart solüsyonundan 1 ppm eklenerek belirlenen metot ile ekstraksiyon işlemi yapıldı. Bu şekilde beş örneğin analizi yapılarak geri kazanım oranının %93-100 arasında değiştiği saptandı.

Endosulfan ve metabolitleri için geri kazanım çalışması;

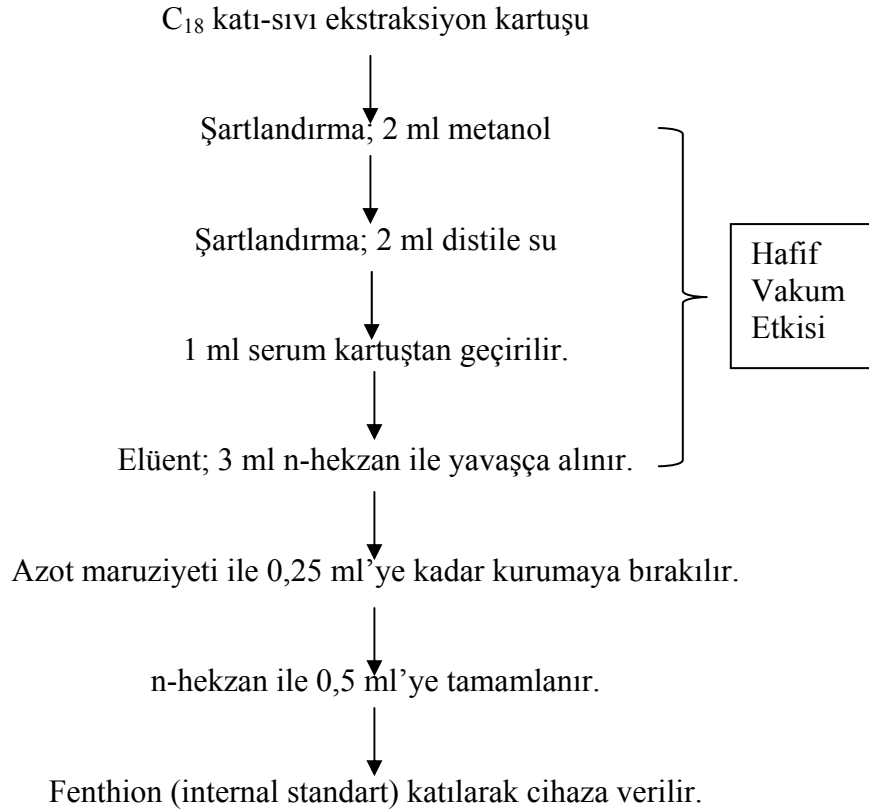
Blank tavşandan alınan doku ve organ örnekleri homojenize edildikten sonra, daha önceden hazırlanan 10 ppm stok endosulfan ve metabolitlerinin (endosulfan ether, endosulfan sulfate, beta ve alfa endosulfan) karışımının standart solüsyonundan 1 ppm eklenerek endosulfan için belirlenen metot ile ekstraksiyon işlemi yapıldı. Bu şekilde

beş örneğin analizi yapılarak, geri kazanım oranının %85-100 arasında değiştiği saptandı.

3.2.4. Ekstraksiyon Yöntemleri

Diazinon grubu serum ekstraksiyon yöntemi; Yukarıda anlatıldığı gibi elde edilip saklanan serum örnekleri derin dondurucudan çıkarılarak oda ısısına gelmesi sağlandı. Katı-sıvı ekstraksiyon manifoldu hazırlandı ve C₁₈ ekstraksiyon kartuşları manifolda yerleştirildi. Daha sonra kartuşlar 2 ml metanol ve 2 ml distile su ile şartlandı. 1 ml serum örneği kartuştan yavaşça geçirildikten sonra elüent 3 ml n-hekzan ile temiz bir cam tüpe alındı. Alınan elüent viallere konulup azot gazı altında 0,25 ml'ye kadar kurumaya bırakıldı. Örnek n-hekzan ile 0,5 ml'ye tamamlanıp, internal standart katılarak GC-MS'e vermeye hazır hale getirildi. Diazinon analizi için serum ekstraksiyon algoritması şekil 9'de gösterilmektedir.

Serum Ekstraksiyonu (Diazinon)

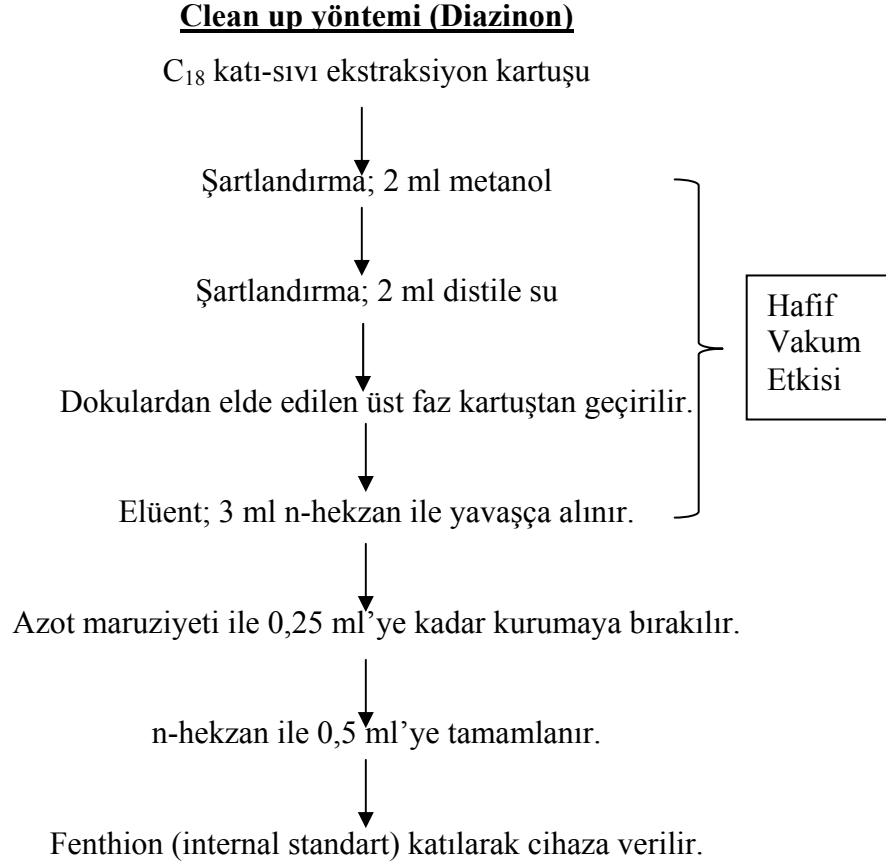


Şekil 9: Diazinon için serum ekstraksiyon algoritması

Diazinon grubu için doku ekstraksiyon yöntemi; Diazinon ekstraksiyonu için Barr ve ark. tarafından birçok pestisit in ekstraksiyonunda kullanılan yöntem ve Elsifary ve ark. çalışmasında çürümüş visseral yapılardan diazinon ekstraksiyonu için kullandığı yöntemler modifiye edildi.^{81,88}

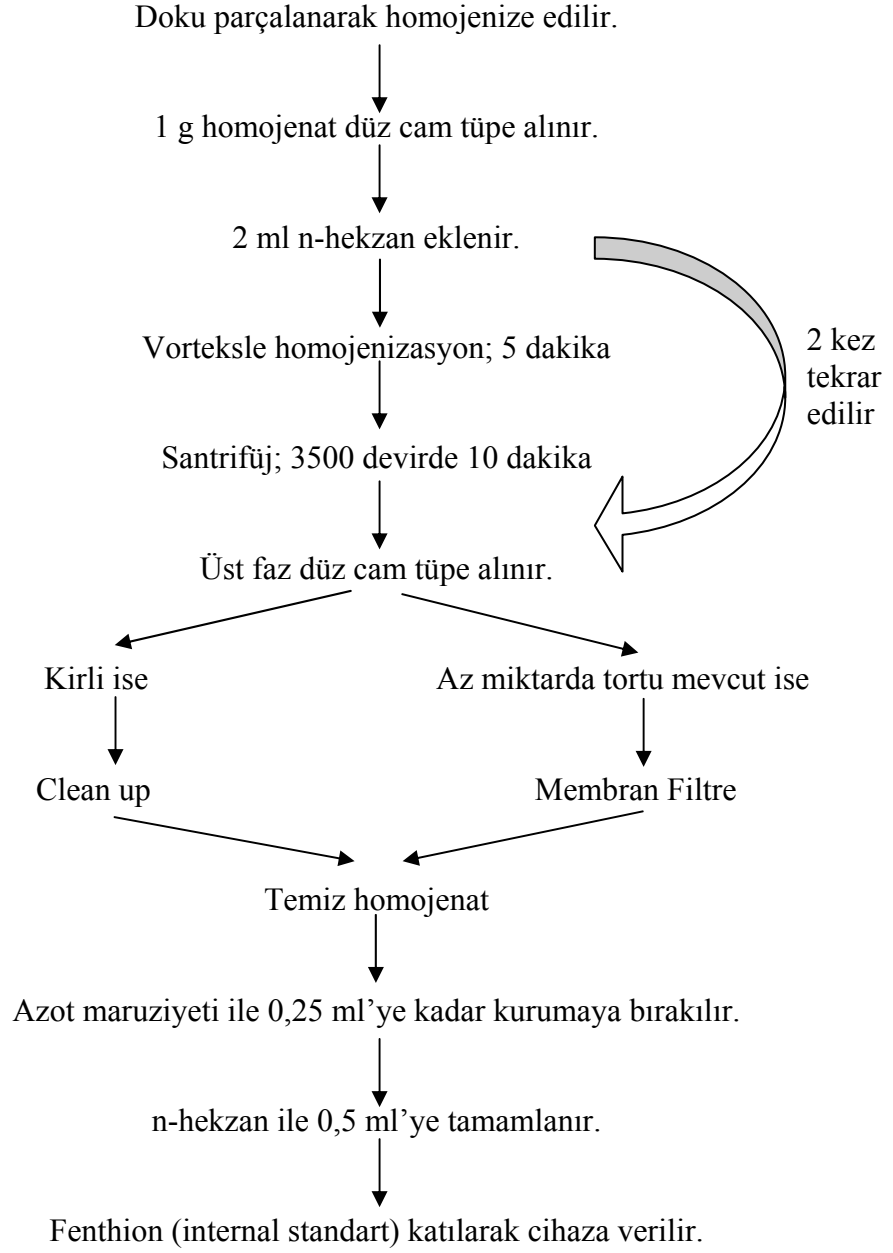
Yukarıda anlatıldığı gibi elde edilip (-)20 °C muhafaza edilen dokular parçalanarak homojenize edildi. Daha sonra 1 g doku düz cam tüplere alındı. 2 ml n-hekzan katılarak vorteksle 5 dakika homojenizasyon sağlandıktan sonra 3500 devirde 10 dakika santrifüje edildi. Üst faz temiz bir cam tüpe aktarıldı ve buraya kadar olan işlem 2 ml daha n-hekzan dâhil edilerek ikinci kez tekrarlandı. Alınan üst fazın kirli olması durumunda clean up işlemi yapıldı. Üst fazda az miktarda tortu olması halinde ise clean up yerine faz membran filtreden geçirilerek temizlendi. Elde edilen materyal viallere konulup azot gazı altında 0,25 ml'ye kadar kurumaya bırakıldı. Kalan miktar n-

hekzan ile 0,5 ml'ye tamamlanıp, internal standart katılarak GC-MS'e verilmeye hazır hale getirildi. Diazinon analizi için clean up işlemi şekil 10'da, doku ekstraksiyon yöntemi şekil 11'de gösterilmektedir.



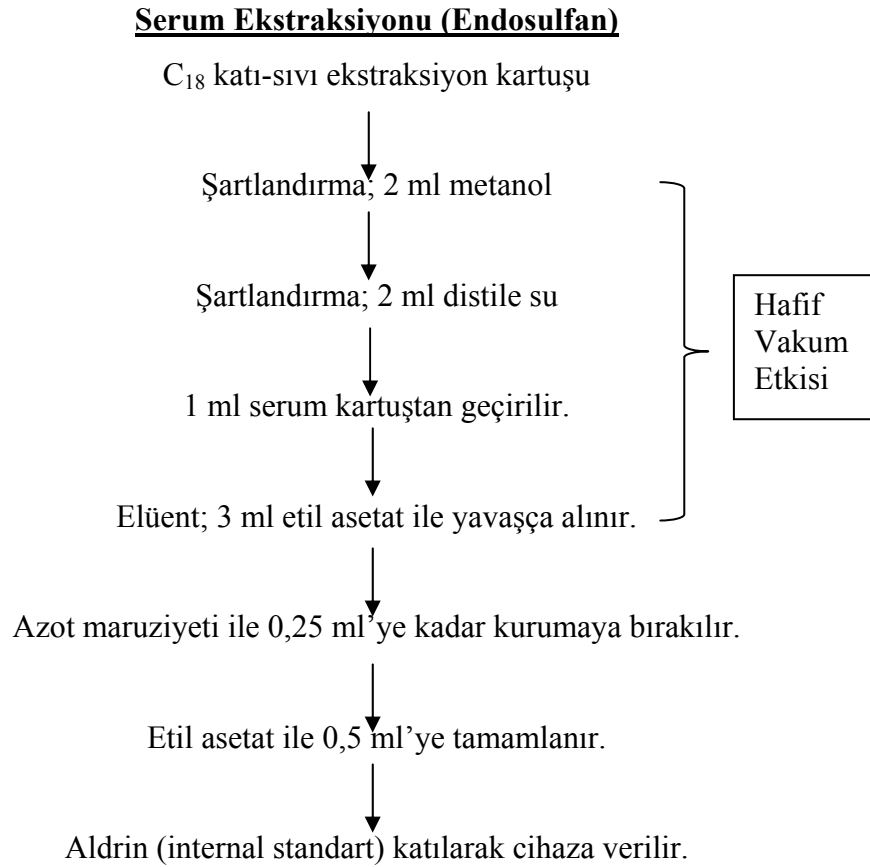
Şekil 10: Diazinon için doku clean up yöntemi

Doku ekstraksiyonu (Diazinon)



Şekil 11: Diazinon için doku ekstraksiyon algoritması

Endosulfan grubu serum ekstraksiyon yöntemi; Yukarıda anlatıldığı gibi elde edilip saklanan serum örneklerinin derin dondurucudan çıkarılarak oda ısısına gelmesi sağlandı. Katı-sıvı ekstraksiyon manifoldu hazırlandı ve C₁₈ ekstraksiyon kartuşları manifolda yerleştirildi. Daha sonra kartuşlar 2 ml metanol ve 2 ml distile su ile şartlandı. 1 ml serum örneği kartuştan yavaşça geçirildikten sonra elüent 3 ml etil asetat ile temiz bir cam tüpe alındı. Alınan elüent viallere konulup azot gazı altında 0,25 ml'ye kadar kurumaya bırakıldı. Örnek etil asetat ile 0,5 ml'ye tamamlanıp, internal standart katılarak GC-MS'e verilmeye hazır hale getirildi. Endosulfan analizi için serum ekstraksiyon algoritması şekil 12'de gösterilmektedir.



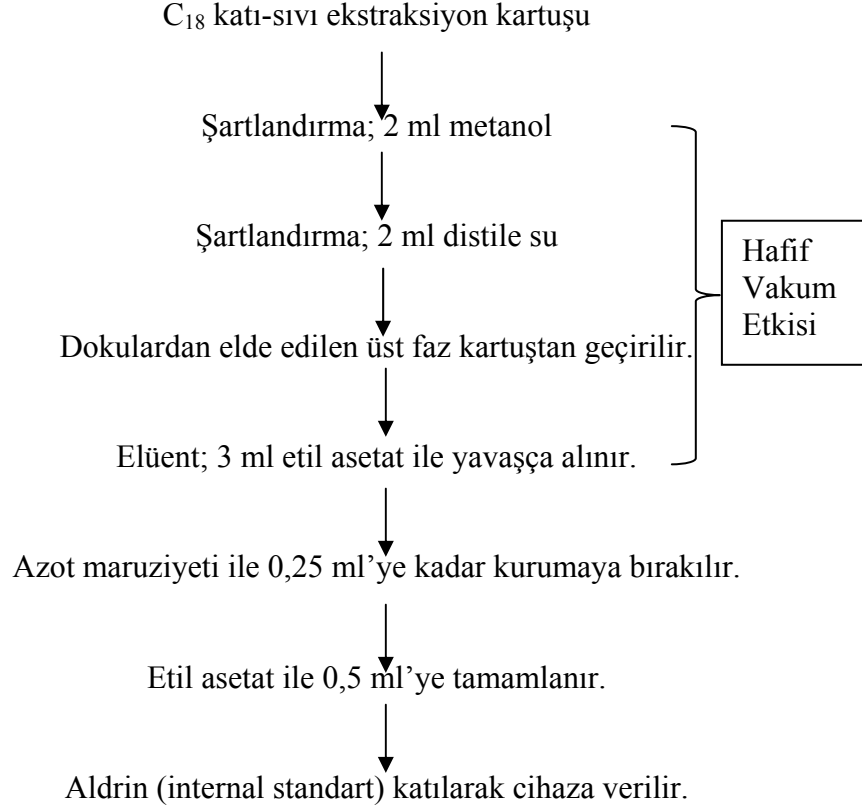
Şekil 12: Endosulfan için serum ekstraksiyon algoritması

Endosulfan grubu için doku ekstraksiyon yöntemi; Endosulfan ekstraksiyonu için; International Atomic Energy Association (IAEA) tarafından 1998 yılında tanımlanan, birçok araştırmacı tarafından çeşitli basamakları değiştirilerek uygulanan yöntem esas alınarak bir yöntem geliştirildi.⁸⁸⁻⁹¹ Yapılan en önemli modifikasyon, kullanılan kimyasal miktarını arttıran ve uygulama süresini her örnek için yaklaşık 8 saat uzatan Soxhlet basamağının çıkarılması idi.

