

SİFLUTRİN'İN İMMUNOTOKSİKOLOJİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Hidayet YAVUZ*
Selim SEKKİN***

Ayhan FİLAZİ**
Mehmet ÖZDEMİR****
Cavit KUM***

Ali BİLGİLİ*
İsmail KUTLU*****

Investigation of the immunotoxicologic effects of Cyfluthrin

Summary: At this study, the effects of a synthetic pyrethroid insecticide cyfluthrin on the immune system were investigated. It was observed a supresion increasing dose-dependent on humoral and cell-mediated immunity in rabbits which were administrated cyfluthrin orally daily at doses 25 mg/kg and 55 mg/kg. The suppression rates determinated on humoral immunity for 25 mg/kg and 55 mg/kg doses were %15 and 43, respectively. After 24 and 48 hours from PPD administration, the suppression rates on the cell-mediated immunity for 25 mg/kg and 55 mg/kg doses were determined as 17.3 % and 17.7%; 27.8% and 29.8%, respectively.

Key Words: Cyfluthrin, humoral immunity, cell-mediated immunity, rabbit.

Özet: Bu çalışmada, bir sentetik piretroid insektisid olan siflutrin'in immun sistem üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Günlük olarak ağız yoluyla 25 ve 55 mg/kg dozunda ilaç uygulanan tavşanlarda, artan doza bağlı olarak, hü-moral ve hücrel immunitede baskılanma saptanmıştır. Hü-moral immunitede tayin edilen baskılanma oranları 25 ve 55 mg/kg dozlar için sırasıyla %15 ve 43'dür. Hücrel immunitede tesbit edilen baskılanma oranları ise, PPD uygulanmasından 24 ve 48 saat sonra 25 mg/kg doz için sırasıyla, %17.3 ve 17.7; 55 mg/kg doz için %27.8 ve 29.8 olarak ölçülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Siflutrin, humoral immunité, hücrel immunité, tavşan.

Giriş

Sentetik piretroid insektisidler diğer pestisid çeşitlerine göre nisbeten yeni olan bileşiklerdir. Bu grup bileşikler tarım alanlarında, veteriner hekimlikte, ormancılıkta, halk ve çevre sağlığı ile depolanmış ürünlerin korunmasında uçan ve yürüyen haşerelere karşı seçkin bir şekilde kullanılmaktadır (2, 8, 15, 17). Sentetik piretroid insektisidler gerek insan ve gerekse hayvanlarda periferik ve merkezi sinir sisteminde aksonal düzeyde sodyum kanallarına etkilemek suretiyle etki gösterirler. Ayrıca, bazı bile-

şiklerin (örn. fenvalerat, deltametrin, sipermetrin gibi.) gama amino butirik asit (GABA) reseptörünü inhibe edici etkileri de vardır (12, 17).

Günümüzde özellikle memeliler yönünden son derece güvenli oldukları belirtilen ve kullanım alanı bakımından bu özelliklerinden de faydalanılarak geniş boyutta kullanım gören ve son derece etkili olmaları sebebiyle diğer insektisid gruplarına alternatif olarak gösterilen sentetik piretroid insektisidlerin, nisbeten yeni grup bileşikler olmaları nedeniyle, kullanımları sonucu

* Doç. Dr., A.Ü. Vet. Fak. Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara.

** Araş. Gör. Dr., A.Ü. Vet. Fak. Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara.

*** Araş. Gör., Adnan Menderes Üniv. Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Aydın.

**** Araş. Gör., A.Ü. Vet. Fak. Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara.

***** Uzm. Biyolog, R.S. Hıfzıssıhha Merk., Ankara.

gözlenebilecek istenmeyen etkinliklerine yönelik yapılmış bilimsel çalışmaların sayısı son derece azdır. Belediyeler ve Sağlık Bakanlığının il ve ilçe teşkilatları tarafından çevre ilaçlaması ve halk sağlığını koruma ve veteriner hekimlikte dış parazitlerle mücadele amaçlarıyla yaygın bir şekilde kullanılan sentetik piretroid insektisidlere insan ve hayvanların sürekli maruz kalmaları kaçınılmazdır. Deney hayvanlarında ve memelilerde akut ve subakut zehirlilik bakımından son derece güvenli olan bu maddelerin, uzun süreli kullanılmalarında aynı ölçüde güvenli oldukları söylenemez. Çünkü bu gruptan bazı bileşiklerle yapılan çalışmalarda şu sonuçlar alınmıştır; uzun süreli yapılan araştırmalarda fenvaleratın lenf yumrusunda (3), deltametinin tiroide (4) ve permetrinin de yüksek dozlarda akciğerlerde neoplastik değişiklikler (10) oluşturduğu ortaya konulmuştur. Ayrıca, yapılan mutajenite testlerinde bu bileşiklerin metabolik aktivasyondan önce ve sonra mutasyonlara sebep olmadıkları belirtilmekle beraber (2), bazı bileşiklerin (örn. alletrin ve teralletrin) Ames testinde mutajenik oldukları tesbit edilmiştir (5, 11).

