

Organofosfat insektisit Fenthion'un rat amilaz ve lipaz enzimleri üzerine etkisi: Vitamin E ve C'nin rolü

Osman Gökalp*, Hakan Mollaoğlu**, H. Ramazan Yılmaz***, İrfan Altuntaş****

* Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD, Isparta

** Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji AD, Isparta

*** Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, Isparta

**** Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD, Isparta

Özet

Organofosfatlar kolinesteraz enzimini inhibe ederek toksik etkilere neden olmaktadır. Bazı zehirlenmelerde de akut pankreatite neden olmaktadır. Biz de, ratlarda; organofosfat insektisit Fenthion'un pankreas üzerine zararlı etkilerini ve Fenthion'un olası zararlı etkilerinin Vitamin E ve C kombinasyonunu ile önlenip önlenemeyeceğini araştırmayı amaçladık.

Çalışma grupları; kontrol grubu, Fenthion verilen (LD₅₀'nin % 25'i) grup ve Fenthion+Vitamin E ve C verilen grup şeklinde düzenlendi. Fenthion uygulamasından 24 saat sonra kan örnekleri alındı ve serumda amilaz ve lipaz aktiviteleri ölçüldü.

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında Fenthion uygulanan grubun lipaz aktivitesinin anlamlı olarak azaldığı görüldü. Fenthion uygulanan grup ile Fenthion+Vitamin E ve C verilen grup karşılaştırıldığında ise lipaz aktivitesinin anlamlı olarak arttığı görüldü.

Sonuç olarak bu bulgulardan Fenthion'un bu dozda ratlara uygulandığında pankreas hasarına neden olduğu ve bunun da Vitamin E ve C uygulaması ile önlenebileceği düşünüldü. Olasılıkla Vitamin E ve C'nin önleyici etkisini antioksidan mekanizma ile yaptığı düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Organofosfat, pankreatit, amilaz, Vitamin C, Vitamin E

Abstract

The effects of organophosphate insecticide Fenthion on rat amylase and lipase enzymes: Role of vitamins E and C
Organophosphates cause toxic effects via inhibition of the enzyme, cholinesterase. In some poisonings, they cause acute pancreatitis. Therefore we aimed to investigate organophosphate insecticide Fenthion's adverse effects on rat pancreas and whether Vitamins C and E have protective role on possible adverse effects of Fenthion.

Study groups were designed as control group, Fenthion treated (administered % 25 of LD₅₀) group and Fenthion+Vitamins C and E treated group. The blood samples were obtained 24 hours after Fenthion treatment. The activities of serum enzymes were determined in each sample at 24 h.

When compared with control group lipase activity was significantly decreased in Fenthion treated group. When compared with Fenthion treated group lipase activity was significantly increased in Fenthion+Vitamins E and C treated group.

In conclusion from this findings, it is thought that Fenthion causes pancreas damage when administered at these doses to rats, and that this may be prevented by Vitamins E and C treatment. Probably antioxidant mechanism mediates the preventive effect of Vitamins E and C.

Keywords: Organophosphate, pancreatitis, amylase, vitamin C, vitamin E

Giriş

Ülkemizde organofosfat zehirlenmesi sık karşılaşılan klinik tablolardandır (1). Isparta yöresinde çiftçiler tarafından en çok kullanılan organofosfatlardan biri de Fenthion'dur (o,o-dimetil-o-(4 metilmerkaptio-3-metilfenil)-fosforotioat). Organofosfat zehirlenmelerinden birkaç gün sonra meydana gelen ölüm nedenlerinden birinin de pankreatit olduğu görülmüştür (2).

Organofosfatlar, etkilerini asetilkolini yıkan asetilkolinesterazı inhibe ederek gösterirler. Bu da kolinerjik aktivitenin aşırı artmasına neden olur (3). Organofosfatlar solunum yollarından ve gastrointesti-

nal mukozadan geçerek hızla absorbe edilir ve ayrıca organofosfatlar lipofilik oldukları için hızlı bir şekilde deriden de absorbe edilirler (4,5). Yaygın olarak kullanılan organofosfatların canlı organizmalar üzerinde istenmeyen etkilere neden olduğu bilinmektedir (6,7). Organofosfatlar, hem insanlarda hem de hayvanlarda merkezi sinir sistemi, kardiyovasküler sistemi, ürogenital sistemi ve nöromusküler kavşağı, metabolik ve endokrin sistemi, kolinesterazları inhibe ederek etkilemektedir (8). Organofosfatlar, karaciğer hasarına ve lipid peroksidasyonuna sebep olmakta ve kolinesterazları, α -kimotripsin, tripsin ve elastaz aktivitelerini inhibe etmektedirler (9,10). Bagchi ve

arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, Fenthion'un karaciğer ve beyinde lipid peroksidasyonu oluşturduğu, DNA'nın tek kolunda kırıklara ve laktat dehidrogenazın ekstrasellüler sıvıya sızıntısında artışa neden olduğu bulunmuştur (11). Bu toksik etkilere de Fenthion'un oluşturduğu reaktif oksijen türlerinin ve/veya serbest radikallerin neden olduğu bulunmuştur (11). Yapılan bazı çalışmalarda, Vitamin E ve C kombinasyonunun toksik maddeler tarafından oluşturulan lipid peroksidasyonunu azaltabileceği ifade edilmiştir (12,13). Biz de yaptığımız bir çalışmada ratlarda Fenthion'un, karaciğer hasarına neden olduğunu ve Vitamin E ve C kombinasyonunun bu hasarı azalttığını tespit ettik (10).

Bu çalışmamızda da; 1 - Fenthion'un pankreas hasarı ile ilgili serum enzimleri üzerine etkisini, 2 - Vitamin E ve C kombinasyonunun olası Fenthion toksisitesine karşı koruyucu etkisini araştırmayı amaçladık.

Materyal ve Metod

Çalışmada, ağırlıkları 200-230 g arasında olan 18 adet Wistar-Albino rat kullanıldı. Deney grupları; kontrol grubu (n=6), Fenthion verilen grup (FT, n=6) ve Fenthion ve vitamin E ve C verilen grup (FT+Vit, n=6) şeklinde düzenlendi. 0. saatte FT ve FT+Vit gruplarına oral olarak mısır yağında çözülmüş tek doz 54 mg/kg Fenthion verildi (11). Bu doz ratlar için LD₅₀ dozunun % 25'idir. Kontrol grubuna da aynı yolla sadece mısır yağı verildi (10). Fenthion uygulamasından 30 dk sonra α -tokoferol asetat olarak 150 mg/kg i.m. (12,13) vitamin E (Evigen®, Aksu Farma) ve sodyum-L-askorbat olarak 200 mg/kg i.p. vitamin C (Redoxon®, Roche) verildi (10,13,14,15). FT ve kontrol gruplarındaki ratlara da vitaminlerin yerine eşit miktarlarda serum fizyolojik verildi. Ratlara yukarıda ifade edilen maddeler verildikten sonra gece yarısına kadar su içmelerine izin verildi. 24 saat sonra ratların kalbinden eter anestezisi altında kan örnekleri alındı. Kan örnekleri santrifüje edildi ve serumu ayrıldı. Amilaz ve lipaz aktiviteleri Abbott Aeroset (IL, USA) marka otoanalizör cihazı kullanılarak ölçüldü.

İstatistikler Windows 95-98 uyumlu SPSS® 7.5 ile yapıldı. Grupların dağılımları Non-parametrik testler-

den one-sample Kolmogorov-Smirnov Test ile değerlendirildi. Grupların normal dağılım göstermesinden dolayı grupların karşılaştırılmasında parametrik testlerden one-way ANOVA testi ve Post Hoc testlerden LSD kullanıldı. Sonuçlar, ortalama \pm standart sapma olarak ifade edildi. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ olan değerler anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular

Tablo 1'de görüldüğü gibi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında FT ve FT+Vit gruplarının amilaz aktivitelerinin kısmen artmakla birlikte bu artışın anlamlı olmadığı görüldü. Tablo 1'de görüldüğü gibi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında FT grubunun lipaz aktivitesinin anlamlı olarak azaldığı ve bu azalmanın vitamin E ve C uygulanmasıyla önlendiği görüldü ($P < 0,05$).