Literatürde, pestisit ekstraksiyonlarında kimyasal homojenizasyon amacıyla hem sülfürik asitin (H_2SO_4) hem de hidroklorik asitin (HCl) kullanılabileceği belirtilmektedir. Bazı çalışmalarda doku ekstraksiyonunda endosulfan izomerlerinden “endosulfan diol” dönüşümü hızlandıracağı için sülfürik asit yerine HCl kullanılmasının daha uygun olacağı bildirilmektedir. Bu nedenle çalışmamızda kimyasal homojenizasyonu sağlamak için sülfürik asit yerine 1N HCl kullanıldı.^{91,92}

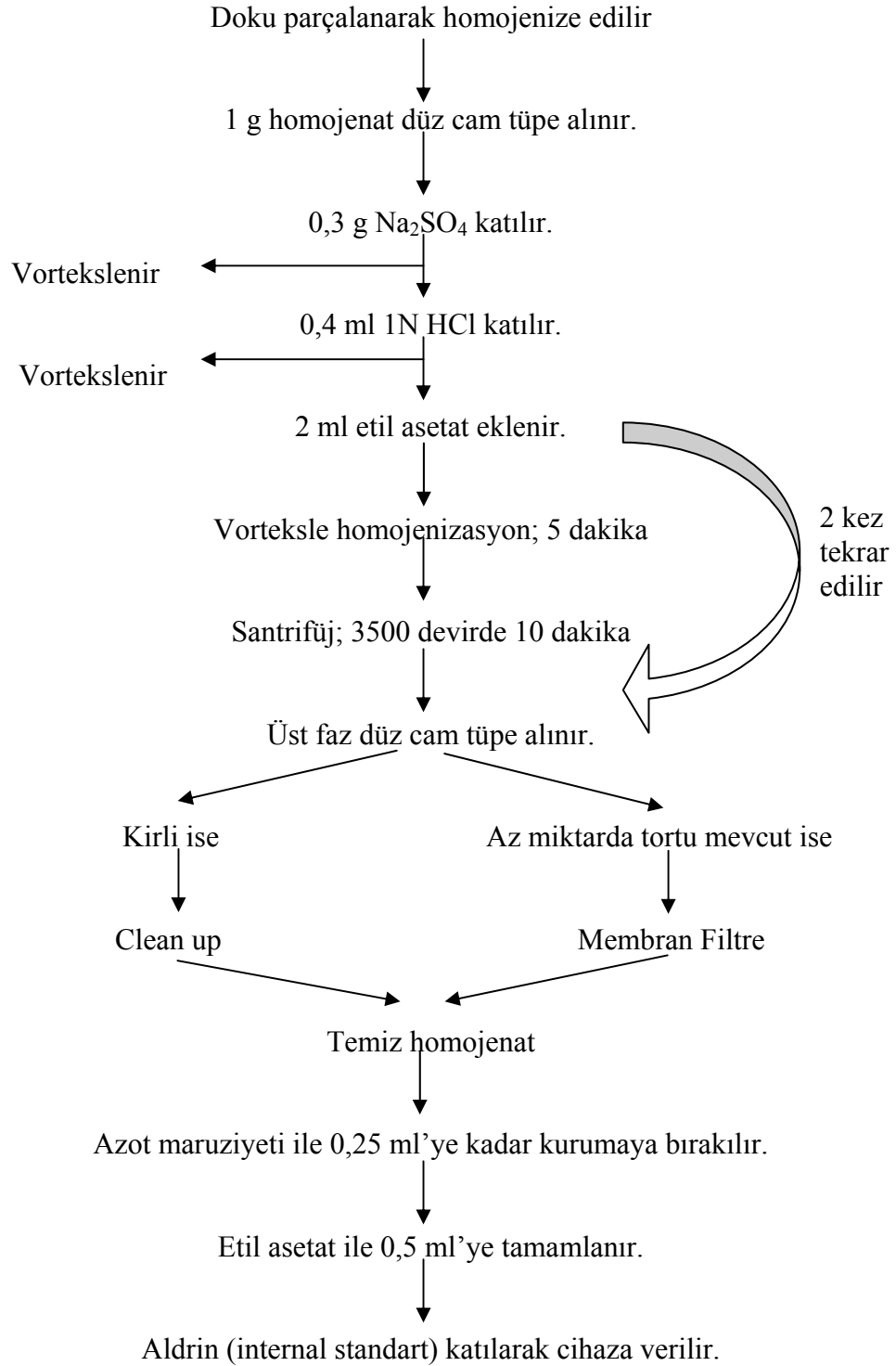
Yukarıda anlatıldığı gibi elde edilip $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ muhafaza edilen dokular parçalanarak homojenize edildi. Bir gram doku düz cam tüplere alınarak üzerine 0,3 gram sodyum sülfat dâhil edildi. Sodyum sülfat doku içerisine homojen olarak dağılana kadar vortekslendi. Daha sonra kimyasal homojenizasyon için 0,4 ml 1N HCl konularak tekrar vortekslendi. 2 ml etil asetat katılarak vorteksle 5 dakika homojenizasyon sağlandıktan sonra 3500 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Üst faz temiz bir cam tüpe aktarıldı ve buraya kadar olan işlem 2 ml daha etil asetat dâhil edilerek ikinci kez tekrarlandı. Alınan üst fazın kirli olması durumunda clean up işlemi yapıldı. Üst fazda az miktarda tortu olması halinde ise clean up yerine faz membran filtreden geçirilerek temizlendi. Elde edilen materyal viallere konulup azot gazı altında 0,25 ml’ye kadar kurumaya bırakıldı. Kalan miktar etil asetat ile 0,5 ml’ye tamamlanıp, internal standart katılarak GC-MS’e verilmeye hazır hale getirildi. Endosulfan analizi için clean up işlemi şekil 13’de, doku ekstraksiyon yöntemi şekil 14’de gösterilmektedir.

Clean up yöntemi (Endosulfan)



Şekil 13: Endosulfan için doku clean up yöntemi

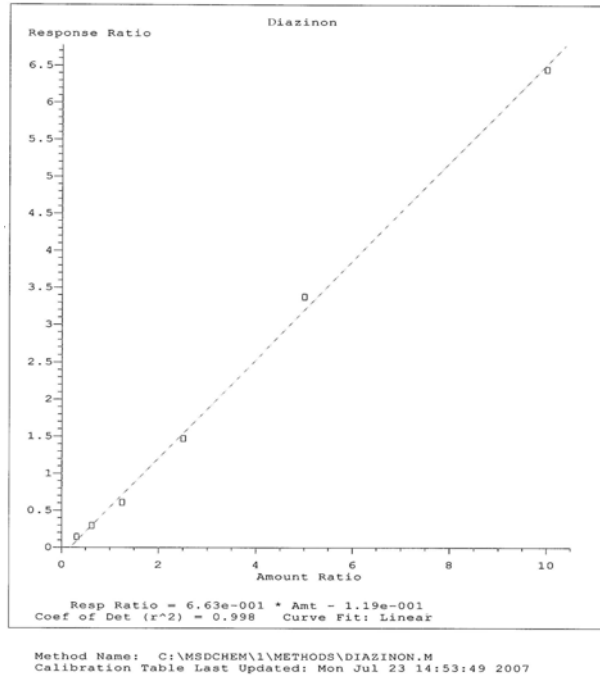
Doku ekstraksiyonu (Endosulfan)



Şekil 14: Endosulfan için doku ekstraksiyon algoritması

3.2.5. Kalibrasyon Eğrilerinin Hazırlanması

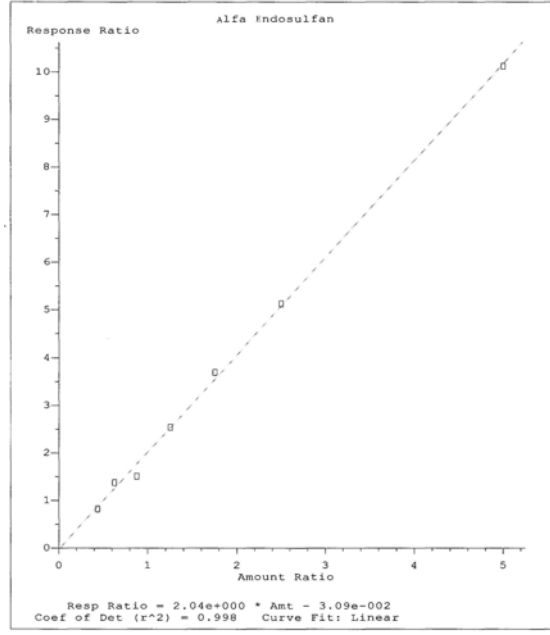
Diazinon; 100 ppm'lik stok diazinon standart çözeltisinden 10 ppm'lik çalışma çözeltisi hazırlanarak 6 farklı konsantrasyonun (4 µg/ml, 2 µg/ml, 1 µg/ml, 0.5 µg/ml, 0.250 µg/ml, 0,125 µg/ml) analizi ile kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Korelasyon katsayısı 0.998 olarak hesaplandı. Kalibrasyon grafiği Şekil 15'de verilmiştir.



Şekil 15: Diazinon kalibrasyon eğrisi

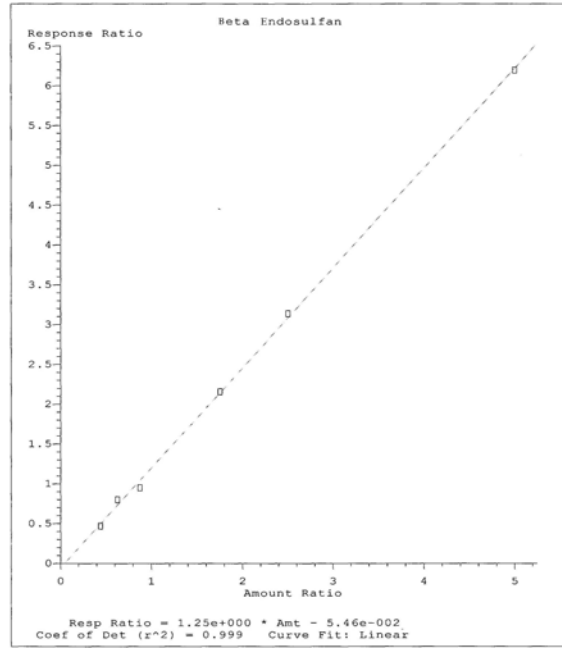
Endosulfan ve Metabolitleri; 100 ppm'lik stok endosulfan ve metabolitleri karışım standart çözeltisinden 10 ppm'lik çalışma çözeltisi hazırlanarak 7 farklı konsantrasyonun (4 µg/ml ve 0,175 µg/ml) analizi ile kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Endosulfan ve metabolitleri için çizilen kalibrasyon grafikleri Şekil 16, 17, 18 ve 19'da verilmiştir. Korelasyon katsayıları;

Alfa endosulfan	0.998,
Beta endosulfan	0,999,
Endosulfan ether	0,996,
Endosulfan sulfate	0,999 olarak hesaplandı.



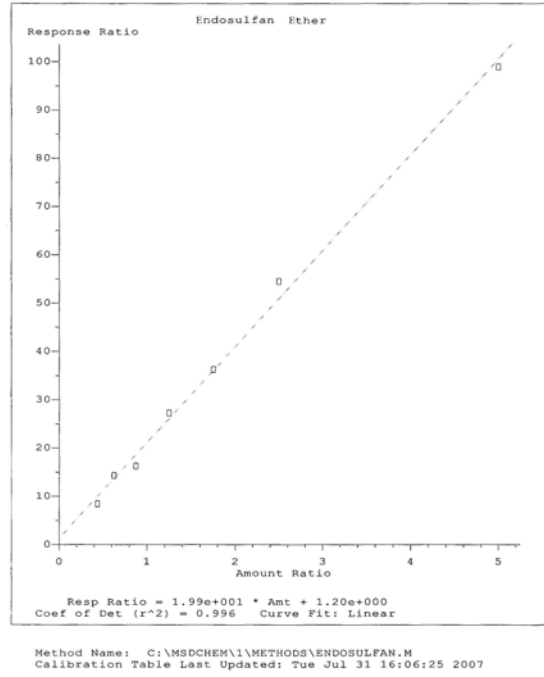
Method Name: C:\MSDCHEM\1\METHODS\ENDOSULFAN.M
Calibration Table Last Updated: Tue Jul 31 16:06:25 2007

Şekil 16: Alfa Endosulfan kalibrasyon eğrisi

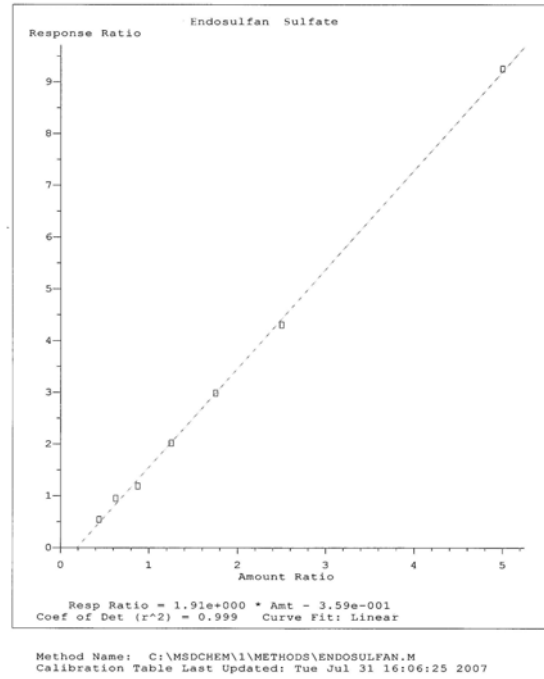


Method Name: C:\MSDCHEM\1\METHODS\ENDOSULFAN.M
Calibration Table Last Updated: Tue Jul 31 16:06:25 2007

Şekil 17: Beta Endosulfan kalibrasyon eğrisi



Şekil 18: Endosulfan Ether kalibrasyon eğrisi



Şekil 19: Endosulfan Sulfate kalibrasyon eğrisi

Kontrol grubundan alınan doku örneklerine hem diazinon hem de endosulfan ekstraksiyon yöntemleri uygulanarak analiz edildi.

3.3. Histopatolojik İnceleme

3.3.1. Kullanılan malzemeler

3.3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Eosin-Phloxine (Merck),
Alkol (Merck),
Ksilol,
Formaldehit (%10'luk tampon),
Entellan (Merck),
Parafin (Merck).

3.3.1.2. Kullanılan araç ve gereçler

Leica 1020 doku takip cihazı,
Leica EG 1160 Blok dökme cihazı,
Leica CV 5030 Histokimyasal boyama sistemi,
Leica ST 5020 preparat hazırlama sistemi,
Leica RM 2125 RT mikrotom.

3.3.2. Histopatolojik preparatların hazırlanması

Histopatolojik olarak incelenmek üzere alınan beyin, karaciğer, akciğer ve böbrek dokuları öncelikle %10'luk tampon formaldehit içerisinde tespit edildi. Kesitlerin takip işlemleri Leica TP 1020 doku takip cihazı ile yapıldı. Takip işleminden sonra örnekler parafin bloklara gömüldü. Bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler, etüvde deparafinize edildikten sonra Leica cihazlarında H+E ile boyandı ve incelenmeye hazır preparat haline getirildi. Histopatolojik inceleme bir patolog tarafından yapıldı.

3.3.3. Histopatolojik bulguların derecelendirilmesi

Yapılan ışık mikroskopik incelemede saptanan bulgular aşağıdaki gibi derecelendirildi.

Derece 0(-): Yok,	Derece II(++): Orta,
Derece I(+): Hafif,	Derece III(+++): Şiddetli.

4. BULGULAR

4.1. Toksikolojik Analiz Sonuçları

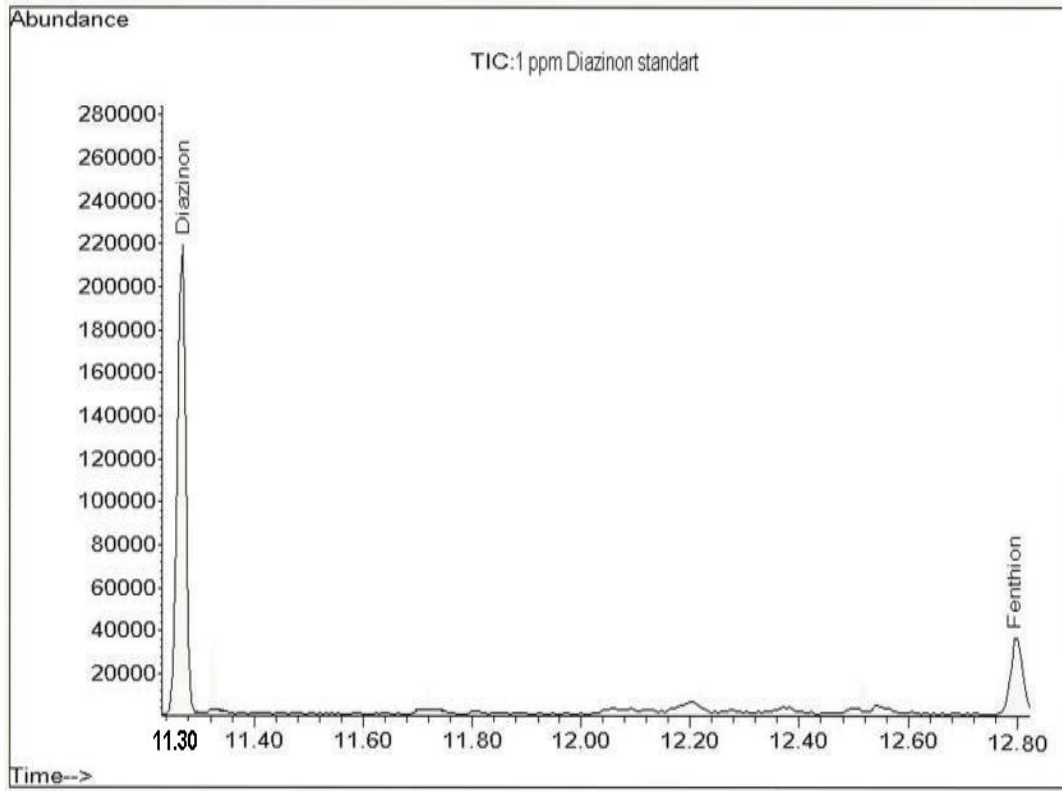
Ortalama ağırlıkları 2500 g olan 13 adet Yeni Zelanda türü tavşandan 6'sında endosulfan, 6'sında diazinon etken maddesi içeren ticari tarım ilaçları ile akut intoksikasyon modeli oluşturdu. Bir tavşan ise herhangi bir kimyasal maddeye tabi tutulmadan dekapite edilerek öldürüldü.

