

TAVŞANLARDA KLORAMFENİKOL, FENOBARBİTAL VE NİKETAMİD'İN, ANİLİN'İN OLUŞTURACAĞI METHEMOGLOBİN ÜZERİNE ETKİLERİ.

Bahri EMRE¹
İlksin PİŞKİN²

Vedat SAĞMANLIGİL³
Abdullah DOĞAN³

In rabbits, the effects of chloramphenicol, phenobarbital and nikethamide on aniline-induced methemoglobinemia.

Summary: Investigation was carried out to determine the effects of chloramphenicol, phenobarbital and nikethamide on aniline-induced methemoglobinemia.

In this study, 28 male 2-3 month old New Zeland albino rabbits weighing 1.5-2 kg were used. The rabbits were divided into four groups equally and treated intramuscularly for 5 days as follows: group I (control)- given saline (2-3 ml), group II- given chloramphenicol (5 mg/kg) group III- given phenobarbital sodium (15 mg/kg) and group IV- given nikethamide (0.5 mg/kg). After 24 hr, aniline was given as a single dose of 50 mg/kg from the ear vein of the rabbits. The levels of methemoglobin were measured from the blood samples as using spectrophotometric method before and after 25 and 240 min of aniline injection.

In the first group, the percentage of methemoglobin was increased at 25 min followed by a decrease to the basal level at 240 min. This increase was not observed in the presence of chloramphenicol (group II). Giving aniline in the presence of phenobarbital and nikethamide (group III and IV) increased the percentage of methemoglobin at 25 min similar to the injection of aniline in the absence of them but after 240 min it did not come down to the basal level obtained at the beginning.

Özet: Araştırma, kloramfenikol, fenobarbital ve niketamidin, anilin verilmesi sonucunda oluşan methemoglobin üzerine etkilerini tesbit amacıyla yapılmıştır.

Bu çalışmada, ağırlıkları 1.5-2 kg olan 2-3 aylık, 28 erkek Yeni Zelanda ırkı albino tavşan kullanıldı. Tavşanlar eşit olmak üzere 4 gruba bölündüler. 1. kontrol grubundakilere serum fizyolojik (3-4 ml), 2. gruptakilere kloramfenikol (5 mg/kg), 3. gruptakilere fenobarbital sodyum (15 mg/kg) ve 4. gruptakilere niketamid (0.5 mg/kg) 5 gün süreyle i.m. verildi. Enjeksiyonların bitiminden 24 saat sonra 50 mg/kg dozunda anilin tavşanların kulak venasından enjekte edildi. Anilin enjeksiyonundan önce ve enjeksiyonundan sonra (25. ve 240. dak.) alınan kan örneklerinde methemoglobin miktarları spektrofotometrik yöntemle tayin edildi.

İlk grupta, methemoglobin oranının 25. dak. da yükseldiği ve 240. dak. da ise anilin verilmeden önceki değere yaklaştığı tesbit edildi. Bu yükseliş anilinden önce kloramfenikol verilmesi durumunda (II. grup) gözlemlenmedi. Anilinden önce fenobarbital ve niketamidin verilmesi (III. ve IV. grup), anilinin yalnız olarak verilmesinde olduğu gibi methemoglobin oranını yükseltti, fakat 240. dak.ın sonunda bu değerler başlangıçtaki seviyeye inmedi.

Giriş

İlaçların canlıların yaşamındaki önemi bilinmektedir. İlaçların tedavi etkinliklerinin bi-

linmesi yanında, diğer ilaçlarla olan etkileşimlerinin organizmada hücresel düzeyde oluşturabilecekleri değişikliklerin, mutajenik ve teratojenik gibi kronik toksik etkilerinin de bilinmesi gereklidir.

