

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DİDESİLDİMETİLAMONYUM KLORİDİN RAT DUODENUM, JEJUNUM  
VE İLEUM DÜZ KASLARI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Yunus Emre UZGUR**

**FARMAKOLOJİ ve TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI (VETERİNER)  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Ebru YILDIRIM**

**II. DANIŞMAN  
Doç. Dr. Begüm YURDAKÖK DİKMEN**

**2019 – KIRIKKALE**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DİDESİLDİMETİLAMONYUM KLORİDİN RAT DUODENUM, JEJUNUM  
VE İLEUM DÜZ KASLARI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Yunus Emre UZGUR**

**FARMAKOLOJİ ve TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI (VETERİNER)  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Ebru YILDIRIM**

**II. DANIŞMAN  
Doç. Dr. Begüm YURDAKÖK DİKMEN**

**2019 – KIRIKKALE**

Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakoloji ve Toksikoloji (Veteriner, Ortak Program) Tezli Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri üyeleri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 26/07/2019

Prof.Dr./Gökhan ERASLAN  
Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi  
Jüri Başkanı

Prof.Dr. Emine BAYDAN  
Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi  
Üye

Prof.Dr. Mıyase ÇINAR  
Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi  
Üye

Imza

Doç.Dr. Ebru YILDIRIM  
Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi  
Üye

Doç.Dr. Hüsamettin EKİCİ  
Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi  
Üye

## İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	III
İçindekiler	IV
Önsöz	VI
Simgeler ve Kısaltmalar	VII
Şekiller	VIII
Çizelgeler	XI
ÖZET	XII
SUMMARY	XIV
<b>1. GİRİŞ</b>	1
1.1. Rat İnce Bağırsağının Morfolojisi	3
1.2. Rat İnce Bağırsağının Fizyoloji ve Farmakolojisi	4
1.3. Asetilkolin	8
1.4. Kuaterner amonyum bileşikler	9
1.4.1. Etki Şekli	10
1.4.2. Toksikokinetiği	11
1.4.3. Zehirliliği	12
1.5. Didesildimetilamonyum Klorür	12
1.5.1. Etki Şekli	14
1.5.2. Toksikokinetiği	14
1.5.3. Zehirliliği	15
1.5.4. Çalışma Amacı	16
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	17
2.1. Kullanılan Deney Hayvanları	17
2.2. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler	17
2.3. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler	18
2.4. Deneylerde Kullanılan Tirod Çözeltisinin Bileşimi	18
2.5. Yöntem	18
2.5.1 Sıçan Duodenum, Jejunum ve İleum Dokularının İzolasyonu	19
2.6. Deney Protokolleri	22
2.6.1. Birinci Grup (1.Protokol)	22
2.6.2. İkinci Grup (2.Protokol)	22
2.6.3. Üçüncü Grup (3.Protokol)	23
2.7. Protokol Sonuçlarının Değerlendirilmesi	23
2.8. İstatistiksel Analizler	24
<b>3. BULGULAR</b>	25
3.1. Didedisildimetilamonyum Kloridin (DDAK) Tek Başına Duodenum, Jejunum ve İleum Kasılmaları Üzerine Etkisi	25
3.2. Sıçan İnce Bağırsak Dokuları Üzerine $3 \times 10^{-7}$ M DDAK' ın ACh ile Birlikte Etkisi	27
3.3. Asetikolinin EC <sub>85</sub> Değeri İle Ön Kasılma Oluşturulan İzole Sıçan İnce Bağırsak Dokuları (Duodenum, Jejunum, İleum) Üzerine DDAK' ın Etkisi	34

<b>4. TARTIŞMA VE SONUÇ</b>	42
4.1. Didedisildimetilamonyum Kloridin (DDAK) Tek Başına Duedenum, Jejunum ve İleum Kasılmaları Üzerine Etkisi	42
4.2. Sıçan İnce Bağırsak Dokuları Üzerinde $3 \times 10^{-7}$ M DDAK İnkubasyonunun Asetilkolin ile Birlikte Etkisi	45
4.3. Asetikolinin EC <sub>85</sub> Değeri İle Ön Kasılma Oluşturulan İzole Sıçan İnce Bağırsak Dokuları (Duodenum, Jejunum, İleum) üzerine DDAK' ın Etkisi	45
<b>KAYNAKLAR</b>	48
<b>EKLER</b>	56
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	57



## ÖNSÖZ

Didesildimetilamonyum klorid birçok amaçlı kullanılan dezenfektan bir maddedir. Kullanılma yerleri algisid, dezenfektan, ağaç koruyucu, havuz dezenfeksiyonu ya da zirai materyal dezenfeksiyonu gibi alanlardır. Bu çalışma didesildimetilamonyum kloridin rat duodenum, jejunum ve ileum düz kasları üzerine etkilerini belirlemek ve böylece olası oral yolla alınması durumunda sindirim sistemi üzerine olan etkileri değerlendirmek amacıyla yapılmıştır.

Yüksek lisans eğitimim boyunca çalışmamın her aşamasında bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan değerli danışman hocam Doç. Dr. Ebru YILDIRIM' a, ayrıca ikinci danışman hocam Doç. Dr. Begüm YURDAKÖK DİKMEN' e, aldığımız eğitim aşamasında engin bilgilerini bizimle paylaşan Prof. Dr. Emine BAYDAN ve Prof. Dr. Ender YARSAN' a, yüksek lisans eğitimim boyunca yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Hüsamettin EKİCİ'ye teşekkür ederim. Tez çalışmam boyunca zamanını ayıran Araş. Gör. Yaşar ŞAHİN' e teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca tüm hayatım boyunca desteklerini ve şefkatlerini üzerimden hiç eksik etmeyen canım anneme, babama, kardeşlerime, eşime ve eşimin ailesine sonsuz teşekkür ederim.

## SİMGELER ve KISALTMALAR

ACh	Asetilkolin
AHSV	Afrika atı hastalık virüsü
BALB/c	Laboratuar hayvan modelleri; fare, tavşan
Ca	Kalsiyum
CA	Canlı Ağırlık
cAMP	Siklik adenosin monofosfat
CO <sub>2</sub>	Karbondioksit
cGMP	Siklik guanilat monofosfat
dk	Dakika
EGTA	Etilen glikol tetraasetik asit
ESS	Enterik sinir sistemi
FLC	Fosfolipaz C
g	Gram
GTP	Guanosin trifosfat
hERG	Potasyum kanalı geni
5-HT <sub>3</sub>	5-hidroksitriptamin 3
IP <sub>3</sub>	İnositol 1,4,5 trifosfat
ISO	Uluslararası standart organizasyonu
ip	Periton içi
K	Potasyum
Kg	Kilogram
L	Litre
M	Molar
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimolar
MSS	Merkezi sinir sistemi
nM	Nanomolar
NOAEL	Gözlenebilen toksik etkinin olmadığı doz
O <sub>2</sub>	Oksijen
ppm	Karışımındaki maddenin milyonda 1 birimine denir
S	Staphylococcus
SVDV	Domuz veziküler hastalık virüsü
μ	Mikro

## ŞEKİLLER

Şekil 1.1.	Asetilkolinin kimyasal şekli	9
Şekil 1.2.	Kuaterner amonyum bileşiklerinin genel formülü	9
Şekil 1.3.	Didesildimetilamonyum klordin kimyasal yapısı	13
Şekil 2.1.	Sıçanda karın içi organların görünümü	19
Şekil 2.2.	Sıçanda duodenumun alındığı bölge	20
Şekil 2.3.	Sıçanda duodenumun gösterilmesi	20
Şekil 2.4.	Sıçanda jejunumun izole edilmesi	21
Şekil 2.5.	Sıçanda ilumun sınırlarının belirlenerek izole edilmesi	21
Şekil 3.1.	Duodenuma $10^{-4}$ M Didedisildimetilamonyum kloridin (DDAK) derişimi okla gösterilen bölgede verilmesi ve kasılmada azalmanın gözlemlenmesi	25
Şekil 3.2.	Jejunuma $10^{-4}$ M Didedisildimetilamonyum kloridin (DDAK) derişimi okla gösterilen bölgede verilmesi ve kasılmada azalmanın gözlemlenmesi	26
Şekil 3.3.	İleumuna $10^{-4}$ M Didedisildimetilamonyum kloridin (DDAK) derişimi okla gösterilen bölgede verilmesi ve kasılmada azalmanın gözlemlenmesi	26
Şekil 3.4.	Didedisildimetilamonyum kloridin (DDAK) dudenum, jejunum ve ileum % kasılmaları (mg) üzerine olan derişim cevap eğrisi	27
Şekil 3.5.	Duodenuma 45 dk dengelemenin ardından kontrol amaçlı sadece $10^{-9}$ , $10^{-8}$ , $10^{-7}$ , $10^{-6}$ , $10^{-5}$ , $10^{-4}$ ve $10^{-3}$ M ACh derişimlerinin uygulaması	28
Şekil 3.6.	Duodenuma $3 \times 10^{-7}$ M Didedisildimetilamonyum kloridin (DDAK) ile 15 dakika inkübe edildikten sonra üzerine $10^{-9}$ , $10^{-8}$ , $10^{-7}$ , $10^{-6}$ , $10^{-5}$ , $10^{-4}$ ve $10^{-3}$ M ACh derişimlerinin uygulaması	28
Şekil 3.7.	İzole duodenum dokusunda ACh ve ACh + $3 \times 10^{-7}$ M DDAK derişim yanıt eğrisi	29
Şekil 3.8.	Jejunuma 45 dk dengelemenin ardından kontrol amaçlı sadece $10^{-9}$ , $10^{-8}$ , $10^{-7}$ , $10^{-6}$ , $10^{-5}$ , $10^{-4}$ ve $10^{-3}$ M ACh derişimlerinin uygulaması	30
Şekil 3.9.	Jejunuma $3 \times 10^{-7}$ M DDAK (etkisiz derişim) ile 15 dakika inkübe edildikten sonra üzerine $10^{-9}$ , $10^{-8}$ , $10^{-7}$ , $10^{-6}$ , $10^{-5}$ , $10^{-4}$ ve $10^{-3}$ M ACh derişimlerinin uygulaması	30



<b>Şekil 3.10.</b>	İzole jejunum dokusunda ACh ve ACh + $3 \times 10^{-7}$ M DDAK derişim yanıt eğrisi	31
<b>Şekil 3.11.</b>	İleuma 45 dk dengelemenin ardından kontrol amaçlı sadece $10^{-9}$ , $10^{-8}$ , $10^{-7}$ , $10^{-6}$ , $10^{-5}$ , $10^{-4}$ ve $10^{-3}$ M ACh derişimlerinin uygulaması	32
<b>Şekil 3.12.</b>	İleuma $3 \times 10^{-7}$ M DDAK (etkisiz derişim) ile 15 dakika inkübe edildikten sonra üzerine $10^{-9}$ , $10^{-8}$ , $10^{-7}$ , $10^{-6}$ , $10^{-5}$ , $10^{-4}$ ve $10^{-3}$ M ACh derişimlerinin uygulaması	33
<b>Şekil 3.13.</b>	İzole ileum dokusunda ACh ve ACh + $3 \times 10^{-7}$ M DDAK derişim yanıt eğrisi	33
<b>Şekil 3.14.</b>	Duodenum $1,71 \times 10^{-5}$ M ACh ile prekontrakte edilerek doku platoya ulaşınca 5 kez distile su kümülatif uygulaması	35
<b>Şekil 3.15.</b>	Duodenuma $1,71 \times 10^{-5}$ M ACh ile prekontrakte edilerek 3 dk ara ile $10^{-8}$ , $10^{-7}$ , $10^{-6}$ , $10^{-5}$ , $10^{-4}$ M DDAK kümülatif (birikimli) derişimlerde uygulanması	35
<b>Şekil 3.16.</b>	Asetikolinin $EC_{85}(1,71 \times 10^{-5}$ M) Değeri İle Ön Kasılma Oluşturulan İzole Sıçan Duodenumun % Gevşeme Değerleri Üzerine DDAK Derişimlerinin Etkisi	36
<b>Şekil 3.17.</b>	Jejunum $1,71 \times 10^{-5}$ M ACh ile prekontrakte edilerek doku platoya ulaşınca 5 kez 100 $\mu$ l distile su kümülatif uygulaması	38
<b>Şekil 3.18.</b>	Jejunuma $1,71 \times 10^{-5}$ M ACh ile prekontrakte edilerek 3 dk ara ile $10^{-8}$ , $10^{-7}$ , $10^{-6}$ , $10^{-5}$ , $10^{-4}$ M DDAK kümülatif (birikimli) derişimlerde uygulanması	38
<b>Şekil 3.19.</b>	Asetikolinin $EC_{85}(1,71 \times 10^{-5}$ M) Değeri İle Ön Kasılma Oluşturulan İzole Sıçan Jejunumun % Gevşeme Değerleri Üzerine DDAK Derişimlerinin Etkisi	39
<b>Şekil 3.20.</b>	$1,71 \times 10^{-5}$ M ACh ile prekontrakte edilen sıçan ileumu üzerine birikimli distile su uygulaması	40
<b>Şekil 3.21.</b>	$1,71 \times 10^{-5}$ M ACh ile prekontrakte edilen sıçan ileumu üzerine 3 dk ara ile $10^{-8}$ , $10^{-7}$ , $10^{-6}$ , $10^{-5}$ , $10^{-4}$ M DDAK kümülatif (birikimli) derişimlerde uygulanması	40
<b>Şekil 3.22.</b>	Asetikolinin $EC_{85}$ ( $1,71 \times 10^{-5}$ M) Değeri İle Ön Kasılma Oluşturulan İzole Sıçan İleum dokusunun % Gevşeme Değerleri Üzerine DDAK Derişimlerinin Etkisi	41

## ÇİZELGELER

<b>Çizelge 1.1.</b>	Bazı nörohumoral maddelerin <i>in vivo</i> bağırsak kasılma üzerindeki etkisi	7
<b>Çizelge 1.2.</b>	Enterik sinir sistemi nörotransmitterlerinin sekresyon üzerine etkileri	8
<b>Çizelge 3.1.</b>	Didedisildimetilamonyum kloridin (DDAK) $10^{-8}$ M- $10^{-4}$ M derişimlerinde dudenum, jejunum ve ileum % kasılmaları üzerine etkisi	26
<b>Çizelge 3.2.</b>	İzole sıçan duodenum dokusunda asetilkolin, ACh + DDAK $pD_2$ ve $E_{max}$ değerleri.	29
<b>Çizelge 3.3.</b>	İzole sıçan jejunum dokusunda asetilkolin, asetilkolin+DDAK $pD_2$ ve $E_{max}$ değerleri.	31
<b>Çizelge 3.4.</b>	İzole sıçan ileum dokusunda ACh, ACh+DDAK $pD_2$ ve $E_{max}$ değerleri.	34
<b>Çizelge 3.5.</b>	Asetikolinin $EC_{85}$ ( $1,71 \times 10^{-5}$ M) Değeri İle Ön Kasılma Oluşturulan İzole Sıçan Duodenumunun Frekans Değerleri Üzerine DDAK Derişimlerinin Etkisi	36
<b>Çizelge 3.6.</b>	Asetikolinin $EC_{85}$ ( $1,71 \times 10^{-5}$ M) Değeri İle Ön Kasılma Oluşturulan İzole Sıçan Jejunum Frekans Değerleri Üzerine DDAK Derişimlerinin Etkisi	37
<b>Çizelge 3.7.</b>	Asetikolinin $EC_{85}$ ( $1,71 \times 10^{-5}$ M) Değeri İle Ön Kasılma Oluşturulan İzole Sıçan İleumunun Frekans Değerleri Üzerine DDAK Derişimlerinin Etkisi	40

## ÖZET

### **Didesildimetilamonyum kloridin Rat Duodenum, Jejunum ve İleum Düz Kasları Üzerine Etkilerinin Araştırılması**

Didesildimetilamonyum klorid (DDAK) dialkilkvarterner amonyum bileşiğidir. Algisid, fungusit, bakterisit etkilidir. Bu çalışmanın amacı DDAK'ın rat duodenum, jejunum ve ileum düz kasları üzerine etkilerini araştırmak; böylece olası oral bir maruziyette sindirim sistemi üzerine olan etkilerini değerlendirmektir. Deneylerde 5-6 aylık, 19 adet erkek Wistar albino sıçandan izole edilen 19'ar adet duodenum, jejunum ve ileum dokusu kullanılmıştır. İzole edilen duodenum, jejunum ve ileum kesitleri, içinde 10 ml tirod çözeltisi bulunan, 37°C'ye ayarlanmış izole organ banyosuna 1 g ön gerim ile asılmıştır. 1. Protokolde DDAK  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M kümülatif (birikimli) derişimlerde 5 dakika ara ile uygulanmıştır. 2. Protokolde  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  ve  $10^{-3}$  M ACh uygulaması yapılmış (Kontrol grubu), daha sonra  $3 \times 10^{-7}$  M DDAK ile 15 dakika inkübe edilen dokuların üzerine  $10^{-9}$ - $10^{-3}$  M ACh derişimleri uygulanmıştır. 3. Protokolde  $1,71 \times 10^{-5}$  M ACh (ACh'ın  $EC_{85}$  değeri) ile kasılma oluşturulan dokular üzerine 3 dk ara ile  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M DDAK kümülatif (birikimli) derişimlerde uygulanmıştır. Kontrol olarak  $1,71 \times 10^{-5}$  M ACh ile kasılma oluşturulan dokular üzerine 3 dk ara ile distile su uygulaması yapılmıştır. Elde edilen verilerin değerlendirilmesinde 1. Protokolde her derişim için bazal çizgiye göre % kasılma, 2. Protokolde yine her derişim için bazal çizgiye göre % kasılma, ayrıca  $pD_2$  ve  $E_{max}$  değerleri, 3. Protokolde % gevşeme cevapları ölçülmüştür. 3. Protokolde ayrıca uygulanan DDAK derişimlerinin 3 dk boyunca oluşturduğu kasılmaların frekansları değerlendirilmiştir.

İlk protokolden elde edilen bulgular  $10^{-5}$  M' dan başlayarak özellikle  $10^{-4}$  M DDAK derişimde duodenum, jejunum ve ileumda % kasılmaların azaldığını göstermiştir. 2. Protokol sonuçlarında kontrol ve DDAK uygulamasının ACh derişimlerin % kasılma  $pD_2$  ve  $E_{max}$  parametreleri arasında bir fark bulunamamıştır. 3. Protokolde ise  $1,71 \times 10^{-5}$  M ACh ile kasılma oluşturulan dokular üzerine  $10^{-4}$  M DDAK'ın duodenum, jejunum ve ileumda oluşturduğu % gevşeme cevapları kontrol

grubuna göre jejunum ( $P<0.01$ ) ve ileumda ( $P<0.05$ ) istatistiksel olarak önemli derecede yüksek bulunmuştur. Duodenum % gevşeme cevaplarında sayısal bir artış saptanmıştır ( $P> 0.05$ ). Frekans değerleri ise DDAK verilen grupta kontrol grubuna göre jejunum ve ileumda sayısal olarak daha az olarak ölçülmüştür ( $P> 0.05$ ).

Sonuç olarak DDAK özellikle  $10^{-4}$  M derişimde hem spontan kasılmaları hem de ACh ile oluşturulan kasılmaları azaltmıştır. DDAK' ın etkisi derişime bağılı olarak artmıştır ve jejunum ve ileumu daha fazla etkilemiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Asetilkolin, didesildimetilamonyum klorid, duodenum, ileum, *in vitro*, jejunum.



## SUMMARY

### **The Investigation Of The Effects Of Didecyldimethylammonium Chloride On The Smooth Muscle of Duodenum, Jejunum And Ileum In Rats**

Didecyldimethylammonium chloride (DDAC) is a dialkyl quaternary ammonium compound. It has algicide, fungicide, bactericide effects. The aim of this study was to investigate the effects of DDAC on rat duodenum, jejunum and ileum smooth muscles; thus to evaluate the effects on the digestive tract in a possible oral exposure. Totally 19 duodenum, jejunal and ileum tissues isolated from 19 male Wistar albino rats, which were 5-6 months old, were used in the experiments. Isolated duodenum, jejunum and ileum sections were suspended with 1 g of pre-tension in an isolated organ bath set at 37 ° C with 10 ml thyroid solution. In Protocol 1, DDAC was applied at cumulative concentrations of  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  at 5 minute intervals. In Protocol 2,  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  and  $10^{-3}$  ACh was applied (Control group) in a cumulative manner, then  $10^{-9}$  - $10^{-3}$  M ACh concentrations were applied on the tissues incubated with  $3 \times 10^{-7}$  M DDAC for 15 minutes. In the protocol 3, cumulative  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M DDAC concentrations were applied at 3 minute intervals on the tissues precontracted with  $1,71 \times 10^{-5}$  M ACh ( $EC_{85}$  value of ACh). As a control, distilled water was applied at 3 min intervals on the tissues which were contracted with  $1,71 \times 10^{-5}$  M ACh. To evaluate the obtained data contractions calculated taking basal line as 100 in protocol 1. In protocol 2 also % contractions for each concentration were calculated, additionally  $pD_2$  and  $E_{max}$  values were evaluated. In protocol 3, % relaxation responses were measured. Also the frequencies of the contractions formed by the applied DDAC concentrations for 3 minutes were evaluated.

Findings obtained from the first protocol showed that DDAC decreased % contractions in duodenum, jejunal and ileum, starting from  $10^{-5}$  M and especially at  $10^{-4}$  M concentration. No significant difference was found between % contraction,  $pD_2$  and  $E_{max}$  parameters of ACh concentrations of control and DDAC application.

In the third protocol, % relaxation responses of DDAC in duodenum, jejunum and ileum on tissues precontracted with  $1,71 \times 10^{-5}$  M ACh were found to be statistically higher in jejunum ( $P < 0.01$ ) and ileum ( $P < 0.05$ ) compared to control group. There was a numerical increase in duodenum % relaxation responses ( $P > 0.05$ ). Frequency values were measured to be insignificantly less in jejunum and ileum in the DDAC group than in the control group ( $P > 0.05$ ).

In conclusion, DDAC decreased both spontaneous contractions and ACh induced contractions, especially at  $10^{-4}$  M concentration. The effect of DDAC increased depending on the concentration used, and DDAC had more effect on jejunum and ileum rather than duodenum

**Key words:** Acetylcholine, didecyldimethylammonium chloride, duodenum, ileum, *in vitro*, jejunum

## 1. GİRİŞ

Antiseptik ve dezenfektanlar hem canlı hem de cansız yüzeylerin mikroorganizmalardan arındırılması, bazı yerel hastalıkların tedavisi ve hayvan yetiştiriciliği gibi alanlarda kullanım yeri bulan maddelerdir (Kaya 2013). Bu amaçla kullanılan maddelerden biri olan, didesildimetilamonyum klorid (DDAK) dialkil kuaterner amonyum biosidlerinin temsilcisidir; sarı toz halinde ya da renksiz kristaller halinde bulunan bir maddedir. Antimikrobiyal olarak kullanılır. Duvarlarda yerlerde, masalarda ve tuvalet gibi yerlerin dezenfeksiyonunda kullanılır. Yumurta kabuğunun dezenfeksiyonunda da kullanılır. Zirai malzemelerde, yüzme havuzlarında da kullanılan bir maddedir (Anonim 2018). Ayrıca DDAK'ın metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarına etkili olduğu gösterilmiştir (Furuta 1992, Stephens ve ark. 1994, Kikuchi ve ark. 1996).