Akut zehirlenme aşamasında klinik gözlem bulguları;

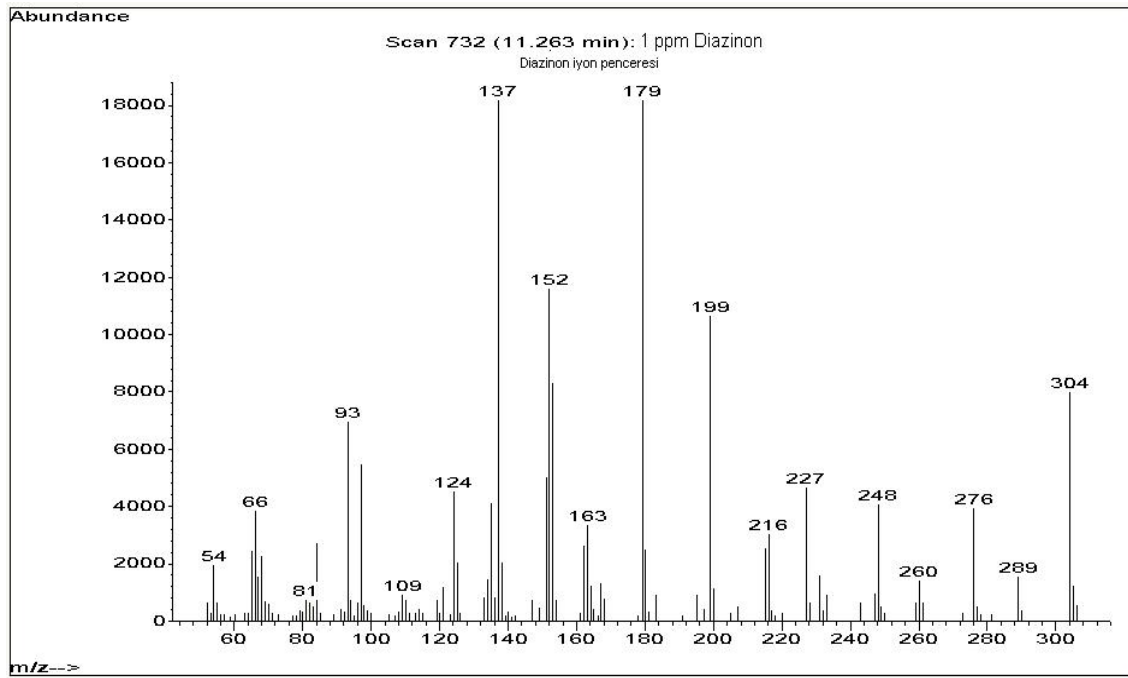
Akut endosulfan zehirlenmesi oluşturulan tavşanların beş tanesinde, toksik maddenin verilmesinden ortalama 47,6 dakika sonra generalize tonik klonik konvülsiyonların başladığı ve ortalama 56,4 dakika sonra öldükleri gözlemlendi. Ölmeyen bir tavşan ise uygulamadan iki saat sonra dekapite edildi. Diazinon ile zehirlenen tavşanlarda uygulamadan ortalama 60 dakika sonra hareketlerinde yavaşlama olduğu ve uyarılara refleks yanıtın azaldığı dikkati çekti. Ancak endosulfan uygulamasının aksine sadece bir tavşanın uygulamadan 75 dakika sonra öldüğü dikkati çekti. Ölmeyen beş tavşan ise 2 saat sonra dekapite edildi.

Diazinon uygulanan grubun analiz sonuçları;

1 ppm Diazinon standardı ve fenthion internal standardının pik özelliklerini gösteren analiz penceresi ve kütle spektrometri iyon penceresi şekil 20 ve şekil 21'de gösterilmektedir.

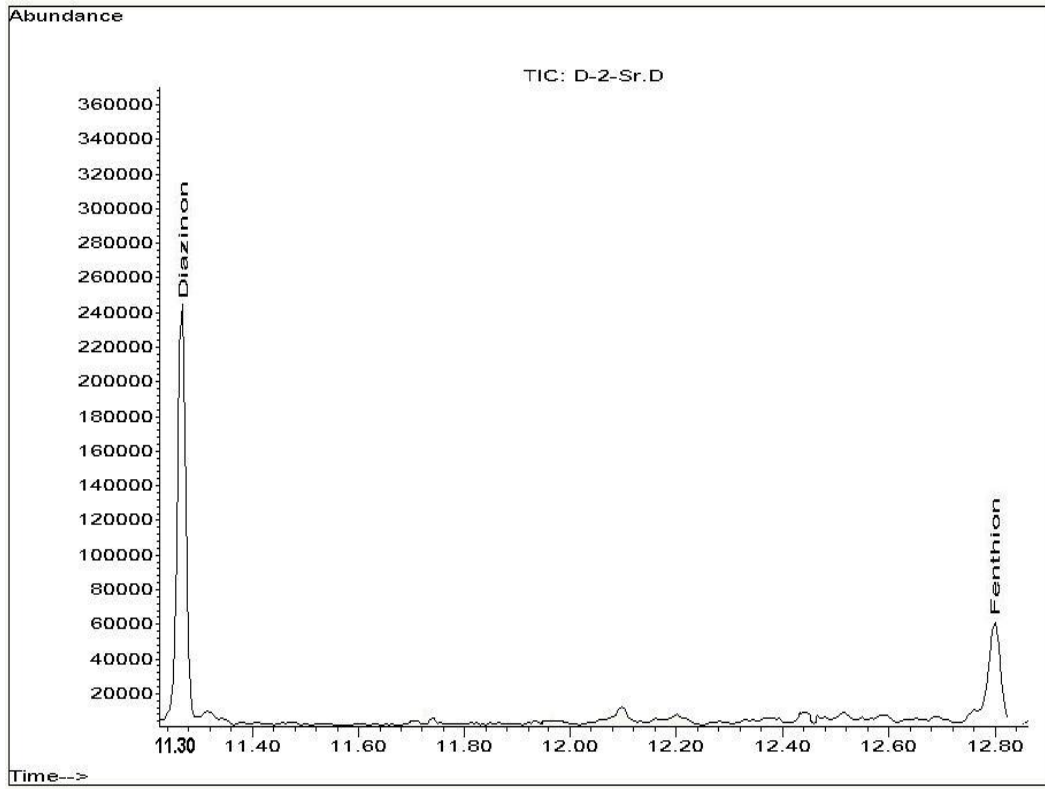


Şekil 20: 1ppm diazinon standardı ve fenthion piki



Şekil 21: Diazinon kütle spektrometri iyon penceresi

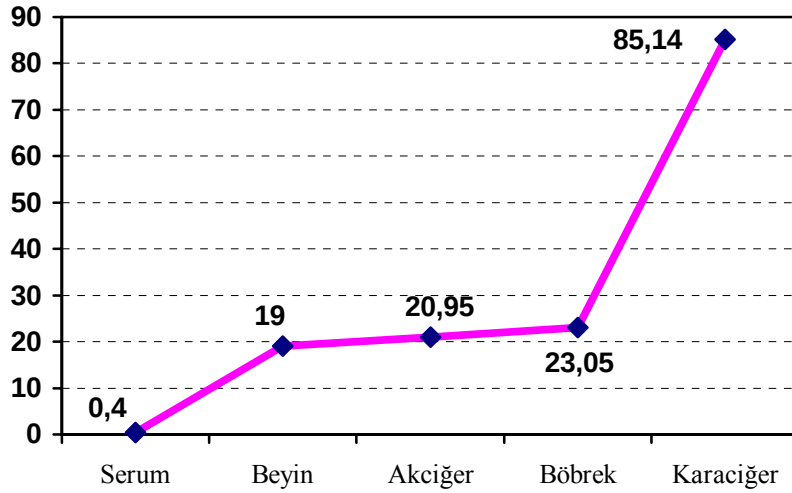
2500 mg/kg ile deneysel akut diazinon zehirlenmesi oluşturulan altı adet tavşandan ölümden hemen sonra alınan serum örneklerinde, GC-MS ile yapılan analizde saptanan diazinon düzeylerinin 0,14 mg/L (ppm) ile 0,75 mg/L arasında değiştiği ve ortalamasının 0,40 mg/L olduğu saptandı. Organ analizlerinde en yüksek Diazinon düzeyi ortalaması 85,14 mg/L ile karaciğerde saptanırken, beyin ortalamasının 19, akciğerin 20,95 ve böbrek ortalamasının 23,05 mg/L arasında değiştiği dikkati çekti. Serum analizlerinden birinin (serum-2) piki örnek olarak şekil 22’de, serum ve organ dağılımları tablo 2’de, organların diazinon seviyelerinin ortalama dağılımları şekil 23’te gösterilmektedir.



Şekil 22: İkinci tavşanın serum diazinon piki

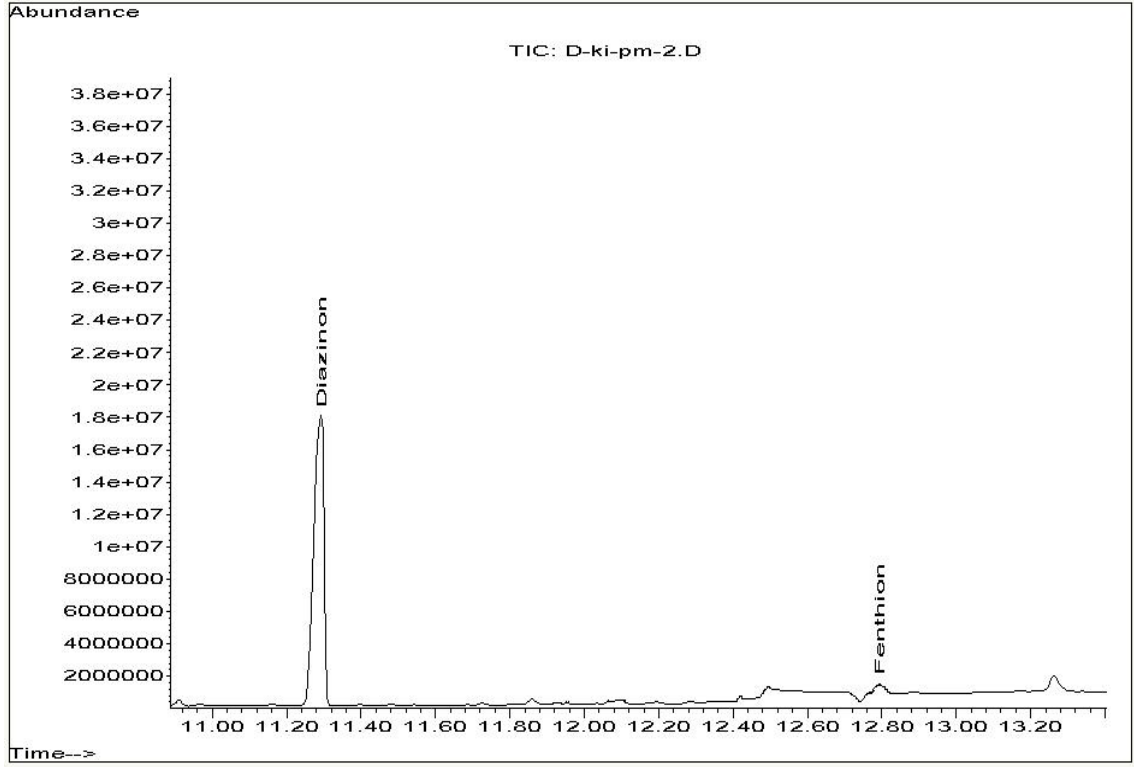
Tablo 2: Diazinonun serum ve organ dağılımları

Tavşan no	Diazinon düzeyi (mg/L)				
	Serum	Karaciğer	Akciğer	Böbrek	Beyin
1	0,48	82,9	20,8	21,7	20,3
2	0,75	69,8	18,2	24,2	20,7
3	0,14	92,14	22,3	20,9	19,2
4	0,35	94,7	19,6	23,6	17,4
5	Saptanamadı	73,5	21,2	25	19
6	0,28	97,8	23,6	22,9	17,4



Şekil 23: Organların ortalama diazinon dağılımı (mg/L)

Ölümden hemen sonra alınan kemik iliği örneklerinde diazinon düzeyleri 12,57 mg/L ile 117,82 mg/L arasında değişirken, çürüme sonrası alınan kemik iliği örneklerinde ise diazinon düzeyleri 536,07 mg/L ile 3515 mg/L arasında değişmekte idi. Mezardan çıkarılan tavşanların batin içerisindeki çürümüş organlarından alınan örneklerde diazinon düzeyleri 1160,57 mg/L ile 3939 mg/L arasında değişmekte idi. Kemik iliği ve çürümüş batin içi yapılarda saptanan diazinon düzeyleri ve ortalamaları tablo 3'te, ikinci tavşanın ölümden hemen sonra alınan kemik iliği piki şekil 24'te gösterilmektedir.



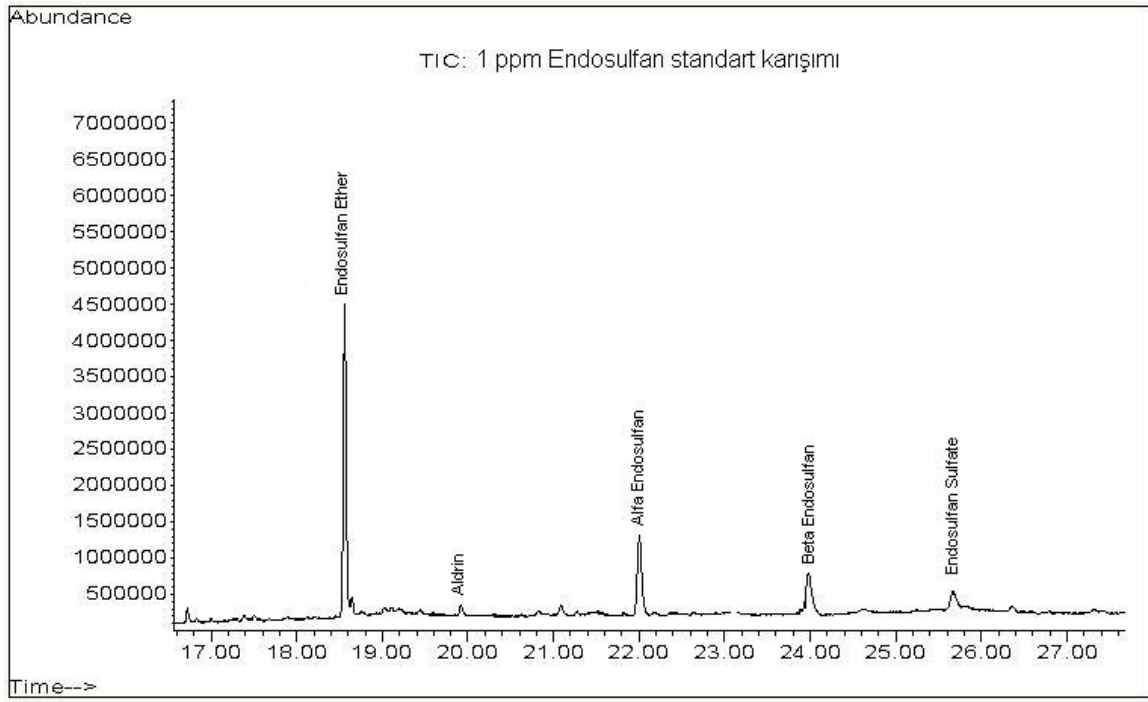
Şekil 24: İkinci tavşanın postmortem kemik iliği diazinon piki

Tablo 3: Diazinonun kemik iliği örnekleri ve çürümüş yapılardaki düzeyleri

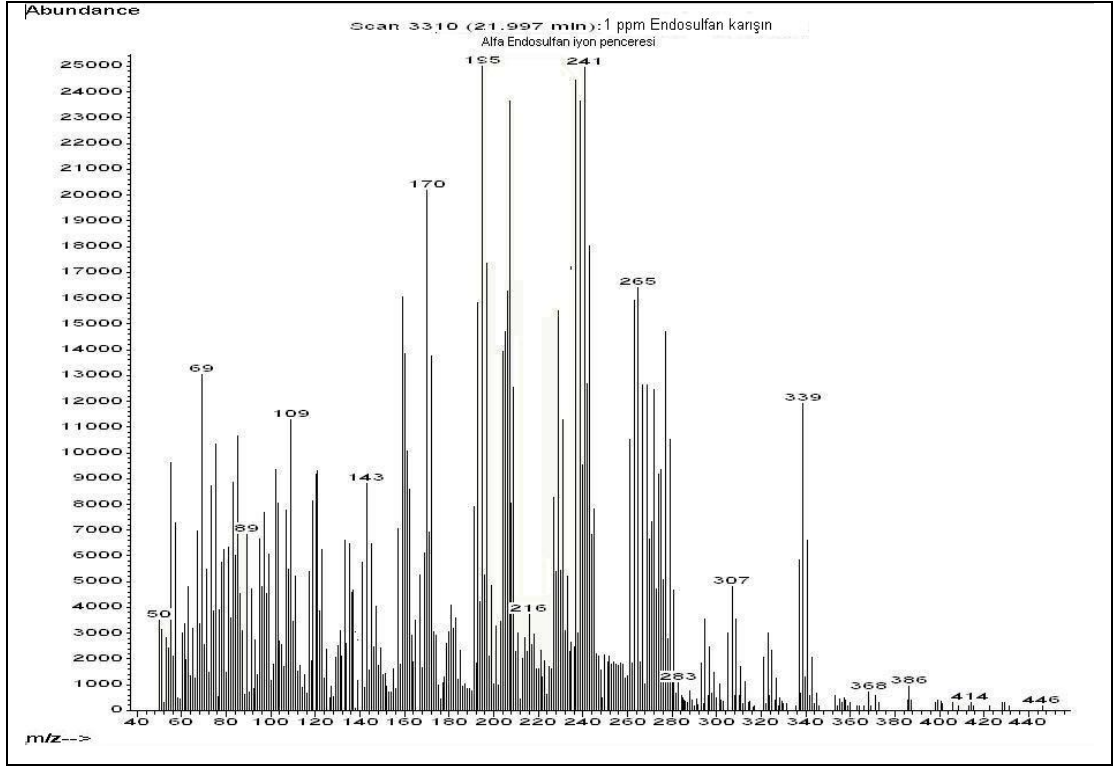
Tavşan no	Diazinon düzeyi (mg/L)		
	Postmortem ilk Kemik iliği	Feth-i Kabir Kemik iliği	Çürümüş yapılar
1	117,82	2137	3706
2	67,36	2035	1160,57
3	55,76	3515	3835,02
4	12,57	536,07	3939
5	78,18	769,02	3441
6	94,84	1707,49	3882
Ortalama	71,08	1783,26	3327,26