1 Doç. Dr. A.Ü. Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

2 Arş. Gvl. Dr. A.Ü. Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

3 Yrd. Doç. Dr., K.Ü. Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Bilim Dalı, Kars.

Dapson, primakinin, sulfanamidler, fenasetin ve asetanilid gibi tedaviye girmiş çok sayıda anilin türevi ilaçlar mevcuttur (13, 20, 32). Bunlardan asetanilid, fenilhidroksilamin ve nitrozobenzene, fenasetin ise 4-etoksifenol, hidroksoilamin ve 4-etoksinitrozobenzene dönüş-

mektedir (22). Anilin bu türevleri tedavide analjezik ve antipiretik amaçla kullanılmaktadır (8, 15, 20, 27). Fenilhidroksilaminin alyuvar süspansiyonu içinde oldukça yüksek oranda methemoglobin oluşturduğu bilinmektedir (21). Anilin ağız, deri ve solunum yoluyla alındığında kolaylıkla emilmektedir (30, 32). Emilen anilin organizmada sitokrom P-450'ye bağlı enzimler aracılığıyla N-oksidasyona uğratarak nitrozobenzene dönüştürülmektedir. Nitrozobenzen redüksiyonla fenilhidroksilamine, bu da oksidasyonla tekrar nitrozobenzena dönüşmektedir (16, 17, 18, 24). Bu dönüşüm sırasında hemoglobindeki iki değerli demir atomu üç değerli demir atomuna oksitlenmekte ve methemoglobin oluşmaktadır (17, 18, 19, 23). Hemoglobinde bulunan Hem'deki demirin bu şekilde değişiminden doğrudan nitrozobenzenin sorumlu olduğu, nitrozobenzen ile hemoglobinin *in vitro* inkübasyonu yapılarak gösterilmiş nitrozobenzenin methemoglobin oluşturma oranının (%13-15) sodyum nitrit (%90-98) ve aminofenolden (%60) çok daha düşük olduğu da bildirilmiştir (23). Anilinle zehirlenmelerde görülen belirtilerin büyük bir kısmı (siyanoz, solunum güçlüğü) oluşan methemoglobinden ileri gelmektedir (3, 4, 8, 27, 30, 32).

Anilin verilmesi sonucu bir oksidasyon ürünü olarak oluşan nitrozobenzen düzeyinin ölçüldüğü bir çalışmada, anilin yalnız ve kloramfenikol, fenobarbital ile niketamin enjeksiyonundan sonra verilmesi durumunda, nitrozobenzen düzeyinin kloramfenikol verilen grupta 25. dak. da sadece anilin verilen gruba göre daha düşük, fenobarbital ve niketamid verilenlerde ise daha yüksek olduğu, 4 saat sonra bütün gruplardaki değerlerin düştüğü bildirilmektedir (7).

Kloramfenikolün etki tipi bakteriyostatiktir (8, 10, 20, 26, 29). Sitokrom P-450 enzimleri tarafından katalize edilen ilaç oksidasyonlarını engellediği bildirilmektedir (6).

Antikonvülzan ve sedatif etkilere sahip olan fenobarbital genel bir depresandır. Karışık fonksiyonlu oksidaz enzim sistemini indüklemekte ve bu nedenle sitokrom P-450'ye bağlı reaksiyonlar hızlanmaktadır (1, 2). Köpek ve kedilerin psikişik bozukluklarında, tonik ve klinik spazmlarda, epilepside, sedasyon oluşturmak amacıyla, konvülzanlarla oluşan zehirlenmelerde, mide bağırsak sancılarında, kedi ve köpeklerde gastrik sedasyon ve uzun süreli anestezi oluşturmak amacıyla kullanılmaktadır (4, 8, 15, 25, 27).

Niketamid asfeksiide, solunum depresyonunda, respiratorik ve sirkulatorik kollapsda,

anestezi sonrası senkoplarda kullanılır (27, 32). Karaciğer mikrozomal enzimlerinin sentezinde indüksiyon yapmak suretiyle bu enzimlerin aktivitesinde bir artışa neden olmaktadır. Bunun yanında pentobarbitalin metabolizmasını hızlandırdığı da bildirilmiştir (5).