Yukarıda da belirtildiği üzere, sentetik piretroid insektisidler deney hayvanlarında ve memelilerde akut ve subakut zehirlilik bakımından son derece güvenli maddeler olmasına karşın, bu grup bileşiklerin canlı immün sistem üzerindeki etkileri yönünden değerlendirilmesi bakımından yapılmış çalışma sayısı son derece azdır. Bu nedenle bu çalışmada, gerek veteriner hekimlikte dış parazit ilacı olarak gerekse halk ve çevre sağlığı yönünden oldukça yaygın olarak kullanılan siflutrinin tavşanlarda hümmoral ve hüccresel immün cevap üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal

Hayvan Materyali: Çalışmada ağırlıkları 2-2.5 kg arasında değişen 35 adet Yeni Zellanda ırkı tavşan kullanıldı. Tavşanlar bireysel olarak kafeslerde tutularak çalışma süresince yeterince yem, yeşillik ve su verildi. İlaç uygulamasına geçilmeden önce tavşanlar 1 hafta süreyle karantina altına alındı.

İlaç: Çalışmada ilaç olarak Bayer firması tarafından temin edilen SOLFAC %5 EC kullanıldı.

Metot

Çalışmada kullanılan tavşanlar, hümmoral ve hüccresel immünite parametrelerinin değerlendirilmesi amacıyla önce 2 gruba (15'erli) ayrıldı.

Daha sonra hümmoral immün cevabın değerlendirilmesi için her grupta 5 hayvan olacak şekilde 3 grup oluşturuldu. Hüccresel immün cevabın değerlendirilmesi için de benzeri şekilde gruplandırma yapıldı. Ayrılan gruplardan biri kontrol olarak tutuldu.

Hümmoral immünite

Çalışmanın bu safhasında, hümmoral immünitenin değerlendirilmesi için ayrılan gruplardaki tavşanlara 5×10^9 yoğunluğunda S.thyphi aşısı kulak venasından 1 cc dozunda uygulandı. Aşı uygulamasına haftada bir kez olmak üzere 5 hafta süreyle devam edildi. Ayrılan gruplardan birisine 25 mg/kg, diğerine de 55 mg/kg dozunda siflutrin uygulaması mide sondası vasıtasıyla ağız yoluyla 5 hafta süreyle yapıldı. İlaç uygulaması ile aşı uygulaması aynı zamanda başlatıldı. Sadece S. thyphi uygulanan grup kontrol olarak tutuldu.

Hüccresel immünite

Hüccresel immünitenin değerlendirilmesi amacıyla ayrılan gruplardaki tavşanların hepsine 0.1 cc dozunda BCG aşısı deri altı yolla uygulandı. Gruplardan birisine 25 mg/kg, diğerine de 55 mg/kg dozunda 21 gün süreyle mide sondası vasıtasıyla ağızdan siflutrin verildi. Aşı uygulaması ile ilaç uygulamasına aynı zamanda başlatıldı. İlaç uygulaması sonunda gruplardaki tavşanların bir kasiğine 0.1 cc dozunda PPD (saf protein türevi, purified protein derivative) deri içi yolla uygulandı. Sadece BCG aşı uygulanan grup kontrol olarak tutuldu.

Testler

Tüp aglütinasyon testi (hümmoral immünitenin değerlendirilmesi)

Bu test ile antikorların antijene bağlanma kapasitesi tayin edildi. Her hafta aşı ve ilaç uygulamaları yapılmadan önce tavşanların kulak venasından kan alındı. Ayrılan kan serumlarındaki toplam antikor titreleri aglütinasyon tekniği ile ölçüldü. İlk tüplere 0.8 ml serum fizyolojik ve 0.2 ml serum konarak, birinci tüpten son tüpe doğru 1/100... 1/102.400 aralığında sulandırma işlemi yapıldı. Hazırlanan dilüsyonlar 37 °C'de 48 saat süreyle etüvde inkübe edildi. Aglütinasyonun görüldüğü son tüp serumdaki antikor düzeyi olarak kaydedildi (1, 13).