Kuaterner amonyum bileşikleri, hidrofobik alkil zincirlerini taşıyan bir dördüncül azot atomuna sahiptirler ve yüksek derişimlerde zorlukla bozunabildiği bildirilmektedir. Kuaterner amonyum bileşikleri dezenfektanlar, yumuşatıcılar, saç yıkama maddeleri gibi yerlerde kullanılmaktadır; bu yüzden çevre kirliliği açısından da önemlidir. Çevresel etkilerini belirlemek için bu şekilde çevreyi kirletecek durumlarına da özellikle dikkat edilmelidir, çünkü yalnızca mikroorganizmalar için değil aynı zamanda hayvanlar için de toksik olabilir ve ikincil etkiler de sergileyebilirler (Nishihara ve ark. 2000). Kuaterner amonyum bileşiklerinin farklı çevresel bölümlerde yaygın olarak ortaya çıkması, ekosisteme ve insan sağlığına zarar verme potansiyelleriyle ilgili endişeleri artırmaktadır. Bu bileşiklerin toksisitesi de büyük dikkat çekmiştir ve incelemeler, atık su arıtma sistemlerinde kuaterner amonyum bileşiklerinin toksisitesi odak noktası olmuştur (Zhang ve ark. 2015). Bazı kuaterner amonyum bileşikleri aynı zamanda mide-bağırsak sisteminin güçlü spazmolitik ilaçları olarak geliştirilmiştir. Genellikle antimuskarinik etki göstermektedirler. Sadece pinaveryum ve otilonyumun kalsiyum kanal blokörü etkisi bulunmaktadır (Evangelista 2004).

Ağızdan alınan herhangi bir zehir, ilaç ya da fizyolojik madde ilk olarak mide bağırsak sistemi ile karşılaşır (Yunus ve ark 2011). Mide-bağırsak sistemi ağızdan kullanılan ilaçlar için en önemli emilim bölgesidir. Bağırsak bölümlerinin kasılmaları ve peristaltik hareketleri besinlerin emilmesi ve bağırsak boyunca ilerlemesi için gereklidir (Kimura 2002). Sindirim sisteminde meydana gelecek olan motilite bozuklukları klinik olarak çok önemlidir, çünkü sistemik olarak hastalıklara zemin oluşturabilir (Ohama 2007). Sindirim sistemi hastalıkları yaygın ve pahalı bir sorundur. Enterik innervasyonu içeren hastalıklar motiliteyi etkiler ve sıklıkla öldürücü olmasa da, önemli ölçüde morbiditeye neden olurlar. Enfeksiyöz, enflamatuvar, nörolojik veya fonksiyonel bağırsak hastalıkları durumlarında motilite bozukluklarına rastlanılabilir. Bağırsakta biyokimyasal veya anatomik anormallikler tespit edilmediğinde, fonksiyonel bağırsak hastalıklarının genellikle psikojenik nedenli olduğu varsayılır. Bu olasılık, bağırsakların içsel innervasyonunun, enterik sinir sisteminin (ESS) ve gastrointestinal hareketliliğin kontrolünde merkezi ve periferik mekanizmaların etkileşimlerinin karmaşıklığı ile desteklenir (Gershon ve Tack 2007). Mide ve bağırsaktaki motilite bozuklukları, bağırsak içeriğinin geçişinde azalma veya hızlanma, gevşeme hareketlerinde bozulma veya uygun olmayan gevşeme hareketleri ile sonuçlanabilir (Anderson ve Feeney 2013). Bunun dışında örneğin tavşanda optimum mide-bağırsak hareketliliği, yiyeceklerin sindirimi, su ve elektrolitlerin emilmesi ve sağlıklı bir bağırsak florasının bakımı için önemlidir. Azalan gastrointestinal hareketlilik, midede veya sekumda yemeğin etkilenmesine, bozulmuş glukoz emilimine ve sekum mikroflorasına besin ve sıvı tedariğinde azalmaya neden olur (Varga 2014). Mide-bağırsak hareketlerindeki (motilite) düşüş, mide-bağırsak bariyerinin bozulması ve bakterilerin üreme miktarını artmasına neden olabilir, bu da vücudun diğer organlarına bakteriyel geçişe neden olur. Diğer yandan, motilitedeki artış sindirim ve emilim süreçlerini etkileyerek; ishale ve malabsorpsiyon sendromuna yol açabilir. Mide-bağırsak motilitesini *in vitro* tekniklerle incelenmesi bu açıdan önemlidir (Peddireddy 2011).

Bir kuvaterner amonyum bileşiği olan DDAK' in toksik maruziyet yollarının başlıcaları solunum, oral ve deri yoludur (Dejobert ve ark. 1997; Geier ve ark. 2013). Akut oral zehirlilik kategorisi içinde, kategori 3 de yer almaktadır.



Ratlarda yapılan subkronik oral zehirlenme çalışmasında NOAEL değeri 45,5 mg/kg/gün olarak belirlenmiştir (Lim ve ark. 2014).

## 1.1 Rat İnce Bağırsağının Morfolojisi

İnce bağırsağın toplam uzunluğu 5 aylık bir rat için 107 cm, 1 yaşında bir rat için yaklaşık 122 cm civarındadır. İnce bağırsakta başlıca duodenum, jejunum ve ileum olmak üzere 3 kısım bulunmaktadır (Bayraktaroğlu 2012).

Ratın ince bağırsağı, midenin pilorik kısmından (pars pilorika ventrikuli) başlar. Pilorik kısım orta düzleminin sağ tarafında bulunmaktadır. İnce bağırsağın ilk kısmı olan duodenum mideden başlar ve uzunluğu yaklaşık olarak 95-100 mm' dir. Duodenumun kranial kısmı (pars cranialis duodeni), karaciğerin ve sağ karın duvarının viseral yüzeyinin yakınında bulunan bir parçadır. Duodenumun inen kısmı sağ karın duvarı ile sağ böbreğe doğru devam etmektedir. Duodenumun alçalan ve yükselen kısmı arasında kaudal duodenal bükülme (flexura duodeni caudalis) olarak adlandırılır. Duodenumun yükselen kısmı ortanca düzlemde jejunum olarak devam eder. İnce bağırsağın bu kısmı karın boşluğunun sağ kısmını doldurur. Jejunumun uzunluğu yaklaşık 890–1300 mm' dir. İleum uzunluğu 20-30mm' dir (Vdoviaková ve ark. 2016). Duodenum ve jejunumun üst kısımlarında ince bağırsağın kalınlığı yaklaşık 0,30 mm iken alt ileum bölgesindeki kalınlık yaklaşık 0,15 mm civarındadır. Ratın jejunumu ileum kısmına göre daha kalındır ve serozal uzunluğun mukozal alan/cm' si daha fazladır (Wilson ve Wiseman 1954).

İnce bağırsak bölümlerinin hepsi glandüler bir mukozaya sahiptirler. Plika sirkularis ya da Kerckring plikaları adı verilen bu mukoza kıvrımları mideden ince bağırsağa geçince genişler. İleuma doğru bu plikalar alçalır. Bu mukozaların boşluğa bakan kısımlarında villus intestinalis adı verilen mukoza çıkıntıları bulunur (Tanyolaç 1999). Memeli ince bağırsak kısımlarında epitelyum, lamina propria ve lamina muskularis adlı katmanlardan oluşan **Tunika mukoza**, mukozayı besleyen geniş lenf ve kan damarlarını kapsayan **Tunika submukoza**, içte sirküler dışta

longitudinal kas katmanlarından oluşan **Tunika muskularis** ve **Tunika seroza** adlı kısımlar göze çarpar. Duodenum kısmında bulunan villiler daha geniş ve sayıca daha fazladır. Yine memeli türlerinde submukozal bezler burada daha fazla görülür. Jejunumda villiler sayıca daha az ve küçüktür; ileum ise genellikle jejunuma benzer (Samuelson 2006). Ratın oniki parmak bağırsağında (duodenumda) basit sütunlu epitel hücreleri ile kaplanmış olan villiler bulunmaktadır. Duodenal (Brunner) bezleri, submukozanın üst kısmında görülmektedir. Jejunumda bağırsak bezleri varken, ileumda villus, lenfatik nodüller ve bağırsak bezleri bulunmaktadır (Alrabei 2013).

## **1.2 Rat İnce Bağırsak Fizyoloji ve Farmakolojisi**

Sindirim sistemi dışarıdan alınan besin maddelerinin sindiriminin ve emiliminin gerçekleştiği bölgedir. Mide-bağırsak sistemi, merkezi sinir sisteminin (MSS) etkisi altında çalışan ancak izole ortamlarda da işlevine devam eden karmaşık ve oldukça organize bir sistemdir. Sindirim sisteminin en önemli kısmını oluşturan bağırsak sisteminin kontrolü, otonom sinir sistemi (sempatik, parasempatik, enterik sinir sistemi) tarafından düzenlenmektedir (Harrington ve ark. 2010). Bağırsakların ekstrasik inervasyonu prevertebral ganglia ile beyin kökü ve periferik afferent gangliada bulunan nöronlarca sağlanır. Mide-bağırsak kanalı duvarında bulunan noradrenerjik fibriller prevertebral sempatik gangliada bulunan hücrelerden köken almaktadırlar. Seliak mezenterik ganglia mide, ince bağırsak ve birazda ön kalın bağırsağa sinir fiberlerini ulaştırırlar (Phillips ve Powley 2007). Mide, ince bağırsak ve kalın bağırsağın ön kısmının parasempatik innervasyonu vagus siniri ile sağlanır. Vagus siniri hem afferent hemde efferent sinirlerin fonksiyonunu sağlar (Browning ve Travagli 2014).

Enterik sinir sistemi (ESS) besinlerin emilimini, mide-bağırsağın salgısını, hareketliliğini düzenler ve koordine eder (Beattie ve Smith 2008, Argenzio 2008). Enterik sinir sistemi aferent (vagal, siplenik ve pelvik sinirler) ve efferent sinirler aracılığıyla merkezi sinir sistemi ile bağlantılı halde çalışır. Kas kasılması, gevşeme

ve mukozal salgılama gibi yerel bağırsak aktivitesinin düzenlenmesi de ESS tarafından kontrol edilir (Harrington ve ark. 2010).

İnce bağırsağın düz kasları hormonal ya da sinirsel bir uyarım olmadan ritmik olarak kasılabilmektedir. Bu tip kasılmalara fazik kasılmalar adı verilmektedir. Bu fazik kasılmalar, düz kas hücrelerinden farklı olan Cajal'ın intersitisyel hücresi adı verilen belirli bir hücre tipinin aktivitesi ile başlatılır. Bu hücreler, bağırsak duvarının dairesel ve uzunlamasına kas katmanları arasında ve içinde bir ağ oluşturur. Miyenterik bölgede (yani kas katmanları arasında) bulunan Cajal'ın intersitisyel hücreleri yavaş dalgalar olarak adlandırılan depolarizasyonu başlatır. Bu dalgalar, faz kasılmaları için temel elektriksel ritmi üretir ve kasılma oluşsun ya da oluşmasın her zaman oradadır. Mide-bağırsak sistemi boyunca çeşitli noktalarda farklı frekanslarda ortaya çıkarlar. Bu frekanslar, türlere bağlı olarak birkaç ila 30 devir / dakika arasında değişebilir. Yavaş dalgalar, belirli bir bölgede kasılmanın meydana gelebileceği maksimum frekansı belirler. Bireysel yavaş dalgalar kesinlikle kas kasılmasına neden olmaz. Oluşan piklerin kısmen, içeriye Ca akımı ile oluştuğu düşünülmektedir (Montgomery 2016). Kalsiyum özellikle kasılmalar için çok önemlidir. Sıçan izole ileumu kalsiyumsuz ortamda (1 mM Etilen glikol tetraasetik asit (EGTA) ile birlikte) depolarizasyon oluşturamamış ve ACh karşı bir kasılma yanıtı gerçekleştirememiştir (Evans ve Mangel 2011). Yavaş dalgalar ve pikler ESS tarafından düzenlenir (Montgomery 2016). Mide-bağırsak sisteminde uyarıcı ve baskılayıcı nitelikte olan maddeler Çizelge 1.1' de verilmiştir (Hansen 2003).

Reseptörler ve bunların agonistlerinin ve antagonistlerinin etkileri ile ilgili kesin bilgiler, hem mide-bağırsak hastalıklarının daha özel ve etkili tedavisini sağlar, hem de çeşitli ekzojen maddelerin olası etkilerini açıklamada temel oluşturur (Bertaccini ve Coruzzi 1987). Sindirim sisteminde muskarinik reseptörlere yaygın olarak rastlanır ve organların işlevleri için son derece önemli reseptörlerdir. Bugün için bulunan muskarinik reseptörlerin beş alt tipi olduğu kabul edilir. Bu reseptörler muskarinik  $M_1$ ,  $M_2$ ,  $M_3$ ,  $M_4$  ve  $M_5$  reseptörleridir. Nöronal olmayan efektör hücrelerde ACh'nin metabotropik etkilerine aracılık eden muskarinik reseptörlerin ise muskarinik  $M_3$  reseptör alt tipinde olduğu bildirilmiştir (Tobin ve ark. 2009).

Yıllar boyunca, bağırsak hareketliliğini, kan akışını ve mukozal taşımayı kontrol eden adrenerjik mekanizmalar üzerine geniş bir literatür birikmiştir.

$\alpha_1$ -adrenoseptörler, postsinaptik olarak düz kas hücrelerine ve daha az ölçüde, iç nöronlara yerleşmiştir.  $\alpha_2$ -adrenoseptörler, hem presinaptik hem depostsinaptik olarak mevcut olabilir. Presinaptik oto ve hetero reseptörler, nörotransmitter salınımının modülasyonunda önemli bir rol oynar,  $\beta$ -adrenoseptörler temel olarak düz kas hücrelerinde bulunur (De Ponti ve ark. 1996). Seiler ve ark. (2005) rat ileumunda kasılma aktivitesinin düzenlenmesinde görev alan adrenerjik reseptörleri  $\beta_3$ ,  $\beta_2$  ve  $\alpha_1$  reseptörlerin olduğunu bildirmişlerdir. Klinik açıdan bakıldığında, adrenoseptör agonistleri / antagonistleri, potansiyel motilite önleyici (antidiyarel / anti-spazmodik) veya prokinetik ajanlar olarak araştırılmıştır, ancak şu anda uygulama alanları sınırlıdır. Rat mide-bağırsak sisteminde 5 – hidroksitriptamin<sub>3</sub> (5-HT<sub>3</sub>) tanımlanmıştır (Glatzle ve ark 1987). Yine rat mide – bağırsak fonksiyonlarının en az 3 adet (*EP1*, *EP3* ve *EP4*) prostaglandin *E2* reseptörü ile düzenlendiği saptanmıştır (Ding ve ark 1997).

Kasılma veya gevşeme geçiren düz kasta agonistler, esas olarak kalsiyum salınımını tetiklemek veya kalsiyumun sekestrasyonunu uyarmak için hücre içi haberciler vasıtasıyla hareket ederler. Bu yolakta, en az üç zar proteini sıralı aktivasyon işlemi oluşturur. Bu zar proteinleri bir reseptör, bir guanosin trifosfat (GTP) bağlayıcı protein ve fosfolipaz C (FLC)'den oluşur ve bu aktivasyon sonunda hücre içi kalsiyum mobilizasyonu sağlanır. Siklik adenosin monofosfat (cAMP), siklik guanilat monofosfat (cGMP) ya da her ikisinin birden üretimi sırasıyla protein kinaz A ve C' nin aktivasyonuna neden olur. Bu kinazlar sitosolik kalsiyumda azalmaya sebep olur. Fosfolipaz C plazma zarında bulunan inositol fosfolipidleri hidrolize uğratar ve 1,4,5-trifosfat (IP<sub>3</sub>) ve diaçilgliserol oluşumuna neden olur. İnositol trifosfatın metaboliti IP<sub>4</sub>, hücreye kalsiyum akışını ve hücre içi depolara kalsiyumun geri alınımını düzenler. Kasılmaya neden olan agonist bir maddeyle uyarım IP<sub>3</sub>, sitosolik Ca<sup>+2</sup> ve kalsiyumun içeriye alınımının artmasına neden olur (Hansen 2003).

**Çizelge 1.1.** Bazı nörohumoral maddelerin *in vivo* bağırsak kasılma üzerindeki etkisi (Hansen 2003).

<b>Uyarıcı</b>	<b>Baskıcı</b>
Asetilkolin	Kalsitonin gen düzenleyici peptid
Adenosin	Gama butirik asit
Bombesin	Galanin
Kolesistokinin	Glukagon
Gastrin salgılayan polipeptid	Nöropeptid Y
Histamin	Nörotensin
Motilin	Nitrik oksit
Nörokinin A	Pituitar adenilat siklaz aktive edici polipeptid
Opiodler	Peptid histidin isolösün
Prostaglandin E <sub>2</sub>	Peptid YY
Serotonin	Sekretin
Tritropin salıverici hormon	Somastostatin
	Vasoaktif intestinal polipeptid

Sindirim sistemi aynı zamanda hormonal kontrol altındadır. Kolesistokinin, ghrelin, pankreatik polipeptid, peptid YY, glukagon benzeri peptid-1 bilinen belli başlı bağırsak hormonlarıdır (Perry ve Wang 2012). Bu hormonlar arasında mide–bağırsak motilitesini etkileyen hormonlarda mevcuttur. Ghrelinin mide-bağırsak motilitesini uyardığı bilinmektedir (Masuda ve ark. 2000, Fujino ve ark. 2003). Endojen ghrelin rat midesinde Faz III benzeri kasılmaları düzenlemektedir (Ariga ve ark. 2007).

Epinefrin, norepinefrin, serotonin ve dopamin gibi nörotransmitterler, besin emilimi, kan akışı, bağırsak mikrobiyomu, yerel bağışıklık sistemi ve genel bağırsak hareketliliği açısından bağırsak sistemi içindeki homeostazın kontrolünde ve korunmasında önemli bir rol oynarlar (Mittal ve ark. 2017).

Enterik salgılanmanın temel fizyolojik görevi, besinlerin uygun şekilde karıştırılmasını, emilmesini ve potansiyel olarak zararlı patojenlere veya enterotoksinlere karşı etkili korumayı sağlamak için lümen içeriklerinin sürekli hidrasyonudur. Bağırsak kript hücreleri lümen içine klorür salgırlar, bu da sıvı

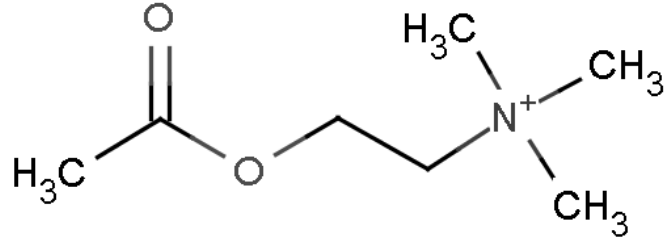
birikmesine neden olur. Klorür salgısının düzenlenmesi ESS içindeki nöral refleks yolları ile gerçekleşir. Enterik sinir sisteminin nörotransmitterlerin sekresyonu üzerine etkileri Çizelge 1. 2' de gösterilmiştir (Nezami ve Srinivasan 2010).

**Çizelge 1.2.** Enterik sinir sistemi nörotransmitterlerinin sekresyon üzerine etkileri (Nezami ve Srinivasan 2010).

Uyarıcı	Baskıcı
Adrenerjik $\beta$	Adrenerjik $\alpha_2$
5-HT <sub>3</sub>	5-HT <sub>4</sub>
Nikotinik	Purinerjik P <sub>2y</sub>
Muskarinik M <sub>3</sub>	Adenozin A
	Gama amino butirik asit
	Histamin H <sub>3</sub>
	Vasointestinal peptid
	Somastostatin

### 1.3 Asetilkolin

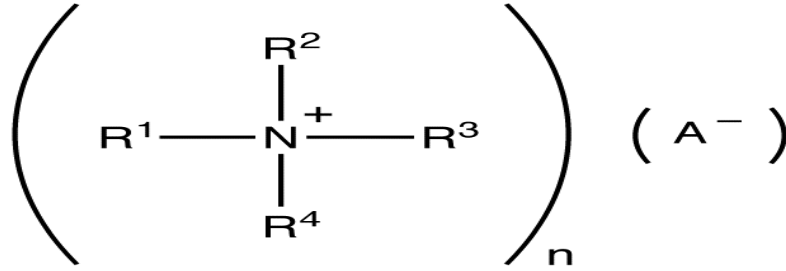
Nöronal sinyallemede hizmet etmenin yanı sıra, kolinerjik uyarıcı innervasyon, hem düz kasın hem de salgı hücrelerinin düzgün çalışması için hayati öneme sahiptir (Davis ve ark. 1998). Asetilkolin parasempatik sinir sisteminin önemli uyarıcı nöromedyatörüdür. Bağırsak hareketlerinin düzenlenmesinde önemli fizyolojik rolü vardır. Rat ileumunda iki mekanizma ile muskarinik reseptörleri uyarmaktadır. Birinci mekanizma zar depolarizasyonu ile plazma zarındaki seçici olmayan katyon kanallarının aktivasyonudur. Depolarizasyon voltaj bağımlı kalsiyum kanalları yolu ile kalsiyumun içe akışını uyarmaktadır. İkinci mekanizma ise hücre içi kalsiyum salınımı ile kasılmanın aktive olmasıdır (Bigovic ve ark 2010). Şekil 1.1' de ACh'ın kimyasal şekli gösterilmiştir (Anonim 2019a)



Şekil 1.1. Asetilkolinin kimyasal şekli (Anonim 2019a)

#### 1.4 Kuaterner Amonyum Bileşikler

Kuaterner amonyum bileşikleri ilk olarak 1917 yılında bulunmuştur ve özellikle katyonik yüzey aktif maddeler olma özelliği ile ön plana çıkmışlardır (Fisher 2003). Şekil 1.2. Kuaterner amonyum bileşiklerinin genel formülü gösterilmiştir (Anonim 2019b)



Şekil 1.2. Kuaterner amonyum bileşiklerinin genel formülü (Anonim 2019b). n: pozitif tam sayı R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> hidrojen atomu, alkil, aril, veya bunların kombinasyonları olabilir. A<sup>-</sup> tuzdaki herhangi bir anyon olabilir.

Benzalkonyum klorür en yaygın kullanılan kuaterner amonyum bileşiğidir. Ortak formülasyonları, tipik olarak uzunluğu 8 ila 18 karbon arasında değişen, çeşitli, çift sayılı, düz alkil zincirleriyle bir alkil-benzil-dimetilamonyum klorür karışımını içerir. Farmasötik benzalkonyum ürünlerinde genellikle alkil zincir uzunlukları 12 ila 14 karbon arasında değişmektedir. Stearalkonyum klorür başka bir

alkil-benzil-dimetil-amonyum klorür bileşimidir ve zincir uzunluğu 18 alkildir. Ayrıca 16 alkil uzunluğunda yapısında brom ve klor bulduran setrimonyum (setil trimetil amonyum) tuzları da kullanılan kuarterner amonyum bileşiklerindedir. Setrimonyum klorür sıkça ev ürünlerinde, şampuanlarda ve kozmetik ürünlerinde kullanılmaktadır. Son yıllarda kuarterner amonyum bileşiklerinin kullanımı dramatik bir şekilde artmıştır. Temizlik dahil birçok endüstriyel amaç için kullanılır; bunlara çiftlik binalarının, su ve atık suyun dezenfekte edilmesi bahçecilik ile antifungal tedavide dahildir. Ek olarak, farmasötik ürünlerde de kullanılır (Buffet-Bataillon ve ark. 2012).