Endosulfan uygulanan grubun analiz sonuçları;

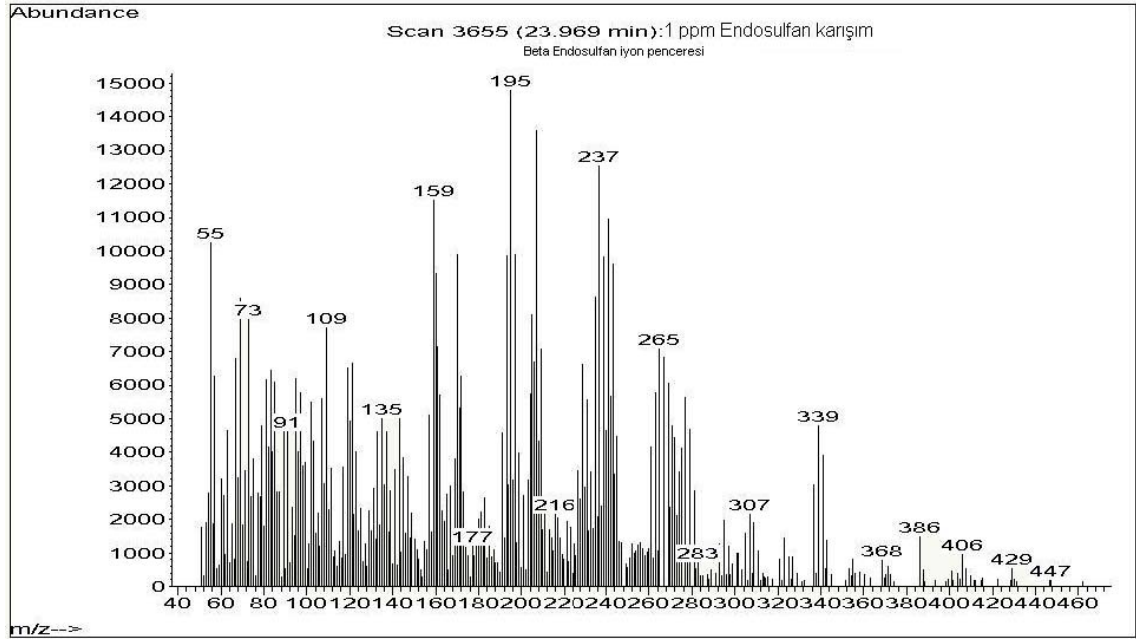
1 ppm Endosulfan standart karışımının ve aldrin internal standardının retansiyon zamanlarını ve pik özelliklerini gösteren analiz penceresi ve endosulfan izomer ve metabolitlerinin kütle spektrometri iyon pencereleri şekil 25, 26, 27, 28, ve 29'da gösterilmektedir.



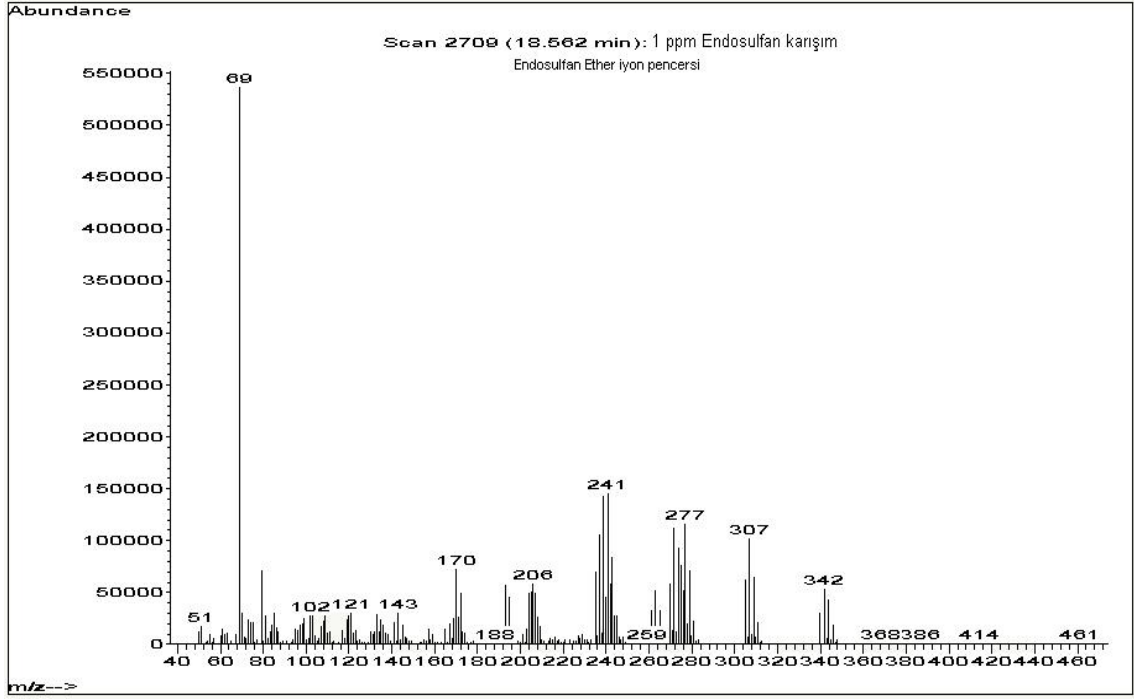
Şekil 25: 1 ppm endosulfan standart karışımı pikleri ve retansiyon zamanları



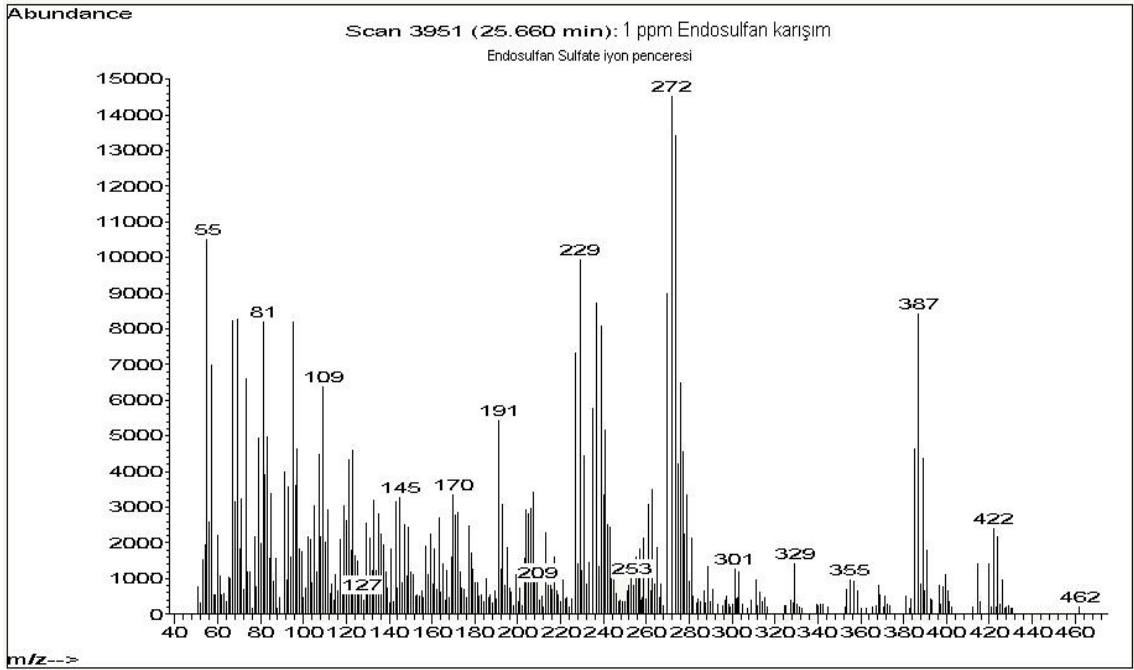
Şekil 26: Alfa Endosulfan kütle spektrometri iyon penceresi



Şekil 27: Beta Endosulfan kütle spektrometri iyon penceresi



Şekil 28: Endosulfan Etherin kütle spektrometri iyon penceresi



Şekil 29: Endosulfan Sulfatın kütle spektrometri iyon penceresi

110 mg/kg ile deneysel akut endosulfan zehirlenmesi oluşturulan altı adet tavşandan alınan örneklerde GC-MS ile yapılan analizlerde saptanan endosulfan izomerleri ve metabolitlerinin serum, karaciğer, akciğer, böbrek, beyin, ölüm sonrası ilk kemik iliğı, mezar açma esnasında alınan kemik iliğı ve çürümüş batın içi yapılarıdaki dağılımları tablo 4 ve 5'te gösterilmektedir.

Tablo 4: Endosulfan izomer ve metabolitlerinin serum ve organ dağılımları (mg/L)

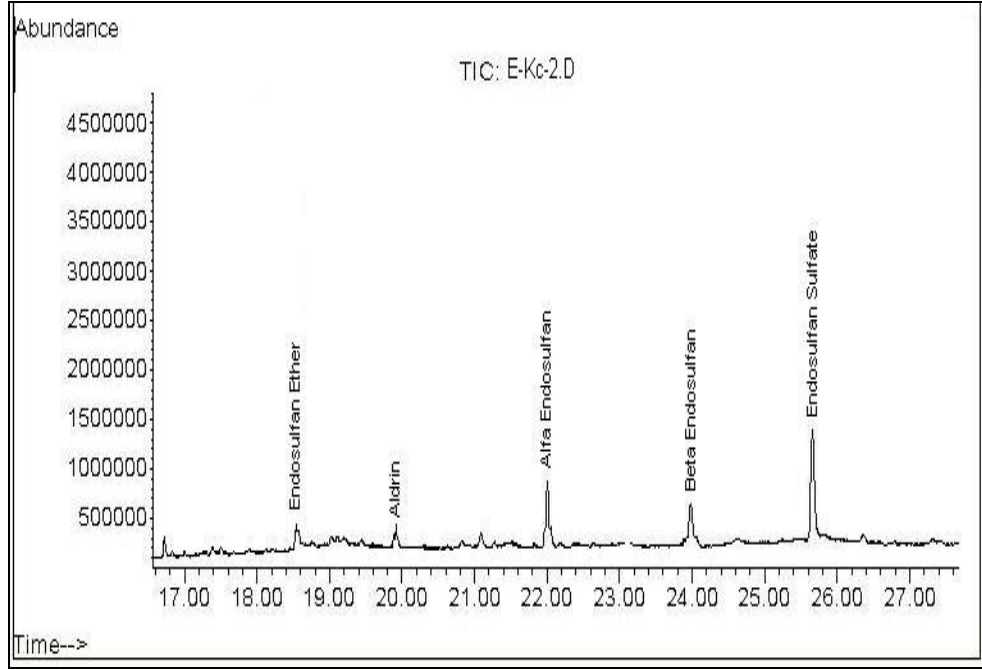
Tavşan No	Serum				Karaciğer				Akciğer				Beyin				Böbrek			
	AE	BE	EE	ES	AE	BE	EE	ES	AE	BE	EE	ES	AE	BE	EE	ES	AE	BE	EE	ES
1	-	-	-	0,15	0,12	0,78	0,04	-	-	-	0,46	0,16	0,05	-	0,21	0,29	0,02	0,07	0,03	-
2	-	-	0,01	0,56	0,16	0,19	0,01	1,40	-	-	H.D.A.	-	0,02	-	0,11	0,19	0,09	-	0,05	0,10
3	-	-	0,02	2,77	0,35	0,86	H.D.A.	0,08	-	0,12	0,27	-	0,02	-	0,21	0,39	0,04	0,08	0,01	0,11
4	-	-	-	1,19	1,76	6,45	0,07	2,24	-	0,10	H.D.A.	0,27	-	0,05	0,22	0,12	0,04	-	0,01	0,26
5	-	-	0,01	1,18	0,29	0,13	0,03	0,24	0,02	-	0,28	0,13	-	-	0,42	0,34	0,07	-	H.D.A.	0,31
6	-	-	0,02	0,15	-	0,49	0,10	-	-	-	0,46	-	0,03	-	0,37	-	1,09	-	H.D.A.	-

AE: Alfa Endosulfan
EE: Endosulfan Ether

BE: Beta Endosulfan
ES: Endosulfan Sulfate

HDA: Hesaplama Düzeyinin Altında

İkinci tavşandan alınan karaciğer örneğinde endosulfan izomer ve metabolitlerinin pikleri ve retansiyon zamanları şekil 30'da gösterilmektedir.



Şekil 30: İkinci tavşanın karaciğer örneği endosulfan grubu pik ve retansiyon zamanları

Tablo 5: Endosulfan izomer ve metabolitlerinin kemik iliği ve çürümüş yapılardaki dağılımları (mg/L)

Tavşan	Postmortem ilk Kemik iliği				Fethi kabir Kemik iliği				Çürümüş visseral yapılar			
	AE	BE	EE	ES	AE	BE	EE	ES	AE	BE	EE	ES
1	-	-	H.D.A	0,15	0,15	0,91	0,04	-	0,10	0,03	H.D.A.	-
2	-	-	H.D.A	0,14	0,02	0,22	0,02	-	0,39	-	-	0,26
3	-	-	H.D.A	0,15	-	-	0,24	-	-	0,05	H.D.A.	-
4	-	-	H.D.A	-	0,28	-	H.D.A.	-	0,35	0,50	0,19	-
5	-	-	-	0,12	0,02	-	H.D.A.	-	0,02	-	H.D.A.	-
6	-	-	H.D.A	0,15	-	0,07	H.D.A.	-	0,44	-	0,02	-

Endosulfan izomer ve metabolitlerinin serum, karaciğer, akciğer, böbrek, beyin, ölüm sonrası ilk kemik iliği, mezar açma esnasında alınan kemik iliği ve çürümüş batın içi yapılarıdaki ortalama düzeyleri tablo 6 ve 7’de gösterilmektedir.

Tablo 6: Endosulfan ve metabolitlerinin serum ve organlardaki ortalama düzeyleri

Doku	Ortalama Endosulfan Düzeyleri (mg/L)			
	Alfa Endosulfan	Beta Endosulfan	Endosulfan Ether	Endosulfan Sulfate
Serum	-	-	0,015	1,00
Karaciğer	0,54	1,48	0,05	0,99
Akciğer	0,02	0,11	0,36	0,18
Böbrek	0,22	0,075	0,025	0,20
Beyin	0,03	0,05	0,25	0,26

Tablo 7: Endosulfan ve metabolitlerinin kemik iliği örnekleri ve çürümüş yapılarıdaki ortalama düzeyleri

Doku	Ortalama Endosulfan Düzeyleri (mg/L)			
	Alfa Endosulfan	Beta Endosulfan	Endosulfan Ether	Endosulfan Sulfate
Pm-Ki	-	-	H.D.A	0,14
Fk-Ki	0,11	0,4	0,10	-
ÇVY	0,26	0,20	0,10	0,26

HDA: Hesaplama Düzeyinin Altında

Pm-Ki: Postmortem ilk anda alınan kemik iliği

Fk-Ki: Çürümüş cesetten alınan kemik iliği

ÇVY: Çürümüş visseral yapılar

4.2. Histopatolojik inceleme sonuçları

Yapılan histopatolojik incelemelerde endosulfan uygulanan tavşan grubunda daha yoğun belirtiler izlenmekle beraber bütün olgularda değişik derecelerde, vasküler yapılarda dolgunluk, taze eritrosit ekstrevasyonları, taze kanama, ödem gibi nonspesifik histopatolojik bulguların mevcut olduğu dikkati çekti. Endosulfan uygulanan grubun akciğerlerindeki patolojik bulguların daha yoğun ve daha şiddetli olduğu görüldü. Akciğerde izlenen histopatolojik bulgular tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8: Pestisit uygulanan tavşanlarda akciğer histomorfolojik bulguları

Pestisit Adı	Tavşan No	Akciğer Histomorfolojisi			
		VYD	Ödem	TEE	PİTK
Endosulfan	1	+++	+	-	+*
	2	+++	+	-	+++
	3	++	-	+	++
	4	+++	-	+++	+
	5	+++	+	-	-
	6	+++	+	+++	-
Diazinon	1	++	-	++	-
	2	+	+	+	-
	3	++	-	-	+
	4	+	-	++	-
	5	++	-	+	-
	6	+++	-	+	-

*: Subplevral alanda taze kanama
VYD: Vasküler yapılarda dolgunluk
TEE: Taze eritrosit ekstrevasyonları
PİTK: Parankim içerisinde taze kanama

Derece 0(-): Yok
Derece I(+): Hafif
Derece II(++): Orta
Derece III(+++): Şiddetli

Her iki grubun böbreklerinde en sık izlenen patolojik bulgu vasküler yapılarda dolgunluk idi. Parankim içerisine taze kanama izlenmemekle beraber endosulfan uygulanan gruptan üç, diazinon uygulanan gruptan bir tavşanda renal kalikslerde taze kanama olduğu dikkati çekti.

Karaciğerde nonspesifik değişiklikler yoğunlukta olup bulgular tablo 9’da gösterilmektedir.