Tüberkülin deri testi (Gecikmiş tip aşırı duyarlılık testi)

PPD uygulamasından 24 ve 48 saat sonra uygulama bölgesindeki kasıkta şekillenen kızarıklık, sertlik ve şişlik alanının çapı kompas ile ölçülerek mm cinsinden kaydedildi (1, 9).

Patolojik inceleme

Çalışma sonunda, nekropsileri yapılan tavşanların makroskopik incelemeleri yapıldıktan sonra, hayvanların dalak, mezenteriyal medias-tinal lenf yumruları ve timus başta olmak üzere tüm organlarından ayrılan doku örnekleri %10'luk formalinde fikse edildi. Örnekler para-finde bloklandıktan sonra elde edilen kesitler hematoksilen eozin ile boyandı ve ışık mikroskobunda incelendi.

İstatistik değerlendirme

Hümmoral ve hümmresel immünite sonuçları-nın değerlendirilmesinde gruplar arasındaki karşılaştırmalar varyans analizi ile yapılmıştır.

Bulgular

Hümmoral immünitenin değerlendirilmesi amacıyla kontrol ve ilaç uygulanan tavşanların kan serumlarında ölçülen ortalama antikor titre-leri Tablo 1'de, ortalama verilerden faydalanarak kontrol ve ilaç grupları arasındaki karşılaştı-rma ise Şekil 1'de gösterilmiştir.

Kontrol ve ilaç uygulanan gruplardaki tavşanların antikor titrelerini gösteren Tablo 1 ve

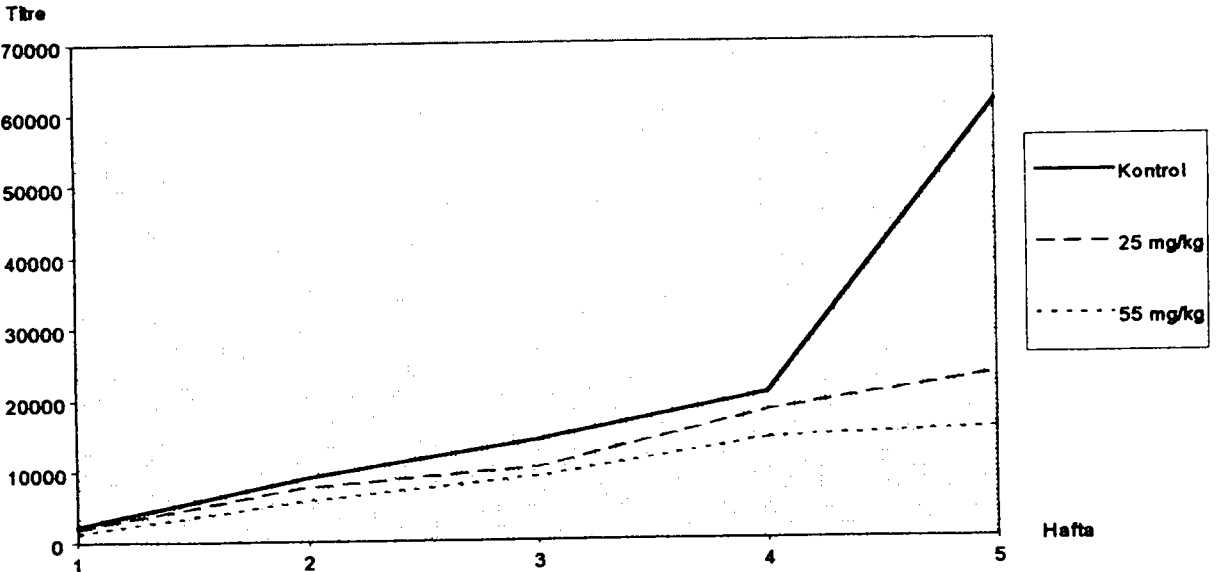
Şekil 1 incelendiğinde, ilaç uygulanan gruplar-da kontrol grubuna göre kan serumlarında ölçü-len antikor titrelerinde azalma saptanmıştır. Kontrol grubuna göre ilaç uygulanan gruplarda tesbit edilen baskılanma oranları 25 mg/kg için %15; 55 mg/kg için ise %43 olarak bulunmuş-tur. Her iki doz için, kontrol grubuna göre tesbit edilen hümmoral immünitedeki baskılanma 1, 2, 3 ve 4'üncü haftalarda istatistiki yönden bir önem taşımazken, 5'nci haftada önemli bulun-muştur ($P<0.001$).