Normal eritrositlerde toplam Hb'nin günde yaklaşık %2'sinin methemoglobine dönüştüğü bildirilmektedir (33). Anilin alınmasıyla methemoglobinin şekillendiği ve bunda da sitokrom P-450 gibi enzimlerin rol aldığı (17) bilinmektedir. Enzim içeren kırmızı kan hücrelerinde methemoglobinin oksihemoglobine dönüşmesinde etkili olanlar; a) NADH-metHb azaltıcı sistem, b) NADPH-dehidrojenize sistem, c) azaltıcı tip glutathion, d) askorbik asit, e) metilen mavisi ve vitaminler ve f) sistein ve ergotion şeklinde sıralanabilir (33).

Bu çalışmada, kloramfenikol, fenobarbital ve niketamidin anilin verilmesi sonucunda oluşan methemoglobin düzeyi üzerine ne ölçüde etkili oldukları ve bu düzeyin zamana göre değişiminin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod

Bu çalışmada, ağırlıkları 1.5-2 kg olan 2-3 aylık, 28 erkek Yeni Zelanda ırkı albino tavşan kullanıldı. Tavşanlar, Ankara Tavukçuluk Araştırma Enstitüsünden temin edildi. Hayvanlar damızlık tavşan yemi ile *ad lib.* beslendiler ve önlere sürekli temiz su bulunduruldu. Deneyde kullanılmadan önce, laboratuvar şartlarına uyum sağlamaları için beş gün süreyle bekletildi. Araştırmada kullanılan tavşanlar mikrozomal enzimleri indükleyen veya inhibe eden iç ve dış etkilere uzak tutuldu (20).

Tavşanlar her birinde 7 adet olmak üzere 4 gruba bölündü. Kontrol grubundakilere 3-4 ml serum fizyolojik, 2. gruptakilere 5 mg/kg kloramfenikol, 3. gruptakilere 15 mg/kg fenobarbital sodyum, 4. gruptakilere ise 0.5 mg/kg niketamid beş gün süreyle i.m. verildi. Enjeksiyonların bitiminden 24 saat sonra hayvanlara kulak venasından 50 mg/kg dozunda anilin enjekte edildi. Anilin enjeksiyonundan hemen önce ve enjeksiyondan sonraki 25. (anilin enjeksiyonunu takiben methemoglobin oluşumunu sağlayan nitrozobenzen düzeyinin en yüksek olduğu kabul edilen dak.) ve 240. dak.larda alınan kan örneklerinde methemoglobin miktarları tesbit edildi (7).

Kan örnekleri, laboratuvarında methemoglobin tayini yapıncaya kadar geçen sürede, eritrositlerdeki methemoglobinin hemoglobine in-

Tablo 1: Tavşanlarda, serum fizyolojik, kloramfenikol, fenobarbital ve niketamidin varlığında anilin verilmesinden sonra oluşan methemoglobin miktarları. Değerler anilinin verilmesinden hemen önce ve verilmesinden sonraki 25. ve 240. dakikalarda alınmıştır. Değerler ortalama \pm standart hataları göstermekte olup, her grupta 7 hayvan kullanılmıştır.

Zaman (Dak.)	Methemoglobin (%)			
	I. grup Serum fiz. (3-4 ml i.m.)	II. grup Kloramfenikol (5 mg/kg i.m.)	III. grup Fenobarbital (5 mg/kg i.m.)	IV. grup Niketamid (0.5 mg/kg i.m.)
	+ Anilin (50 mg/kg i.v.)			
0	1.7 \pm 0.5 ¹	2.0 \pm 0.4	1.6 \pm 0.2 ^a	1.9 \pm 0.4 ^x
25	4.2 \pm 0.6 ²	2.6 \pm 0.4	4.0 \pm 0.7 ^b	4.0 \pm 0.5 ^y
240	2.0 \pm 0.3 ³	2.7 \pm 0.7	4.0 \pm 0.3 ^c	4.7 \pm 0.7 ^z