Tartışma

Organofosfat insektisitlerle zehirlenmelerde çeşitli komplikasyonlar ortaya çıkabilmektedir. Klasik tabloda aşırı kolinerjik uyarıma bağlı bronkokonstriksiyon, hipotansiyon, son olarak da şuur kaybı ve ölüm gelişebilmektedir. Organofosfat zehirlenmesinde klasik tablo dışında ortaya çıkabilen önemli bazı komplikasyonlar şunlardır; tam atrioventriküler blok, pankreatit ve santral diabetes insipidus (16). Organofosfatların yüksek dozda vücuda girmesiyle akut pankreatit ortaya çıkabildiği bildirilmektedir. Organofosfatların ağızdan yüksek dozda alınmasına bağlı akut pankreatitin tahmin edilenden daha sık olduğu ifade edilmiştir (17). Organofosfat bileşikleri çok çeşitli olmakla birlikte literatürde pankreatite neden olduğu bildirilen organofosfatlar; Parathion, Malathion, Difonate, Coumaphos, Diazinon ve Dimethoate'dir. Bunlardan Dimethoate'nin ciltten geçmesi durumunda da pankreatite neden olduğu bildirilmiştir (17). Bizim çalışmamızda Fenthion'un serum lipaz aktivitesini anlamlı olarak azalttığı ve bu azalmanın da E ve C vitamini uygulamasıyla önlendiği görüldü.

Organofosfatların pankreatite neden olma mekanizması olarak fazla kolinerjik uyarımla ile pankreas ve kanallarında aşırı basınç artışı olabileceği bildirilmiştir (17). Başka bir çalışmada da akut

Tablo 1 : Çalışma gruplarının enzim aktiviteleri.

			Amilaz (U/L)	Lipaz (U/L)
		N	Ortalama \pm Standart Sapma	Ortalama \pm Standart Sapma
I	Kontrol	6	904.0 \pm 176.1	16.1 \pm 1.1
II	FT	6	1033.6 \pm 95.1	13.0 \pm 3.8*
III	FT + Vit	6	1070.8 \pm 173.3	16.3 \pm 2.4**

*: Kontrol grubu ile FT grupları karşılaştırıldığında $P < 0,05$

** : FT grubu ile FT+Vit grubu ile karşılaştırıldığında $P < 0,05$

organofosfat uygulamasının histopatolojik olarak pankreasta vakuol artışına neden olduğubildirilmektedir(17,18).

Akut pankreatitin erken tanı ve uygun tedavisi çok önemlidir (19). Bu nedenle organofosfatlara bağlı akut pankreatite neden olan organofosfat çeşitlerinin, dozlarının ve pankreatit oluşması için gerekli sürelerin bilinmesi çok önemlidir. Bu çalışma biyokimyasal olarak ilk kez ratlarda LD₅₀ dozunun % 25'i Fenthion uygulamasının akut pankreas hasarına neden olduğunu göstermiştir. İleri çalışmalarda organofosfatların neden olduğu pankreatitin araştırılması gerekmektedir. Bu konuyu aydınlatmak için yapılan ileri çalışmalarda şu noktalar dikkate alınmalıdır; 1- organofosfatların neden olduğu pankreatitte cins ve türler arasında duyarlılık farkı olabilir (20,21), 2- organofosfatlar intihar için LD₅₀ dozunun üzerinde de kullanıldıkları için pankreas üzerine şiddetli toksik etki LD₅₀ dozunun % 25 ve altında ortaya çıkmıyor olabilir, 3- ölüme neden olabilen şiddetli pankreatit olasılıkla zehirlenmeden sonra farklı latent periyotlardan sonra ortaya çıkıyor olabilir.

Sonuç olarak, ratlarda Fenthion'un LD₅₀ dozunun % 25'i veya daha yüksek dozları akut pankreas hasarına neden olabilir. Fenthion olasılıkla bu hasarı oksidatif stres mekanizmasıyla yapmaktadır. Olasılıkla vitamin E ve C'ninantioksidan etki ile pankreas hasarını önleyebilir.