Hümmresel immünitenin belirlenmesine yö-nelik olarak yapılan testte (gecikmiş tip aşırı duyarlılık testi) elde edilen bireysel verilerle or-talamaları Tablo 2'de ve ortalamalardan fayda-lanarak kontrol ve ilaç uygulanan gruplararası karşılaştırmalar ise Şekil 2'de verilmiştir.

Tablo 2 ve Şekil 2 incelendiğinde; kontrol grubuna göre ilaç (25 ve 55 mg/kg) uygulanan gruplarda, hümmresel immünitede baskılanma saptanmıştır. Baskılanma oranı, 25 mg/kg dozda ilaç verilen grupta 24 saat sonra %17.3, 48 saatte %17.7; 55 mg/kg dozda ilaç uygula-nan grupta ise 24 saat sonra %27.8 ve 48 saat sonra %29.8 olarak saptanmıştır. Her iki doz

Tablo 1. Hümmoral immünitenin değerlendirilmesinde ölçülen ortalama antikor titreleri.
Table 1. The average antibody titers measured for the detection of the hümmoral immune response.

| Ortalama | 1. hafta | 2. hafta | 3. hafta | 4. hafta | 5. hafta |
|----------|------------|-------------|--------------|--------------|---------------|
| Kontrol | 2240 391.9 | 8960 1567.6 | 14080 3135.3 | 20480 3135.3 | 61440 10240.0 |
| 25 mg/kg | 1920 320.0 | 7680 1280.0 | 10240 1567.7 | 17920 3135.3 | 23040 2560.0 |
| 55 mg/kg | 1280 195.9 | 5760 640.0 | 8960 1567.7 | 14080 3135.3 | 15360 2560.0 |



Şekil 1. Gruplar arası ortalama antikor titrelerinin karşılaştırılması.
Figure 1. Compare the average antibody titers among groups.

Tablo 2. İlaç ve kontrol gruplarında 24 ve 48 saat sonra ölçülen (mm) deri reaksiyon sonuçları
Table 2. The results of the skin reaction measured (mm) in the groups of drug and control after 24 and 48 hours.

| | BCG | 25 mg/kg | 55 mg/kg |
|----------|-----------|-----------|-----------|
| 24 saat | 8.1 | 6.6 | 5.5 |
| | 7.4 | 6.8 | 6.0 |
| | 7.9 | 5.8 | 5.3 |
| | 7.6 | 6.5 | 5.4 |
| | 7.8 | 6.4 | 5.8 |
| Ortalama | 7.76 0.12 | 6.42 0.17 | 5.60 0.13 |
| 48 saat | 9.6 | 7.8 | 6.4 |
| | 8.9 | 8.0 | 7.0 |
| | 9.4 | 7.0 | 6.3 |
| | 9.2 | 7.7 | 6.2 |
| | 9.2 | 7.6 | 6.6 |
| Ortalama | 9.26 0.11 | 7.62 0.17 | 6.50 0.14 |

grubunda saptanan baskılanma düzeyi kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında istatistiki yönden önemli bulunmuştur ($P < 0.001$).

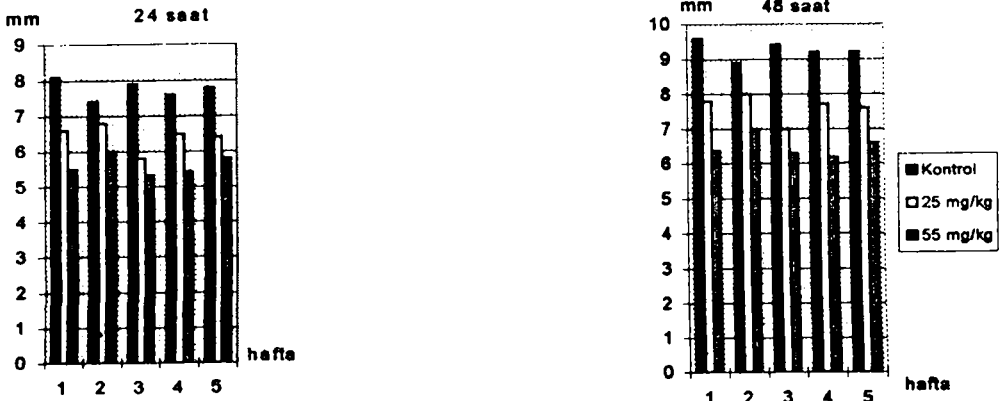
Patolojik bulgular; Nekropside hayvanların tümünde kayda değer bulguya rastlanılmamıştır. Histopatolojik incelemelerde ise, kontrol grubuna göre gerek hüromal gerekse hüresel immünitinin değerlendirilmesi için ayrılan her iki doz grubundaki hayvanların hemen tümünde timuslarında fokal kanamalara rastlanılmıştır. Bununla beraber BCG+ilaç uygulanan bazı tavşanların lenf yumrusu ve dalaklarındaki lenfoid foliküllerinin parakortikal bölgeleri ile S.thyphi+ilaç uygulanan bazı hayvanların aynı dokularındaki lenfoid foliküllerin merkezlerin-