P<0.016; 1-2, 2-3, x-y, x-z P<0.01; a-b P<0.001; a-c

dirgenmesini (28, 31) durdurmak amacıyla M/60 "phosphate buffer" ile muamele edildi. Bu amaçla 0.2 ml kan alınarak M/60 "phosphate buffer" ile 10 ml'ye tamamlandı. Bu şekilde sulandırılan kan içinde bulunan methemoglobin düzeyleri 25 °C'de 6 saat, 5 °C'de 2 güne kadar sabit kalabilmektedir (28). Methemoglobin düzeyleri Evelyn-Malloy metoduna göre (11) spektrofotometrede (Shimadzu digital spectrophotometer UV-150, KYOTO-JAPAN) ölçüldü.

İstatistiksel yönden karşılaştırmalar "Student-t test" ile yapıldı. Karşılaştırmalarda üç değer kullanıldığı için, Bonferroni'nin düzeltme faktörü (9, 14) kullanılarak güvenlik eşiği olarak 0.05 yerine, bunun karşılaştırmada kullanılan sayıya (3) bölünmesi ile (0.05/3=0.016) elde edilen değer dikkate alındı.

Bulgular

Tavşanlarda, serum fizyolojik (I. grup, 3-4 ml), kloramfenikol (II. grup, 5 mg/kg), fenobarbital (III. grup, 15 mg/kg) ve niketamidin (IV. grup, 0.5 mg/kg) 5 gün süreyle i.m. verilmesinden sonra anilinin (50 mg/kg, i.v.) enjekte edilmesi ile oluşan yüzde methemoglobin değerleri tablo 1'de gösterilmektedir.

Kontrol grubu olarak değerlendirilen I. grupta, anilin enjeksiyonundan hemen önce methemoglobin miktarı %1.7 bulundu. Bu değer enjeksiyonu takip eden 25. dak. da %4.2'ye yükseldiği ve bu artışın istatistiksel yönden önemli olduğu (p<0.016) bulundu. Methemoglobin düzeyini tesbit amacı ile anilinin enjeksiyonunu takip eden 240. dak. da yapılan üçüncü ölçümde ise, bu değer %2 olduğu ve başlangıçtaki değerden farklı olmamasına karşın 25. dak.daki değerden düşük olduğu (p<0.016) gözlemlendi.

Anilin kloramfenikolden sonra enjeksiyonun yapıldığı II. grupta, başlangıçtaki methemoglobin değeri %2 olarak tesbit edildi. Daha önce I. grupta elde edilen değere göre, 25. dak. da daha küçük bir artış olduğu (%2.6) ve bu artışın başlangıçtaki değerden istatistiksel yönden farklı olmadığı gözlemlendi. Yine 240. dak. da bir önceki değere çok yakın bir değer elde edildi (%2.7) ve 0 ile 240. dak.lardaki değerlerle aralarındaki farkın istatistiksel yönden önemsiz olduğu görüldü.

Anilin III. grupta fenobarbitalden sonra verildi ve bu grupta, methemoglobin düzeyi başlangıçta anilinin enjeksiyonundan hemen önce %1.6 olarak bulundu. Daha sonra 25. dak. da yapılan ölçümde methemoglobin oranı, anilinin yalnız olarak verildiği I. gruptaki değere (%4.2) çok yakındı (%4) ve başlangıçtaki değerle aralarındaki farkın istatistiksel yönden önemli olduğu (p<0.01) belirlendi. Bu grupta 240. dak. da yapılan ölçümde elde edilen değer de (%4) başlangıçtaki değerden farklı olduğu görüldü (p<0.001).