Kuarterner amonyum bileşiklerinin evsel ve endüstriyel ürünlerde yaygın kullanımı sebebiyle, önemli miktarda atık su arıtma tesislerine ulaşmaktadırlar. Çevreye salınan kuarterner amonyum bileşiklerinin ana kaynakları, atık sular ve atık suların, atık su arıtma tesislerinden boşaltılmasıdır. Kuarterner amonyum bileşiklerinin ayrıca hastaneler, çamaşır atık suları ve çatı akışı gibi diğer yerel nokta kaynakları da çevredeki varlığına yol açmaktadır. Her ne kadar kuarterner amonyum bileşikleri aerobik koşullarda biyolojik olarak parçalanabilse de, emilmesi bozulmasından daha hızlıdır. Bu nedenle, çevrede, özellikle de anoksik / anaerobik bölmelerde yüksek miktarda kuarterner amonyum bileşikleri birikmiştir. Ortamda bulunan kuarterner amonyum bileşiklerinin varlığı sadece suda yaşayan ve karasal organizmalar için toksik değildir, aynı zamanda hem insan hem de çevre sağlığı için acil bir sorun olarak kabul edilen, antibiyotiğe dirençli bakterilerin oluşması açısından da önem arz etmektedir (Zhang ve ark. 2015). Karışımları da sıklıkla kullanılan kuarterner amonyum grubu dezenfektanların alkil dimetil benzil amonyum klorit ve DDAK farelerde üreme sağlığını önemli ölçüde bozduğu da saptanmıştır (Melin ve ark. 2014).

#### **1.4.1 Etki Şekli**

Kuarterner amonyum bileşikleri, her ne kadar bakteriyel sporların aşırı üremesini durdursa da gerçekte sporların jermantasyonunu etkilememektedir. Mikobakterilerin de gelişimini engeller ancak öldüremez ve mantarlarda da etkilidir (Wessels ve Ingmer 2013). Hücre zarındaki fosfolipidleri ve kolesterolü çözebilme



yetenekleri nedeniyle, hücrenin ölümüne neden olabilecek şekilde, hücre geçirgenliğini etkiler. Diğer kuaterner amonyum bileşikleri, katyonik materyaller olarak proteinleri denatüre eder, proteini çökeltir ve genelleştirilmiş doku tahrişine neden olurlar (Throup 2019).

Tetraetil bromid voltaj bağımlı potasyum (K) kanal blokörü etkisi bulunmaktadır (Amstrong 1969). Domifen bromid ve didesildimetilamonyum bromid insan ether-a-go-go ilişkili gen (hERG) kanalını aktive kanal durumunda iken inhibe ettiği de gösterilmiştir (Long ve ark. 2014).

Simetropiyum, n-butilkopolamonyum, otilonyum ve pinaveryum bromid gibi kuaterner amonyum bileşikleri ise güçlü spazmolitik maddeler olarak geliştirilen ilaçlardır. Bu ilaçları aşırı motilite üzerindeki etkileri *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla desteklenmiştir. Pinaveryum ve otilonyum adlı ilaçlar hariç diğerlerinin antimuskarinik etkileri olduğu saptanmıştır. Bu iki ilaç ise L-tip voltaj bağımlı kalsiyum kanalları ile özel bir şekilde kalsiyumun içeri alınımını önleyerek kalsiyum blokan etkisi ile mide bağırsak düz kaslarını gevşetmektedir. Otilonyum ayrıca taşikininin NK (2) reseptörlerini bağlayabilir ve sadece kasılma oluşturan maddelerin birini inhibe etmekle kalmaz, aynı zamanda duyuusal sinyallerin periferden merkezi sinir sistemine geçişine aracılık eden afferent sinirlerin aktivasyonunu azaltabilir (Evangelista 2004).

Dönüşümlü kolinesteraz inhibitörleri, ester yapıda olmayan kuaterner amonyum bileşiklerini de kapsar. Basit bir kuaterner amonyum bileşiği olan edrofonyum bu bileşiklere bir örnektir (Malamed 2010).

#### **1.4.2 Toksikokinetik**

Kuaterner amonyum bileşiklerinin sıçan bağırsağından emilimi bir dizi n-alkiltrimetilamonyum bileşiği kullanılarak incelenmiştir. Membranına bağlanma ile jejunal halkadan ayrılma arasında bir ilişki bulunmuştur. Bu sonuçlardan, bir kuaterner amonyum molekülünün hidrofobik kısmının boyutunun hem emilmede hem de membran bağlanmasının temel bir belirleyicisi olduğu bulunmuştur (Saitoh ve ark 1991). Sıçanlarda ağızdan verilen setiltrimetil amonyum bromidin emilim

dağılım ve atılımı çalışılmış ve 8 saat sonra verilen kuaterner amonyum bileşiğinin %80' inin mide bağırsak kanalında olduğu tespit edilmiştir. Çok az bir oranının kan plazmasında olduğu, 12 saat sonra ise % 2' sinin safra ile atıldığı tespit edilmiştir (Isomaa 1975).

### **1.4.3 Zehirliliği**

Zehirlilik denemelerinde genellikle benzalkonyum klorür için yapılmış veriler kullanılmıştır. Öldürücü doz 50 değerleri sıçanlar için 250-1000 mg/kg, fareler için 150-1000 mg/kg, kobaylar için 150-300 mg/kg ve tavşan için yaklaşık 500 mg/kg canlı ağırlık olarak bulunmuştur. C16'nın üstünde artan zincir uzunluğunun akut toksisiteyi belirgin bir şekilde azaltmakta ve çift karbon sayılı zincirlerin, tek karbon zincirlerine sahip olanlardan daha toksik olduğu bildirilmiştir. C16'nın üzerindeki toksisitedeki azalmanın, suda çözünürlüğün azalmasından kaynaklandığı ileri sürülmüştür (Throup 2019). Isomaa (1976) setil trimetil amonyum bromür içme suyuna erkek ve dişi Sprague-Dawley sıçanlarına 1 yıl boyunca yaklaşık 10, 20 ve 45 mg / kg / gün dozlarında vermiş ve maddenin en düşük iki doz seviyesinde iyi tolere edildiğini ancak en yüksek doz seviyesinde vücut ağırlığında bir azalma gözlendiğini tespit etmiştir. Erkeklerde vücut ağırlığı çalışma boyunca azalmış, ama dişilerde vücut ağırlığı çalışmanın sadece ilk 2 ayında azalmıştır. Çalışmanın ilk 7 haftasında gıda dönüşümünün erkek sıçanlarda daha az etkili olduğu bulunmuş, otopside bileşikle ilişkili brüt patolojik değişiklikler görülmemiştir. Melin ve ark (2016) hem dişi hem de erkek farelerde alkil dimetil benzil amonyum klorid ve didesildimetilamonyum kloridin birlikte üremeyi olumsuz yönde etkilediğini göstermişlerdir.

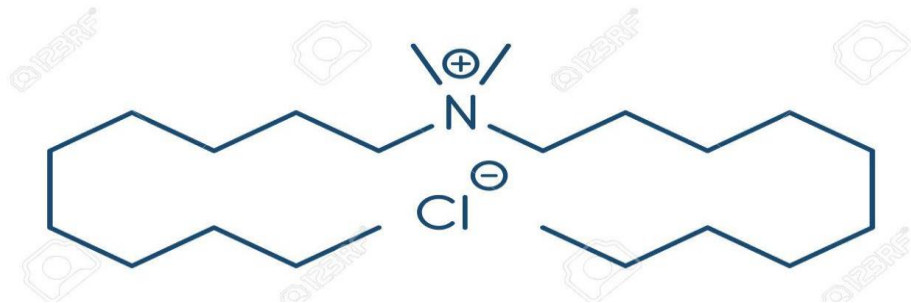
### **1.5. Didesildimetilamonyum Korür**

Didesildimetilamonyum klorür (DDAK), ISO (Uluslararası standart organizasyonu) ortak ismine sahip değildir ve çeşitli bileşiklerin bir karışımıdır. DDAK kuaterner alkil-amonyum bileşikleri sınıfına aittir. Bu madde sistemik olmayan geniş

spektrumlu fungusit, bakterisit ve herbisit (algisit) etkilidir. DDAK, hidroponik sistemlerde, sert yüzeylerde, ekipmanlarda, cam duvarlarda ve kaldırımlarda, saksılarda ve bıçaklarda fitofatojenik mantar, fitofatojenik bakteri ve alglerin büyümesini engeller ve öldürür. DDAC bahçelerin bakımında, sadece cam evlerin içinde kullanılır. Bitkilerin kendisinde kullanılmaz. Kimyasal ismi *N*-desil *N*, *N*-dimetildekan-1-aminyum kloriddir (EFSA 2008). Kimyasal yapısı Şekil 1.3.' de gösterilmiştir.

Aktif madde DDAK 188 ila 205 °C arasında erime noktasına sahip, açık renkli bir katıdır. Kaynamadan önce yaklaşık 280 °C'de ayrışma gözlemlenmiştir. Nispi yoğunluğu, 20 °C' de 0.902 olarak belirlenmiştir. DDAK suda yüksek oranda çözünür (20°C'de suda çözünürlük, pH 2.2' de ve pH 9.2'de 500 g / l' dir). Ayrıca, aseton (20 °C' de > 600 g / l), metanol (20 ° C'de> 600 g / l) ve oktanolde (20° 'de > 250 g / l) kolayca çözünür (Directive 98/8/EC 2012).

DDAK birçok bakteri türüne karşı etkilidir. *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Echerichia coli* türlerine karşı bakterisidal etkilidir (Walsh ve ark 2003). Ayrıca, metisiline dirençli *S. aureus* suşlarını da etkiler (Furuta 1992, Stephens ve ark. 1994, Yoshimatsu ve Hiyami 2007). DDAK' ın etkisi dört zarflı virüs (veziküler stomatit virüsü, Afrika domuz nezlesi virüsü, at viral arterit virüsü ve domuz üreme ve solunum sendromu virüsü) ve iki zarfsız virüs (domuz veziküler hastalık virüsü (SVDV) ve Afrika atı hastalığı virüsüdür (AHSV) üzerinde çalışılmış ve kuarterner amonyum bileşiğinin dört zarflanmış virüse ve AHSV'ye karşı % 0.003' lük düşük konsantrasyonda çok etkili olduğu ve ancak sadece % 0.05 NaOH içeren konsantrasyonu SVDV'ye karşı etkili olduğu bulunmuştur (Shirai ve ark 2000).



**Şekil 1.3.** Didesildimetilamonyum klordin kimyasal yapısı (Anonim 2019c)

### 1.5.1. Etki şekli

DDAK'ın bakteriler üzerine olan etki şeklinin direkt hücre zarı üzerine olduğunu burada hücre içi moleküllere etkiyerek hücre ölümüne neden olduğu bildirilmiştir (Yoshimatsu ve Hiyama 2007).

### 1.5.2. Toksikokinetik

Ağızdan alınan DDAK'ın %89,99'u dışkıda, <%2,5 idrarda tespit edilmiştir. DDAK mide-bağırsak sisteminde emilmemektedir (Green ve Silva 1996). DDAK'ın mide-bağırsak sisteminden emilmemesinin sebebi yüksek derecede iyonik olmasıdır (Henderson 1992). Farelere gavajla 50 ve 200 mg/kg/gün'de tek ve / veya tekrarlanan DDAK verilmesinin ardından, plazma ve kan radyoaktivitesi ölçülemedi; bu durum düşük oral biyoyararlanımı göstermektedir. Emilen oral doz asgari % 0.93 – 3.16 olarak bulunmuştur. DDAK'ın 48 saatlik bir sürede hızla elimine edildiği bildirilmiştir. Ağızdan verilen DDAK'ın yalnızca yüksek oral doz seviyesinde, dozlamadan 24 saat sonra bazı merkezi organlarda ölçülebilir radyoaktivite seviyeleri bulunmuştur (bağırsaklar, karaciğer, böbrek); verilen dozun büyük çoğunluğu bağırsaklarla sınırlı kalmış ve zamanla seviyeleri azalmıştır (European Chemical Agency 2005).

DDAK'nın *in vitro* dermal absorpsiyon kinetiğini, tek ve çoklu maruziyetten sonra çalışan, ayrıca ek olarak, biyosidal formülasyonların DDAK emilimine etkisini araştıran Buist ve ark (2007), sulu çözelti içerisinde DDAK'e dermal maruz kalmadan sonra, uygulanan dozun % 0,5'inden daha azı 48 saat sonra reseptör sıvısına ulaştığını saptamışlardır. DDAK'ın cilt bariyer fonksiyonunu azaltabileceğini düşünen araştırmacılar, DDAK'ın stratum korneum'a kolayca dağıldığını, buna karşın dermisin DDAK penetrasyonunun ana bariyeri olarak görüldüğünü bildirmişlerdir.

### 1.5.3. Zehirliliği

DDAK'ya olası bir maruziyet genellikle ağızdan, solunum yolu ve deri yolu ile olmaktadır (USEPA 2006).

İki hafta süreyle yaklaşık 0,15 mg/m<sup>3</sup>, 0,6 mg/m<sup>3</sup> ve 3,6 mg/m<sup>3</sup>' DDAK gazı soluyan sıçanlarda yapılan bir çalışmada vücut ağırlığı artışı ile akciğerler esas olarak DDAK maruziyetinden etkilendiği gözlemlenmiştir. DDAK için gözlenmeyen olumsuz etki düzeyi (NOAEL) 0.15 mg/m<sup>3</sup> olarak belirlenmiştir (Lim ve Chung 2014). On üç hafta boyunca yapılan başka bir inhalasyon zehirlilik denemesinde ise NOAEL 0,11 mg/ m<sup>3</sup> olarak belirlenmiştir. Belirtilen çalışmada en çok vücut ağırlığı (normale göre bir düşüş) ve akciğer ağırlığını (normale göre bir artış) DDAK' den etkilendiği saptanmıştır (Kim ve ark 2017). DDAK' ın dezenfektan işleminde kullanıldığında çalışma ortamlarını kirletebilir ve insan sağlığını olumsuz yönde etkileyebilir. DDAK'ın dirençli bakterilerin gelişmesini sağlayarak, halk sağlığı sorununa neden olabileceği hipotezi ile yapılan bir çalışmada; farelere intratrakeal olarak DDAK uygulanmıştır. Sonuçta, DDAK'ın eksojen enfeksiyöz maddelerin duyarlılığına katkıda bulunabilecek olan pulmoner savunma sistemini değiştirebileceği bildirilmiştir (Ohnuma ve ark. 2011). İnsan bronşiyal epitel hücrelerinde etilen glikolün DDAK' ın zehirliliğini artırdığı saptanmıştır (Kwon ve ark 2015).

Anderson ve ark (2016), dişi BALB/c farelerde %40'a varan oranlarda DDAK çözeltisini her kulağa 25 µl olacak şekilde uygulamışlar ve irritasyon ve aşırı duyarlılık tepkimeleri oluştuğunu saptamışlardır. Tavşanın derisine % 50 DDAK uygulamasından 24 ve 72 saat sonra şiddetli eritem ve ödeme neden olduğu bildirilmiştir. DDAK için tahriş edici olmayan konsantrasyon % 0.005' olarak belirlenmiştir (Hendersen 1992).

Hem dişi hem de erkek farelerde alkil dimetil benzil amonyum klorid ile birlikte kullanılan DDAK' ın üremeyi bozduğu gösterilmiştir (Melin ve ark 2016). Sıçanlarda 90 gün boyunca 3000 ppm DDAK verilmesi hem dişi hem de erkeklerde %80 ölümlere neden olmuştur (Henderson 1992).

#### 1.5.4. Çalışmanın Amacı

Antiseptik ve dezenfektanlar özellikle çevrenin ve suyun hijyeninde, ağıl ve kümeslerin dezenfeksiyonunda, zoonoz ya da bulaşıcı hastalıklardan korunmada kullanılan maddelerdir. Bu amaçla en çok kullanılan maddelerden biri de DDAK' dir. Kullanılma yerleri algisid, dezenfektan, ağaç koruyucu, havuz dezenfeksiyonu ya da zirai materyal dezenfeksiyonu gibi alanlardır. Duvarlarda, yerlerde, masalarda, tuvalet gibi yerlerin dezenfeksiyonunda kullanılır. Yumurta kabuğunun dezenfeksiyonunda da kullanılır. Ayrıca yüzme havuzlarında yosun önleyici gibi kullanım yerleri vardır. Dialkil kватerner amonyum bileşiği olan bu madde antimikrobiyal etkilidir. DDAK' e maruziyet yollarından en önemlisi ağız yoludur.

Mide-bağırsak sistemi, ağızdan kullanılan maddeler için en önemli emilim bölgesi ve toksik bir maddenin kaza ya da yanlışlıkla alınması durumunda, zehirli madde ile ilk karşılaşılacak sistemdir. Değişik sebeplerden dolayı mide-bağırsak hareketlerinde bozukluklara rastlanılabilir. Mide-bağırsak hareketlerinde azalma, bölgenin bariyerinin bozulmasına ve mikroorganizmaların üremesine elverişli bir ortam sağlayabilir. Mide-bağırsak hareketlerinde artış ise ishal ve emilim bozukluklarına neden olur.

Yapılan literatür taramalarında DDAK' in bağırsak hareketleri üzerine *in vitro* etkisini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmanın amacı didesildimetilamonyum kloridin rat duodenum, jejunum ve ileum düz kasları üzerine etkilerini araştırmak, böylece olası oral bir maruziyette sindirim sistemi üzerine olan etkilerini değerlendirmektir.

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. Kullanılan Deney Hayvanları

Deneyleerde 500-600 gram ağırlığında, 5-6 aylık 19 adet erkek Wistar albino sıçanlardan izole edilen 19 adet duodenum, jejunum ve ileum dokusu kullanılmıştır. Deneyleerde kullanılan erkek sıçanlar 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık altında, yem ve su kısıtlaması yapılmadan aynı kafeste tutulmuştur. Tüm hayvanlar deney süresince Kırıkkale Üniversitesi Hüseyin Aytemiz Deneyleel Araştırma ve Uygulama Merkezinde bakılmıştır. Çalışma Kırıkkale Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu' nun 22.02.2018 tarih ve 18/03 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

### 2.2. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

Çalışmada; Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında bulunan cihaz ve malzemeler kullanılmıştır.

- Hassas Terazi (Precisa XB 220 A-İsviçre)
- Otomatik Pipetler (Eppendorf 100-1000µl, 20-200µl)
- Distile Su Cihazı (Tetra – Zeneer RO 180)
- İnce ve kalın uçlu ve küt uçlu makas, dişli ve ince uçlu pensler, penset
- -20°C Buzdolabı (Beko BK9610)
- Cam tüpler
- Ependorf Tüp (1,5 mL)
- İzole Organ Banyosu, Biopac Systems Mp 35 (Commat, Türkiye)
- Polygraph sistem, İzometrik gerim ileticisi, Bilgisayar
- Vorteks (IKA MS3 Basic)
- Tüp (%95 O<sub>2</sub> ve %5 CO<sub>2</sub> içeren gaz karışımı)
- pH metre (OHAUS)
- Petri kutuları

### 2.3. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

Didesildimetilamonyum klorid (Selenoid ALG S40/307, Agora, İzmir) (%4'lük distile suda): 90,9 ml selenoid ALG S40 üzerine 9,1 ml distile su ile ilave edilerek 100 ml, 0,1 M stok çözeltisi -20°C de saklanmıştır, deneylerde ise dilüe edilerek kullanılmıştır.

Asetilkolin (Sigma A 6625). Distile suda çözdürülmüştür, 0,1 M stok çözeltisi -20°C de saklanmıştır, deneylerde dilüe edilerek kullanılmıştır.

Ketamin (Ketalar, Pfizer)

Ksilazin (Rompun, Bayer)

### 2.4. Deneylerde Kullanılan Tiroid Çözeltisinin Bileşimi

Sodyum klorür (NaCl) (Merck, 1064041000): 134 mM

Sodyum bikarbonat (NaHCO<sub>3</sub>) (Merck, 1063295000): 11,9 mM

Sodyum dihidrojen fosfat (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) (Merck, 1063451000): 417 µM

Magnezyum klorür (MgCl<sub>2</sub>)(Merck, 1058325000): 1,05 mM

Potasyum klorür (KCl)(Merck, 1049361000): 2,68 mM

Kalsiyum klorür (CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O)(Merck, 1023825000): 1,80 mM

Dekstroz (C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>) (Merck, 1083375000): 5,56 mM

Çözeltinin pH sı 7,4' e ayarlanmıştır.

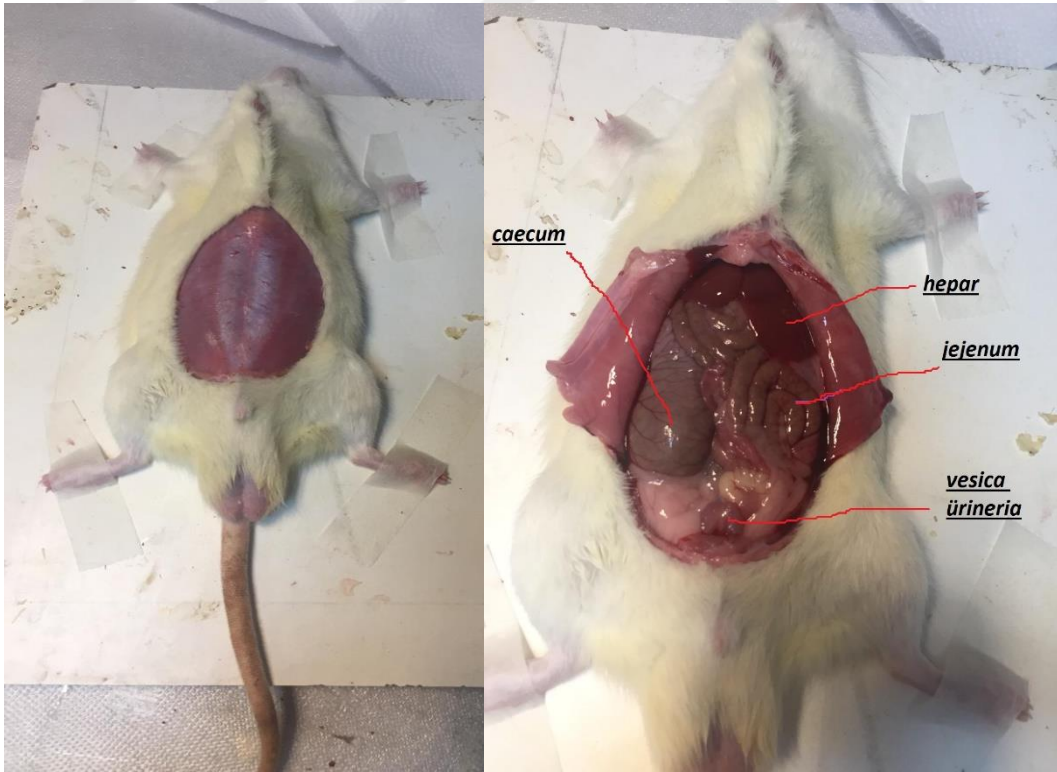
### 2.5. Yöntem

Çalışmada 19 adet sıçandan alınan duodenum, jejunum ve ileum dokuları izole edilmiştir. Daha sonra DDAK'nın dokular üzerindeki etkileri Bölüm 2.6'da belirtilen protokollerle çalışılmıştır.