de büyük, açık çekirdekli blast formunu almış lenfositler gözlenmiştir. Ayrıca söz konusu lenfoid dokularda ve çevre bölgelerindeki az sayıdaki lenfositlerin karyoreksise uğradığı tesbit edilmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Giriş kısmında da belirtildiği üzere, son derece geniş boyutta kullanım gören ve uygulama yeri ve çevresindeki canlılar yönünden diğer insektisidlere nazaran son derece güvenli oldukları belirtilen sentetik piretroid insektisidlerin, nisbeten yeni bileşikler olmaları nedeniyle özel ve özel olmayan istenmeyen etkinliklerinin belirlenmesine yönelik olarak yapılmış çalışma sayısı son derece azdır. Bu gruptan bileşiklerin, uygulandıkları yer ve çevresinde yaşayan canlıların immün sistemi üzerindeki etkinliklerini araştıran çalışma sayısı da son derece azdır. Geniş boyutta yapılan literatür çalışmaları sonucunda bu gruptan bazı bileşiklerin canlı immün sistemi üzerindeki etkinliklerini araştıran çalışma sonuçları ile bu çalışmada elde edilen veriler karşılaştırılarak genel bir değerlendirilmeye gidilecektir. Konu ile ilgili olarak bazı bilim adamlarınca yapılmış araştırma sonuçları aşağıda verilmiştir.

Desi ve ark. (6, 7) tarafından sentetik piretroid bir insektisid olan sipermetrinin ratlara ağız yoluyla uygulanan üç farklı dozunun (300, 150 ve 75 mg/kg) hüromal ve hüresel immünite (gecikmiş tip aşırı duyarlılık testi) parametreleri üzerinde oluşturabilecekleri etkinlikleri araştırılmıştır. Bu çalışmada elde edilen verilere göre; en yüksek iki dozda ilaç uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre gerek hüromal gerekse hüresel immünite baskılanma olduğu ortaya konulmuştur. Ayrıca, patolojik olarak tüberkülin+sipermetrin uygulanan tavşanların dalak ve lenf yumrularındaki lenfoid dokuların timusa



Şekil 2. Hüresel immünite üzerine siflutrin'in etkisi. Tüberkülin deri testi.
Figure 2. The effect of cyfluthrin on the cell-mediated immunity. Tuberculin skin test.

bağlı bölgelerinde yer alan lenfositlerde azalma ve lenfoid follikülerde yıkım saptamışlardır (7).

Tamang ve ark. (16) sipermetrinin farelerde gecikmiş tip hücrel immünite ve keçilerde hem gecikmiş tip hücrel immünite hem de humoral immünite üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonuçlarına göre; sipermetrinin fare ve keçilerin gecikmiş tip hücrel immünitesinde, keçilerde de humoral immünitede baskılanma oluşturduğunu tesbit etmişlerdir.

Stelzer ve ark. (14) fareler üzerinde yaptıkları araştırmada, alletrin, sipermetrin, fenpropatrin ve permetrinin humoral (B-lenfosit proliferasyonu) ve hücrel (T-lenfosit proliferasyonu) immünitede %90-100 oranlarında bir baskılanma saptamışlardır.

Yukarıda bazı araştırmacılar tarafından yapılmış araştırma sonuçları ile bu çalışmada elde edilen veriler karşılaştırıldığında, genel bir sonuç olarak, araştırmalarda kullanılan sentetik piretroid insektisidlerin gerek humoral immünite gerekse hücrel immünite üzerine bir baskılanma oluşturduğu görülmektedir. Yine bu çalışmada histopatolojik olarak dalak ve lenf yumrularındaki bazı lenfositlerde karyoreksisin görülmesi, diğer yandan timusta kanama ile karşılaşılması, siflutrinin hücrel ve humoral immüniteyi az çok etkilediğini kanıtlar nitelikte bulunmuştur.