Son grupta, anilin niketamidi takiben verildi ve bu grupta başlangıçta elde edilen methemoglobin oranı (%1.9) diğer gruplardakine yakın olarak gözlemlendi. Bu grupta yine 25. dak. da elde edilen değer (%4) III. grupta elde edilenin aynısı olurken, ilk gruptaki ile (%4.2) çok yakın olduğu tesbit edildi. Bu değerle (%4) başlangıçtaki değer arasındaki fark istatistiksel yönden önemli bulundu (p<0.016). Bu grupta da III. grupta olduğu gibi 240. dak. da elde edilen değerde düşme görülmedi. Bunun 25. dak.daki değerden farkı olmamasına karşın, başlangıçtaki methemoglobin oranı ile farkının önemli olduğu (p<0.016) görüldü.

Tartışma ve Sonuç

Tavşanlara i.v. yolla yapılan anilin enjeksiyonundan hemen önce ve daha sonraki 25. ve 240. dak.larda alınan kanda methemoglobin düzeyi ölçülerek, zamana göre kandaki konsantrasyonunda bir farklılığın bulunup bulunmadığına bakılmıştır. Ayrıca, hayvan gruplarına anilin enjeksiyonundan 24 saat önce bitecek şekilde 5 gün süreyle verilen kloramfenikol, fenobarbital ve niketamidin belirtilen zamanlarda, methemoglobin konsantrasyonunu hangi yönde etkilediği, grupların kendi içinde zamana göre değişimlerin karşılaştırılması yapılarak farklılığın olup olmadığı araştırılmıştır.

Bu çalışmada, nitrozobenzen ile ilgili yapılan çalışmadan (7) farklı olarak kanda belirli oranda normal düzeyde methemoglobin olduğu kabul edilerek anilin verilmeden hemen önce ve

verilmesinden sonra ilk ölçüm 25. dak. da yapılmıştır.

Anilin enjeksiyonu sonucu oluşan methemoglobin oranının, nitrobenzeninki ile doğru orantılı olacağı (7) düşünülebilir, çünkü anilin organizmada sitokrom P-450'ye bağlı enzimler aracılığıyla N-oksidasyona uğratarak nitrozobenzene dönüştürülmektedir. Nitrozobenzenin redüksiyonla fenilhidroksilamine, bunun da oksidasyonla tekrar nitrozobenzene dönüştüğü (16, 17, 18, 24) ve bu dönüşüm sırasında hemoglobindeki iki değerli demir atomunun üç değerli demir atomuna oksitlendiği ve sonuçta methemoglobinin oluştuğu (17, 18, 19, 23) bilinmektedir. Oluşan methemoglobin de normalde "NADH diaphorase" enzimi yardımı ile hemoglobine dönüşmektedir (17). Anilin verilmesi sonucu oluşan nitrozobenzen methemoglobin oluşturma oranı (%13-15) nitrit türevlerine (%90-98) veya yine aminofenol gibi anilin türevlerine göre (%60) oldukça düşüktür (23). Knabe ve ark. (22) tarafından yapılan çalışmada, fenasetin tarafından oluşturulan methemoglobinin çeşitli zamanlardaki oranı ise 30 dak.da %11, 60. dak. da %23, 120. dak. da %36 ve 180. dak.da %41 olarak tesbit edilmiştir. Görüldüğü gibi nitrozobenzenin zayıf bir methemoglobin yapıcısı olması nedeniyle, anilin verilmesi sonucu belirlenen nitrozobenzen miktar (7) ile methemoglobin oranı arasında tam olarak bir paralellik görülmemektedir.

Bu çalışmada methemoglobinin zamana bağlı değişiminin anilinin yalnız olarak verilmesi durumunda nitrozobenzen ile benzerlik göstermesinin yanında, kloramfenikol, fenobarbital ve niketamidin önce verilmesi ile seyrinin değiştiği tesbit edilmiştir. Kloramfenikol verilen bir çalışmada (7), anilin verilmesiyle oluşan nitrozobenzen düzeyinin 25. dak.da yüksek bir noktaya çıktığı fakat artışın boyutunun diğer gruplardan daha düşük olduğu belirtilmektedir. Yapılan bu çalışmada ise başlangıçtaki methemoglobin düzeyi ile 25. dak. daki arasında önem doğuracak bir artış gözlemlenememiştir. Bu durum, oluşan nitrozobenzen düzeyinin kloramfenikol tarafından azaltılmasının methemoglobinde de görüldüğü ve kaydadeğer bir artışın olmadığını göstermektedir.