Tablo 9: Pestisit uygulanan tavşanlarda karaciğer histomorfolojik bulguları

Pestisit Adı	Tavşan No	Karaciğer Histomorfolojisi				
		VYD	SMD	TEE	PİTK	Vakuolizasyon
Endosulfan	1	+++	+	+	+	+
	2	++	+	+	-	-
	3	+++	++	+	++*	+++
	4	+++	+	-	+	++
	5	++	++	-	-	+
	6	+++	-	+	+	-
Diazinon	1	+	-	+	+	-
	2	+	+	-	+	-
	3	+	-	-	-	-
	4	+++	+	+	++	+
	5	++	-	-	++	-
	6	+++	++	++	+++	-

* : Subkapsüler taze kanama

VYD: Vasküler yapılarda dolgunluk

SMD: Sinuzoidal mesafelerde dolgunluk

TEE: Taze eritrosit ekstrevasyonları

PİTK: Parankim içerisinde taze kanama

Derece 0(-): Yok

Derece I(+): Hafif

Derece II(++): Orta

Derece III(+++): Şiddetli

Endosulfan uygulanan grupta beyin bulgularının daha sık ve şiddetli olduğu gözlemlendi. Her iki grupta da parakim içerisinde taze kanama izlenmedi. Beyinde izlenen bulgular tablo 10’da gösterilmektedir.

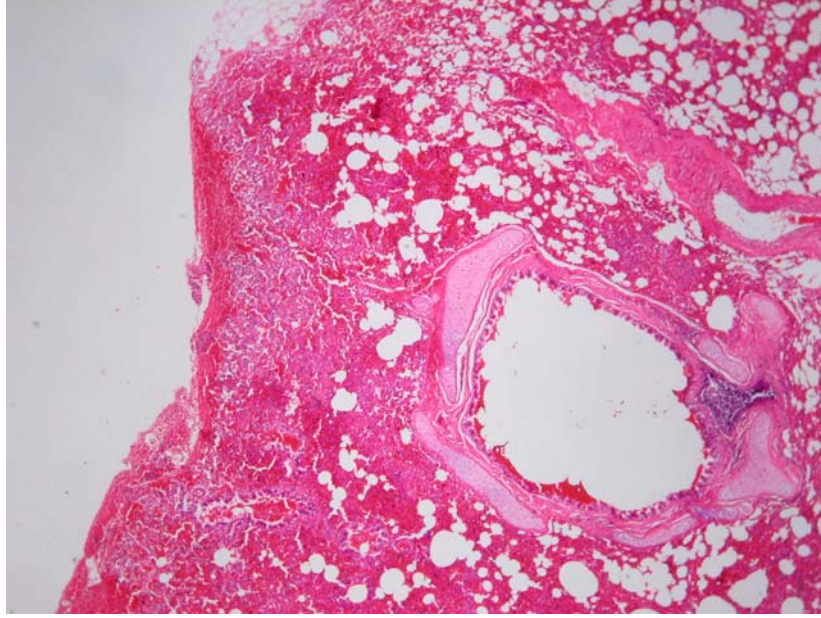
Tablo 10: Pestisit uygulanan tavşanlarda beyin histomorfolojik bulguları

Pestisit Adı	Tavşan No	Beyin Histomorfolojisi			
		VYD	TEE	SAK	Ödem
Endosulfan	1	+++	-	+	+
	2	++	+	-	+
	3	+++	++*	+	-
	4	+++	-	-	++
	5	+++	-	-	+
	6	+++	-	-	+
Diazinon	1	++	-	-	+
	2	+	-	-	-
	3	+	-	-	-
	4	++	-	-	-
	5	+	-	-	+
	6	++	-	-	-

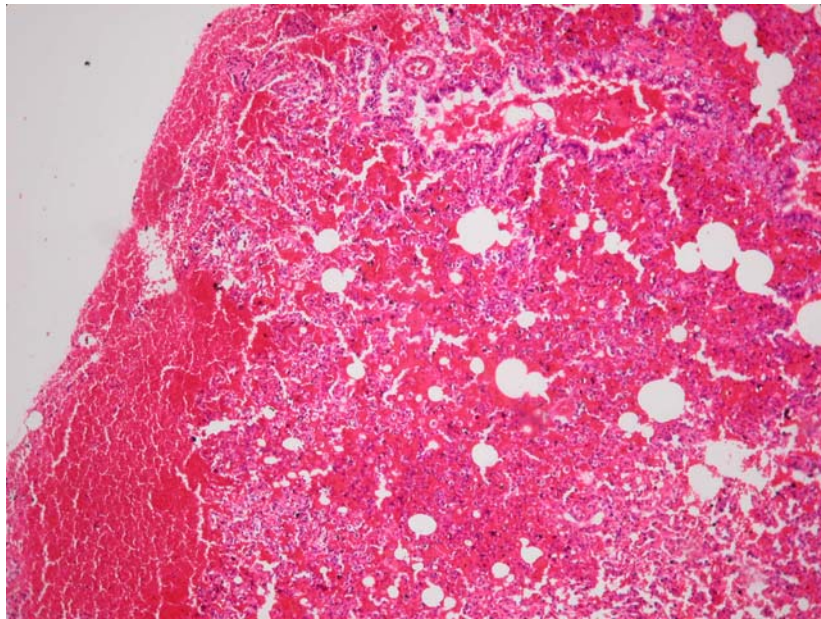
*: Meningeal mesafede TEE
VYD: Vasküler yapılarda dolgunluk
TEE: Taze eritrosit ekstrevasyonları
SAK: Subaraknoidal taze kanama

Derece 0(-): Yok
Derece I(+): Hafif
Derece II(++): Orta
Derece III(+++): Şiddetli

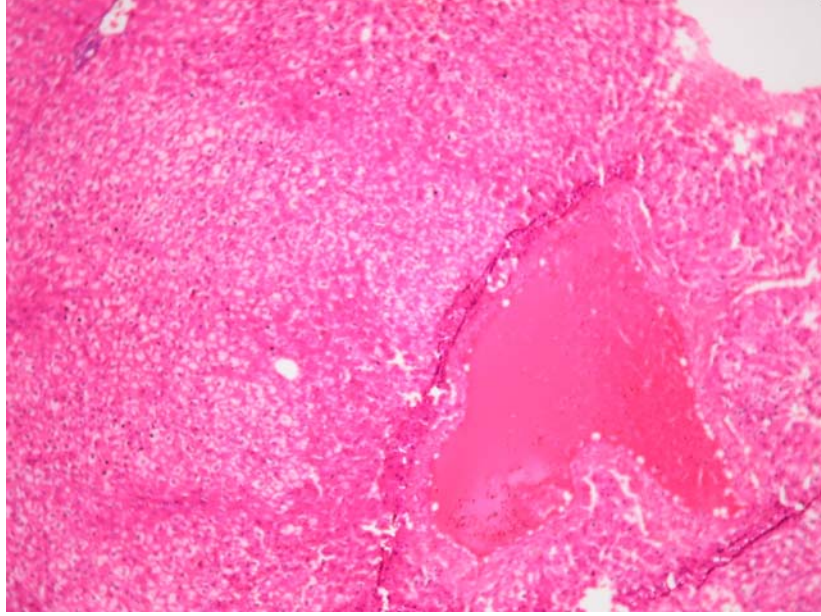
Yapılan histopatolojik incelemelerde saptanan bulgu örnekleri aşağıdaki şekillerde gösterilmektedir.



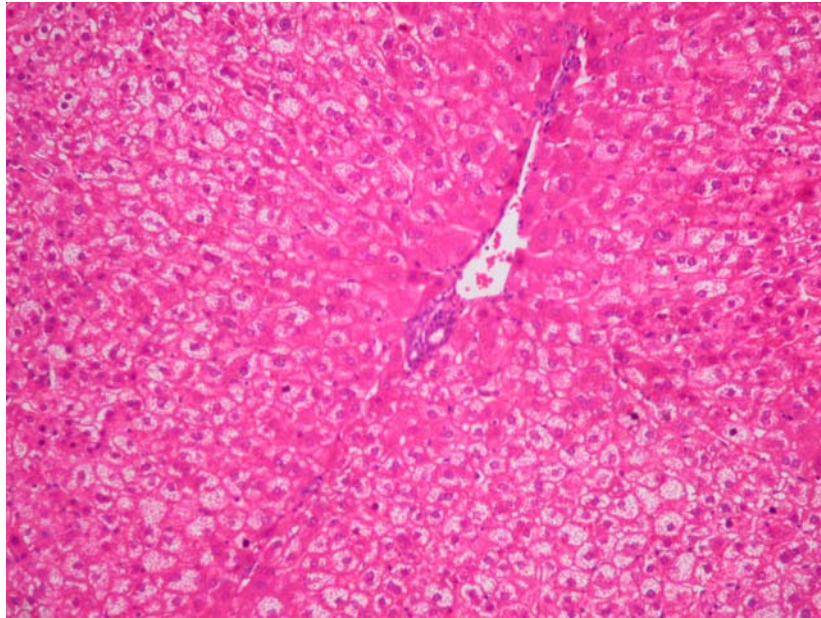
Şekil 31: Endosulfan, 3. olgu, Akciğer parankiminde kanama. X 150 H+E



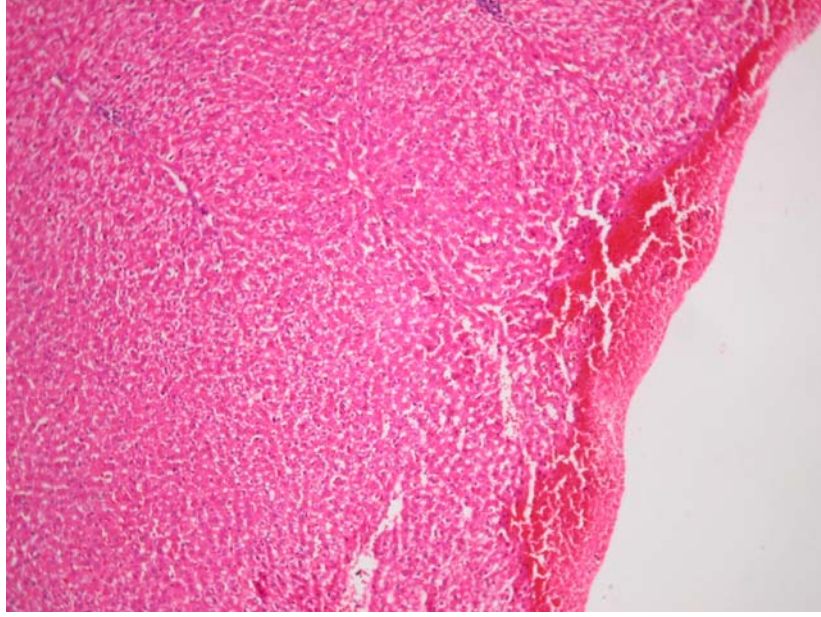
Şekil 32: Endosulfan, 2. olgu, Akciğer parankiminde kanama. X 350 H+E



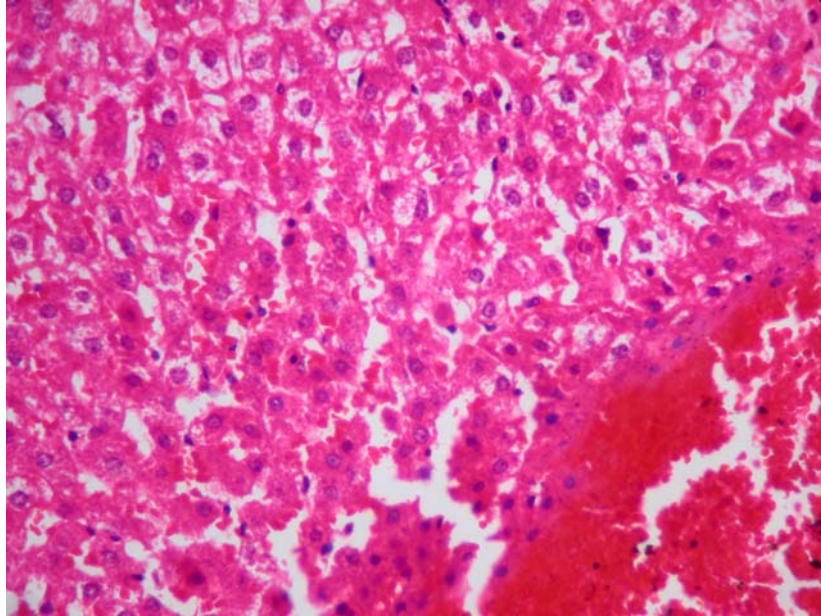
Şekil 33: Endosulfan, 1. olgu, Karaciğer, vasküler yapılarda belirgin dolgunluk. X 350 H+E



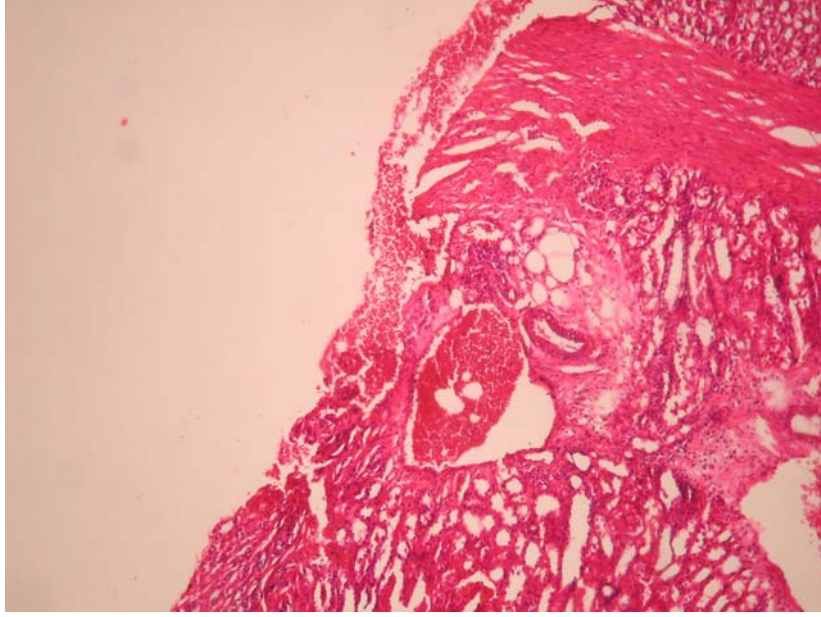
Şekil 34: Endosulfan, 3. olgu, Karaciğer, vakuolizasyon. X 475 H+E



Şekil 35: Endosulfan, 4. olgu, Karaciğer, subkapsüler taze kanama. X 350 H+E



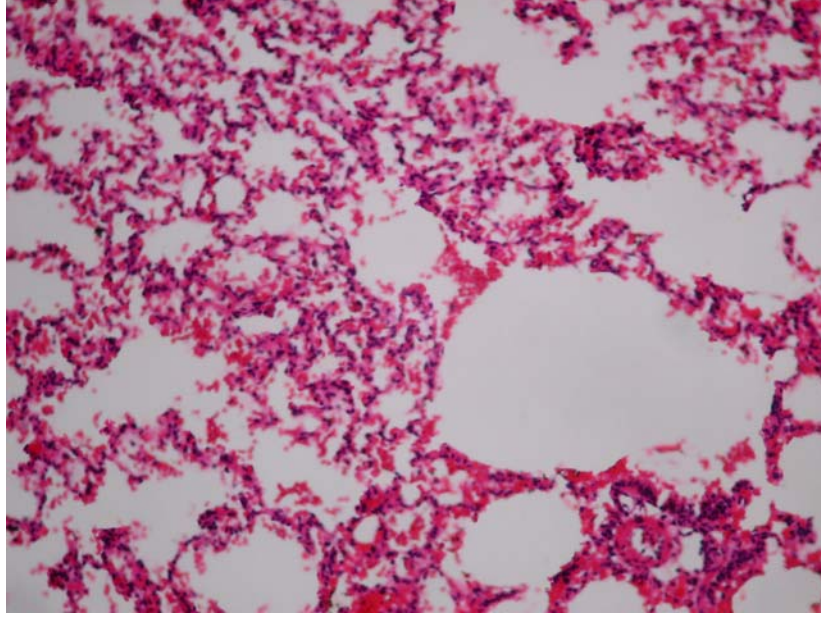
Şekil 36: Endosulfan, 4. olgu, Karaciğer, taze kanama. X 475 H+E



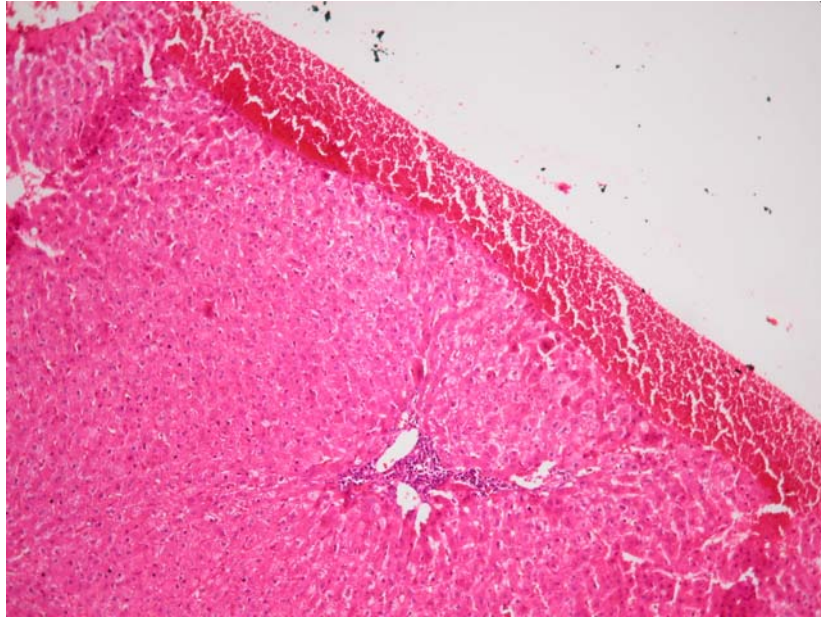
Şekil 37: Endosulfan, 2. olgu, Böbrek, Kaliksiyel kanama. X 150 H+E



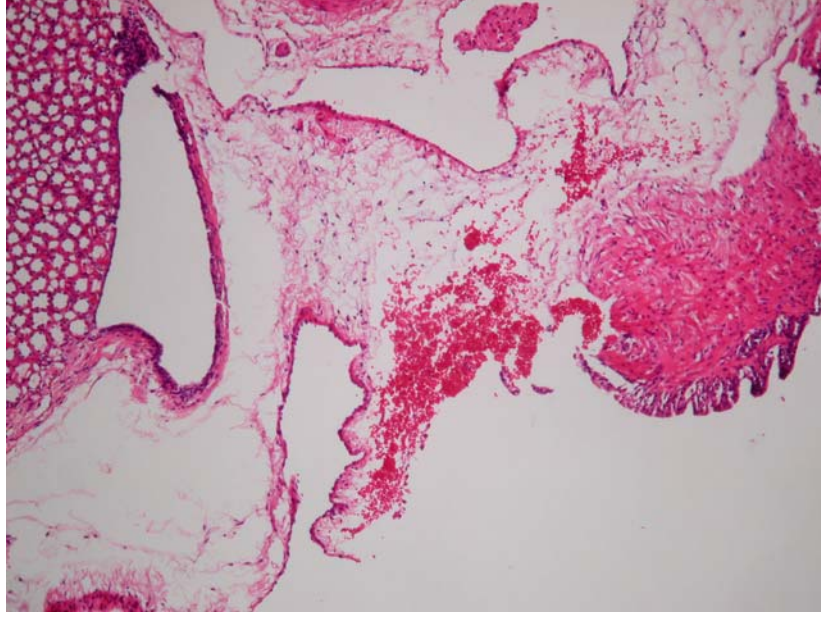
Şekil 38: Endosulfan, 3. olgu, Beyin, meningeal mesafede taze kanama. X 350 H+E



Şekil 39: Diazinon, 1. olgu, Akciğer, taze eritrosit ekstravazasyonları. X 475 H+E



Şekil 40: Diazinon, 4. olgu, Karaciğer, subkapsüler taze kanama. X 350 H+E



Şekil 41: Diazinon, 1. olgu, Böbrek, kaliksiyel kanama. X 350 H+E

Kontrol grubu; Kontrol grubundan alınan örneklerin toksikolojik analizinde herhangi bir toksik maddeye rastlanmadı. Dokuların histopatolojik incelemelerinde ise vasküler yapılarda yer yer hafif dolgunluk dışında özellik izlenmedi.