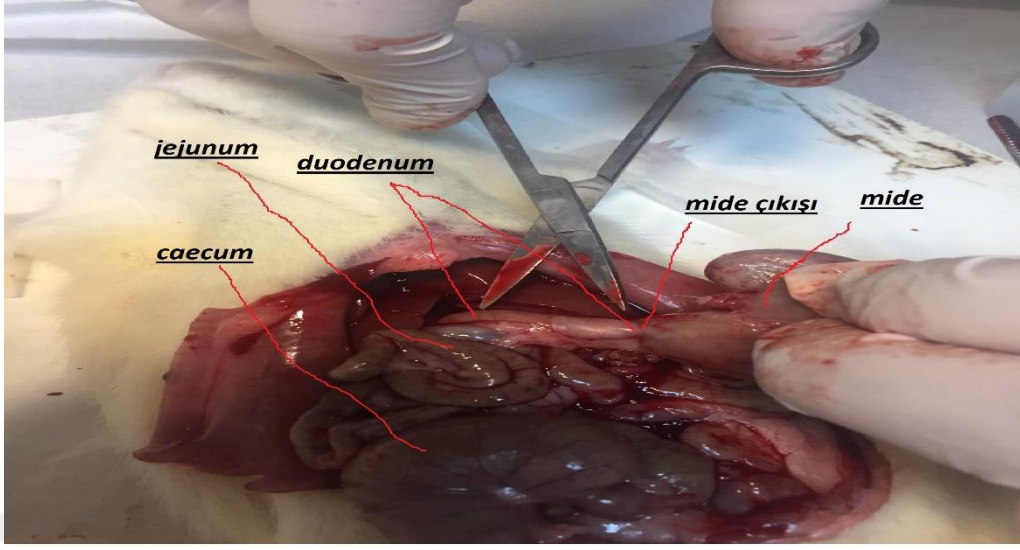


### 2.5.1. Sıçan İnce Bağırsak Parçalarının İzolasyonu

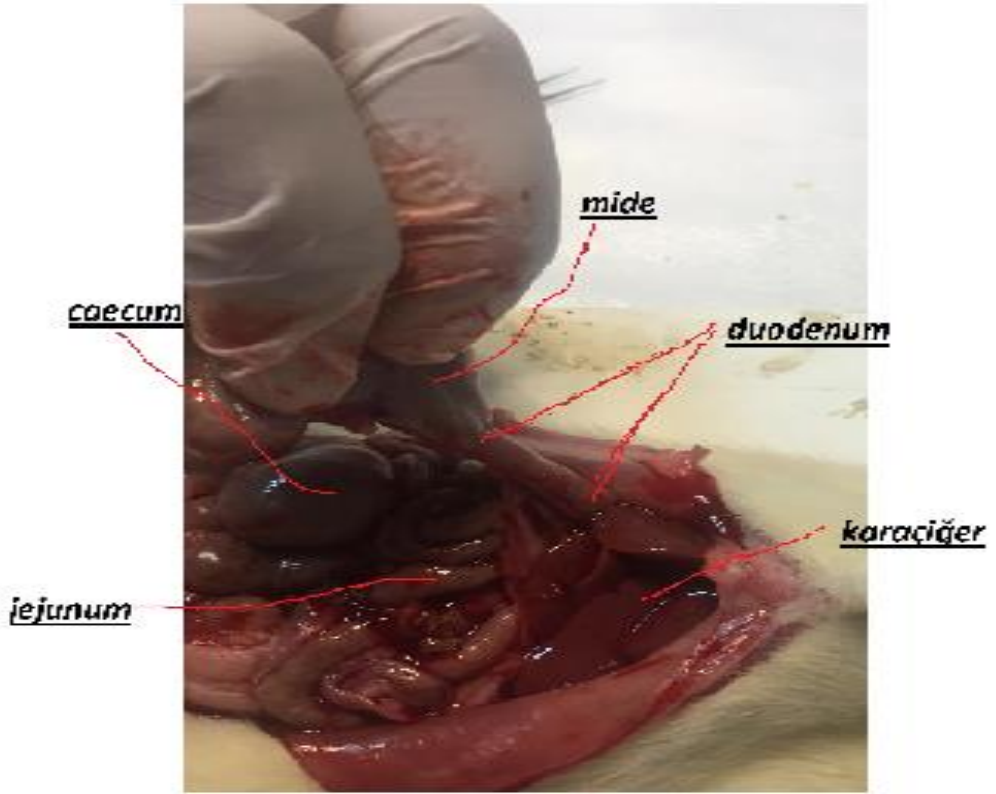
Çalışmada kullanılan yaklaşık 500-600 g ağırlığındaki erkek sıçanlar, periton içi (ip) ketamin (50 mg/kg) ve ksilazin (10 mg/kg) uygulaması ile anesteziye alındı. Sıçanlar anestezi altındayken, Şekil 2.1'deki gibi karın ön duvarı açıldı. İnce bağırsak parçaları izole edildi. Duodenum hemen midenin çıkış kısmından Şekil 2.2 ve Şekil 2.3'deki gibi izole edildi. Jejunum izole edilirken Şekil 2.4'deki gibi başlangıç ve bitiş noktasının ortasından alınan parça kullanıldı. İleum ise plica iliocaecalis takip edilerek ileum üzerindeki sınırı ile sekum arasındaki kısım Şekil 2.5'deki gibi izole edildi. Hemen +4°C'de tirod çözeltisi içeren bir petri kutusuna alınan bağırsak parçaları, ince uçlu bir makas vasıtasıyla, çevre doku ve yağlarından arındırıldı. Tubal bir şekilde ortalama 1 cm boyunda izole edilen duodenum, jejunum ve ileum kesitleri, içinde 10 ml tirod çözeltisi bulunan, 37°C'ye ayarlanmış izole organ banyosuna (Biopac Systems Mp 35, Commat, Türkiye) 1 g ön gerim verilerek asıldı. Dokulara deneyler boyunca %95 oksijen - %5'lik karbondioksit gaz karışımı uygulandı.



Şekil 2.1. Sıçanda karın içi organların görünümü



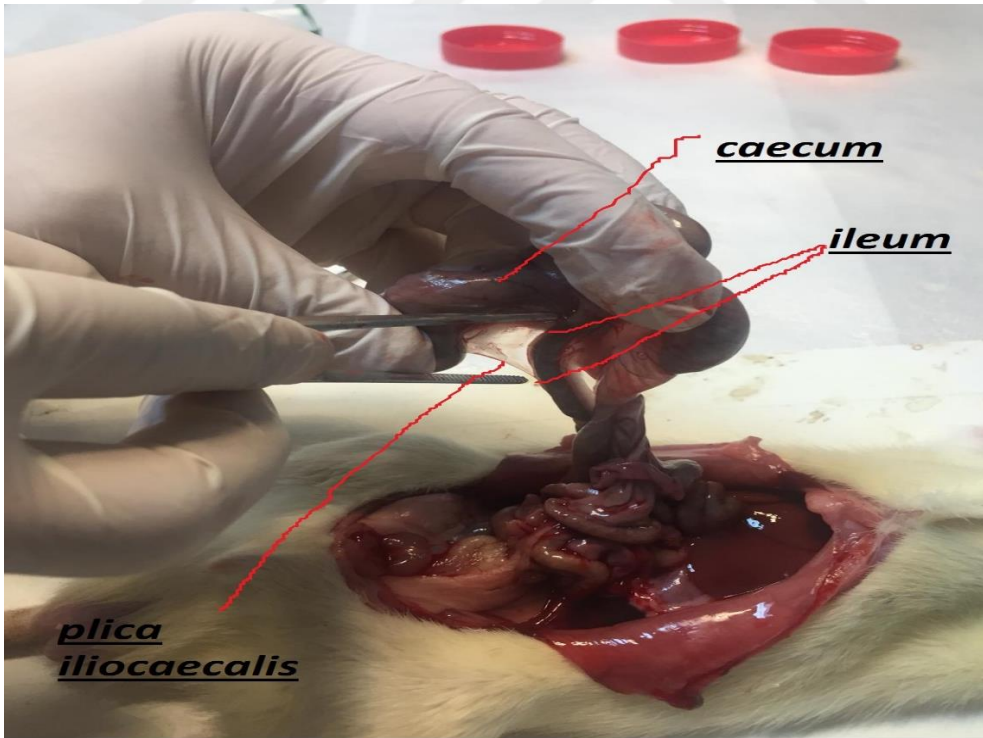
Şekil 2.2. Sığanda duodenumun alındığı bölge



Şekil 2.3. Sığanda duodenumun gösterilmesi



Şekil 2.4. Sıçanda jejunumun izole edilmesi



Şekil 2.5. Sıçanda ileumun sınırlarının belirlenerek izole edilmesi

Tüm ince bağırsak kısımları (duodenum, jejunum ve ileum), izole organ banyosuna asıldıktan sonra 45 dakika (dk) boyunca dengelemeye bırakıldı. Dengeleme boyunca dokuların içerdiği tirod çözeltisi 15 dk ara ile boşaltılıp, tekrar ilave edildi (10 ml). Dengeleme işleminden sonra dokuların canlılığı  $10^{-4}$  M asetilkolin verilerek test edildi. Protokollerdeki deneyler sırasında izole edilen dokuların gerimindeki değişiklikler izometrik gerim ileticisi (transduser) ile ölçüldü ve bilgisayara kaydedildi.

## **2.6. Deney protokolleri**

Çalışma üç adet grupta üç protokol uygulanarak yürütüldü:

### **2.6.1. Birinci grup (1. Protokol):**

Didesildimetilamonyum kloridin sıçan ince bağırsak kısımları üzerine tek başına etkisini araştırmak amacıyla DDAK derişimleri duodenum, jejunum ve jejunum üzerine uygulandı. Kırkbeş dakika dengeleme periyodunun ardından  $10^{-4}$  M ACh derişimi uygulanarak dokuların canlılığı test edildi. Ardından tirod çözeltisi ile duodenum, jejunum ve ileum dokuları 5 dk ara ile 3 kez yıkandı. Tekrar kendi spontan kasılmaları oluşunca  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  DDAK çözeltileri kümülatif (birikimli) derişimlerde 5 dk ara ile uygulandı.

### **2.6.2. İkinci grup (2. Protokol)**

Bu uygulama önceden maruz kalınan DDAK'ın ACh kasılmalarını nasıl etkilediğini saptamak amacıyla yapıldı. Dengeleme 45 dk döneminin ardından  $10^{-4}$  M ACh derişimi uygulanarak dokuların canlılığı test edildi. Beş dk ara ile 3 kez tirod çözeltisi ile duodenum, jejunum ve ileum dokuları yıkanmıştır. Daha sonra  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  ve  $10^{-3}$  M ACh derişimleri kümülatif olarak uygulandı. Dokular 5 dk ara ile 3 kez yıkandıktan sonra tekrar dengelenince  $3 \times 10^{-7}$  M DDAK ile

15 dakika inkübe edilen dokuların üzerine  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  ve  $10^{-3}$  M ACh derişimleri uygulandı. 1. Protokolden elde edilen veriler kullanılarak dokular üzerine DDAK'ın etkilediği derişim seçildi.

### 2.6.3. Üçüncü grup (3. Protokol)

Bu uygulama prekontrakte (ön kasılma) edilen dokularda DDAK'ın etkisini değerlendirmek amacıyla yapıldı. Dengeleme döneminin (45 dk) ardından  $10^{-4}$  M ACh derişimi uygulanarak dokuların canlılığı test edildi. Beş dk ara ile 3 kez Tirod çözeltisi ile duodenum, jejunum ve ileum dokuları yıkandı. Daha sonra  $1,71 \times 10^{-5}$  M ACh (ACh'ın  $EC_{85}$  değeri Graph Prism Software ver.6 programı ile daha önceden yapılan denemelerden elde edilen ACh derişim yanıtlarının eğrilerinden elde edildi n: 6) ile dokular prekontrakte edildi ve yıkama yapmadan 3 dk ara ile 100, 90, 90, 90, 90  $\mu$ l olacak şekilde 5 kez distile su verildi. Bu deneme kontrol olarak değerlendirildi. Beş dakika ara ile dokular eski haline dönene kadar yıkandıktan sonra yine  $1,71 \times 10^{-5}$  M ACh ile dokular prekontrakte edildi ve 3 dk ara ile  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M DDAK kümülatif (birikimli) derişimlerde uygulandı.

### 2.7. Protokol Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Çalışmanın verileri değerlendirilirken, oluşan kasılma ve gevşemeler veya gerimdeki değişiklikler izometrik gerim ileticisi (Biopac Systems Mp 35, Commat, Türkiye) ile ölçüldü ve bilgisayara kaydedildi. Maddelerden elde edilen verilerin değerlendirilmesinde 1. Protokolde bazal çizgiye göre (Bazal çizgi değeri 100 kabul edilerek) % kasılmalar ölçüldü. 2. Protokolde ise hem tek tek tüm derişimlerin bazal çizgiye göre % kasılmaları hesaplandı, hem de elde edilen bu verilerden ACh kasılmalarının  $pD_2$  ve  $E_{max}$  parametreleri Graph Pad Prism Software ver.6 Programı ile hesaplandı. Daha sonra  $pD_2$  ve  $E_{max}$  değerlerinin karşılaştırılması ile yapıldı.  $pD_2$  değeri yarı maksimal etkinlik için gerekli kullanılan maddenin derişiminin negatif logaritması;  $E_{max}$  değeri ise ilaç tarafından oluşturulan maksimum etkinliğin %

şeklinde ifadesi olarak tanımlandı. Emax değeri hesaplanırken yine bazal çizgiye göre % kasılmalar bulundu ve uygulanan ACh derişimlerinin ulaştığı en yüksek değer kullanıldı. Üçüncü protokolde ise ACh' ın EC<sub>85</sub> yani submaksimal derişimi bulundu. Bu derişim ile ön kasılma oluşturulan dokuların ulaştığı maksimum kasılma %100 olarak kabul edildi. Ardından oluşan gevşeme yanıtları bu değer 100 kabul edilerek hesaplandı. Frekans değerleri ise 3 dk ara ile uygulanan maddelerin oluşturduğu spontan kasılmaların tepe noktaları sayılarak elde edildi.

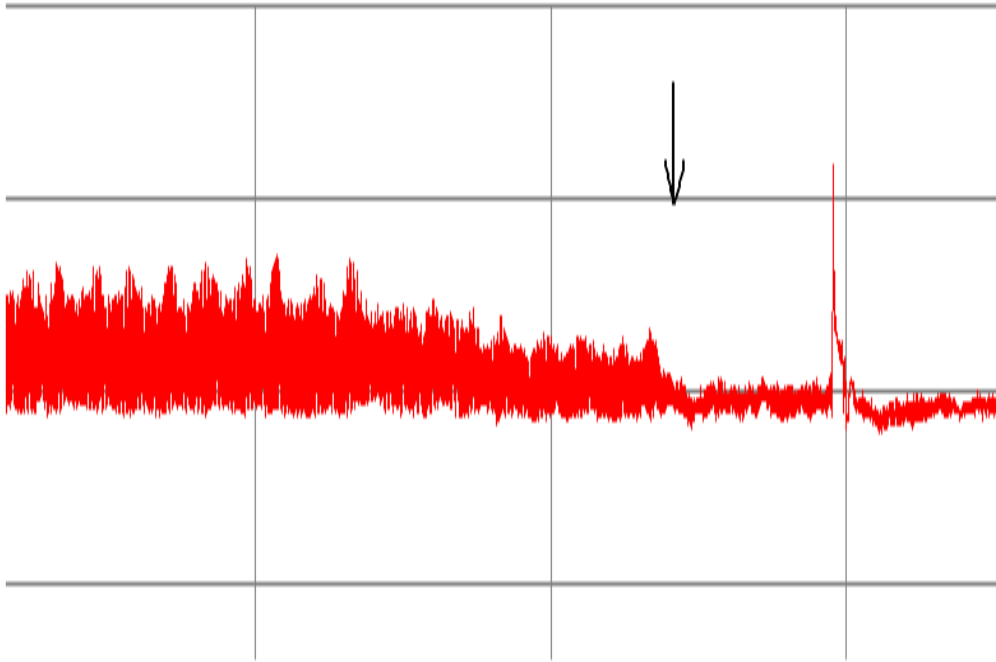
## **2.8. İstatistiksel Analizler**

İstatistiksel hesaplamalar “SPSS 15 Windows için” istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Sunulan çalışmada elde edilen veriler aritmetik ortalama ± standart hata şeklinde verildi. Öncelikle normalite testi yapıldı. Normal dağılım gösteren verilerde ikili gruplar arasında “eşli gruplar t testi”, normal dağılım göstermeyen verilerde ise “Wilcoxon Signed Ranks non parametrik testi” kullanıldı. P<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

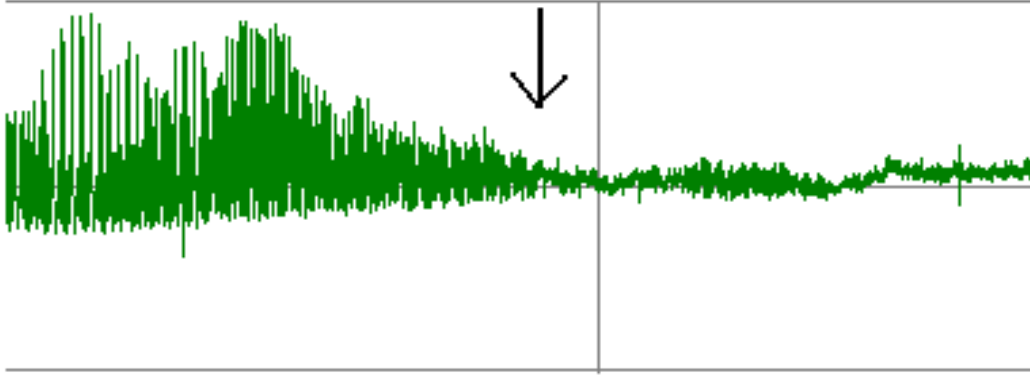
### 3. BULGULAR

#### 3.1. Didedisildimetilamonyum kloridin tek başına dudenum, jejunum ve ileum kasılmaları üzerine etkisi

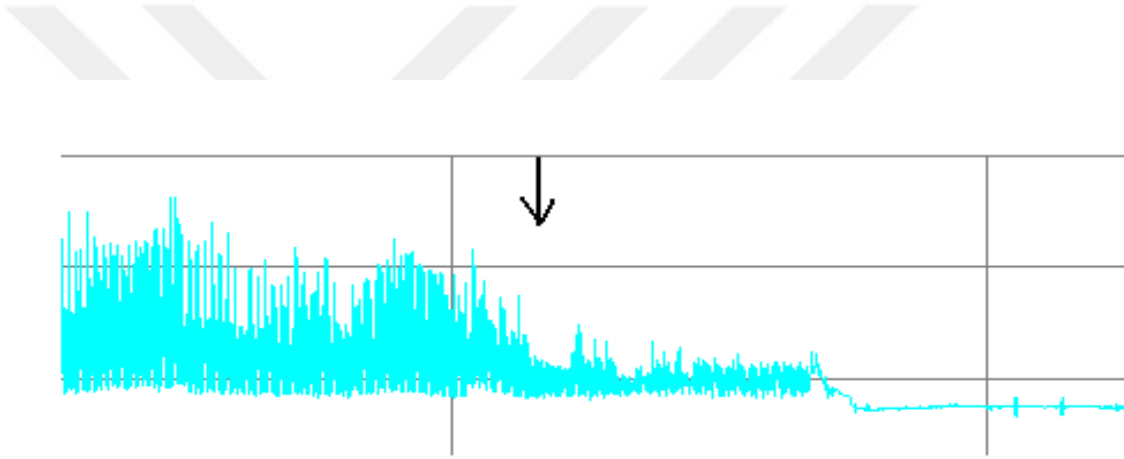
DDAK sıçan ince bağırsak kısımları üzerine (duodenum, jejunum ve ileum) tek başına etkisini araştırmak amacıyla DDAK  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M derişimlerde 5 dk ara kümülatif (birikimli) derişimlerde uygulandı (1. Protokol). Elde edilen bulgular  $10^{-5}$  M' de ve özellikle  $10^{-4}$  M derişimde Şekil 3.1.'de duodenumda Şekil 3.2.'de jejunumda ve Şekil 3.3.'de ileumda kasılmaların azaldığını göstermiştir. Bazal çizgi 100 kabul edilerek elde edilen verilerin ortalama  $\pm$  standart hata (SH)' ları Çizelge 3.1.' de, derişim cevap eğrisi Şekil 3.4.' de sunulmuştur.