Kaynaklar

1. Kalkan S, Erdogan A, Aygoren O, Capar S, Tuncok Y. Pesticide poisonings reported to the drug and poison information center in Izmir, Turkey. *Vet Hum Toxicol.* 2003;45:50-52.
2. Sahin I, Onbasi K, Sahin H, Karakaya C, Ustun Y, Noyan T. The prevalence of pancreatitis in organophosphate poisonings. *Hum Exp Toxicol.* 2002;21:175-177.
3. Carr RL, Richardson JR, Guarisco JA, Kachroo A, Chambers JE, Couch TA, Durunna GC, and Meek EC. Effects of PBC exposure on the toxic impact of organophosphorus insecticides. *Toxicological Sciences* 2002;67:311-321.
4. Karalliadde L. Organophosphorus poisoning and anesthesia. *Anesthesia* 1999;54:1073-1088.
5. Zendzian RP. Pesticide residue on/in the Washed skin and its potential contribution to dermal toxicity. *J Appl Toxicol.* 2003;23:121-136.
6. Dabrowski S, Hanke W, Polanska K, Makowiec-Dabrowska T, Sobala W. Pesticide exposure and birthweight: an epidemiological study in Central Poland. *Int J Occup Med Environ Health* 2003;16:31-39.
7. Lotti M. Promotion of organophosphate induced delayed polyneuropathy by certain esterase inhibitors. *Toxicology* 2002;27:181-182:245-248.
8. Karalliadde L, Senanayake N. Organophosphorus insecticide poisoning. *Journal of the International Federation of Clinical Chemistry* 1999;11:1-9.

9. Garry B, Casida JE. Sensitivity of blood-clotting factors and digestive enzymes to inhibition by organophosphorus pesticides. *J Biochem Molecular Toxicology.* 2000;14:51-56.

10. Altuntaş İ, Delibaş N. The effects of Fenthion on lipid peroxidation and some liver enzymes: The possible protective role Vitamins E and C. *Turk J Med Sci.* 2002;32:293-297.

11. Bagchi D, Bagchi M, Hassoun EA, Stohs SJ. In vitro and in vivo generation of reactive oxygen species. DNA damage and lactate dehydrogenase leakage by selected pesticides. *Toxicology* 1995;104:129-140.

12. Gültekin F, Delibaş N, Yaşar S, Kılınç İ. In vivo changes in antioxidant systems and protective role of melatonin and a combination of vitamin C and vitamin E on oxidative damage in erythrocytes induced by chlorpyrifos-ethyl in rats. *Archives Toxicology* 2001;75:88-96.

13. Appenroth D, Frög S, Kersten L, Splinter FK. Protective effects of vitamin E and C on Cisplatin nephrotoxicity in developing rats. *Archives Toxicology* 1997;71:677-683.

14. Kan PK, Sinha SP. Vitamin C mediated amelioration of pesticide genotoxicity in murine spermatocytes. *Cytobios* 1994;80:199-204.

15. Kan PK, Sinha SP. Antimutagenic efficacy of higher doses of vitamin C. *Mutat Res* 1993;298:157-161.

16. Martin Rubi JC, Yelamos Rodriguez F, Laynez Bretones F, Cordoba Escamez J, Diez Garcia F, Lardelli Claret A, Blanco Corodona JL et al. Poisoning caused by organophosphate insecticides. Study of 506 cases. *Rev Clin Esp.* 1996;196:145-149.

17. Hsiao CT, Yang CC, Deng JF, Bullard MJ, Liaw SJ. Acute pancreatitis following organophosphate intoxication. *J Toxicol Clin Toxicol.* 1996;34:343-347.

18. Liu S, Oguchi Y, Borner JW, Runge W, Dressel TD, Goodale RL. Increased canine pancreatic acinar cell damage after organophosphate and acetylcholine or cholecystokinin. *Pancreas* 1990;5(2):177-182.

19. Panieri E, Krige JE, Bornman PC, Linton DM. Severe necrotizing pancreatitis caused by organophosphate poisoning. *J Clin Gastroenterol.* 1997;25:463-465.

20. Costa LG, Cole TB, Furlong CE. Polymorphisms of paraoxonase (PON1) and their significance in clinical toxicology of organophosphates. *J Toxicol Clin Toxicol.* 2003;41(1):37-45.

21. Rodriguez MM, Bisset J, Ruiz M, Soca A. Cross-resistance to pyrethroid and organophosphorus insecticides induced by selection with temephos in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Cuba. *J Med Entomol.* 2002;39:882-888.

Yazışma Adresi

Yrd. Doç. Dr. Osman Gökalp
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi
Farmakoloji AD - 32260 Isparta

Tel: 0246 211 33 11

Faks: 0246 237 11 65

E-mail: ogokalp@med.sdu.edu.tr