5. TARTIŞMA

Adli Tıbbın günlük uğraşlarında, zehirlenmeler, ölüm nedenleri arasında sıklıkla karşımıza çıkmaktadır. Zehirlenmeler çok değişik etkenlerle meydana gelebilmektedir ve bunların önemli bir kısmını oluşturan akut pestisit zehirlenmeleri tüm dünyada önemli bir yer tutmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü raporlarında, her yıl yaklaşık olarak 3 milyon pestisit zehirlenmesi meydana geldiği ve bu zehirlenmelerin 220.000'inin ölümle sonuçlandığı belirtilmektedir.^{1,2}

Geniş tarım alanları bulunan Çukurova Bölgesinde, tarım zararlılarına karşı yaygın pestisit kullanımı söz konusudur. Koruyucu önlemlerin alınmaması veya eksikliği nedeni ile akut ve kronik zehirlenmeler oluşmaktadır. Zehirlenme sonucunda meydana gelen ölüm olguları, adli vaka olarak kabul edilerek, otopsi işlemi ile ölüm orijininin ve ölüm nedeninin ortaya konması gerekmektedir. Ancak adli tıp uzmanı azlığı nedeniyle, otopsi işleminin yapılmadığı veya sağlık ocağı hekimlerine yaptırıldığı bilinmektedir. Otopsi yapılmadan gömülen bu olgularda daha sonra bazı iddiaların ortaya çıkması nedeniyle cesedin tekrar incelenmesi kaçınılmazdır.⁷⁷⁻⁷⁹ Cesedin gömülmesi ve tekrar incelenmesi arasında geçen sürenin uzadığı olgularda ölüm nedeni ve mekanizmasının saptanması güçleşecektir. Bölgemizde önceden yapılan bir çalışmada bu olguların yaklaşık %62'sinde ölüm nedeninin saptanamadığı belirtilmektedir.⁸⁰ Bu tür olgularda çürüme ve dış faktörler etkisiyle yaygın doku harabiyeti meydana geldiğinden, histopatolojik tanı araçları ancak postmortem erken dönemde kullanılabilmektedir. Zehirlenmelere bağlı ölümlerde organlar ileri derecede çürümüş olsalar bile tam bir toksikolojik analizle ölüme neden olan ajanlar belirlenebilmektedir. Adli tıp uygulamalarında, toksikolojik incelemeler için genellikle kan ve bazı organlar örneklenmektedir. Ancak çürümenin ilerleyen evrelerinde bile kemik yapı tarafından korunduğu için doku kaybına uğramayan ve geniş bir damar ağına sahip olması nedeniyle ilaçlar için potansiyel bir depo olan kemik iliği göz ardı edilebilmektedir. Yapılan çalışmalarda; postmortem çürümüş visseral yapılarda birçok toksikolojik ajanın görülebildiği, kemik yapı ve kemik iliğinde metamfetamin, desipramin ve opiatların saptanabildiği ifade edilmektedir.^{81,82,93-95} Çalışmamızda, tavşanlarda letal dozda endosulfan ve diazinon uygulanması ile akut zehirlenme modeli

oluşturularak ölümden sonra kemik iliği örneklerinde pestisit varlığının ortaya konduğu ve kemik iliğinin pestisit zehirlenmelerine bağlı ölüm olgularında tanısal amaçlı kullanılabileceği gösterildi.

Literatürde, organoklorlu insektisitlerin akut etkilerinin insanlarda, toksik ajan alındıktan yaklaşık 30-60 dakika sonra bulantı ve kusma ile başladığı belirtilmektedir. Daha sonra tremor, dilde ve dudaklarda uyuşma, kas fasikülasyonları, hareket bozuklukları, solunum depresyonu, tonik klonik konvülziyonların meydana geldiği bildirilmektedir.^{25,39,96} Çalışmamızda, endosulfan uygulanan tavşanların literatürle uyumlu olarak uygulamadan ortalama 47,6 dakika sonra generalize konvülziyon geçirmeye başladıkları ve bunun sonrasında ölümün meydana geldiği görüldü.

Diazinon indirek etkili bir organofosforlu bileşik olduğundan etkin olabilmesi için biyoaktivasyon ile diazoxon'a dönüşmesi gerekmektedir.⁴⁰ Çalışmamızda, GC-MS ile dokuların analizinde diazoxon izlenmemesi diazinon uygulanan tavşan grubunda diazinonun henüz aktif metabolitine dönüşmediği veya dönüşüm düzeyinin hesaplanamayacak kadar düşük olduğunu düşündürmektedir. Tavşanlara diazinon verildikten sonraki gözlemimizde bu grupta spesifik bir klinik bulgunun görülmemesi diazinonun aktif metabolitine dönüşmediği görüşünü desteklemektedir.

Bütün toksikolojik analizlerde olduğu gibi pestisit çalışmalarında da daha net sonuçlar elde edilebilmesi için kullanılan doku ekstraksiyon yöntemi çok önemlidir. Çalışmamızda hem organoklorlu hemde organofosforlu pestisitlerin doku ekstraksiyonları için daha kısa süreli ve daha etkin yöntemler geliştirmek amacıyla, literatürde önceden uygulandığı belirtilen yöntemler gözden geçirilerek modifiye edildi.

Yapılan çalışmalarda hidrofilik yapıda organofosforlu bir pestisit olan diklorvosun LLE yöntemi ile ekstraksiyonlarında geri kazanım oranlarının %63-75 arasında değiştiği ancak SPE uygulamasında bu oranların %27-30 civarında olduğu saptanmıştır.^{28,97} Ancak lipofilik organofosforlu bileşikler ve organoklorlular için SPE yönteminin daha güvenilir bir metod olduğu bildirilmektedir. İnsan kanında diazinon seviyelerinin araştırıldığı bir çalışmada SPE yönteminin uygulandığı ve geri kazanım oranının %87.92 olduğu rapor edilmektedir.⁹⁸ Bundan dolayı çalışmamızda hem endosulfan hem de diazinon analizlerinde, katı faz ekstraksiyonu (solid phase extraction, SPE) yöntemi tercih edildi. Uyguladığımız SPE yöntemi ile geri kazanım oranları

literatürle uyumlu olarak diazinon için %93-100, endosulfan için ise %85-100 olarak saptanmıştır.

Barr ve ark. yaptığı ve çok sayıda pestisit araştırıldığı bir çalışmada ekstraksiyonda doku örneğinin 1 g sodyum sülfat ile muamele edildiği ifade edilmekte ve diazinon geri kazanım oranının %25-27 arasında değiştiği belirtilmektedir.⁸⁸ Russo ve ark. çalışmalarında ise diazinon ekstraksiyonu için çalışılan 1g dokunun 5g sodyum sülfat ile homojenize edildiği ifade edilmektedir.⁹⁹ Ancak, yöntem belirleme aşamasında yaptığımız ön çalışmalarda, sodyum sülfat ile muamele ettiğimiz örneklerde diazinon geri kazanım oranı sıfır iken, sodyum sülfat ile homojenizasyon yapmadığımız örneklerde geri kazanım oranının %93-100'e yükseldiği görüldü. Bu nedenle diazinon ekstraksiyonunda sodyum sülfat kullanılmamasının geri kazanım oranlarını yükselteceği ve bu şekilde daha anlamlı sonuçlar elde edilebileceği kanaatindeyiz.

Yapılan bir çalışmada organofosforlu pestisitlerin önemli bir kısmının kan dolaşımında çok uzun süre kalmadığı, bu nedenle serum pestisit düzeylerinin çoğunlukla organlardan daha düşük olduğu bildirilmektedir.¹⁰⁰ Bununla uyumlu olarak bizim çalışmamızda da serum diazinon düzeylerinin ortalaması 0,40 mg/L olarak saptanırken en düşük ortalama sahip organ olan beyinde bile bu düzeyin 19 mg/L olduğu görüldü.

Diazinon, emilimi gerçekleştikten sonra hızlı bir şekilde yağ doku, karaciğer, böbrekler ve tükrük bezlerinde birikmeye başlamaktadır, aynı zamanda lipofilik olduğu için kan-beyin bariyerini de kolayca geçmektedir.⁴⁰ Çalışmamızda, çalışılan tüm dokularda diazinonun saptanması bu bilgiyi desteklemektedir. Ancak yapılan analizlerde hiçbir dokuda diazinon metabolitleri saptanmamıştır. Bu bulgu diazinonun, tavşanların dekapite edildiği zamanda henüz metabolitlerine dönüşmemiş olabileceğini düşündürmektedir. Diazinon metabolitlerinin temel atılım yolu olan idrarın analizi yapılmadığı için diazinon biyotransformasyonu ile ilgili kesin bir yorum yapılamamaktadır.

Elsirafy ve ark.'ın akut diazinon zehirlenmesi oluşturulmuş ratların çürümüş visseral yapılarındaki, 8 haftalık kronolojik diazinon seviyeleri ile ilgili çalışmasında; diazinon düzeylerinin mide ve barsak örneklerinde karaciğerden alınan örneklerle göre daha yüksek olduğu belirtilmektedir. Ayrıca ilerleyen dönemlerde diazinon düzeylerinin mide barsak örneklerinde düzenli bir şekilde azaldığı, ancak karaciğer örneklerinde

dalgalanma gösterdiği belirtilmektedir.⁸¹ Çalışmamızda, tavşanlar öldükten hemen sonra ve gömüldükten bir ay sonra örnekleme yapıldığından çürümüş yapılarda diazinon düzeylerinin kronolojik değişimi ile ilgili yorum yapılamamaktadır. Ancak mezar açma sonrasında alınan kemik iliği ve çürümüş visseral yapılarda diazinon düzeylerinin postmortem ilk anda alınan örneklerle göre anlamlı derecede yüksek olduğu dikkati çekmektedir. Ölümden hemen önce ağız yolu ile verilen zehirli maddenin gastrointestinal sistemden emilmeyen kısmı, ölümden sonra difüzyon ile çevre organlara dağılacaktır. İleriyen dönemde batın içindeki bütün organların çürümenin etkisi ile bir araya toplanması ve homojenize olması göz önüne alındığına çürümüş visseral yapılardaki yüksek diazinon düzeyi beklenen bir bulgudur. Çalışmamızda, örneklenen dokulardaki diazinon düzey ortalamaları incelendiğinde, en yüksek diazinon düzeyinin 3327,26 mg/L ile çürümüş yapı örneklerinde olduğu görüldü. Daha sonra sırası ile çürümüş kemik iliğinde, 1783,26 mg/L > karaciğerde, 85,14 mg/L > postmortem ilk kemik iliğinde, 71,08 mg/L > böbrekte 23,05 mg/L > akciğerde 20,95 mg/L > beyinde 19 mg/L > serumda 0,40 mg/L diazinon saptandığı dikkati çekti.

Detoksifikasyon sürecindeki en önemli organ karaciğerdir. Endosulfan burada uğradığı biyotransformasyon aşamaları ile ether, sulfate ve diol metabolitlerine dönüşmekte ve buradan diğer dokulara yayılım olmaktadır. Kuvarega ve Taru tarafından yapılan bir çalışmada endosulfana maruz kalan memelilerin dokularında saptanan tek metabolitin endosulfan sulfate olduğunu bildirmektedirler.⁹⁶ Bunun aksine, yaptığımız çalışmada, çoğu dokuda endosulfanın hem ether hem de sulfate metabolitlerinin bulunduğu dikkati çekti.

Goebel ve ark. yaptığı bir çalışmada, endosulfan diolün çok hızlı bir şekilde idrarla atıldığı, bundan dolayı hiçbir dokuda saptanmadığı bildirilmektedir.¹⁰¹ Buna paralel olarak bizim çalışmamızda da hiçbir dokuda endosulfan diol saptanamamıştır. Endosulfan diolün temel atılım yolu olan idrarın analizi yapılmadığı için endosulfan diol düzeyleri ile ilgili yorum yapılamamaktadır.

Yapılan çalışmalarda endosulfanın biyotransformasyon ile dönüştüğü metabolitlerinin hidrofilik olmaları nedeniyle vücuttan hızlı bir şekilde atıldıkları ve özellikle endosulfan sulfatın dokulardaki varlığının çok kısa sürdüğü bildirilmektedir.¹⁰² Yaptığımız çalışmada, ölümden hemen sonra alınan bütün doku örneklerinde endosulfan sulfate saptanırken, çürümüş kemik iliği örneklerinde endosulfan sulfate

saptanmadığı, çürümüş visseral yapı örneklerinin de sadece bir tanesinde endosulfan sulfate mevcut olduğu dikkati çekti.

Chan ve Mohd tarafından yapılan bir çalışmada, 15 gün boyunca gavaj yöntemiyle endosulfan uygulandıktan sonra dekapite edilen ratların plazma örneklerinde ne endosulfan izomerlerinin ne de metabolitlerinin saptanmadığı bildirilmektedir. Aynı çalışmada alınan karaciğer ve böbrek örneklerinde ise sadece endosulfan sulfate saptandığı ifade edilmektedir. Yine uzun süre endosulfana maruz kalmış sıçan dokularını analiz eden Kuvarega ve Taru ise dokularda hem endosulfan izomerleri hem de endosulfan sulfatın varlığını göstermişlerdir.^{91,96} Bizim çalışmamızda da, Kuvarega ve Taru'nun çalışmasına benzer olarak, saptanan endosulfan izomer ve metabolitlerinin ortalama düzeylerine bakıldığında hemen hemen tüm dokularda endosulfan izomer ve metabolitlerinin saptandığı dikkati çekmektedir. Chan ve Mohd ile farklılığın, çalışmamızda akut zehirlenme modeli oluşturulmuş olmasından kaynaklandığı kanaatindeyiz. Çünkü endosulfan uygulanmasından yaklaşık 56,4 dakika sonra ölen tavşanlarda toksik maddenin vücuttan atılımının bu sürede sonlanamayacağı açıktır.

Endosulfanın organ düzeylerine dair yapılan literatür taramasında, iki ana görüşün ağırlık kazandığı görülmektedir. Yaptıkları çalışmalarda böbrek düzeylerinin karaciğerdekilerden daha yüksek olduğunu saptayan araştırmacılar, böbreğin toksik maddenin vücuttan atılımı için hedef organ olması nedeniyle böbrek endosulfan düzeyinin daha yüksek olmasının beklenen bir bulgu olduğunu savunmuşlardır.^{91,103,104} Karaciğer endosulfan düzeylerinin böbrektekilerden daha yüksek olduğunu tespit eden araştırmacılar ise bunu karaciğerin detoksifikasyon organı olarak yüksek biyokimyasal aktiviteye sahip olmasına bağlamışlardır.^{95,105} Çalışmamızda ise endosulfan izomer ve metabolit karaciğer düzeylerinin, -endosulfan ether hariç- böbrek ve diğer bütün dokulardan çok daha yüksek olduğu dikkati çekti. Bu bağlamda, letal dozdaki akut zehirlenme ve buna bağlı ani ölüm olgularında, endosulfan düzeylerinin detoksifikasyon ve biyodegradasyon aktivitelerinin yoğunluğu nedeniyle karaciğerde daha yüksek olduğu, kronik ve düşük doz endosulfan maruziyetinde ise atılım için hedef organ olan böbrekte endosulfan düzeylerinin daha yüksek olacağını düşünmekteyiz.

Yapılan çalışmalarda endosulfana maruz kalmış sıçanların karaciğer, kas ve yağ dokularında yapılan tekrarlı analizlerde her üç dokuda da endosulfan ve endosulfan

sulfate miktarının doğrusal bir şekilde azaldığı ve endosulfan sulfatın yıkılımının endosulfana göre daha hızlı olduğu belirtilmektedir.^{96,106} Bu bulgu ile benzer olarak çalışmamızda da ölümden bir ay sonra tüm endosulfan izomer ve metabolit düzeylerinde ilk alınan örneklerle göre azalma olduğu görüldü. Endosulfan sulfatın %43,6 oranında bir azalma ile en hızlı azalma gösteren (yıkılan) bileşik olduğu, endosulfan etherin %28,57, endosulfan izomerlerinin ise %23 oranında azaldığı dikkati çekti.