Fenobarbital ve niketamid verilmesi sonucu 25. dak.da oluşan methemoglobin düzeyi kontrol grubundaki değerlere yakın bulundu. Kontrol grubunda bulunan methemoglobin değeri 240. dak. da azalmasına rağmen fenobarbital ve niketamid verilen grupta düşüş görülmedi. Fenobarbital ve niketamid, fenolhidroksilaminin alyuvarlar üzerine olan toksik etkisini (17) artırabilir. Bununla birlikte bu iki maddenin protein sentezini artırdığı göz

önünde bulundurulursa (7), fenilhidroksilaminin zar proteinlerine ve çözünebilir proteinlere bağlanma özelliğini (12, 17) kalıcı kılarak toksik etkisini uzatması sonucu methemoglobinin hemoglobine dönüşümünü engellediği düşünülmektedir. Aynı zamanda fenobarbital ve niketamidin, methemoglobinin hemoglobine dönüşümünü sağlayan enzim sistemi üzerine (NADH-methemoglobin reducing system) (33) toksik etkileri sonucunda dönüşümün durabileceği ihtimali de göz önünde tutulmalıdır.

Sonuç olarak, 5 gün süreyle i.m. olarak enjekte edilen kloramfenikol, fenobarbital ve niketamidin kandaki methemoglobin oranı üzerine etkilerinin olmadığı belirlendi. Anilinin yalnız verilmesi ile 25. dak.da artan methemoglobin miktarının, kloramfenikol verilen grupta daha az şekillendiği, fenobarbital ve niketamid verilen gruplarda ise yalnız verilen grupta olduğu oranda arttığı tesbit edildi (Tablo 1). Öte yandan 240. dak.da, kloramfenikol verilen gruptaki methemoglobin değerinin kontrol grubu ile aynı düzeyde olmasına karşın, fenobarbital ve niketamid verilen gruplarda 25. dak.daki seviyeyi koruduğu görüldü.

Kaynaklar

1. Abramson, F.P. (1988). *Autoinduction of phenobarbital elimination in the dog*. J. Pharm. Sci., 77 (9) 768-770.
2. Adams, H.R., Isaacson, E.L. and Masters, B.S.S. (1977). *Inhibition of hepatic microsomal enzymes by chloramphenicol*. J. Pharmacol. Exp. Ther., 203 (2):388-396.
3. Albrecht, W. and Neumann, H.G. (1985). *Biomonitoring of aniline and nitrobenzene*. Arch. Toxicol., 57:1-5.
4. Booth, N.H. and McDonald, L.E. (1982). *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 5th ed. The Iowa State University Press, USA.
5. Brazda, F.G., Heidingsfelder, S. and Martin, M. (1965). *Effect of nikethamide on pentobarbital sleeping time in various animal species*. Comp. Biochem. Physiol., 14: 239-244.
6. Christensen, L.K. and Skovsted, L. (1969). *Inhibition of drug metabolism by chloramphenicol*. Lancet, 27:1397-1399.
7. Doğan, A. (1991). *Mikrozomal enzimlerle oluşan oksidasyon olayları üzerine fenobarbital, kloramfenikol ve niketamidin etkilerinin araştırılması*. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
8. Dökmeci, İ. (1979). *"Farmakoloji"*, D.Ü. Tıp Fak. Yayınları, Diyarbakır.
9. Elashoff, J.D. (1981). *Down with multiple t-tests*. Gastroenterology, 90:615-620.
10. Ellenhorn, M.J. and Marceloux, D.G. (1988). *Medical Toxicology*. Elsevier Science Publishing Company Inc., New-York.
11. Evelyn, K.A. and Malloy, H.T. (1938). *Microdetermination of oxyhemoglobin methemoglobin and sulfhemoglobin in a single sample of blood*. J. Biol. Chem., 125:655-662.