Şekil 3.1. Duodenuma  $10^{-4}$  M DDAK derişimi okla gösterilen bölgede verilmesi ve kasılmada azalmanın gözlemlenmesi



**Şekil 3.2.** Jejunuma  $10^{-4}$  M DDAK derişimi okla gösterilen bölgede verilmesi ve kasılmada azalmanın gözlemlenmesi



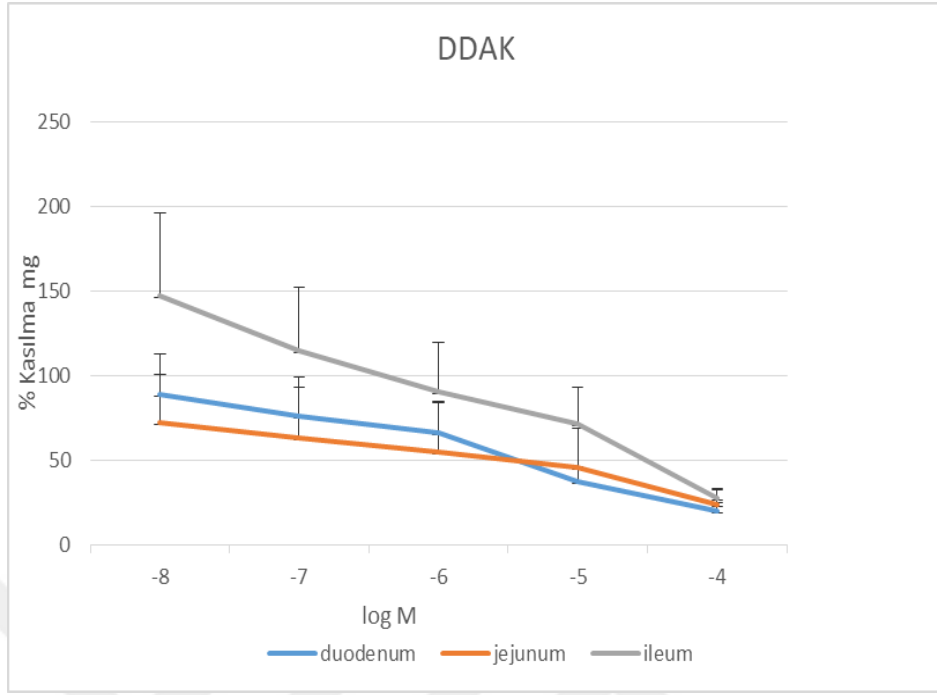
**Şekil 3.3.** İleumuna  $10^{-4}$  M DDAK derişimi okla gösterilen bölgede verilmesi ve kasılmada azalmanın gözlemlenmesi

**Çizelge 3.1.** Didedisildimetilamonyum kloridin (DDAK)  $10^{-8}$  M- $10^{-4}$  M derişimlerinde dudenum, jejunum ve ileum % kasılmaları üzerine etkisi

	$10^{-8}$ M DDAK	$10^{-7}$ M DDAK	$10^{-6}$ M DDAK	$10^{-5}$ M DDAK	$10^{-4}$ M DDAK
Duodenum	89,06±24,22	76,45±22,57	66,07±18,7	37,85±8,47	20,02±5,01
Jejunum	72,13±28,63	63,36±29,63	55,24±28,95	45,86±23,25	24,01±9,05
İleum	147,47±48,68	115,08±37,07	90,38±29,21	71,8±21,66	27,52±6,24

Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir. Duodenum için n: 7, jejunum için n: 5, ileum için 6' dır. (n: Kullanılan hayvan sayısı), M: Molar

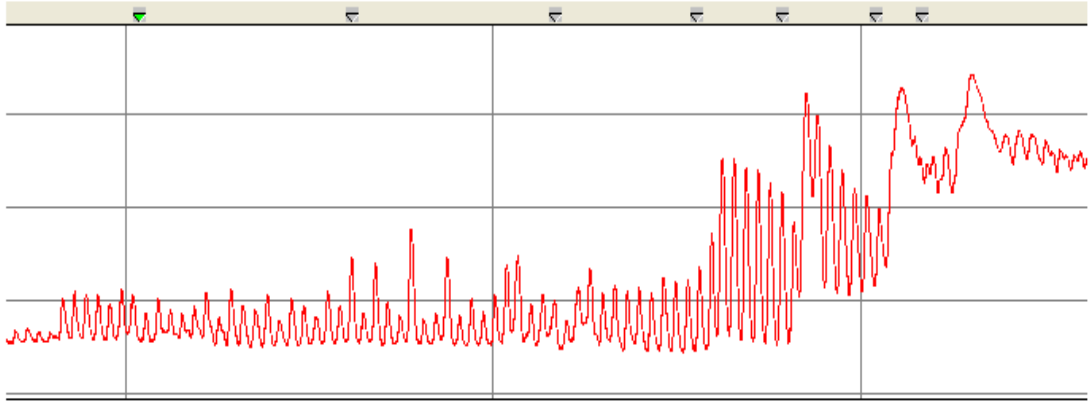




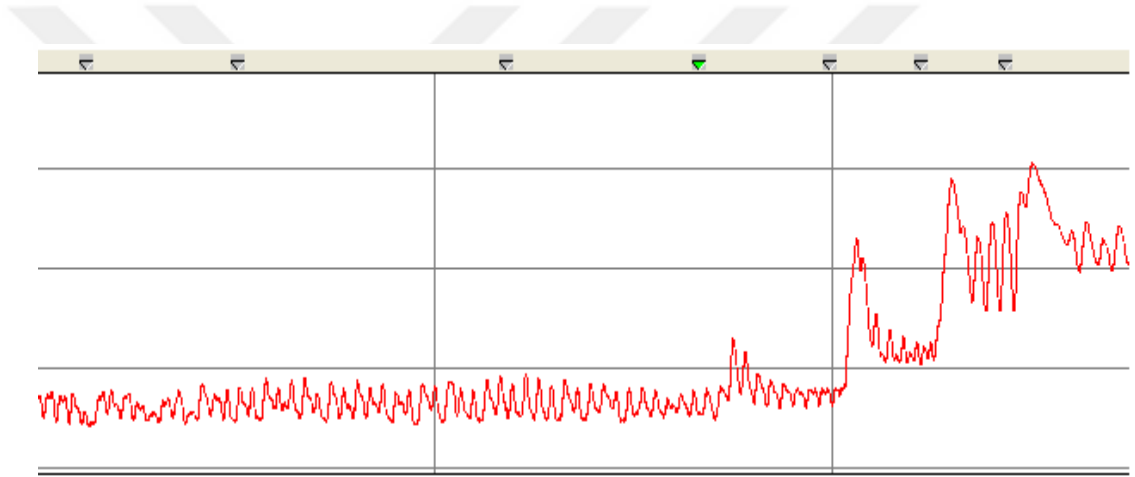
**Şekil 3.4.** Didedisil dimetil amonyum kloridin (DDAK) dudenum, jejunum ve ileum % kasılmaları (mg) üzerine olan derişim cevap eğrisi. Duodenum için n: 7, jejunum için n: 5, ileum için 6' dır. (n: Kullanılan hayvan sayısı), M: Molar

### 3.2. Sıçan ince bağırsak dokuları üzerine $3 \times 10^{-7}$ M DDAK' ın ACh ile birlikte etkisi

Sıçan duodenum, jejunum ve ileum dokusu üzerine DDAK'ın ACh ile birlikte etkisini araştırmak için yapılan 2. Protokolde, önce kontrol amaçlı 45 dk dengeleme döneminin ardından  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  ve  $10^{-3}$  M ACh derişimleri Şekil 3.5.'de görüldüğü gibi uygulandı. Sonra 5 dk ara ile 3 kez yıkandıktan sonra  $3 \times 10^{-7}$  M DDAK (etkisiz derişim) ile 15 dakika inkübe edilen dokuların üzerine Şekil 3.6.'da görüldüğü gibi uygulanan  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  ve  $10^{-3}$  M ACh derişimleri karşılaştırıldı. Karşılaştırma yapılırken hem her derişim kendi arasında karşılaştırıldı hem de  $pD_2$  ve  $E_{max}$  değerleri karşılaştırıldı.

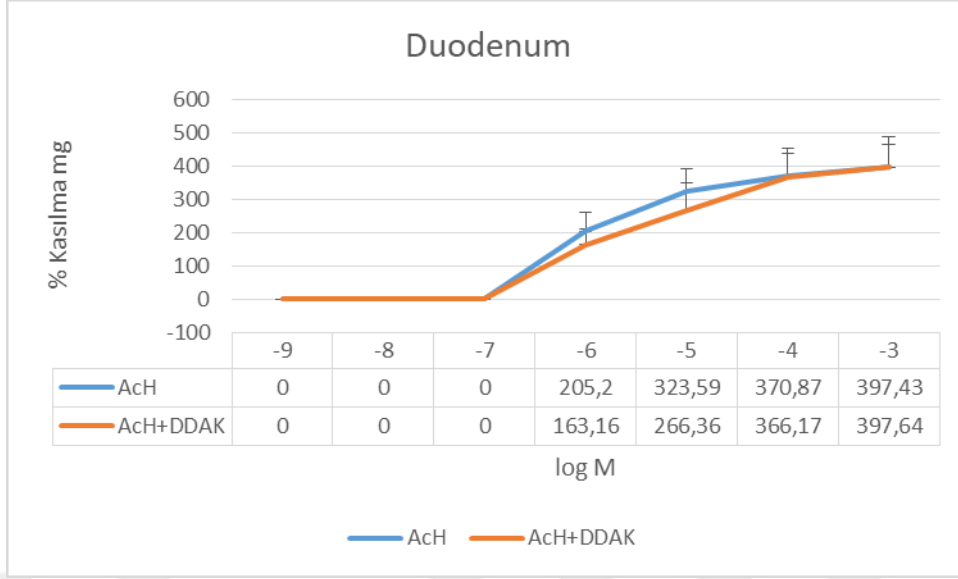


**Şekil 3.5.** Duodenuma 45 dk dengelemenin ardından kontrol amaçlı sadece  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  ve  $10^{-3}$  M ACh derişimlerinin uygulaması



**Şekil 3.6.** Duodenum  $3 \times 10^{-7}$  M DDAK (etkisiz derişim) ile 15 dakika inkübe edildikten sonra üzerine  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  ve  $10^{-3}$  M ACh derişimlerinin uygulaması

Sıçan duodenumu üzerine DDAK'ın ACh ile birlikte oluşan derişim yanıt eğrisi Şekil 3.7.'de verilmiştir. Sonuçta normal duodenum dokusu ile 15 dk  $3 \times 10^{-7}$  M DDAK ile inkübe edilen ACh derişim cevapları arasında bir fark bulunamıştır. Hesaplanan  $pD_2$  ve  $E_{max}$  değerleri arasında da bir fark bulunmamıştır ( $P > 0,05$ ) (Çizelge 3.2.).



**Şekil 3.7.** İzole duodenum dokusunda ACh ve ACh +  $3 \times 10^{-7}$  M DDAK derişim yanıt eğrisi. n:6, Uygulanan derişimler arasında istatistiksel bir fark yoktur ( $P > 0,05$ ). Alttağı veri tablosunda ortalama % kasılmaların mg sayısal değerleri verilmiştir. Standart hatalar barlarla gösterilmiştir.

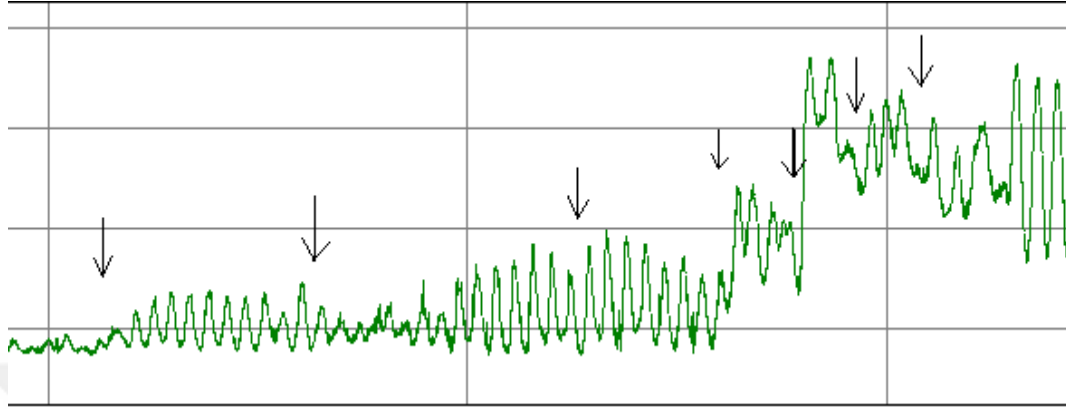
**Çizelge 3.2.** İzole sıçan duodenum dokusunda asetilkolin, ACh + DDAK  $pD_2$  ve  $E_{max}$  değerleri.

Uygulama (n: 6)	$pD_2$	$E_{max}$
Asetilkolin ( $10^{-9}$ - $10^{-3}$ M)	5,76±0,15	402,72±68,52
DDAK ( $3 \times 10^{-7}$ M)		
+	5,38±0,3	398,28±88,6
Asetilkolin ( $10^{-9}$ - $10^{-3}$ M)		

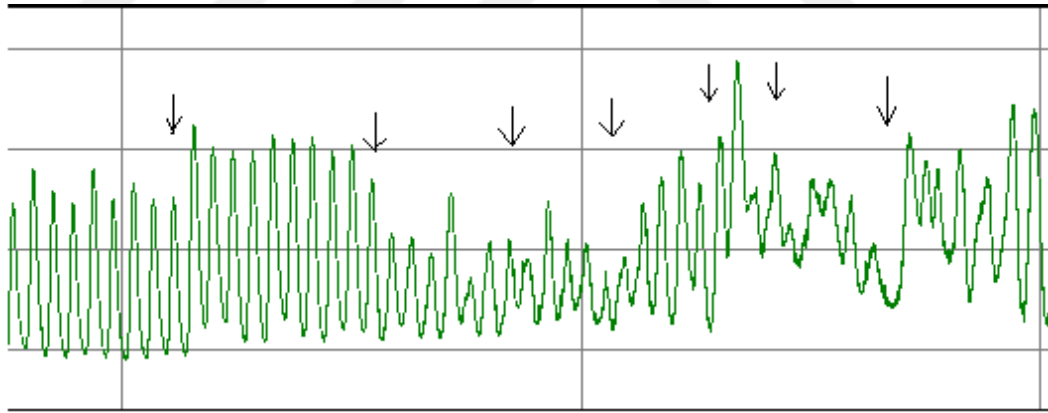
$pD_2$  ve  $E_{max}$  değerleri arasında fark yoktur ( $P > 0,05$ ). Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir

Sıçan jejunumu zerine ACh ve DDAK + ACh ile birlikte oluşan derişim yanıt eğrisi Şekil 3.10.' de verilmiştir. İzole sıçan jejunumu üzerinde ACh derişimleri ile 15 dk  $3 \times 10^{-7}$  M DDAK ile inkübe edilen ACh derişim cevapları arasında bir fark Şekil 3.8. (ACh derişimleri uygulaması) ve Şekil 3.9.'un (DDAK + ACh derişimleri

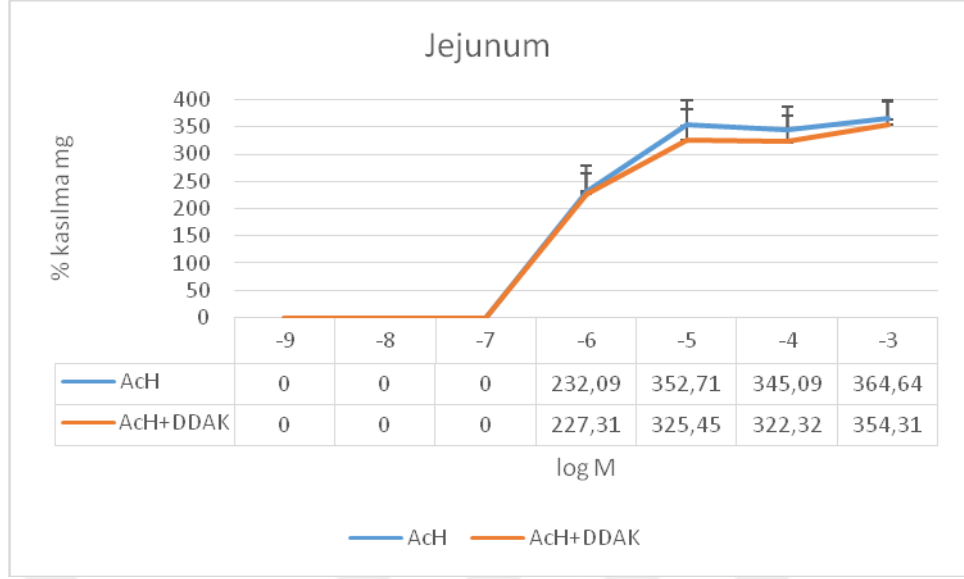
uygulaması) karşılaştırılmasında ve Şekil 3.10.'un yanıt eğrisinde gösterildiği üzere bulunamamıştır. Yine elde edilen verilerden hesaplanan  $pD_2$  ve  $E_{max}$  değerleri arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır ( $P>0,05$ ) (Çizelge 3.3.).



**Şekil 3.8.** Jejunuma 45 dk dengelemenin ardından kontrol amaçlı sadece  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  ve  $10^{-3}$  M ACh derişimlerinin uygulaması



**Şekil 3.9.** Jejunuma  $3 \times 10^{-7}$  M DDAK (etkisiz derişim) ile 15 dakika inkübe edildikten sonra üzerine  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  ve  $10^{-3}$  M ACh derişimlerinin uygulaması



**Şekil 3.10.** İzole jejunum dokusunda ACh ve ACh +  $3 \times 10^{-7}$  M DDAK derişim yanıt eğrisi. n:6, Uygulanan derişimler arasında istatistiksel bir fark yoktur ( $P > 0,05$ ). Altındaki çizelgede ortalama % kasılmaların mg sayısal değerleri verilmiştir. Standart hatalar barlarla gösterilmiştir.

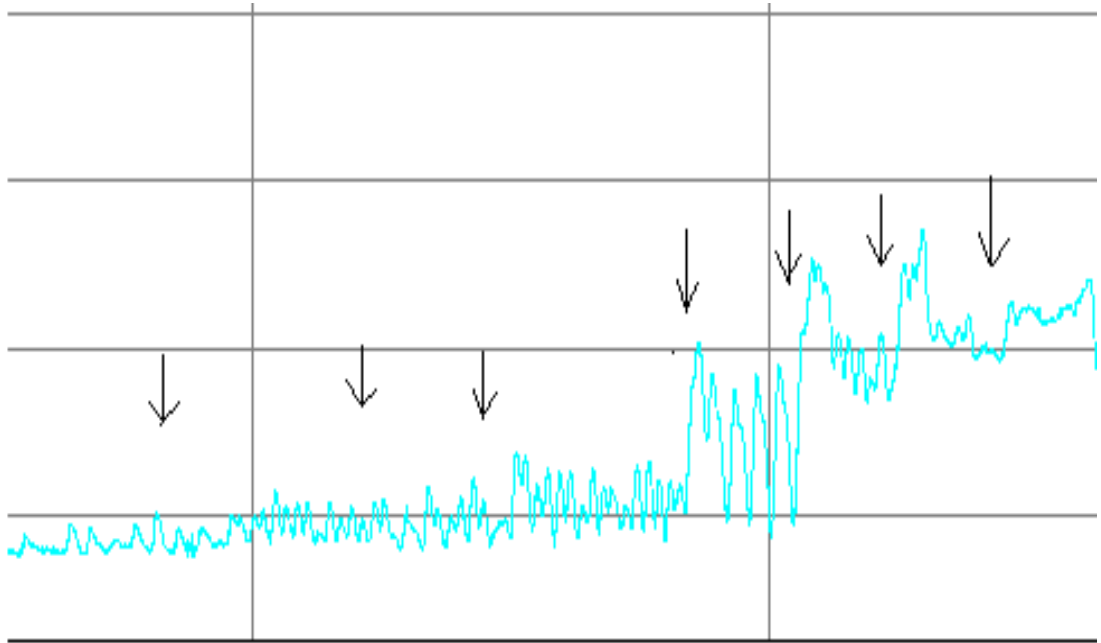
**Çizelge 3.3.** İzole sıçan jejunum dokusunda asetilkolin, asetilkolin+DDAK  $pD_2$  ve  $E_{max}$  değerleri.

<b>Uygulama (n: 6)</b>	<b><math>pD_2</math></b>	<b><math>E_{max}</math></b>
Asetilkolin ( $10^{-9}$ - $10^{-3}$ M)	6,03±0,08	381,53±40,87
DDAK ( $3 \times 10^{-7}$ M)		
+	5,92±0,12	385,82±52,07
Asetilkolin ( $10^{-9}$ - $10^{-3}$ M)		

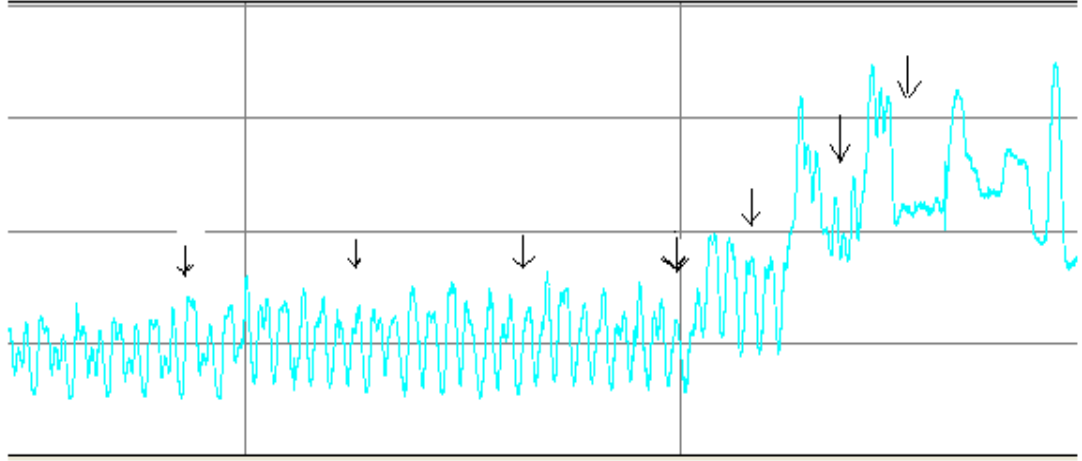
$pD_2$  ve  $E_{max}$  değerleri arasında fark yoktur ( $P > 0,05$ ). Veriler ortalama  $\pm$  standart hata (SH) olarak verilmiştir.

İzole sıçan ileumunun üzerine ACh ve DDAK + ACh ile birlikte oluşan derişim yanıt eğrisi Şekil 3.13.' de verilmiştir. İzole sıçan ileum dokusu üzerinde ACh derişimleri ile 15 dk  $3 \times 10^{-7}$  M DDAK ile inkübe edilen ACh derişim cevapları

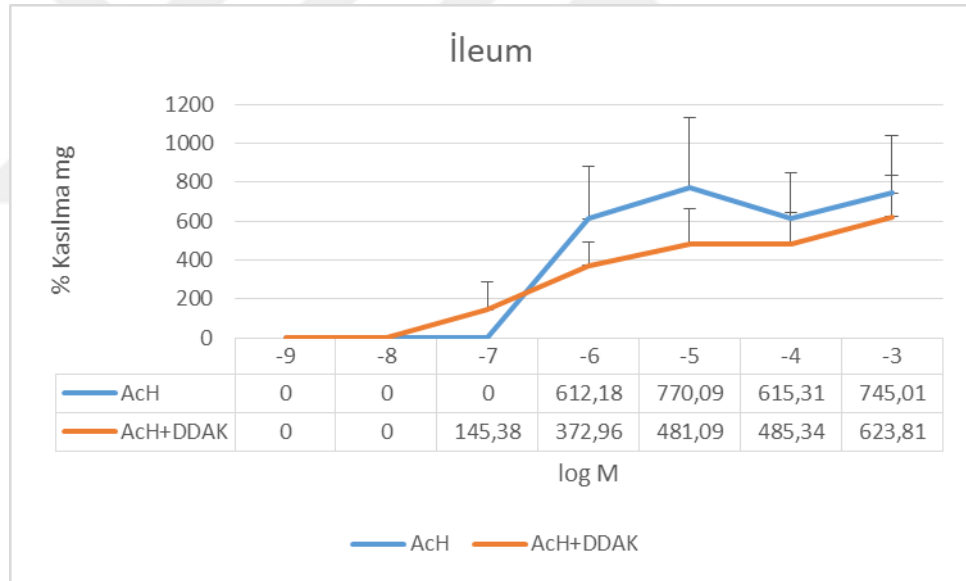
arasında bir fark Şekil 3.11. (yalnız ACh derişimleri uygulaması) ve Şekil 3.12.'nin (DDAK + ACh derişimleri uygulaması) karşılaştırılmasında ve Şekil 3.13.'ün yanıt eğrisinde görüldüğü gibi bulunamamıştır. Elde edilen verilerden hesaplanan  $pD_2$  ve  $E_{max}$  değerleri arasında istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır ( $P>0,05$ ). Ancak DDAK ile 15 dk maruziyet  $E_{max}$  değerinde istatistiksel olmayan bir azalma yapmıştır (ACh  $E_{max}$  değeri:  $822,55 \pm 355,56$ , ACh + DDAK  $E_{max}$  değeri:  $623,81 \pm 211,89$ ). Çizelge 3.4.' de izole sıçan jejunum dokusunda asetilkolin, asetilkolin+DDAK  $pD_2$  ve  $E_{max}$  değerleri sunulmuştur.