Çalışmamızda ölümden hemen sonra alınan kemik iliği örneklerinde alfa ve beta endosulfan saptanmadığı halde, çürümüş kemik iliği örneklerinde her iki izomerin de mevcut olduğu görüldü. Ölümden hemen sonra bir alanda saptanmayan toksik bir maddenin daha sonraki analizlerde aynı bölgede görülmesi literatürde şu şekilde izah edilmektedir. Ani ölüme neden olan yüksek doz zehirlenmelerinde mide ve barsaklara geçen toksik maddenin hepsi emilmemektedir. Emilmeden kalan zehirli madde, ölümden sonra gerek çürümenin etkisiyle gerekse difüzyonla batin çevre organ-dokulara ve kan damarlarına geçmektedir. Toksikolojik analiz için örnekleme ölümünden uzun süre sonra yapıldığı olgularda ve vücudun resüsitasyon gibi basınçla karşılaştığı durumlarda, kalp veya damarlardaki kanın yer değiştirmesi; zehirli maddenin, ölümden önce mevcut olmadığı alanlara yayılmasını sağlayabileceği belirtilmektedir.¹⁰⁷⁻¹⁰⁹ Çalışmamızda ölümden sonraki ilk kemik iliğinde saptanmayan alfa ve beta endosulfanın, yukarıda belirtilen nedenlere ek olarak gömülme pozisyonu nedeniyle kanın ve vücut sıvılarının yerçekimi nedeniyle çürümekte olan ekstremitelere doğru çökmesi ve çevre dokulardan pasif difüzyon ile kemik iliğine geçmiş olabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda, alınan örneklerdeki endosulfan izomer ve metabolitlerinin düzey ortalamaları karşılaştırıldığında; ölümden hemen sonraki ortalamaların, endosulfan sulfat 0,461 mg/L, endosulfan izomerleri (alfa ve beta) 0,315 mg/L, endosulfan ether 0,14 mg/L iken, çürümüş örneklerdeki ortalamaların, endosulfan sulfat 0,26 mg/L, endosulfan izomerleri (alfa ve beta) 0,242 mg/L, endosulfan ether 0,10 mg/L şeklinde olduğu görüldü.

Pestisit zehirlenmelerine ikincil meydana gelen ani ölüm olgularında yardımcı tanı araçlarından biride histopatolojik incelemelerdir. Yapılan çalışmalarda deneysel akut pestisit zehirlenmesi olgularında saptanan histopatolojik değişimlerin nonspesifik

olduğu belirtilmektedir. Literatürde fosfin, endosulfan, metil paration, methamidophos ile deneysel olarak rat ve balıklarda gerçekleştirilen akut letal veya subletal zehirlenme olgularından alınan örneklerde izlenen histopatolojik bulgular şu şekildedir;

Karaciğer örneklerinde; portal ödem, portal vasküler yapılarda dolgunluk, sinüzoidal mesafelerde dolgunluk, hepatositlerde vakuolizasyon saptanırken, daha nadir olarak hepatositlerde nükleer fragmentasyon, hepatosit nekrozu, hipertrofisi, çekirdeklerde piknozis ve subkapsüler hemoraji izlendiği belirtilmektedir.

Böbrek incelemelerinde, tübüllerde ve tübül aralarında eksüdasyon, çok nadir olarak da tübüler ve glomerüler nekrosis izlendiği ifade edilmektedir.

Beyin dokusunda ise taze eritrosit ekstrevasyonları dışında herhangi bir histopatolojik değişim izlenmediği bildirilmektedir.⁷¹⁻⁷⁵

Çalışmamızda, karaciğer incelemelerinde literatürle uyumlu olarak vasküler yapılarda dolgunluk (VYD), sinüzoidal mesafelerde dolgunluk (SMD), vakuolizasyon, subkapsüler hemoraji gibi histopatolojik değişimlerin yoğunlukta olduğu dikkati çekti. Bunun yanında üç diazinon ve bir endosulfan zehirlenmesi olgusunda karaciğerde değişik derecelerde parankim içerisine taze kanama (PİTK) olduğu görüldü.

Beyin dokusunun histomorfolojik incelemelerinde, endosulfan grubunun iki olgusunda perivasküler taze eritrosit ekstrevasyonları (TEE) mevcut iken literatür verilerinin aksine bazı olgularda VYD, subaraknoidal kanama (SAK) (iki endosulfan grubu olgusu) ve ödem mevcut olduğu saptandı. Beyindeki bu değişimlerin endosulfan uygulanan tavşan grubunda daha yoğun olduğu dikkati çekti.

Böbrek dokusunda literatürden farklı olarak pelvi-kaliksiyel sistemde kanama (üç endosulfan, bir diazinon grubu olgusu) olduğu, tübül ve glomerüllerde belirgin patoloji olmadığı dikkati çekti.

Her iki tavşan grubunun akciğer örneklerinde en sık bulgu VYD ve TEE iken, endosulfan grubunda dört olguda PİTK ve ödem olması dikkati çekti. Bu bulgulara göre, endosulfan ve diazinon uygulanan tavşanlarda sıklıkla non-spesifik histopatolojik değişikliklerin mevcut olduğu görülmektedir. Her iki grup arasında anlamlı bir fark olmamakla beraber, hemen hemen bütün değişikliklerin endosulfan uygulanan grupta daha yoğun olduğu dikkati çekmektedir.

Adli toksikolojide, zehirlenmeye bağlı ölüm olgularında tanısal analizlerde geleneksel olarak kan, vücut sıvıları ve karaciğer, böbrek ve beyin gibi bazı organlar

incelenmektedir. Diğer yandan vücut ağırlığının yaklaşık %14'ünü oluşturan ve vücuda alınan zehirli maddeler için potansiyel bir depo görevi görebilen kemik ve kemik iliği gibi parankimatöz olmayan dokular toksikolojik incelemelerde göz ardı edilebilmektedir.^{110,111}

Adli tıp uygulamalarında, toksikolojik analiz için uygun kan ve yumuşak doku örneklerinin kontaminasyon ve çürüme nedeniyle elde edilemediği durumlarla sıkça karşılaşilmektedir. Bu durumda geniş bir damar ağına ve önemli miktarda lipit matrikse sahip olması nedeniyle birçok kimyasal madde için bir hedef bölge konumunda olan, ayrıca kemik yapı tarafından korunmasından dolayı dış faktörlerden az etkilenen, kemik iliği dokusu alternatif bir örnekleme alanı olabilmektedir.^{93,110,112}

Literatürde genelde tavşanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, trisiklik antidepresan, barbitürat ve benzodiazepin gibi verilen birçok ilacın postmortem kemik iliği düzeylerinin serum düzeyleri ile paralellik gösterdiği bildirilmektedir. Bu açıdan, çürüme sürecinin geç bağladığı bir doku olan kemik iliğinin alternatif bir örnek olarak göz önünde bulundurulması gerekliliği ifade edilmektedir.^{110,112}

Endosulfan ve diazinonun dokularda karakteristik histopatolojik lezyon oluşturmaması nedeniyle zehirlenmeye bağlı ölümlerde histopatolojik incelemenin tanısal değerinin düşük olduğunu, kesin tanının toksikolojik analizlerle ortaya konmasının daha uygun olacağını düşünmekteyiz.

Çalışmamızda, diazinon uygulanan tavşanlarda, çürümüş visseral yapı ve çürümüş kemik iliği diazinon düzeyleri ortalamalarının, ölümden hemen sonra alınan organ ve kemik iliği düzey ortalamalarından anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı. Ayrıca, endosulfan uygulanan gruptan alınan örneklerdeki endosulfan izomer ve metabolit düzeyleri arasında anlamlı bir fark olmadığı dikkati çekti. Bu bulgular ışığında, otopsi yapılmadan gömülen cesedin mezardan çıkarılarak tekrar incelenmesi gerekliliğinin ortaya çıktığı akut zehirlenme kaynaklı ölüm olgularında, hem çürümüş yapılardan hem de kemik iliğinden elde edilen örneklerin -uygun ekstraksiyon yöntemi kullanılarak- toksikolojik analizi ile ölüm nedeninin ortaya konabileceği anlaşılmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Bu çalışmada, 13 adet Yeni Zelanda türü tavşan deneyde kullanılmak üzere üç gruba ayrıldı. Altı tavşandan oluşan bir gruba 110 mg/kg Endosulfan diğer gruba ise 2500 mg/kg diazinon uygulandı. Bir tavşan ise kontrol olarak kullanıldı. Tavşanlar, öldükten veya dekapite edildikten hemen sonra venöz kan, karaciğer, akciğer, böbrek, beyin ve kemik iliği örnekleri alındı ve toprağa gömüldü. Gömülmeden bir ay sonra mezardan çıkarılan tavşanlardan çürümüş visseral yapı ve kemik iliği örnekleri alındı.
2. Alınan kan ve doku örnekleri belirlenen metodlarla ekstraksiyon işlemine tabi tutuldu. Hem endosulfan hem de diazinon grubu için en yüksek geri kazanımı (diazinon için %93-100, endosulfan için ise %85-100) sağlayan SPE yöntemi uygulandı. Dokular histopatolojik inceleme için H+E ile boyanmış preparatlar haline getirildi.
3. Yöntem belirleme aşamasında yaptığımız ön çalışmalarda, sodyum sülfat ile homojenize edilen örneklerde diazinon geri kazanım oranının sıfır olduğu, sodyum sülfat ile homojenizasyon yapılmadığı takdirde aynı örneklerde diazinon geri kazanım oranının %93-100'e yükseldiği görüldü. Bu bağlamda, diazinon ekstraksiyonunda sodyum sülfat kullanılmaması ile geri kazanım oranının yükseleceği ve daha anlamlı sonuçlar elde edilebileceği görüldü.
4. Ekstraksiyon işleminden sonra serum ve doku örnekleri GC-MS cihazı kullanılarak analiz edildi. Dokuların ışık mikroskopik incelemeleri yapıldı.
5. Analiz sonucunda, diazinon düzey ortalamalarının; ölümden hemen sonra alınan karaciğer örneklerinde 85,14 mg/L, kemik iliğinde 71,08 mg/L, böbrekte 23,05 mg/L, akciğerde 20,95 mg/L, beyinde 19 mg/L ve serumda 0,40 mg/L olup, mezar açma esnasında alınan çürümüş yapılarda 3327,26 mg/L, kemik iliğinde (783,26 mg/L şeklinde sıralandığı görüldü.
6. Endosulfan izomer ve metabolitlerinin düzey ortalamalarına bakıldığında; ölümden hemen sonraki ortalamaların, endosulfan sülfat 0,461 mg/L, endosulfan izomerleri (alfa ve beta) 0,315 mg/L, endosulfan ether 0,14 mg/L iken, çürümüş örneklerdeki

ortalamaların, endosulfan sulfat 0,26 mg/L, endosulfan izomerleri (alfa ve beta) 0,242 mg/L, endosulfan ether 0,10 mg/L şeklinde idi.

7. Endosulfan uygulanan grupta ölümden bir ay sonra tüm endosulfan izomer ve metabolit düzeylerinde ilk alınan örneklerle göre azalma olduğu görüldü. Endosulfan sulfatın %43,6 oranında bir azalma ile en hızlı yıkılan bileşik olduğu dikkati çekti.
8. Histopatolojik incelemede, hem endosulfan hem de diazinon uygulanan grupta nonspesifik değişiklikler meydana geldiği ve karakteristik bir patolojik değişiklik olmadığı görüldü. Gruplar arasında anlamlı bir fark olmamakla beraber, mikroskobik değişikliklerin endosulfan uygulanan grupta daha yoğun olduğu dikkati çekti.
9. Endosulfan ve diazinonun dokularda karakteristik histopatolojik lezyon oluşturmaması nedeniyle pestisit zehirlenmelerine bağlı ölümlerde histopatolojik incelemenin tanısal değerinin düşük olduğu düşünüldü.
10. Adli tıp uygulamalarında, toksikolojik analiz için uygun kan ve yumuşak doku örneklerinin kontaminasyon ve çürüme nedeniyle elde edilemediği durumlarda; kemik yapı tarafından korunması, dış faktörlerden az etkilenmesi ve doku kaybının nispeten az olması nedeniyle kemik iliğinin yeterli miktarda örnek alınabilecek alternatif bir doku olarak kullanılabileceği görülmektedir.
11. Otopsi yapılmadan gömülen veya mezar açılarak cesedin tekrar incelenmesi gerekliliğinin ortaya çıktığı, zehirlenmeye bağlı ölüm olgularında hem çürümüş yapılardan hem de kemik iliğinden elde edilen örneklerin -uygun ekstraksiyon yöntemi kullanılarak- toksikolojik analizi ile ölüm nedeninin saptanabileceği anlaşılmaktadır.
12. Doku bütünlüğünün çürüme-kokuşma nedeniyle ileri derecede bozulduğu olgularda, analiz edilebilecek yumuşak doku bulunmaması durumunda kemik iliği örneklerinin rutin olarak alınmasının ve toksikolojik açıdan değerlendirilmesinin, ölüm nedeninin belirlenmesi noktasında, yararlı olacağı görülmektedir.
13. Bu çalışma ile mezardan çıkarılan olgularda hem organoklorlu hem de organofosforlu pestisitlerin kemik iliğinde saptanabilirliği ortaya konmuştur. Ancak, ölümden sonra ne zamana kadar saptanabileceğinin anlaşılması için, mezar açma sürelerinin daha uzun olduğu kronolojik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. **Vural N.** Toksikoloji . Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, **1996**;73:342-373.
2. **World Health Organization.** Organophosphorus Pesticides.
Erişim: <http://www.who.org>, Erişim tarihi: 13.07.2007
3. **Hilal A.** Rastgele Seçilmiş Adli Otopsi Olgularında Aterosklerozis Zemininde Chlamydia Pneumonia'nın Histokimyasal ve İmmünohistokimyasal Yöntemlerle Araştırılması. *Uzmanlık Tezi*, Çukurova Üniversitesi, Adana, **1998**.
4. **Alper B, Çekin N, Gülmen MK, Hilal A.** Adli Tıp Ders Notları. Adana: Çukurova Üniversitesi Basımevi, **2007**.
5. **Stevens PJ, Williams O.** Unexpected Death Due to Natural Disease. Camps F E. Grandwohl's Legal Medicine, 3rd Ed., Bristol: The Stonebridge Press, **1976**: 220-255.
6. **Eckert WG.** Introduction to Forensic Sciences. Eckert W G. Introduction to Forensic Sciences. 2nd Ed., New York: CRC Press, **1997**: 1-11.
7. **Rau J.** 13th Meeting International Association of Forensic Sciences. 1st Ed., Düsseldorf, Germany: Institute of Forensic Medicine, **1993**.
8. **Field KS.** History of the American Academy of Forensic Sciences, 50 Years of Progress 1948-1998. 1st Ed., Düsseldorf, Germany: 100 Barr Harbor Drive, **1998**.
9. **Gök Ş, Özen C.** Adli Tıbbın Tarihçesi ve Teşkilatlanması. İstanbul: Nazım Terzioğlu Matematik Araştırma Merkezi Baskı Atölyesi, **1982**.
10. **Johnson WD, Strong JP, Oalman MC, Newman WP, Tracy RE, Rock WA.** Sudden Death from Coronary Heart Disease in Young man. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, **1981**; 105: 227-232.
11. **Gök Ş.** *Adli Tıp-Dün, Bugün ve Yarın*. 1.Baskı, İstanbul: Temel Matbaacılık, **1995**.
12. **Karanfil R.** Ani-Beklenmedik Ölüm Olgularında Kardiyak İletisi Sistemi Patolojisinin Değerlendirilmesi. *Uzmanlık Tezi*. Çukurova Üniversitesi, Adana, **2004**.
13. **Gülmen MK, Çekin N, Hilal A, Alper B, Salaçin S.** Ülkemizde Adli Tıp Uygulamalarında Bilirkişilik Sisteminin Etik İlkeler Açısından Tartışılması. *Adli Tıp Bülteni*, **1998**; 3(2): 57-60.

14. **Gordon I, Shapiro HA.** Forensic Medicine, 2nd Ed., Edinburgh, London, Melbourne, New York: Longman Group Limited, **1982**.
15. **DiMaio DJ, DiMaio VJM.** Forensic Pathology. Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo: CRC Press, **1993**.
16. **Gülmen MK.** Medikolegal Otopsilerde Sağ Ventrikül Yağlanması Histokimyasal ve İmmünohistokimyasal Yöntemlerle Değerlendirilmesi. *Doktora Tezi*, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Adana, **1997**.
17. **Gök Ş.** *Adli Tıp*. 4.Baskı, İstanbul: Filiz Kitabevi, **1980**: 63-72.
18. **Knight B.** Simpson Adli Tıp. 10. Baskı, İstanbul: Bilimsel ve Teknik Yayınları Çeviri Vakfı Basım ve Cilti, **1995**: 187-201.
19. **Soysal Z, Çakalır C.** Adli Tıp. Cilt I, İstanbul, **1999**.
20. **Fenton JJ.** Forensic Toxicology. In James SH, Nordby JJ. Forensic Science An Introduction to Scientific and Investigative Technique. CRC pres. **2003**:45-60.
21. **Hearn.W.L.** Postmortem Toksikoloji. Drug Abuse Handbook. Edit. Karch.S.B. CRC pres. **1998**:863-871.
22. **Ulukan Ö.** Opiat türevlerinin post mortem Kan ve Kemik iliği düzeylerinin zamanla değişiminin incelenmesi. *Uzmanlık Tezi*. Adli Tıp Kurumu, İstanbul, **2004**.
23. **Saukko P, Knight B.** Knight's Forensic Pathology. 3rd edition. London, Arnold, **2004**.
24. **Hepler.B.R, Isenschmid.D.S.** Specimen Selection, Collection, Preservation and Security. Drug Abuse Handbook. Edit. Karch. S.B.CRC pres. **1998**: 873-889.
25. **Baban N.** Adli toksikoloji. Adli Tıp Kurumu Yayınları-8, İstanbul, **2003**.
26. **Yücel Ü.** Pestisitlerin insan ve çevre üzerine etkileri.
Erişim:<http://www.dogainsanisbirligidernegi.org.tr/makaleler/pestisitler.doc>. **2007**
Erişim tarihi: 15.07.2007.
27. **Klassen CD, Amdur MO, Doull J.** Casarett and Doull's Toxicology: Basic Science of Poisons, 6th Edition, McGraw-Hill International Editions, New York, **2001**: 763-784.
28. **Dağhoğlu N.** Akut Organofosfatlı Pestisit Entoksikasyonlarının Sıçanlarda Deneyisel Olarak Gösterilmesi. *Yüksek Lisans Tezi*. Çukurova Üniversitesi, Adana, **2004**.