12. Eyer, P. (1979). *Reactions of nitrosobenzene with reduced glutathione*. Chem. Biol. Interact, 24:227-239.
13. Eyer, P. (1988). *Detoxication of N-oxygenated arylamines in erythrocytes*. Xenobiotica, 18 (11):1327-1333.
14. Glantz, S.A. (1980). *Biostatistics: How to detect, correct and prevent errors in the medical literature*. Circulation, 61:1-5.
15. Goodman, L.S. and Gilman, A. (1965). *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 3th ed. The Macmillan Company. New-York.
16. Harrison, J.H. and Jollow, D.J. (1983). *Rapid and sensitive method for the microassay of nitrosobenzene plus phenylhydroxylamine in blood*. J. Chrom., 277:173-182.
17. Harrison, J.H. and Jollow, D.J. (1986). *Role of aniline metabolites in aniline-induced hemolytic anemia*. J. Pharmacol. Exp. Ther., 238 (3): 1045-1054.
18. Harrison, J.H. and Jollow, D.J. (1987) *Contribution of aniline metabolites to aniline-induced methemoglobinemia*. Amer. Soc. Pharmacol. Exp. Ther., 32:423-431.
19. Hirota, K., İtona, H.A. and Vedvick, T.S. (1978). *Oxidative degradation of haemoglobin by nitrosobenzene in the erythrocyte*. Biochem. J., 174:693-697.
20. Kayaalp, S.O. (1987). *"Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji"*. 4. Baskı. Ulucan matbaası, Ankara.
21. Kiese, M. (1974). *Methemoglobinemia. A Comprehensive Treatise*. CRC Press, Cleveland.
22. Knabe, J., Büch, H.P., Maurer, H. and Christensen, P. (1988). *Untersuchungen zur methemoglobinbildung und zum metabolismus bei der ratte*. Arch. Pharm. (Weinheim), 321:739-741.
23. Kusumoto, S. and Nakajima, T. (1970). *Methemoglobin formation by nitrosobenzene in vitro*. Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharm, 266:113-118.
24. Oskay, E. (1975). *"Organik Kimya"*. 1. Baskı. H.Ü. Yayınları, No: 17, Ankara.
25. Özkazanç, A.N. (1986). *"Farmakoloji reçete bilgisi, Galanik Farmasi"*. A.Ü. Vet. Fak. Yayınları, Ankara.
26. Parker, R.M. and Shaw, I.C. (1988). *Determination of chloramphenicol in tissues problems with in vitro metabolism*. Analyst. 113:1875-1876.
27. Pirinççi, İ. (1985). *"Farmakoloji"*. F.Ü. Vet. Fak., Elazığ.
28. Sleight, S.D. and Sinha, B.V. (1968). *Prevention of methemoglobin reduction in blood samples*. J.A.V.M.A., 152 (10):1521-1525.
29. Şanlı, Y. (1988). *Basit aminoasit türevi antibiyotikler. Veteriner Farmakoloji kemoterapötik ilaçlar*. A.Ü. Vet. Fak. Yayınları, No:412, Ankara.
30. Thienes, C.H. and Haley, T.J. (1972). *"Clinical Toxicology"*. 5th. ed. Lea Febiger Philadelphia.
31. Watts, M. (1969). *Laboratory diagnosis of nitrite poisoning in sheep and cattle*. Aust. Vet. J., 45: 492.
32. Windhalz, M., Budavari, S., Bulumetti, R.F. and Otterbein, E.S. (1983). *"The Merck Index"*. 10th. ed. Merck Co Inc. USA.
33. Yagi, S. and Obara, J. (1983). *Reduction of methemoglobin to oxyhemoglobin in the circulating blood in rabbits and goats*. Jpn. J. Vet. Sci., 45 (5):627-635.

Alınmıştır - Received: 13.12.1994