**Şekil 3.11.** İleuma 45 dk dengelemenin ardından kontrol amaçlı sadece  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  ve  $10^{-3}$  M ACh derişimlerinin uygulaması



**Şekil 3.12.** İleuma  $3 \times 10^{-7}$  M DDAK (etkisiz derişim) ile 15 dakika inkübe edildikten sonra üzerine  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  ve  $10^{-3}$  M ACh derişimlerinin uygulaması



**Şekil 3.13.** İzole ileum dokusunda ACh ve ACh +  $3 \times 10^{-7}$  M DDAK derişim yanıt eğrisi. n:6, Uygulanan derişimler arasında istatistiksel bir fark yoktur ( $P > 0,05$ ). Alttaki çizelgede ortalama % kasılmaların mg sayısal değerleri verilmiştir. Standart hatalar barlarla gösterilmiştir.

**Çizelge 3.4.** İzole sıçan ileum dokusunda ACh, ACh+DDAK pD<sub>2</sub> ve E<sub>max</sub> değerleri.

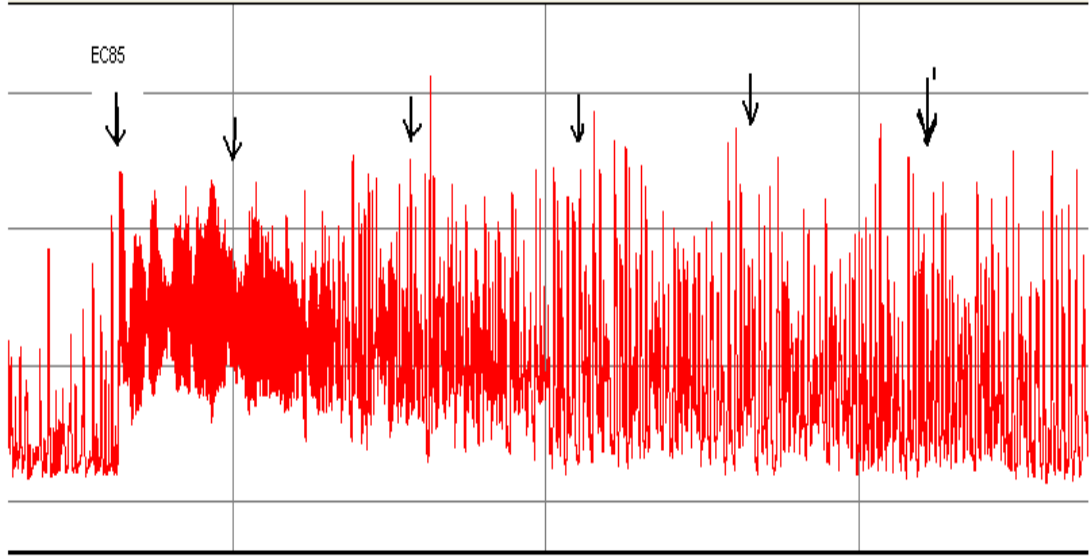
Uygulama (n: 6)	pD <sub>2</sub>	E <sub>max</sub>
Asetilkolin (10 <sup>-9</sup> -10 <sup>-3</sup> M)	6,03±0,02	822,55±355,56
DDAK (3x10 <sup>-7</sup> M)		
+	5,88±0,13	623,81±211,89
Asetilkolin (10 <sup>-9</sup> -10 <sup>-3</sup> M)		

pD<sub>2</sub> ve E<sub>max</sub> değerleri arasında fark yoktur (P>0,05). Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir.

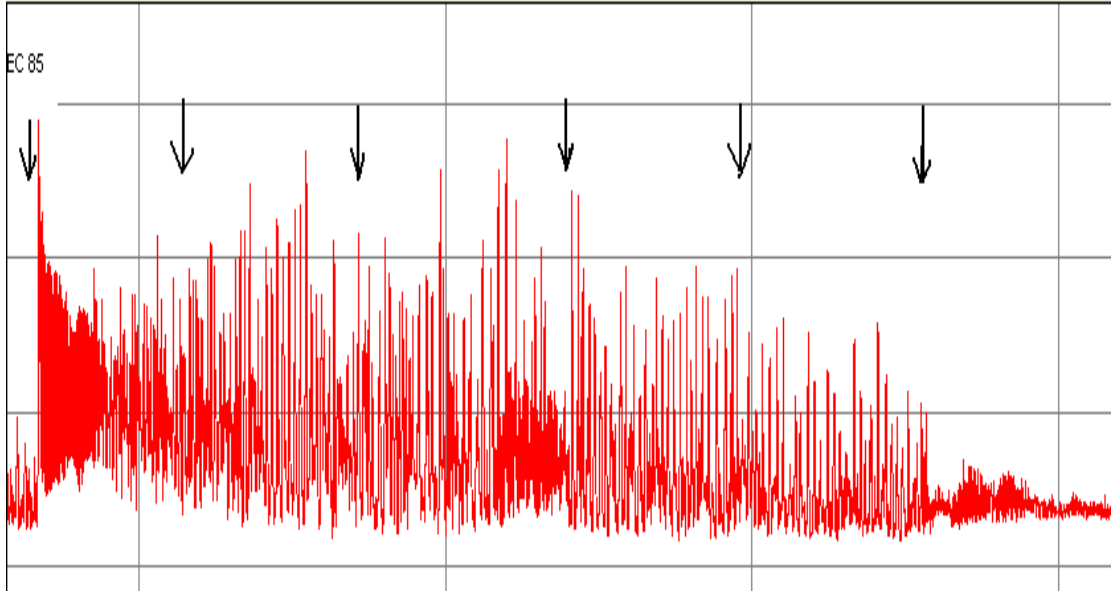
### 3.3. Asetikolinin EC<sub>85</sub> Değeri İle Ön Kasılma Oluşturulan İzole Sıçan İnce Bağırsak Dokuları (Duodenum, Jejunum, İleum) Üzerine DDAK' ın Etkisi

İzole sıçan duodenum dokusu üzerine 1,71x 10<sup>-5</sup> M ACh ile prekontrakte edilen (ön kasılma oluşturulan) doku platoya ulaşınca Şekil 3.14.'de görüldüğü gibi 3 dk ara ile 5 kez 100, 90, 90, 90, 90 µl olacak şekilde distile su kümülatif çalışılmıştır. Bu deneme kontrol olarak değerlendirilmiştir. Yine 1,71x 10<sup>-5</sup> M ACh ile dokular prekontrakte edilmiş ve Şekil 3.15.'de görüldüğü gibi 3 dk ara ile 10<sup>-8</sup>, 10<sup>-7</sup>, 10<sup>-6</sup>, 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-4</sup> M DDAK kümülatif (birikimli) derişimlerde uygulanmıştır. Kontrol ve DDAK derişimlerinin 3 dk boyunca oluşan frekans değerleri ve % gevşeme değerleri karşılaştırılmıştır. Sonuçta uygulanan derişimlerde frekans değerleri arasında istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır (P>0.05). Çizelge 3.5.' de 1,71x 10<sup>-5</sup> M ACh prekontrakte edilen izole sıçan duodenumunun frekans değerleri üzerinde DDAK derişimlerinin etkisi ortalama ± SH olarak verilmiştir.





**Şekil 3.14.** Duodenum  $1,71 \times 10^{-5}$  M ACh ile prekontrakte edilerek doku platoya ulaşıncaya 5 kez distile su kümülatif uygulaması

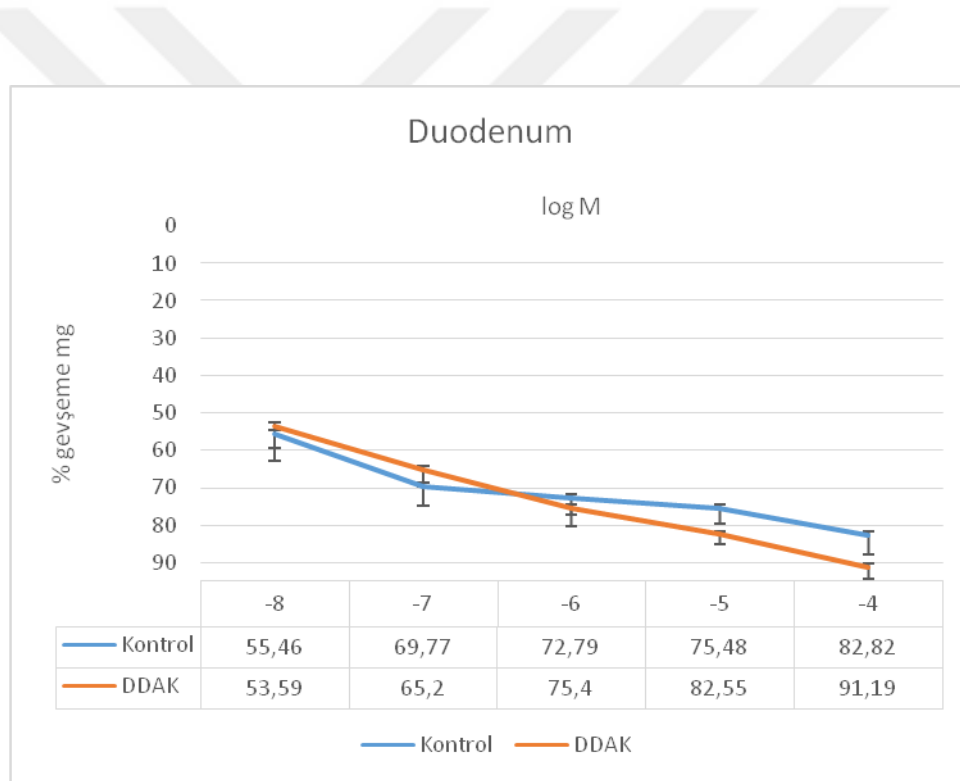


**Şekil 3.15.** Duodenuma  $1,71 \times 10^{-5}$  M ACh ile prekontrakte edilerek 3 dk ara ile  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M DDAK kümülatif (birikimli) derişimlerde uygulanması

**Çizelge 3.5.** Asetikolinin EC<sub>85</sub> (1,71x 10<sup>-5</sup> M) Değeri İle Ön Kasılma Oluşturulan İzole Sıçan Duodenumunun Frekans Değerleri Üzerine DDAK Derişimlerinin Etkisi

Uygulama (n: 6)	Değerleri				
	10 <sup>-8</sup> M	10 <sup>-7</sup> M	10 <sup>-6</sup> M	10 <sup>-5</sup> M	10 <sup>-4</sup> M
<b>Distile su</b> <b>(Kontrol)</b>	97,33±6,85	92,67±7,55	85±11,02	83,33±9,59	84,67±9,97
<b>DDAK</b>	96,5±3,94	91,67±8,11	90,67±7,17	86,00±9,89	80,00±7,84

Gruplar arasında fark yoktur (P>0,05). Veriler ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir



**Şekil 3.16.** Asetikolinin EC<sub>85</sub>(1,71x 10<sup>-5</sup> M) Değeri İle Ön Kasılma Oluşturulan İzole Sıçan Duodenumunun % Gevşeme Değerleri Üzerine DDAK Derişimlerinin Etkisi. n:6, Uygulanan derişimler arasında istatistiksel bir fark yoktur (P>0,05). Yukarıda çizelgede ortalama % gevşemelerin mg sayısal değerleri verilmiştir. Standart hatalar barlarla gösterilmiştir.

Uygulanan derişimlerde, % gevşeme değerleri arasında istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır (P>0.05). Şekil 3.16.' da 1,7x10<sup>-5</sup> M ACh prekontrakte edilen

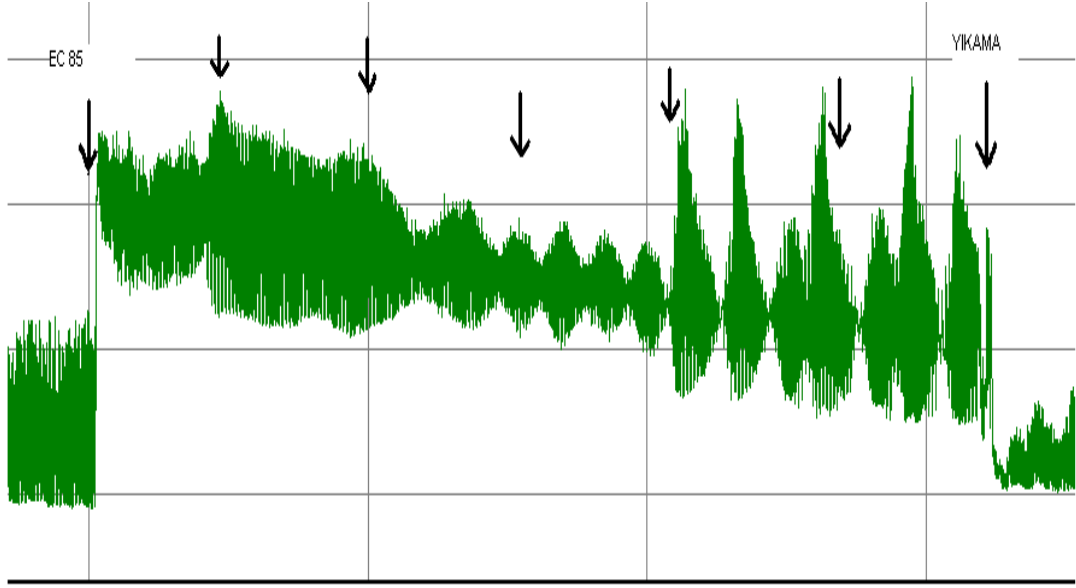
izole sıçan duodenumunun % gevşeme değerleri üzerinde DDAK derişimlerinin etkisi ortalama $\pm$ SH olarak verilmiştir. Her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı olmasa da özellikle uygulanan en yüksek derişim olan  $10^{-4}$  M DDAK ( $91,19\pm 3,35$ ) ile kontrol distile su ( $82,82\pm 5,08$ ) karşılaştırıldığında DDAK' ın gevşeme cevabını artırdığını yani DDAK' ın ACh' ın oluşturduğu kasılmaları azalttığı saptanmıştır.

Jejunumda  $1,71 \times 10^{-5}$  M ACh prekontrakte edilen dokularda uygulamalar Şekil 3.17.'de (distile su) ve Şekil 3.18.'de (DDAK) gösterilmiştir. Frekans değerleri arasında istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır ( $P>0.05$ ). Çizelge 3.6.' da  $1,71 \times 10^{-5}$  M ACh prekontrakte edilen izole sıçan jejunumda frekans değerleri üzerinde DDAK derişimlerinin etkisi ortalama  $\pm$  SH olarak verilmiştir. Her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı olmasa da  $10^{-4}$  M DDAK derişiminde frekans değeri ( $51,17\pm 8,65$ ), distile su uygulamasına göre ( $75,83\pm 8,24$ ) frekans değerini azaltmıştır.

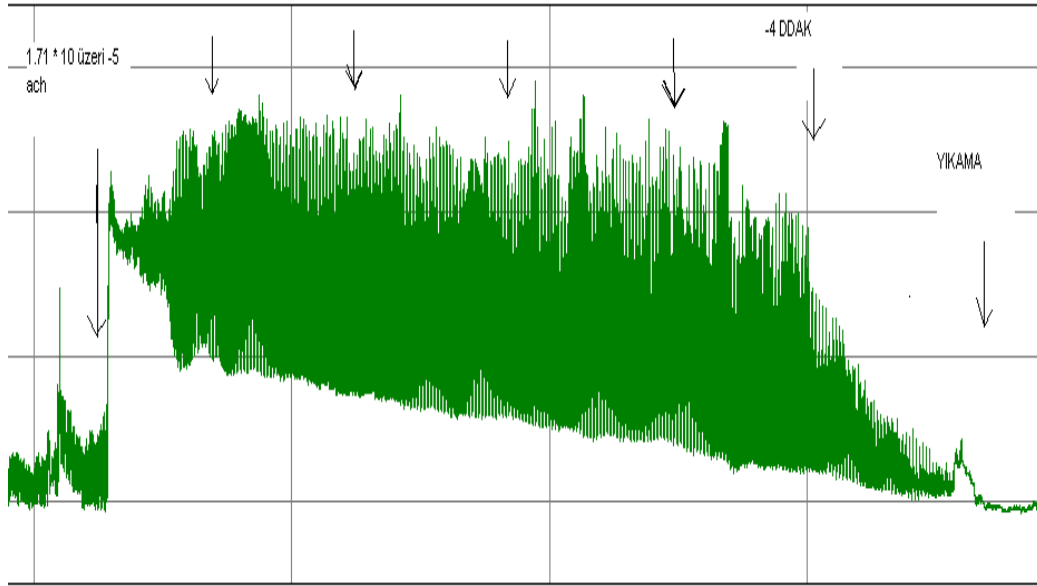
**Çizelge 3.6.** Asetikolinin  $EC_{85}(1,71 \times 10^{-5}$  M) Değeri İle Ön Kasılma Oluşturulan İzole Sıçan Jejunum Frekans Değeri Üzerine DDAK Derişimlerinin Etkisi

Uygulama	Frekans				
	$10^{-8}$ M	$10^{-7}$ M	$10^{-6}$ M	$10^{-5}$ M	$10^{-4}$ M
(n: 6)					
Distile su	84,33 $\pm$ 6,71	81,5 $\pm$ 5,4	75,5 $\pm$ 8,42	79,67 $\pm$ 7,37	75,83 $\pm$ 8,24
(Kontrol)					
DDAK	84,00 $\pm$ 2,82	84,33 $\pm$ 4,28	80,33 $\pm$ 3,66	74,17 $\pm$ 4,5	51,17 $\pm$ 8,65

Gruplar arasında fark yoktur ( $P>0,05$ ). Veriler ortalama  $\pm$  standart hata (SH) olarak verilmiştir



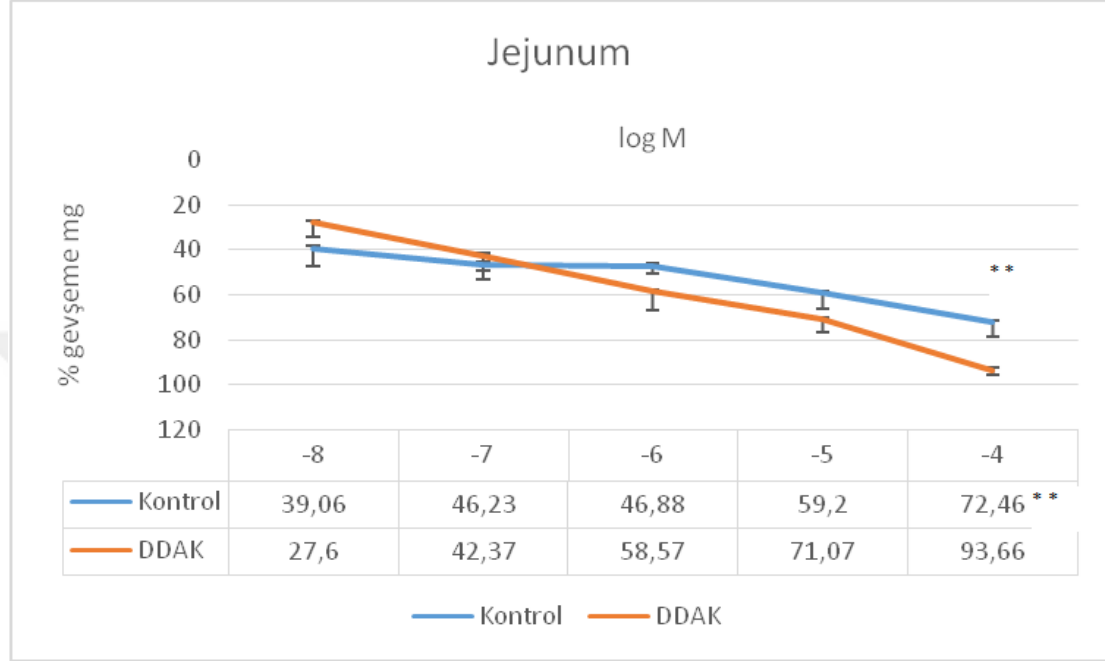
**Şekil 3.17.** Jejunum  $1,71 \times 10^{-5}$  M ACh ile prekontrakte edilerek doku platoya ulaşınca 5 kez distile su kümülatif uygulaması



**Şekil 3.18.** Jejunuma  $1,71 \times 10^{-5}$  M ACh ile prekontrakte edilerek 3 dk ara ile  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M DDAK kümülatif (birikimli) derişimlerde uygulanması

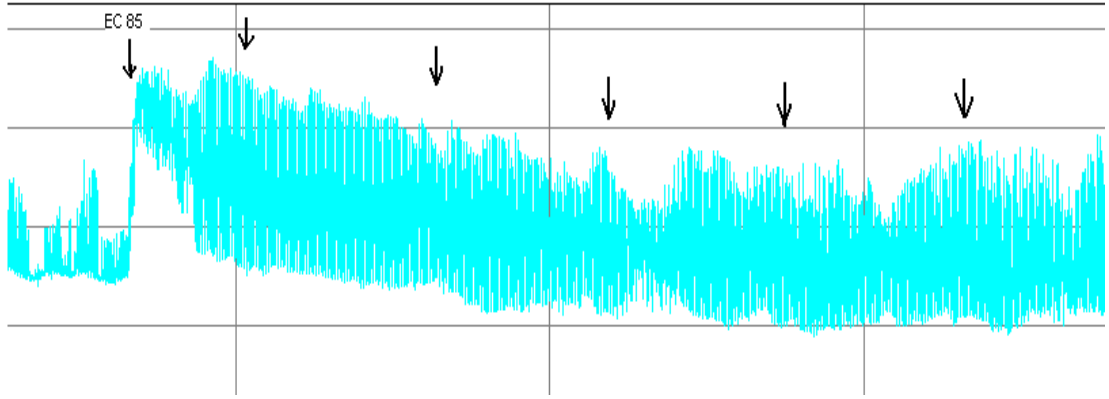
Şekil 3.19.'da  $1,71 \times 10^{-5}$  M ACh prekontrakte edilen izole sıçan jejunum dokusunun % gevşeme değerleri üzerinde DDAK derişimlerinin etkisi ortalama  $\pm$ SH olarak verilmiştir.  $10^{-4}$  M DDAK ( $93,66 \pm 1,89$ ) ile kontrol distile su ( $72,46 \pm 5,92$ ) karşılaştırıldığında DDAK'ın gevşeme cevabını artırdığını yani DDAK'ın ACh'ın

oluşturduğu kasılmaları istatistiksel olarak anlamlı şekilde ( $P<0,01$ ) azalttığı saptanmıştır. Her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı olmasa da ACh kasılmaları  $10^{-5}$  M DDAK derişiminde % gevşeme değeri ( $71,07\pm5,78$ ), distile su uygulamasına göre ( $59,20\pm6,83$ ) % gevşeme değerini arttırmıştır.