29. **Malley M.** Clinical evaluation of pesticide exposure and poisonings. *The Lancet*, **1997**; 349: 1161-1166.
30. **Delen N, Durmuşoğlu E, Güncan A, Güngör N, Turgut C, Burçak A.** Türkiye’de pestisit Kullanımı, kalıntı ve organizmalarda duyarlılık azalışı sorunları. *Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongre*.**2002**.
31. **Dağ SS, Aykaç VT, Gündüz A, Kantarcı M, Şişman N.** Türkiye’de tarım ilaçları endüstrisi ve geleceği. *Türkiye Ziraat Mühendisliği V. Teknik Kongresi*, Ankara, **2000**; 2: 933-958.
32. Organophosphorus Pesticides.
Erişim: <http://www.inchem.org/documents/pims/chemical/pimg001.htm>,
Erişim Tarihi: 17.07.2007.
33. Diazinon.
Erişim: http://www.inchem.org/documents/pds/pds/pest45_e.htm, Erişim Tarihi: 17.07.2007.
34. **Dökmeci İ.** Toksikoloji, Zehirlenmelerde Tanı ve Tedavi. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, **2001**.
35. **Kwon GS, Shon HY, Shin KS.** Biodegradation of the organochlorine insecticide, endosulfan, and the toxic metabolite, endosulfan sulfate, by *Klebsiella oxytoca* KE-8. *Appl Microbiol Biotechnol*, **2005**; 67: 845–850.
36. Endosulfan.
Erişim: http://www.inchem.org/documents/pds/pds/pest15_e.htm, Erişim Tarihi:17.07.2007.
37. **Güler Ç, Çobanoğlu Z.** Pestisitler. *Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi, No:52*. Sağlık Bakanlığı Yayınları. İlköz Matbaası, Ankara, **1997**.
38. **Garfitt SJ, Jones K, Mason HJ, Cocker J.** Exposure to the organophosphate diazinon: data from a human volunteer study with oral and dermal doses. *Toxicology Letters*, **2002**; 134:105–113.
39. **Marrs CT, Ballantyne B.** Pesticide Toxicology and International Regulation, John Wiley & Sons Ltd, England, **2004**.
40. **Vale JA.** Toxicokinetic and toxicodynamic aspects of organophosphorus OP insecticide poisoning. *Toxicology Letters*, **1998**; 102-103: 649-652.
41. **Michael Eddleston et al.** Pesticide poisoning in the developing world—a minimum pesticides list. *Lancet*, **2002**; 360: 1163–67.
42. **Marrs TC.** Organophosphate Poisoning. *Pharmacol. Ther.* **1993**;58:51-66.

43. **Scharf J, Wiesiollek R, Bachmann K.** Pesticides in atmosphere. *Fresenius J Anal Chem*, **1992**; 342: 813-816.
44. **Namba T, Nolte C, Jackrel J, Grob D.** Poisoning Due to Organophosphate Insecticides, Acute and Chronic Manifestations, *The American Journal of Medicine*, **1972**; 50: 475-492.
45. **Shimizu K, Shiono H, Fukushima T, Sasaki M, Akutsu H, Sakata M.** Tissue Distribution of DDVP after fatal ingestion. *Forensic Sci Int*, **1996**; 83: 61-66.
46. **Galloway T, Handy R.** Immunotoxicity of organophosphorus pesticides. *Ecotoxicology*, **2003**; 12: 345-363.
47. **Kehrer JP.** Free radical as mediator of tissue injury and disease. *Crit. Rev. Toxicol.* **1993**; 23: 21-48.
48. **Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A.** Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. Medisan Yayın Serisi: 35, Ankara, **1998**: 222-355.
49. **Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaie A.** Pesticides and oxidative stress : a review. *Med. Sci. Monit.*, **2004**; 10: 141-147.
50. **Gangadharan B.** Effect of methoxychlor on antioxidant system of goat epididymal sperm in vitro. *B. Asian J. Androl.*, **2001**;3: 285-88.
51. **Koner BC, Banerjee BD, Ray A.** Organochlorine pesticide-induced oxidative stress and immune suppression in rats. *Indian J. Exp. Biol.*, **1998**; 36:395-398.
52. **Abdollahi M, Bahreini-Moghadam A, Emmami B, Fooladian F, Zafariet K.** Increasing intracellular cAMP and cGMP inhibits cadmium-induced oxidative stress in rat submandibular saliva. *Comp. Biochem. Physiol. C*, **2003**;135: 331-336.
53. **Kalender S, Kalender Y, Öğütçü A, Uzunhisarcıklı M, Durak D, Açıkgöz F.** Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats: the protective effect of vitamin E. *Toxicology*, **2002**; 202: 227-235.
54. **Wortling CR, Hance RJ.** The Pesticide Manual. British crop protection council, 9th Ed, **1991**; 259-260.
55. **Moses M.** Pesticides. in: Last J. M Public Health and Preaventive Medicine. 13. th ed. Prentice Hail. NewYork, **1992**.
56. **Schwartz DA, LoGerfo JP.** Congenital Limb Reduction Defects in The Agricultural Setting. *Am J Public Health*, **1988**; 78:654-657.

57. **Schardein J. R.**, Chemically Induced Birth Defects, Marcel Dekker, New York, **1985**.
58. **Rita P, Reddy PP, Reddy SV**. Monitoring of Workers Occupationally Exposed to Pesticides in Grape Garden of Anhdra Pradesh. *Environ Res*, **1987**;44:1-5.
59. **Axelrad JC, Howard CV, McLean WG**. The effects of acute pesticide exposure on neuroblastoma cells chronically exposed to diazinon. *Toxicology*, **2003**; 185: 67-78.
60. **Tian Y, Yamauchi T**. Micronucleus formation in 3-day mouse embryos associated with maternal exposure to chlorpyrifos during the early preimplantation period. *Reproduc Toxicol*, **2003**; 17: 401-405.
61. **Abbas R, Hayton WL**. Gas Chromatographic Determination of Parathion and Paraoxon in Fish and Tissues. *J Anal Toxicol*, **1996**; 20: 151-154.
62. **IARC**, Occupational exposures in insecticide application and some pesticides IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, *IARC*, **1991**; 53: 267-309.
63. **Oglobline AN, O'Dannell, Geyer R, Holder GM, Tattom B**. Routine Gas Chromatographic Determination of Dialkylphosphate Metabolites in the urine of Workers Occupationally Exposed to Organophosphorus Insecticides. *Journal of Analytical Toxicology*, **2001**;25:153-157.
64. **Mahieu P, Hassoun A, Binst VR, Lauwerys R, Deheneffe Y**. Severe and Prolonged Poisoning by Fenthion. Significance of the Determination of the Anticholinesterase Capacity of Plasma. *J.Toxicol.-Clin.Toxicol*,**1982**; 19: 425-432.
65. **Heudorf U, Angerer J**. Metabolites of Organophosphorous Insecticides in Urine Specimens from Inhabitants of a Residential Area. *Environ Research*, **2001**;86:80-87.
66. **Cocker J, Mason HJ, Garfitt SJ, Jones K**. Biological monitoring of exposure to organophosphate pesticides. *Toxicology Letters*, **2002**; 134 : 97-103.
67. **Junting L, Chuichang F**. Solid Phase Extraction Method for Rapid Isolation and Clean-up of Some Synthetic Pyrethroid Insecticides from Human Urine and Plasma. *Forensic Sci Int*, **1991**; 51: 89-93.
68. **Richter ED, Safi J**. Pesticide Use, Exposure, and Risk: A Joint Israeli-Palestinian Perspective. *Environ Research*,**1997**; 73 :211-218.
69. **Namera A, Utsumi Y, Yashiki M, Ohtani M, Imamura T, Kojima T**. Direct colorimetric method for determination of organophosphates in human urine. *Clin Chim Acta*, **2000**; 291 : 9-18.
70. **Aprea C, Colosio C, Mammone T, Minoia C, Maroni M**. Biological monitoring of pesticide exposure: a review of analytical methods. *J Chromatogr B*, **2002**; 769:191-219.

71. **Saleki S, Ardalan FA, Nejad AJ.** Liver histopathology of fatal phosphine poisoning. *Forensic Science International*, **2007**; 166:190–193.
72. **Satar S, Satar D, Mete UO, Suchard JR, Topal M, Kaya M.** Ultrastructural Effects of Acute Organophosphate Poisoning on Rat Kidney. *Renal Failure*, **2005**;27:623–627.
73. **Satar S, Satar D, Tap Ö, Köseoğlu Z, Kaya M.** Ultrastructural Changes in Rat Liver Treated with Pralidoxime Following Acute Organophosphate Poisoning. *Mount Sinai Journal of Medicine*, **2004**;71(6):405–410.
74. **Altınok İ, Çapkın E.** Histopathology of Rainbow Trout Exposed to Sublethal Concentrations of Methiocarb or Endosulfan. *Toxicologic Pathology*, **2007**; 35:405–410.
75. **Narayana K, Prashanthi N, Nayanatara A, Bairy KL, D'souza JAU.** An Organophosphate Insecticide Methyl Parathion (O-O-Dimethyl O-4-Nitrophenyl Phosphorothioate) Induces Cytotoxic Damage and Tubular Atrophy in the Testis Despite Elevated Testosterone Level in the Rat. *The Journal of Toxicological Sciences*, **2006**;31(3):177-189.
76. **Kök AN.** Adli hekimlik hizmetlerinin yerine getirilmesinde Sağlık Bakanlığı (Sağlık ocakları) ve Adalet Bakanlığı (Adli Tıp Kurumu) hizmetlerinin karşılaştırılması. *Yıllık Adli Tıp Toplantıları Kitabı*, **2002**:19-22.
77. **Kolusayın Ö.** Panel: Adaletin oluşmasında otopsinin yeri. *I. Ulusal adli Tıp Günleri Kitabı*, **1984**: 12-14.
78. **Gök Ş, Kırangil B, Fincancı ŞK.** Otopsi. *Adli Tıp Dergisi*, **1987**; 3(3): 87-93.
79. 5271 sayılı Ceza Muhakemesi Kanunu. Ankara: Tekağaç Eylül kitap yayın dağıtım Ltd. Şti., **2005**.
80. **Çekin N, Eryılmaz M, Hilal A, Akçan R, Meral D.** Bölgemizdeki feth-i kabir olguları. *12. Ulusal Adli Tıp Günleri Kitabı*. Antalya, **2005**; 205-209.
81. **Elsirafy A.A., Ghanem A.A., Eid A.E., Eldakroory S.A.** Chronological study of diazinon in putrefied viscera of rats using GC/MS, GC/EC and TLC. *Forensic Science International*, **2000**;109(2): 47-157.
82. **Cope G.W., Leidy B.R., Hodgson E.** In: Hodgson E. A textbook of Modern Toxicology. 3th.Ed., New Jersey, Canada: Wiley-Interscience, **2004**: 49-74.
83. **Soriano T, Jurado C, Menendez M, Repetto M.** Improved Solid-Phase Extraction Method for Systematic Toxicological Analysis in Biological Fluids. *J Anal Toxico.*, **2001**; 25: 137-143.

84. **Juhler RK.** Optimized method for the determination of organophosphorus pesticides in meat and fatty matrices. *J Chromatogr A*, **1997**; 786: 145-153.
85. **Kuo TL.** Soild Phase Extraction and Spectrophotometric Determination of Paraquat in Biological Fluid. *TIAFT/SOFT International Meeting*. USA, **1994**: 96-101.
86. **Lacossie E, Marquet P, Gaulier JM, Dreyfuss MF, Lachatre G.** Sensitive and spesific multiresidue methods for the determination of pesticides of various classes in clinical and forensic toxicology. *Forensic Science International*, **2001**; 121: 116-125.
87. **Söylemezoğlu T, Çeçen ŞŞ.** Katı faz ekstraksiyon yöntemi ve analitik toksikolojide uygulanması. Ankara Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü Yayını (1), Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi, **2003**.
88. **Barr DB , Barr JR , Maggio VL , Whitehead Jr. RD, Sadowski MA, Whyatt RM, Needham LL.** A multi-analyte method for the quantification of contemporary pesticides in human serum and plasma using high-resolution mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, **2002**;778:99–111.
89. **International Atomic Energy Association.** IAEA-MEL/MESL training manual No.12, **1998**.
90. **Frias MM, Torres MJ, Frenich1 AG, Vidal1 JLM, Olea SF, Olea N.** Determination of organochlorine compounds in human biological samples by GC-MS/MS. *Biomed. Chromatogr.* **2004**;18: 102–111.
91. **Chan MM, Mohd MA.** Analysis of Endosulfan and its methabolites in rat plasma and selected tissue samples by gas chromatography- mass spectrometry. *Environ Toxicol*, **2005**;20:45-52.
92. **Ramesh A, Ravi PE.** A Rapid and sensitive analytical method fort he quantification of residues of endosulfan in blood. *J. Environ Monit*, **2002**; 4:190-193.
93. **Raikos N, Tsoukali H, Njau SN.** Determination of opiates in postmortem bone and bone marrow. *Foresic Science International*, **2001**; 123: 140-141.
94. **Winek CL, Westwood SE, Wahba WW.** Plasma versus bone marrow desipramine: a comperative study. *Foresic Science International*, **1990**; 48: 49-57.
95. **Nagata T, Kimura K, Hara K, Kudo K.** Methamphetamine and amphetamine concentrations in postmortem rabbit tissues. *Foresic Science International*, **1990**; 48: 39-47.
96. **Kuvarega AT, Taru P.** Accumulation of Endosulfan in Wild Rat, Rattus norvegious as a Result of Application to Soya Bean in Mazoe (Zimbabwe). *Environ Monit Assess*, **2007**;125:333–345.

97. **Futagami K, Narazaki C, Kataoka Y, Shuto H, Oishi R.** Application of high-performance thin-layer chromatography for the detection of organophosphorus insecticides in human serum after acute poisoning. *J Chromatograph*, **1997**; 704: 369-373.
98. Diazinon Analytical methods. **Erisim:** <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp86-c7.pdf>.
Erişim Tarihi: 20.08.2007
99. **Russo MV Campanella L, Avino P.** Determination of organophosphorus residues in human tissues by capillary gas chromatography-negative chemical ionization mass spectrometry analysis. *Journal of Chromatography B*, **2002**; 780:431-441.
100. **Akgür SA, Öztürk P, Yemişçigil A, Ege B.** Rapid communication: Postmortem distribution of organophosphate insecticide in human autopsy tissues following suicide. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, **2003**;66:2187-2193.
101. **Goebel H, Gorbach S, Knauf W, Rimpau RH, Huttenbach H.** Properties, effects, residues and analytics of the insecticide Endosulfan. *Residue Rev*, **1982**;83:1-174.
102. **Maier-Bode H.** Properties, effects, residues and analytics of the insecticide Endosulfan. *Residue Rev*, **1968**;22:1-44.
103. **Ansari RA, Siddiqui MKJ, Gupta PK.** Toxicity of endosulfan: distribution of alfa and beta isomers of racemic endosulfan following oral administration in rats. *Toxicol Lett*, **1984**;21:29-33.
104. **Dikshith TSS, Raizada RB, Srivastava MK, Kaphalia BS.** Response of rats to repeated oral administration of endosulfan. *Ind Health*, **1984**;22:295-304.
105. **Dorough HW, Huhtanen K, Marshall TC, Bryant HE.** Fate of Endosulfan in rats and toxicological considerations of apolar metabolites. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **1978**;8:241-252.
106. **Coats JR.** Mechanisms of toxic action and structure–activity relationships for organochlorine and synthetic pyrethroid insecticides. *Environmental Health Perspectives*, **1990**;87:255–262.
107. **Koski A.** Interpretation of postmortem toxicology. Academic Dissertation. University of Helsinki, Department of Forensic Medicine, **2005**.
108. **Pelissier AAL, Gaulier JM, Champsaur P, Marquet P.** Mechanism underlying postmortem redistribution of drugs: a review. *J Anal Toxicol*, **2003**; 27(8):533-544.
109. **Pounder DJ, Owen V, Quigley C.** Postmortem changes in blood amitriptyline concentration. *American Journal of Forensic Medicine and Pathology*, **1994**; 15(3):224-230.

110. **Cengiz S, Ulukan Ö, Ates İ, Tugcu H.** Determination of morphine in postmortem rabbit bone marrow and comparison with blood morphine concentrations. *Forensic Science International*, **2006**;156: 91–94.
111. **McIntyre I, King C, Boratto M, Drummer O.** Postmortem drug analyzes in bone and bone marrow. *Therapeutic Drug Monitoring*, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, **2000**, pp. 79–83.
112. **Winek C, Susa D.** Blood versus bone marrow methanol concentrations in rabbits. *Forensic Sci. Int*, **1982**;19:165–175.

ÖZGEÇMİŞ

- Adı Soyadı** : Ramazan AKÇAN
- Doğum Tarihi ve Yeri** : 01.03.1977, Erüh / Siirt
- Medeni Durumu** : Evli
- Adres** : Yurt Mah. 143. Sok. Fatih Sit. A Blk.
Kat: 1 No: 1
Seyhan/Adana
- E. mail** : akcanmd@hotmail.com
akcanmd@yahoo.com
- Mezun Olduğu Tıp Fakültesi** : İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi (2002)
- Görev Yerleri** : 1- Aşağısağmallı Sağlık Ocağı, Özalp/Van
2- Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Adli Tıp ABD
- Dernek Üyelikleri** : Adli Tıp Uzmanları Derneği
- Yabancı Dil** : İngilizce