Sonuç olarak; bu çalışma ile sentetik piretroid bir bileşik olan siflutrin'in in vivo olarak canlı immün sistemi üzerindeki etkinliği araştırılarak ilacın hem humoral immünite hem de hücrel immünite (gecikmiş tip aşırı duyarlılık testi) üzerinde baskılanma oluşturduğu ortaya konulmuştur.

KAYNAKLAR

1. Bilgehan, H. (1981). *Genel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi*. Ege Üniv. Tıp Fak. Yayın No.84, İzmir.
2. Bradbury, S.P. and Coats, J.R. (1989). *Comparative toxicology of the pyrethroid insecticides*. Rev Environ Toxicol. 108: 133-177.
3. Cabral, J.R.P. and Galendo, D. (1990). *Carcinogenicity study of the pesticide fenvalerate in mice*. Cancer Lett. 49: 13-18.
4. Cabral, J.R.P., Galendo, D., Laval, M. and Lyandrat, N. (1990). *Carcinogenicity studies with deltamethrin in mice and rats*. Cancer Lett. 49: 147-152.
5. Casida, J.E., Gammon, D.W., Glickman, A.H. and Lawrence, L.J. (1983). *Mechanisms of selective action of pyrethroid insecticides*. Ann Rev Pharmacol Toxicol 23: 413-438.
6. Desi, I, Varga, L, Dobrony, I. and Szklenarik, G. (1985). *Immunotoxicological investigation of the effects of a pesticide: Cypermethrin*. Arch Toxicol Suppl. 8: 305-309.
7. Desi, I, Dobrony, I. and Varga, L. (1986). *Immunoneuro- and general toxicologic animal studies on a synthetic pyrethroid. Cypermethrin*. Ecotoxicol Environ Saf. 12: 220-232.
8. Dikshith, T.S. S (1990). *Pesticides*. 1-39. In: Dikshith, T.S. S(ed.) Toxicology of Pesticides in Animals. CRC press, Inc.
9. Gülmezoğlu, E. (1979). *Bağışıklığın Temelleri*. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, A/16, Ankara.
10. Ishmael, J.and Litchfield, M.H. (1988). *Chronic toxicity and carcinogenic evaluation of permethrin in rats and mice*. Fundam Appl Toxicol. 11: 308-322.
11. Kimmel, E.C., Casida, J.E. and Ruza, L.C. (1982). *Identification of mutagenic photoproducts of the pyrethroids allethrin and terallethrin*. J Agric Food Chem. 30: 623-626.
12. Lawrence, L.J. and Casida, J.E. (1983). *Sterospecific action of pyrethroid insecticides on the gamma amino butyric acid receptor-ionophore complex*. Science. 221: 1399-1401.
13. Moyer, N.P., Holcomb, L.A. and Hausler, W.J. (1991). *Manual of Clinical Microbiology. Essentials and Applications*. 5 th. ed. American Society for Microbiology, Washington.
14. Stelzer, K.J. and Gordon, M.A. (1984). *Effects of pyrethroids on lymphocyte mitogenic responsiveness*. Res Commun Chem Path Pharm. 46: 137-150.
15. Şanlı, Y. (1984). *Türkiye'de pestisid kullanımından kaynaklanan çevre besin kirlenmesi sorunları*. Türkiye'de Veteriner İlaçları Üretimi, Pazarlanması, Güvenli Kullanımı ve Kalıntı Sorunları Sempozyumu. 13-14 Ekim, Ankara.
16. Tamang, R.K., Jha, G.J., Gupta, M.K, Chauhan, H.V.S. and Tiwary, B.K. (1988). *In vivo immunosuppression by synthetic pyrethroid (Cypermethrin) pesticide in mice and goats*. Vet Immun Immunopath. 19: 299-305.
17. Valentine, W.M. (1990). *Toxicology of Selected Pesticide. Drugs and Chemicals. Pyrethrin and pyrethroid insecticides*. Vet Clin North Am. (Small Anim Pract). 20:375-382.

NOT: Bu araştırmada histopatolojik incelemenin yapılmasına imkan sağladığı için Patoloji Anabilim Dalına teşekkür ederim.

Yazışma Adresi : Doç. Dr. Hidayet YAVUZ
A.Ü. Veteriner Fakültesi
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı
Dışkapı/ANKARA