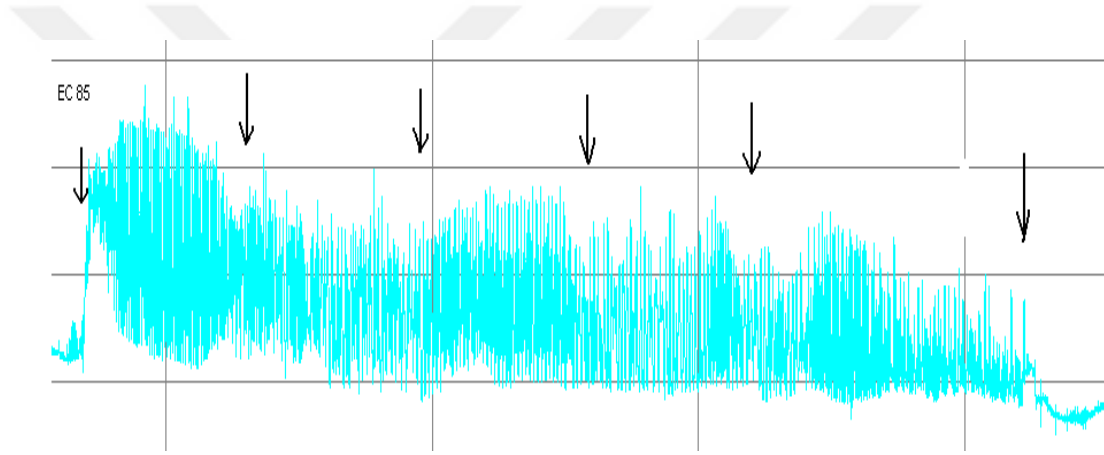


**Şekil 3.19.** Asetikolinin  $EC_{85}(1,71 \times 10^{-5} \text{ M})$  Değeri İle Ön Kasılma Oluşturulan İzole Sıçan Jejunumun % Gevşeme Değerleri Üzerine DDAK Derişimlerinin Etkisi.  $n:6$ ,  $10^{-4}$  M derişimde kontrol ile DDAK uygulanan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır (\*\* $P<0,008$ ). Altındaki veri tablosunda ortalama % gevşemelerin mg sayısal değerleri verilmiştir. Standart hatalar barlarla gösterilmiştir.

Asetilkolin  $EC_{85}$  değeri ile ( $1,71 \times 10^{-5} \text{ M}$ ) prekontrakte edilen ileum dokularında Şekil 3.21.'de görüldüğü gibi uygulanan değişik derişimlerde DDAK frekans değerleri ile, Şekil 3.20.'deki gibi distile su uygulamaları arasında istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır ( $P>0.05$ ). Çizelge 3.7.' de  $1,71 \times 10^{-5} \text{ M}$  ACh prekontrakte edilen izole sıçan ileumunda da frekans değerleri üzerinde DDAK derişimlerinin etkisi ortalama  $\pm$  SH olarak verilmiştir. Her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı olmasa da  $10^{-4}$  M DDAK derişiminde frekans değeri ( $57,67\pm10,06$ ), distile su uygulamasının ( $76,50\pm2,83$ ) frekans değerine göre daha az gözükmektedir.



**Şekil 3.20.**  $1,71 \times 10^{-5}$  M ACh ile prekontrakte edilen sıçan ileumu üzerine birikimli distile su uygulaması



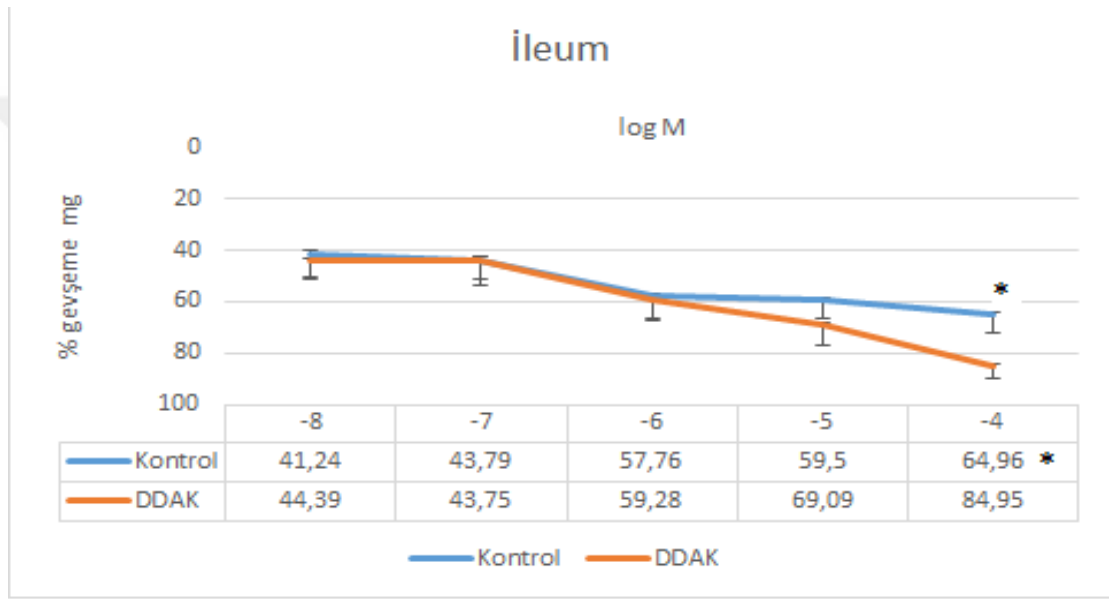
**Şekil 3.21.**  $1,71 \times 10^{-5}$  M ACh ile prekontrakte edilen sıçan ileumu üzerine 3 dk ara ile  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M DDAK kümülatif (birikimli) derişimlerde uygulanması

**Çizelge 3.7.** Asetikolinin  $EC_{85}$  ( $1,71 \times 10^{-5}$  M) Değeri İle Ön Kasılma Oluşturulan İzole Sıçan İleumunun Frekans Değerleri Üzerine DDAK Derişimlerinin Etkisi

Uygulama	Değerleri				
	$10^{-8}$ M	$10^{-7}$ M	$10^{-6}$ M	$10^{-5}$ M	$10^{-4}$ M
<b>(n: 6)</b>					
<b>Distile su</b>	80,33±3,21	77,83±2,96	77,67±3,9	77,50±3,51	76,50±2,83
<b>(Kontrol)</b>					
<b>DDAK</b>	77,00±3,13	77,50±2,95	77,83±1,51	76,33±3,12	57,67±10,06

Gruplar arasında fark yoktur ( $P > 0,05$ ). Veriler ortalama  $\pm$  standart hata (SH) olarak verilmiştir.

Şekil 3.22.' de  $1,71 \times 10^{-5}$  M ACh prekontrakte edilen izole sıçan ileum dokusunun % gevşeme değerleri üzerinde DDAK derişimlerinin etkisi ortalama  $\pm$  SH olarak verilmiştir.  $10^{-4}$  M DDAK ( $84,9566 \pm 4,94$ ) ile kontrol distile su ( $64,96 \pm 7,15$ ) karşılaştırıldığında DDAK' ın gevşeme cevabını artırdığını yani DDAK' ın ACh' ın oluşturduğu kasılmaları istatistiksel olarak anlamlı şekilde ( $P < 0,05$ ) azalttığı saptanmıştır.



**Şekil 3.22.** Asetikolinin  $EC_{85}$  ( $1,71 \times 10^{-5}$  M) Değeri İle Ön Kasılma Oluşturulan İzole Sıçan İleum dokusunun % Gevşeme Değerleri Üzerine DDAK Derişimlerinin Etkisi. n:6,  $10^{-4}$  M derişimde kontrol ile DDAK uygulanan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ( $*P < 0,05$ ). Altta ki veri tablosunda ortalama % gevşemelerin mg sayısal değerleri verilmiştir. Standart hatalar barlarla gösterilmiştir.

#### 4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada DDAK' ın, izole sıçan dudenum, jejunum ve ileum kasılmaları üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla DDAK ( $10^{-8}$  M- $10^{-3}$  M) tek başına,  $3 \times 10^{-7}$  M'da inkübe edilerek ACh ( $10^{-9}$ M- $10^{-3}$ M) ile birlikte ve ACh' ın  $EC_{85}$  ( $1,71 \times 10^{-5}$  M) değeri ile ön kasılma oluşturulan dokularda DDAK  $10^{-8}$  M- $10^{-4}$  M protokolleri uygulanmıştır.

##### 4.1. Didesildimetilamonyum kloridin (DDAK) tek başına dudenum, jejunum ve ileum kasılmaları üzerine etkisi

Antiseptik ve dezenfektanlar, veteriner hekimlikte yaygın olarak kullanım alanına sahiptir. Bu maddeler meme başı antiseptisinden ahır ve ağılların ya da cerrahi aletlerin dezenfeksiyonuna kadar birçok alanda, veteriner hekimin sorumluluklarından biri olan koruyucu hekimlik görevini yapmasına yardımcı olmaktadır (Kaya 2013). Kuaterner amonyum bileşikleri geniş kullanım alanına sahip dezenfektan ve antiseptiklerdendir (Hengstad ve ark 2010). Kuaterner amonyum bileşiklerinin kullanılan yoğunluk ve doza bağlı olarak yerel ve sistemik zehirli etkileri bulunmaktadır. Sistemik etkilerinin mekanizması tam olarak açıklanamamakla birlikte; kolinesteraz inhibitör ve gangliyon blokan etkiler, nöromuskular bölgelerde kürar benzeri etkinlikten söz edilmektedir. Gerçekten de bu maddelere maruz kalan hayvanlarda, pestisid zehirlenmesine benzeyen tükürük salgısı artışı, kusma, kas zayıflığı, solunum ve merkezi sinir sistemi baskılanması, ateş, bayılma, kollaps ve koma gibi etkiler görülmektedir. Ayrıca mukozalarda hasarda oluşturmaktadır (Bates ve Edwards 2015, Gwaltney – Brant 2013, King ve ark 1999).

Hem insan hekimliğinde hem de veteriner hekimlikte değişik amaçlarla kullanılan pekçok kuaterner amonyum bileşiği farklı farmakolojik etkiler göstermektedirler. Örneğin, basit bir kuaterner amonyum bileşiği olan



tetraetilamonyum, voltaja duyarlı çok çeşitli potasyum kanallarını aynı zamanda kalsiyumla aktive olan potasyum kanallarını da bloke edebilir (Khodakhah ve ark. 1997). Schmidt ve ark. (1994) antikolinergik etkili bir kuaterner amonyum bileşiği olan trospiyum klorürün sağlıklı insan hastalarında 24 saatlik jejunal hareketliliğin kaydedilmesini ve oral uygulamasından kaynaklanan hareketlilikteki değişiklikleri dijital monometri ile analiz etmeyi amaçlamıştır. Araştırmacılar günde 3 kez 15 mg verilen trospiyum klorür yemek sonrası düzensiz kasılma aktivitesini uzattığını ve bağırsak kasılmalarını frekans ve amplitüdünü azalttığını saptamışlardır. Pfeiffer ve ark. (1993) trospiyum klorürün mide-bağırsak motilitesini azalttığını göstermişlerdir. Yine bir kuaterner amonyum bileşiği olan metantelin kobay ileumunda ACh ile oluşturulan kasılmaları antagonize etmiştir. Bu antagonist etki yarışmalı ya da yarışmasız inhibisyon etkiyle gerçekleşmemektedir. Metantelinin lipid çözünürlüğünün, triklorasetat ile bir iyon çiftinin oluşturulmasıyla artırılması, kolinerjik inhibitör aktivitesini etkilememiştir (Gillespie ve ark. 1977).

Neostigmin, asetilkolinesterazın anyonik bölgesine bağlanan güçlü bir şekilde bazik arbamil grubuna sahip bir kuaterner amonyum bileşiğidir. Taşıdığı kuaterner amonyum grubu ( $N^+$  (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), neostigmini lipid ortamda çözünmez hale getirerek kan-beyin bariyerini geçmesini önler. Edrofonyum ise kısa etkili bir kolinesteraz inhibitörüdür ve kuaterner amonyum bileşiğidir. Mide-bağırsak sistemi üzerine etkileri söz konusu olduğunda, kolinesteraz etkinliğinin önlenmesi yemek borusu, mide hareketlerinin ve mide salgılarının, ince ve kalın bağırsakta motor etkinliğin artmasına neden olmaktadır (Nair ve Hunter 2004).

Benzalkonyum klorür pozitif yüklü bir yüzey aktif alkilamindir (kuaterner amonyum bileşiği) ve bakterileri tahrip edici etkisinden dolayı büyük ölçüde cerrahi bir antiseptik olarak kullanılan güçlü bir katyonik deterjandır. Benzalkonyum klorür özellikle miyenterik denervasyon modeli oluşturmak için, memelilerin enterik sinir sisteminin birçok fonksiyonel ve patolojik yönünü incelemeye deneysel olarak kullanılmıştır. Şimdiye kadar, bu alandaki araştırmalar için kullanılabilen tek merkezi denervasyon yöntemidir (Garcia ve ark. 2019). Matsuo (1991), sıçan antroduodenal kasılmalarını çalışmış ve normal antral kasılmaların koordinasyon içinde kendiliğinden oluştuğunu bildirmişlerdir. Antroduodenal kavşak bölgesi

benzalkonyum klorür ile ön muamele edildiğinde, arttırılmış duodenal kasılmaların oluşmadığını; bu durumun neostigmin ve domperidon uygulandıktan sonra bile (antral kasılmalar kendiliğinden meydana gelse de) benzalkonyum klorürün etkisinin düzelmediğini saptamışlardır. Oluşan etkinin altında yatan mekanizmanın benzalkonyum klorürün yüksek yoğunluklarda oluşturduğu genel doku hasarı ve myenterik pleksusta yaygın apoptoz gibi etkenlere bağlı olduğu düşünülmüştür (Garcia ve ark. 2019). Sunulan bu çalışmada da, bahsi geçen çalışmalarla uyumlu olarak; DDAK, sıçan duodenum, jejunum ve ileum dokularının fazik kasılmalarını özellikle  $10^{-4}$  M derişimde azaltmıştır.

Didesildimetilamonyum klorid 4. nesil kuaterner amonyum bileşiklerindedir. “İkiz veya İkili Zincir kuat” veya dörütlü “ikiz zincir” olarak adlandırılanlar, benzen halkasız doğrusal dialkil zincirleri olan kuaterner ürünlerdir. Bu kuaternerler antiseptik aktivite bakımından üstündür, düşük köpüklenme özelliğine sahiptir ve protein yüklerine ve sert suya karşı yüksek toleranslıdır. Yiyecek ve içecek endüstrisinde dezenfeksiyon için önerilir, çünkü düşük toksisiteye sahiptir (Anonim 2019d). Yapılan akut toksisite çalışmalarında ağızdan yüksek dozda verilen didesildimetilamonyum sakkarinatın duodenum, jejunum ve ileum segmentlerinde kontrol grubuna göre farklılık oluşturmadığı bildirilmiştir (Jodynis-Liebert ve ark. 2010). Jodynis-Liebert ve ark.(2010) çalışmasında, yaygın bir doku hasarına rastlanmamıştır. Buna karşın yapılan sitotoksosite çalışmalarında (Kwon ve ark 2014) DDAK’ın insan alveoler hücrelerinde düşük dozlarda bile oksidatif strese neden olduğunu ve hücre sel büyümeyi engellediği tespit edilmiştir. Hücre içi birikimin, DDAK’ın sitotoksik etkisine aracılık edebileceğini düşünen Kwon ve ark. (2015), DDAK’ın 24 saatte insan akciğer epitel hücrelerinde, derişime bağlı bir şekilde hücre canlılığını azalttığını göstermişlerdir. Jodynis-Liebert ve ark.(2010), didesildimetilamonyum sakkarinatın deri ve akciğerlerden elde edilen hücre hatlarında mide-bağırsaktan elde edilen hücre hatlarına göre daha sitotoksik olduğunu bildirmişlerdir. Hücre hatlarında inkübe edilen,  $10 \mu\text{M}$  ( $10^{-5}$  M) derişimdeki didesildimetilamonyum süksinat tüm hücre hatlarındaki hücreleri öldürmüştür. Sunulan çalışmada sıçan ince bağırsakta kasılmaların azalma nedeni DDAK’ın hücreler üzerindeki sitotoksik etkisi olabilir.

#### **4.2. Sıçan ince bağırsak dokuları üzerinde $3 \times 10^{-7}$ M DDAK inkübasyonunun asetilkolin ile birlikte etkisi**

Asetilkolin ESS' nin en önemli uyarıcı nöromediyatörüdür. Bölgedeki düz kasların ve salgı hücrelerinin görevlerini düzenlenmesinde hayati bir role sahiptir (Davis ve ark. 1998). ACh hücre zarında muskarinik reseptörlere bağlanır; ve hücre zarına bağlı PLC enzimleri ve  $IP_3$  üretimini artırır. Sitoplazmadan salınan  $IP_3$ , hücre içi kalsiyum ( $Ca^{+2}$ ) depo bölgesinden  $Ca^{+2}$  salınımına neden olur. Atropin gibi yarışmalı antagonistler ACh derişim cevap eğrisini en yüksek cevabı ( $E_{max}$ ) değiştirmeden sağa doğru kaydırırlar (Sadraei ve ark. 2003). Sunulan alışmada DDAK inkübasyonu ACh' ın  $pD_2$  ve  $E_{max}$  parametrelerinde herhangi bir değişikliğe yol açmamıştır. Bu durum DDAK için seçilen derişime ( $3 \times 10^{-7}$  M) bağlanabilir. Seçilen DDAK derişimi dokular üzerinde etkisi görülmeyen derişim olarak seçilmiştir. Böylece normal koşullarda kullanılan ya da dışardan alınması muhtemel miktarda DDAK' ın ince bağırsak üzerindeki akut etkisi değerlendirmek amaçlanmıştır. Akut toksisite çalışmalarında ağızdan didesildimetilamonyum sakkarinatın yüksek dozlarda bile ince bağırsak bölümlerine (duodenum, jejunum ve ileum) patolojik olarak zarar vermediği bildirilmiştir (Jodynys-Liebert ve ark. 2010). Sunulan çalışmanın sonuçları, düşük derişimde DDAK' ın sıçan ince bağırsak bölümlerine uygulanan ACh cevaplarını değiştirmediniğini göstermiştir.

#### **4.3. Asetikolinin $EC_{85}$ Değeri İle Ön Kasılma Oluşturulan İzole Sıçan İnce Bağırsak Dokuları (Duodenum, Jejunum, İleum) Üzerine DDAK' ın Etkisi**

Asetikolinin  $EC_{85}$  ( $1,71 \times 10^{-5}$  M) değeri ile ön kasılma oluşturulan izole sıçan dokularına  $10^{-8}$  M –  $10^{-4}$  M DDAK derişimleri uygulanmış ve  $10^{-4}$  M DDAK' ın jejunum ve ileumda % gevşeme cevabını artırdınığını; yani DDAK' ın ACh' ın oluşturduğu kasılmaları istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı saptanmıştır. Duodenum % gevşeme cevaplarını ise istatistiksel olmayan bir şekilde artırmıştır. Üç dakika boyunca alınan frekans değerlerinde her üç dokuda da istatistiksel bir fark görülmemiştir. Ancak jejunum ve ileum dokusu frekans değerleri  $10^{-4}$  M DDAK uygulamasında, istatistiksel bir anlamlılık olmasa da sayısal bir düşüş saptanmıştır.

Mide-bağırsak düz kasların gevşeme cevabının altında birçok mekanizma yatmaktadır. Uyarıcı maddelerin etkilerinin antikolinerjik, antihistaminerjik mekanizma ile önlenmesi ya da adrenerjik, purinerjik, GABAerjik etki gibi baskıcı etkiler; gevşeme yanıtına sebep olabilir (Hejazian-Y ve ark. 2019).

Kuaterner amonyum bileşiklerinin antimuskarinik etkileri eskiden beri bilinmektedir. Antimuskarinik etki gösteren bu maddeler genellikle spazm çözücü olarak kullanılmaktadır (Pak ve ark. 2003, Evangelista 2004). Ancak DDAK'ın antimuskarinik etkili olabileceği sunulan çalışmadaki verilerle söylemek güçtür. Nitekim DDAK dezenfektan olarak kullanılan bir kuaterner amonyum bileşiğidir ve kimyasal olarak ve bakteriler üzerine olan etkileri yönünden benzalkonyum klorüre daha çok benzemektedir (Anonim 2019d). Benzalkonyum klorürün miyenterik denervasyon oluşturarak sıçan (Matsuo ve ark. 1991) ve hindide duodenal kasılmaları önlediği gösterilmiştir (Chaplin ve Duke 1990). İnce ve kalın bağırsaklar, ağızdan alınan, solunan toksik maddelere karşı önemli bir engel oluşturur. Bir yandan da bağırsaklar toksik veya kanserojen maddelerin emiliminin birincil bölgesini temsil ettiğinden büyük öneme sahiptir. Uzunluğu ve yapısındaki villilerin varlığı ile özel emici epitel muazzam bir yüzey alanına sahiptir. Bağırsakların emici yüzey olarak hareket etmesine ek olarak, bileşiklerin metabolizmasında da önemli bir rol oynar. Alınan toksik maddelerin biyotransformasyon ve aktivasyon veya deaktivasyonu bağırsaktan enterohepatik dolaşım yoluyla karaciğere ulaşım gerçekleşir (Nakatsuji ve ark. 2018). Otonomik fonksiyon bozuklukları, nörolojik bozukluklar mide-bağırsak sisteminde motilite bozukluklarına yol açmaktadır (Wingate ve ark. 2002). Mide-bağırsak hareketlerinde azalmanın pek çok olumsuz sonucu vardır. Özellikle kedi ve köpeklerde aspirasyon pnömonisi, reflüks ösafagit, bakterilerin aşırı üremesi ve buna bağlı bağırsak mukozasında lokalize olması, ve besinlerin geçişinin gecikmesi gibi etkiler görülmektedir. Ayrıca mortalite riski de bu hastalarda artmaktadır (Whitehead ve ark. 2016).

Sonuç olarak DDAK özellikle  $10^{-4}$  M derişimde hem spontan kasılmaları hem de ACh ile oluşturulan kasılmaları azaltmıştır. DDAK'ın etkisi derişime bağlı olarak artmış; jejunum ve ileum ise daha fazla etkilenmiştir. Dolayısıyla, kazara ya da başka sebeple oral yoldan DDAK'a maruziyetin bağırsak kasılmalarında azalma yapabileceği ve buna bağlı sorunlar ortaya çıkabileceği düşünülmüştür. Oluşan

gevşeme cevabının altındaki mekanizmasının tam olarak ortaya çıkması için daha ileri araştırmalar ihtiyaç duyulduğu sonucuna varılmıştır.



## KAYNAKLAR

- ALRABEI A (2013) Histology of digestive system in rat. Erişim: [https://www.researchgate.net/publication/315707536\\_histology\\_of\\_digestive\\_system\\_in\\_rat](https://www.researchgate.net/publication/315707536_histology_of_digestive_system_in_rat). Erişim Tarihi: 16.05.2019
- ANDERSON KL, FEENEY DA (2013). Diagnostic Imaging of the Gastrointestinal Tract, Chapter 26, Ed(s): Washabau RJ, Day MJ, In: Canine and Feline Gastroenterology, W.B. Saunders, p.: 205-266
- ANDERSON SE, SHANE H, LONG C, LUKOMSKA E, MEADE BJ, MARSHALL NB. (2016) Evaluation of the irritancy and hypersensitivity potential following topical application of didecyldimethylammonium chloride. *J Immunotoxicol*, 13(4):557-66.
- ANONİM (2018). Erişim: <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/a?dbs+hsdb:@term+@DOCNO+7611>. Erişim Tarihi: 10.10.2018.
- ANONİM (2019a). Erişim: <http://psychiatricdrugs.com/neurology/acetylcholine/> Erişim Tarihi: 15.5.2019
- ANONİM (2019b). Quaternary ammonium salts. Erişim: [www.ochempal.org/index.php/alphabetic/q-r/quaternary-ammonium-salt/](http://www.ochempal.org/index.php/alphabetic/q-r/quaternary-ammonium-salt/). Erişim Tarihi: 21.06.2019
- ANONİM (2019c) Erişim: [https://www.123rf.com/photo\\_87062707\\_stock-vector-didecyldimethylammonium-chloride-antiseptic-molecule-biocidal-disinfectant-active-against-bacteria-a.html](https://www.123rf.com/photo_87062707_stock-vector-didecyldimethylammonium-chloride-antiseptic-molecule-biocidal-disinfectant-active-against-bacteria-a.html) Erişim tarihi: 15.04.2019
- ANONİM (2019d). Classification of quaternary ammonium. Erişim: <https://www.aldebaransistemas.com/en/classification-of-quaternary-ammonium/> Erişim Tarihi: 17.03.2019.
- ARGENZIO RA (2008). Sindirim sisteminin genel fonksiyon ve kontrolü. Alındı: *Dukes Veteriner Fizyoloji*. Ed: Reece WO, 12. Baskı, Medipress Matbaacılık Malatya s. 383-393.
- ARIGA H, TSUKAMOTO K, CHEN C, MANTYH C, PAPPAS TN, TAKAHASHI T (2007). Endogenous acyl ghrelin is involved in mediating spontaneous phase III-like contractions of the rat stomach, *Neurogastroenterology & Motility*, 19, 675–680.
- ARMSTRONG CM (1969) Inactivation of the potassium conductance and related phenomena caused by quaternary ammonium ion injection in squid axons. *J Gen Physiol*, 54(5):553-75.
- BATES N, EDWARDS N (2015) Benzalkonium chloride exposure in cats: retrospective analysis of 245 cases reported to the Veterinary Poisons Information Service (VPIS), *Veterinary Record* 176, 229.

- BAYRAKTAROĞLU AG (2012). Deneklerin histolojik özellikleri bunların deneysel çalışmalarında sınırlayıcı yönleri. *Journal of Clinical and Analytical Medicine Kitap Serisi; Matris Tanıtım Baskı Hizmetleri, Ankara, s:33-38.*
- BEATTIE DT, SMITH JA (2008). Serotonin pharmacology in the gastrointestinal tract: a review. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.*;377(3):181-203.
- BERTACCINI G, CORUZZIG. (1987) Receptors in the gastrointestinal tract. *Pharmacol Res Commun.*;19(2):87-118.
- BIGOVIC D, BRANKOVIC S, KITIC D, RADENKOVIC M, JANKOVIC T, SAVIKIN K, ZIVANOVIC S (2010) Relaxant effect of the ethanol extract of *Helichrysum plicatum* (Asteraceae) on isolated rat ileum contractions. *Molecules*,15(5):3391-401.
- BROWNING K N, TRAVAGLI RA (2014). Central nervous system control of gastrointestinal motility and secretion and modulation of gastrointestinal functions. *Comprehensive Physiology*, 4(4), 1339–1368.
- BUFFET-BATAILLON S, TATTEVIN P, BONNAURE-MALLET M, JOLIVET-GOUGEON A (2012) Emergence of resistance to antibacterial agents: the role of quaternary ammonium compounds--a critical review. *Int J Antimicrob Agents*;39(5):381-9.
- BUIST HE, DE HEER C, VAN BURGSTEDEN JA, VAN DE SANDT JJ (2007). Dermatokinetics of didecyldimethylammonium chloride and the influence of some commercial biocidal formulations on its dermal absorption in vitro. *Regul Toxicol Pharmacol*, 48(1):87-92.
- CHAPLINS B, DUKE GE (1990) Effect of denervation of the myenteric plexus on gastroduodenal motility in turkeys, *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 259:3, G481-G489
- DAVIS KA, MASELLA J, BLENNERHASSETT MG (1998). Acetylcholine metabolism in the inflamed rat intestine. *Exp Neurol*. 1998 Aug;152(2):251-8.
- DE PONTI F, GIARONI C, COSENTINO M, LECCHINI S, FRIGO G (1996). Adrenergic mechanisms in the control of gastrointestinal motility: from basic science to clinical applications. *Pharmacol Ther*. 1996;69(1):59-78.
- DEJOBERT, Y., MARTIN, P., PIETTE, F., THOMAS, P. AND BERGOEND, H. (1997). Contact dermatitis from didecyldimethylammonium chloride and bis-(aminopropyl)-lauryl amine in a detergent-disinfectant used in hospital. *Contact Derm.*, 37, 95-96.
- DING M, KINOSHITA Y, KISHI K, NAKATA H, HASSAN S, KAWANAMI C, SUGIMOTO Y, KATSUYAMA M, NEGISHI M, NARUMIYA S, ICHIKAWA A, CHIIBA T (1997). Distribution of prostaglandin E receptors in the rat gastrointestinal tract. *Prostaglandins*;53(3):199-216.
- DIRECTIVE 98/8/EC (2012). Didesyldimethylammonium chloride. Directive 98/8/EC concerning the placing biocidal products on the market Erişim: <https://circabc.europa.eu/sd/a/43c52671-9098-4476-a977-1f30cde6d532/DDAC%20->

[%20PT8%20\(assessment%20report%20as%20finalised%20on%2021.09.12\).pdf](#)

Erişim Tarihi. 01.04.2019

EUROPEAN CHEMICAL AGENCY (2005). Didecyldimethylammonium chloride, Erişim: <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/5864/7/2/2>, Erişim Tarihi. 10.04.2019

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA) (2008). Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance incorrectly named didecyldimethylammonium chloride, *EFSA Scientific Report*, 214, 1-54

EVANGELİSTA S. (2004) Quaternary ammonium derivatives as spasmolytics for irritable bowel syndrome. *Curr Pharm Des.* 2004;10(28):3561-8. Review.

EVANS ED, MANGEL AW (2011). Depolarization-stimulated contractility of gastrointestinal smooth muscle in calcium-free solution: a review. *ISRN gastroenterology*, 2011, 692528. doi:10.5402/2011/692528

FISHER J (2003). Cleaning procedures in the factory. Types of Disinfectants. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition)*, Editor(s): Caballero B, Academic Press, s.: 1382-1385,

FUJINO K, INUI A, ASAKAWA A, KIHARA N, FUJIMURA M, FUJIMIYA M (2003) Ghrelin induces fasted motor activity of the gastrointestinal tract in conscious fed rats, *Journal of Physiology*, 550, 227–240

FURUTA, T. (1992) Effect of alkaline builders and surfactants on the bactericidal activity of didecyldimethylammonium chloride. *Journal of Antibacterial and Antifungal Agents* 20, 617- 622

GARCIA SB, MINTO S B, MARQUES IS, KANNEN V (2019). Myenteric Denervation of the Gut with Benzalkonium Chloride: A Review of Forty Years of an Experimental Model. *Canadian journal of gastroenterology & hepatology*, 2019, 3562492. doi:10.1155/2019/3562492

GEIER J, LESSMANN H, KRAUTHEIM A, FUCHS T (2013) Air borne allergic contact dermatitis caused by didecyldimethylammonium chloride in a geriatric nurse. *Contact Derm.*, 68, 123-5

GERSHON MD, TACK J (2007). The serotonin signaling system: from basic understanding to drug development for functional GI disorders. *Gastroenterology*; 132(1):397-414.

GILLESPIE MN, DIAMOND L, NEWBURGER J, KOSTENBAUDER HB (1977). The effect of ion pair formation on the antimuscarinic activity of methantheline. *Experientia*, 15;33(7):936-8.

GLATZLE J, STERNINI C, ROBIN C, ZITTEL TT, WONG H, REEVE JR, RAYBOULD HE (2002). Expression of 5-HT<sub>3</sub> receptors in the rat gastrointestinal tract, *Gastroenterology*, 123, 217 - 226



- GREEN H, SILVA M (1996). Summary of toxicology data didesylldimethylammonium chloride. California Enviromental Protection Agency Department of pesticide regulation medical toxicology branch. *DPR Medical Toxicology*, T960214, 1-7
- GWALTNEY – BRANT SM (2013). Micellanus indoor toxicants. Ed Peterson ME, Talcott PA, Alındı: Small Animal Toxicology, Elsevier, s.:291-309.
- HANSEN MB (2003). Neurohumoral control of gastrointestinal motility. *Physiol Res*.52(1):1-30.
- HARRINGTON AM, HUTSON JM, SOUTHWELL BR (2010). Cholinergic neurotransmission and muscarinic receptors in the enteric nervous system. *Prog Histochem Cytochem*;44(4):173-202.
- HEGSTAD K, LANGSRUD S, LUNESTAD B, SCHEİE A, SUNDE M, YAZDANKHAH, S. (2010). Does the Wide Use of Quaternary Ammonium Compounds Enhance the Selection and Spread of Antimicrobial Resistance and Thus Threaten Our Health?. *Microbial drug resistance (Larchmont, N.Y.)*. 16. 91-104.
- HEJAZIAN-Y SH, DASHTI-R MH, MAHDAVI SM, QURESHIMA (2009) The effect of Carum Copticum extract on acetylcholine induced contraction in isolated rat's ileum. *J Acupunct Meridian Stud*.2(1):75-8.
- HENDERSON nd (1992). A review of the environmental impact and toxic effects of DDAK. Erişim: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.384.7692&rep=rep1&type=pdf>. Erişim Tarihi: 20.05.2019.
- ISOMAA B (1975) Absorption, distribution and excretion of [14C]CTAB, a quaternary ammonium surfactant, in the rat, *Food and Cosmetics Toxicology*, 13(2),231-237,
- ISOMAA B, REUTER JP, DJUPSUND BM (1976) The subacute and chronic toxicity of cetyltrimethylammonium bromide (CTAB), a cationic surfactant, in the rat, *Archives of Toxicology*,35,91-96.
- JODYNIS-LIEBERT J, NOWICKI M, MURIAS M, ADAMSKA T, EWERTOWSKA M, KUJAWSKA M, PIOTROWSKA H, KONWERSKA A, OSTALSKA-NOWICKA D, PERNAK J.(2010) Cytotoxicity, acute and subchronic toxicity of ionic liquid, didesylldimethylammonium saccharinate, in rats. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2010 Jul-Aug;57(2-3):266-73.
- KAYA S (2013). Antiseptik ve Dezenfektanlar. Veteriner Farmakoloji. Eds: S Kaya, Medisan Ankara. s: 607
- KIM YS, LEE SB, LIM CH (2017) Effects of Didesylldimethylammonium Chloride (DDAC) on Sprague-Dawley Rats after 13 Weeks of Inhalation Exposure. *Toxicol Res*, 33(1):7-14.
- KIMURA T, HIGAKI K (2002). Gastrointestinal transit and drug absorption. *Biol Pharm Bull*. 25(2):149-64. Review.

- KING WW, DIAL SM, BIVIN WS(1999). Quaternary Ammonium-Induced Cutaneous and Gastrointestinal Mucosal Lesions in a Dog. *Contemp Top Lab Anim Sci.* 38(2):69-73.
- KHODAKHAH K, MELISHCHUK A, ARMSTRONG CM (1997). Killing K channels with TEA+. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(24), 13335–13338. doi:10.1073/pnas.94.24.13335
- KWON DY, KIM E, KWON JT, LEE DH, PARK SY, KIM H, KIM P, CHOI K (2015). Ethylene glycol potentiated didecyldimethylammonium chloride toxicity in human bronchial epithelial cells, *Molecular & Cellular Toxicology*, 11, 161-166
- KWON JT, KIM HM, KIM P, CHOI K (2014). Didecyldimethylammonium chloride induces oxidative stress and inhibits cell growth in lung epithelial cells, *Mol. Cell. Toxicol.* 10: 41-45.
- LIM CH, CHUNG YH.(2014). Effects of didecyldimethylammonium chloride on sprague-dawley rats after two weeks of inhalation exposure. *Toxicol Res.* 30(3):205-10.
- LONG Y, CHEN W, LIN Z, SUN H, XIA M, ZHENG W, LI Z (2014). Inhibition of HERG potassium channels by domiphen bromide and didecyl dimethylammonium bromide. *European Journal of Pharmacology*, 737, 202–209.
- MALAMED SF (2010). Pharmacology, chapter 25 Editor(s): Malamed SF, Sedation (Fifth Edition), Mosby, s. 316-354.
- MASUDA Y, TANAKA T, INOMATA N ve ark. (2000). Ghrelin stimulates gastric acid secretion and motility in rats, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 276, 905–908.
- MATSUO S, NEYA T, YAMASATO T (1991). Antroduodenal coordinated contractions as studied by chemical ablation of myenteric neurons in the gastroduodenal junctional zone. *Acta Med Okayama*, 45(1):21-7
- MELIN VE, MELIN TE, DESSIFY BJ, NGUYEN CT, SHEA CS, HRUBEC TC (2016). Quaternary ammonium disinfectants cause subfertility in mice by targeting both male and female reproductive processes. *Reprod Toxicol.* 59:159-66.
- MITTAL R, DEBS LH, PATEL A P, NGUYEN D, PATEL K, O'CONNOR G, ... LIU X Z (2017). Neurotransmitters: The Critical Modulators Regulating Gut-Brain Axis. *Journal of Cellular Physiology*, 232(9), 2359–2372.
- MONTGOMERY LE, TANSEY EA, JOHNSON CD, ROE SM, QUINN JG (2016) Autonomic modification of intestinal smooth muscle contractility. *Adv Physiol Educ.* 201640(1):104-9.
- NAIR VP, HUNTER JM(2004) Anticholinesterases and anticholinergic drugs, *Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain*, 4, 164–168.
- NAKATSUJI S, SZABO KA, SUSAN A. ELMORE SA (2018). Small and Large Intestine, Chapter 7 - Editor(s): Andrew W. Suttie, *Boorman's Pathology of the Rat* (Second Edition), Academic Press, s.51-69

- NEZAMI BG, SRINIVASAN S (2010). Enteric nervous system in the small intestine: pathophysiology and clinical implications. *Current gastroenterology reports*, 12(5), 358–365.
- NISHIHARA T, OKAMOTO T, NISHIYAMA N.(2000). Biodegradation of didecyldimethylammoniumchloride by *Pseudomonas fluorescens* TN4 isolated from activated sludge. *J Appl Microbiol.*88(4):641-7.
- OHAMA T, HORI M, OZAKI H. (2007) Mechanism of abnormal intestinal motility in inflammatory bowel disease: how smooth muscle contraction reduced?*J Smooth Muscle Res* 43(2): 43-54.
- OHNUMA A, YOSHIDA T, HORIUCHI H, FUKUMORI J, TOMITA M, KOJIMA S, TAKAHASHI N, FUKUYAMA T, HAYASHI K, YAMAGUCHI S, OHTSUKA R, KASHIMOTO Y, KUWAHARA M, TAKEDA M, KOSAKA T, NAKASHIMA N, HARADA T (2011). Altered pulmonary defense system in lung injury induced by didecyldimethylammonium chloride in mice. *Inhal Toxicol.* 23(8):476-85.
- PAK RW, PETROU SP, STASKIN DR (2003) Trospium chloride: A quaternary amine with unique pharmacologic properties. *Curr Urol Rep*,4: 436-440.
- PEDDIREDDY MKR (2011). *In vitro* Evaluation Techniques for Gastrointestinal Motility, *Ind J Pharm Edu Res*, 45; 184-191.
- PERRY B, WANG Y (2011) Appetite regulation and weight control: the role of gut hormones; *Nutrition & Diabetes* 2, e26
- PFEIFFER A, SCHMIDT T, HÖLLER T, HERRMANN H, PEHL C, WENDL B, KAESS H (1993) Effect of trospium chloride on gastrointestinal motility in humans. *Eur J Clin Pharmacol.* 44(3):219-23.
- PHILLIPS RJ, POWLEY TL (2007). Innervation of the gastrointestinal tract: patterns of aging. *Autonomic neuroscience: basic & clinical*, 136(1-2), 1–19.
- SADRAEI H, GHANNADI A, MALEKSHAHI K (2003). Relaxant effect of essential oil of *Melissa officinalis* and citral on rat ileum contractions. *Fitoterapia*.;74(5):445-52.
- SAITOH H, SAITOH N, ISEKI K, MIYAZAKI K (1991). Gastrointestinal absorption of quaternary ammonium compounds correlated to their binding to small intestinal brush border membrane in rat. *J Pharm Pharmacol.* 43(10):736-8
- SAMUELSON DA (2006). Text book of Veterinary Histology. China, Elsevier.
- SCHMIDT T, WIDMER R, PFEIFFER A, KAESS H (1994). Effect of the quaternary ammonium compound trospium chloride on 24 hour jejunal motility in healthy subjects. *Gut.* 35(1):27-33.
- SEILER R, RICKENBACHER, A, SHAW S, BALSIGER BM (2005). *J Gastrointest Surg*, 9: 227

- SHIRAI J, KANNO T, TSUCHIYA Y, MITSUBAYASHI S, SEKI R (2000). Effects of chlorine, iodine, and quaternary ammonium compound disinfectants on several exotic disease viruses. *J Vet Med Sci.* 62(1):85-92.
- STEPHENS, J., KIGER, R., KETTERING, J (1994). In vitro comparison of the effectiveness of three surface disinfectants. *Journal of the Californian Dentistry Association* 22, 40 -46
- TANYOLAÇ A (1999). Özel Histoloji, Ankara, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi.
- THORUP I (2019) Toxicological evaluation and limit values for 2-Ethylhexyl acrylate, propylene carbonate, quaternary ammonium compounds, triglycidyl isocyanurate, and tripropyleneglycol diacrylate, Erişim: [https://www2.mst.dk/udgiv/publications/2000/87-7944-210-2/html/kap04\\_eng.htm](https://www2.mst.dk/udgiv/publications/2000/87-7944-210-2/html/kap04_eng.htm) Erişim Tarihi: 15.05.2019.
- TOBIN G, GIGLIO D, LUNDGREN O (2009). Muscarinic receptor subtypes in the alimentary tract. *J Physiol Pharmacol.* 60(1):3-21.
- U.S. Environmental Protection Agency (USEPA) (2006). Didecyl Dimethyl Ammonium Chloride (DDAC), Erişim: <http://pi.ace.orst.edu/search/getDocketDocument.s?document=EPA-HQ-OPP-2006-0338-0019>. Erişim tarihi: 01.04.2019.
- VARGA M (2014). Digestive Disorders, Chapter 8, Ed (s): Varga M, Textbook of Rabbit Medicine (Second Edition), Butterworth-Heinemann, p.: 303-349, ISBN 9780702049798.
- VDOVIAKOVÁ K, PETROVOVÁ E, MALOVESKÁ M, KREŠÁKOVÁ L, TELEKY J, ELIAS MZ, VE ARK (2016). Surgical anatomy of the gastrointestinal tract and its vasculature in the laboratory rat. *Gastroenterol Res Pract*, <http://dx.doi.org/10.1155/2016/2632368>
- WALSH SE, MAILLARD JY, RUSSELL AD, CATRENICH CE, CHARBONNEAU DL, BARTOLO RG (2003). Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents on Gram-positive and -negative bacteria. *J Appl Microbiol.* 2003;94(2):240-7.
- WESSELS S, INGMER H (2013). Modes of action of three disinfectant active substances: a review. *Regul Toxicol Pharmacol*;67(3):456-67. doi:10.1016/j.yrtph.2013.09.006.
- WILSON TH, WISEMAN G (1954). Metabolic activity of the small intestine of the rat and golden hamster (*Mesocricetus auratus*). *J Physiol.* (1):126-30.
- WINGATE D, HONGO M, KELLOW J, LINDBERG G, SMOUT A (2002). Disorders of gastrointestinal motility: Towards a new classification. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 17: S1-S14.
- WHITEHEAD KM, CORTES Y, EIRMAN L (2016). Gastrointestinal dysmotility disorders in critically ill dogs and cats, *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 26(2), 234–253
- YOSHIMATSU T, HIYAMA K (2007). Mechanism of the action of didecyl dimethyl ammonium chloride (DDAC) against *Escherichia coli* and

morphological changes of the cells. *Biocontrol Sci.* 2007 Sep;12(3):93-9. Erratum in: *Biocontrol Sci.* 12(4):159.

YUNUS AW, RAZZAZI-FAZELI E, BOHM J (2011). Aflatoxin B1 in affecting broiler's performance, immunity and gastrointestinal tract: A review of history and contemporary Issues. *Toxins*, 3, 566-590.

ZHANG C, CUI F, ZENG G, JIANG M, YANG Z, YU Z, ZHU M, SHEN L (2015). Quaternary ammonium compounds (QACs): A review on occurrence, fate and toxicity in the environment. *The Science of the total environment*, 518-519, 352-362. doi: [10.1016/j.scitotenv.2015.03.007](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.03.007)



**KARAR:** Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

Doç Dr Ebru YILDIRIM'ın " Didesil dimetil amonyum chloridin rat duodenum, jejunum ve ileum düz kasları üzerine etkilerinin araştırılması " isimli projesi Kırıkkale Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu Yönergesinde belirtilmiş olan Etik İlkelerine uygun olduğuna karar verilmiştir.

Prof.Dr.Siyami KARAHAN

Başkan

Prof.Dr.Murat YILDIRIM

Başkan Vekili

Prof. Dr. Berkant Özpolat

Üye

Prof.Dr.Umut TEKİN

Üye

Prof.Dr.Mustafa TÜRK

Üye

Yrd.Doç.Dr.Uğur TIFTİKÇİ

Üye

Yrd.Doç.Dr.Nahit PAMUKOĞLU

Üye

Yrd.Doç. Dr.Serap YÖRÜBULUT

Üye

Yusuf BOSTANCI

Üye

Mustafa AKIN

Üye

Yaşar SAHİN

Üye

1 Yanık Akın Mustafa Özpolat

## Özgeçmiş

### I. Bireysel Bilgiler

Adı :Yunus Emre  
Soyadı :UZGUR  
Doğum yeri ve tarihi :SUSUZ- 21.01.1990  
Uyruğu :TC  
Medeni durum :Evli  
E-mail :bendivan@outlook.com  
İletişim :  
Cep : 0506 143 23 91

### II. Eğitim

:Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi

### III. Ünvanlar

:Veteriner Hekim

### IV. Mesleki Deneyim

:6 yıl

### V. Üye Olduğu Bilimsel Kurumlar

:

### VI. Bilimsel İlgi Alanları

:

### VII. Bilimsel Etkinlikler

:

Aldığı burslar

:

Projeler

:

Seminerler

:**Farmakogenetik nedir.** Farmakodinamik ve farmakokinetik genetik farklılıkları  
Kırıkkale – 2016

### VIII. Diğer Bilgiler

:

Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası

:

