

Dichlorvos'un ratların ince bağırsak dokusu üzerine etkisi ve vitamin C ve E'nin koruyucu rolü

Ayşenur ÇETİN¹, Yavuz ULUSOY², Ayşe ÖĞÜTCÜ¹, Fatma Gökçe UZUN¹, Filiz DEMİR¹

¹Gazi Üniv. Fen Edebiyat Fak., Biyoloji AD, Ankara, ²Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Patoloji Lab. Ankara

Özet: Organofosforlu bir pestisit olan dichlorvos zirai zararlıların kontrolünde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada vitamin C (200mg/kg)+vitamin E (200mg/kg), dichlorvos (1,6mg/kg) ve vitamin C (200mg/kg)+vitamin E (200mg/kg)+dichlorvos erkek ratlara oral olarak 7 hafta süre ile uygulandı. Muameleden 24 saat, 4 hafta ve 7 hafta sonra ratların ince bağırsak dokularındaki histopatolojik değişiklikler ışık mikroskobu kullanılarak, kontrol grubu ile mukayeseli olarak incelendi. Dichlorvos uygulandıktan 4 ve 7 hafta sonra ince bağırsakta villuslarda kısalma ve genişleme tespit edildi. Vitamin C+vitamin E+dichlorvos uygulanan ratların ince bağırsak dokularında da benzer patolojik değişiklikler gözlemlendi.

Sonuç olarak düşük doz dichlorvos ratların ince bağırsak dokularında patolojik değişikliklerin oluşmasına yol açmaktadır. Vitamin C ve vitamin E'nin, dichlorvosun ince bağırsak dokusunda meydana getirdiği patolojik değişiklikleri önleyemediği tespit edildi.

Anahtar sözcükler: Dichlorvos, pestisit; histopatoloji, ince bağırsak, vitamin C, vitamin E.

Effects of dichlorvos in small intestine tissue of rats and protective role of vitamins C and E

Summary: Dichlorvos, an organophosphorus pesticide, is widely used in agricultural control. In the present study, vitamin C (200mg/kg)+vitamin E (200mg/kg), dichlorvos (1,6mg/kg) and vitamin C (200mg/kg)+vitamin E (200mg/kg)+dichlorvos were given to male rats orally for 7 weeks. Histopathological changes in the small intestine tissues were investigated using light microscope at the end of 24h, 4th and 7th weeks comparatively with control group. After 4 and 7 weeks of dichlorvos exposure shortening and dilatation were observed in intestinal villi. Same histopathological changes in the small intestine tissues were observed at the end of 24h, 4th and 7th weeks.

As a result, lower doses of dichlorvos caused histopathological changes in the rat small intestine tissues. It's determined that vitamin C and vitamin E haven't prevented the pathological changes caused by dichlorvos in small intestine tissue.

Key words: Dichlorvos, pesticides, histopathology, small intestine, vitamin C, vitamin E.

Giriş

Organofosforlu (OP) bileşikler tarım zararlılarının ve hastalık yapıcı vektörlerin kontrolünde yaygın olarak kullanılan bir pestisit grubudur (Maitra ve Mitra, 2008). Organofosforlu insektisitler, etkilerini asetilkolini yıkan asetilkolinesterazı (AChE) inhibe ederek gösterirler. AChE'nin inhibe olması ile sinaptik asetilkolin seviyesinde ciddi bir şekilde yükselme meydana gelir (CARR ve ark., 2002). Organofosforlu pestisitler aynı zamanda pseudokolinesteraz aktivitesinin de inhibe olmasına sebep olmaktadır (KALENDER ve ark., 2006). Bunun yanı sıra organofosforlu bileşikler karaciğer (ULUSOY ve ark., 2004; KALENDER ve ark., 2005a; OGUTCU ve ark., 2008), kalp (OGUTCU ve ark., 2006), böbrek (KALENDER ve ark., 2007), testis (UZUNHİSARCIKLİ ve ark., 2007) gibi organlarda toksik etkiye sebep olabilmektedir. Ayrıca

organofosforlu metil parathionun da ince bağırsak dokusu üzerinde patolojik etkiye sebep olduğu gözlemlenmiştir (ÖĞÜTCÜ ve ark., 2007).

Dichlorvos (2,2 dichlorovinyl dimethyl phosphate, DDVP) depolanmış ürünlerin, mahsüllerin korunması için dünyada yaygın olarak kullanılan organofosforlu bir pestisit olup aynı zamanda halk sağlığında kullanılan bir insektisittir (CHOUDHARY ve GILL, 2001). Dichlorvos seralarda, meyve ve sebze ürünlerindeki mantar sinekleri, afidler, örümcek keneleri, tırtıllar ve beyaz sineklere karşı etkilidir (YARSAN ve ÇAKIR, 2006). Dichlorvos akciğer, mide ve deri yolu ile hızlı bir şekilde vücut içine alınır (RAHEJA ve GILL, 2002). Dichlorvosa akut maruz kalmayı takiben ortaya çıkan başlıca toksik etki kolinerjik iletim için can alıcı bir enzim olan asetilkolinesterazın inhibisyonudur (SARİN ve GILL, 1999). Yapılan

çalışmalarda dichlorvosun üreme sistemi (OKAMURA ve ark., 2005) ve karaciğer dokusu (OGUTCU ve ark., 2008) üzerinde olumsuz etkilere sebep olduğu belirlenmiştir.

Pestisit zehirlenmeleri ile ilgili çalışmalarda vitamin C ve vitamin E kullanılmaktadır (KALENDER ve ark., 2007; UZUNHİSARCIKLİ ve ark., 2007; OGUTCU ve ark., 2008) Vitamin C suda çözünebilir, vitamin E ise yağda çözünebilir bileşiklerdir (YOUNG ve WOODSIDE, 2001). Vitamin E'nin serbest radikal oluşumunu önleyebileceği (KALENDER ve ark., 2004; KALENDER ve ark., 2005b) ve biyolojik sistemlerde lipid peroksidasyonunu etkili şekilde azaltabileceği gösterilmiştir (KALENDER ve ark., 2002). Vitamin E'nin esas fonksiyonu hücre zarlarında ve lipoproteinlerde peroksil radikallerini toplayarak lipid peksidasyonun zincir reaksiyonunu kırmaktır (YOUNG ve WOODSIDE, 2001). Vitamin C süperoksit, hidrojen peroksit, singlet oksijen ve hidrosil ve peroksil radikallerini temizler (SENTHIL KUMAR ve ark., 2004). Aynı zamanda α -tokoferolün aracılık ettiği pro-oksidasyon vitamin C tarafından sonlandırılabilir (SENTHIL KUMAR ve ark., 2004).

Bu çalışmanın amacı dichlorvos uygulandıktan 24 saat, 4 hafta ve 7 hafta sonra ratların ince bağırsak dokularında meydana gelen histopatolojik değişiklikleri incelemek, bunun yanı sıra dichlorvosun ince bağırsak dokusunda sebep olduğu patolojik değişiklikler üzerine vitamin C ve vitamin E kombinasyonunun koruyucu rolünü incelemektir.

Materyal ve Metot

Hayvanlar: Etik kurallara uyularak yapılan bu araştırmada 310-340 g ağırlığında erkek Wistar sıçanlar kullanıldı. Refik Saydam Hıfzısıhha Enstitüsü'nden temin edilen ratlar özel besleme kafesleri içinde, her kafeste 6 rat olacak şekilde yerleştirildi. Ratlar standart laboratuvar diyeti ve su ile beslendi. Ratlara 18-22 °C oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık fotoperiyodu uygulandı. Ratlar uygulama yapılmadan 10 gün önce karantina altına alındı.

Kimyasallar: %98 saflıkta dichlorvos, Ankara Zirai Mücadele Merkezi'nden sağlandı. Vitamin E (DL- α -tokoferol) (Merck) ve vitamin C (L-askorbik asit) (Carlo Erba), Dizdärer firmasından sağlandı.

Hayvanlara Uygulama Planı: Ratlar kontrol grubu (n=18) ve uygulama grubu (n=54) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Uygulama grubu da kendi içinde üç gruba ayrıldı, Dichlorvos uygulanan grup (n=18), vitamin C+vitamin E uygulanan grup (vitamin grubu) (n=18), vitamin C+vitamin E+dichlorvos uygulanan grup (n=18). Her gruptan 6 rat uygulamadan 24 saat, 4 hafta ve 7 hafta sonra disekte edildi ve ince bağırsak dokuları ışık mikroskopu incelemeleri için alındı.

Tüm maddeler sabah saatlerinde (09:00-10:00 arasında) ve aç olmayan ratlara uygulanmıştır. Uygulamanın ilk yapıldığı gün deneyin 0. günü olarak kabul edilmiştir.

Kontrol grubu: Her bir rata günlük 1 ml/kg dozda mısır yağı oral olarak gavaj yolu ile verildi.

Vitamin C+vitamin E muameleli grup: Her bir rata günlük 200 mg/kg vitamin C (L-askorbik asit) oral gavaj yolu ile verildi. Daha sonra aynı hayvanlara 200 mg/kg vitamin E (DL- α -tokoferol) oral gavaj yolu ile verildi. Vitamin C su içinde (1ml/kg)ve vitamin E mısır yağı (1ml/kg) içinde çözüldü.

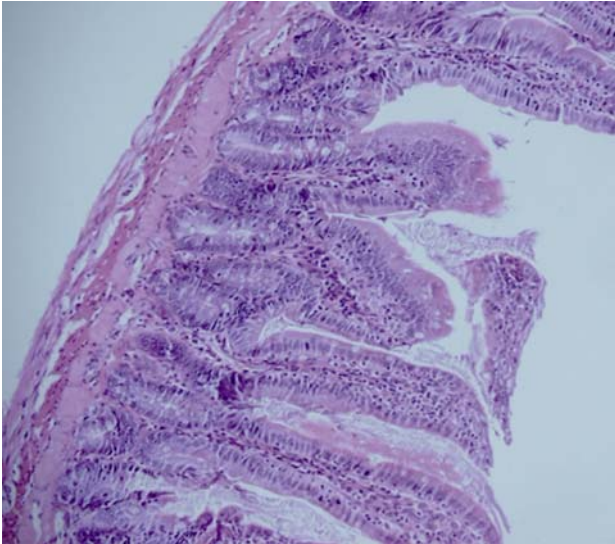
Dichlorvos muameleli grup: Her bir rata günlük 1,6 mg/kg (1/50 LD₅₀) dozunda dichlorvos mısır yağı içinde çözülerek oral gavaj yolu ile verildi.

Vitamin C+vitamin E+dichlorvos muameleli grup: Her bir rata günlük 200 mg/kg dozda vitamin E (DL- α -tokoferol) mısır yağı içinde çözülerek oral gavaj yolu ile verildi. Yine aynı hayvanlara 200 mg/kg dozda vitamin C (L-askorbik asit) distile su içinde çözülerek yine oral gavaj yolu ile verildi. Aynı hayvanlara günlük 1,6 mg/kg (1/50 LD₅₀) dozunda dichlorvos mısır yağı içinde çözülerek oral gavaj yolu ile uygulandı. Ratlara dichlorvos uygulaması vitaminler uygulandıktan 30 dakika sonra yapıldı.

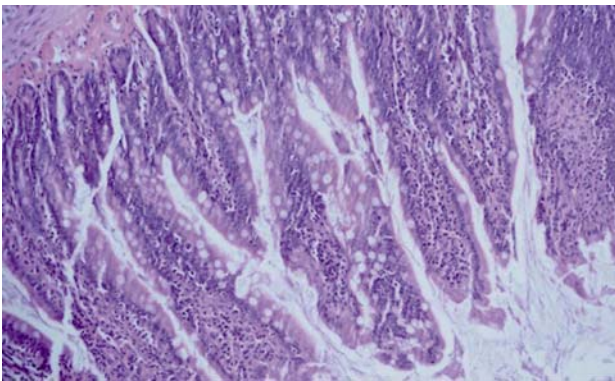
Işık Mikroskopu İncelemeleri: Histopatolojik incelemeler için, ince bağırsak dokuları disekte edildi ve doku örnekleri formaldehit solusyonu içinde 24 saat tespit edildi, dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidre olan dokular parafin ortamında bloklandı. Parafin bloklardan 4-5 μ m kalınlığında ince kesitler alındı ve alınan kesitler ışık mikroskopu incelemeleri için hematoksin-eozin ile boyandı. Kesitler fotoğraf makinesi ataçmanlı ışık mikroskopunda (Olympus DP70) incelendi ve fotoğrafları çekildi.

Bulgular

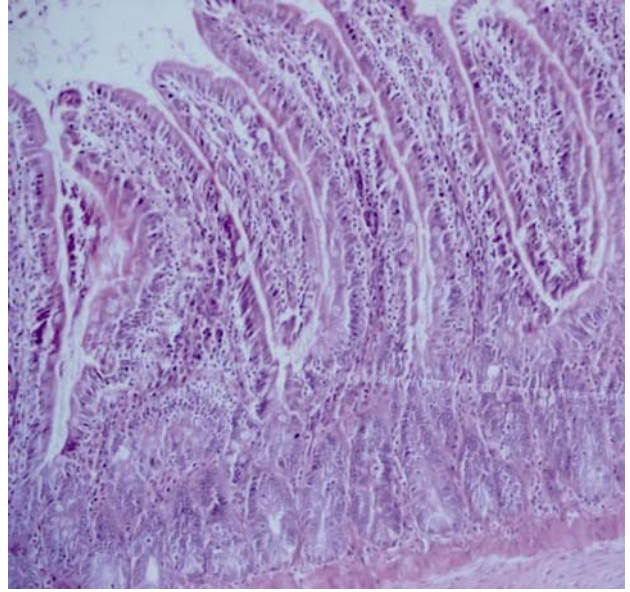
Kontrol grubu ve vitamin C+vitamin E uygulanan ince bağırsak dokularındaki villuslar ve villuslar üzerindeki epitelyum hücreleri normal yapıda gözlemlendi (Şekil 1, Şekil 2). Dichlorvos ve vitamin+dichlorvos uygulanan ratlarda 24 saat sonra herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı (Şekil 3, Şekil 4). Dichlorvos muamelesinden 4 hafta sonra ince bağırsak dokusundaki villuslarda kısalma ve enine kalınlaşma izlendi (Şekil 5). Vitamin C+vitamin E+dichlorvos muameleli ratların ince bağırsak dokusunda yüzey epitelinde dökülme gözlemlendi (Şekil 6). Dichlorvos muamelesinden 7 hafta sonra ince bağırsak dokusunda villuslarda kısalma ve enine genişleme görüldü (Şekil 7). 7 hafta sonunda vitamin C+vitamin E+dichlorvos muameleli ratların ince bağırsak dokusunun yüzey epitelinde dökülmeler gözlemlendi (Şekil 8).



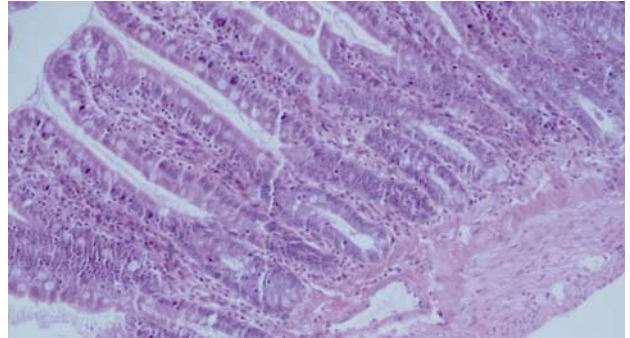
Şekil 1. Kontrol grubu ratların ince bağırsaklarının histolojik yapısı. X200.



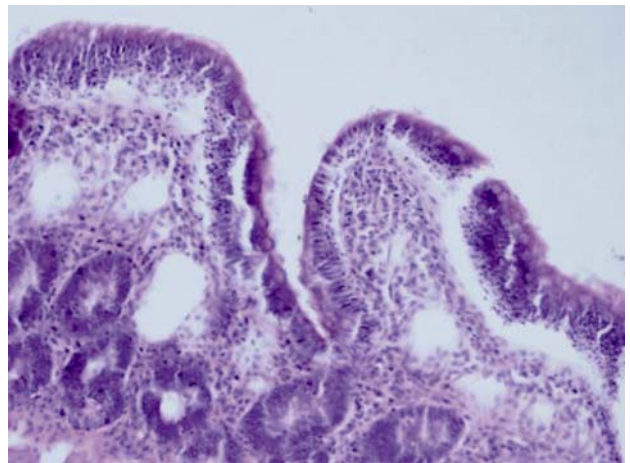
Şekil 2. Vitamin C+vitamin E uygulanmış ratların ince bağırsaklarının histolojik yapısı. X200.



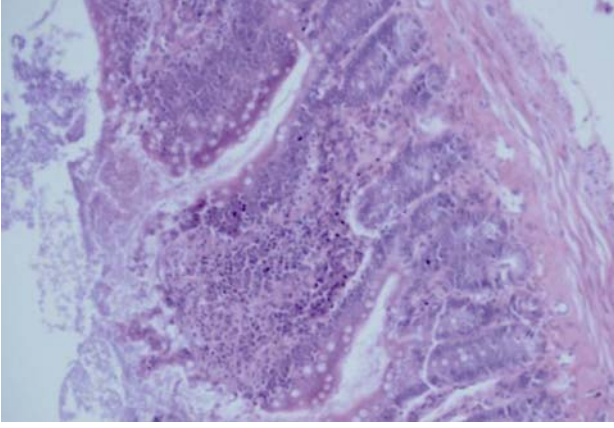
Şekil 3. Dichlorvos muamelesinden 24 saat sonra ratların ince bağırsaklarının histolojik yapısı. X200.



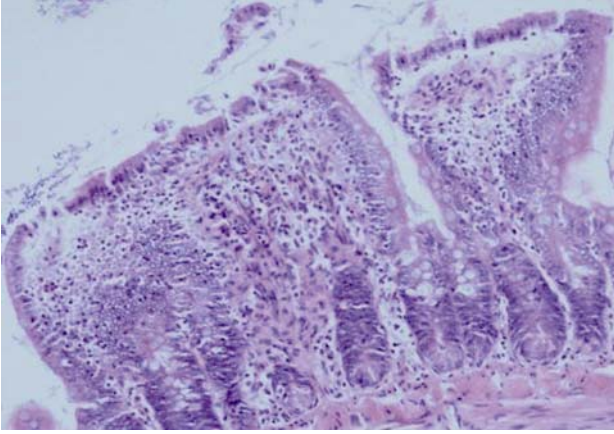
Şekil 4. Vitamin C+vitamin E+dichlorvos muamelesinden 24 saat sonra ratların ince bağırsaklarının histolojik yapısı. X200.



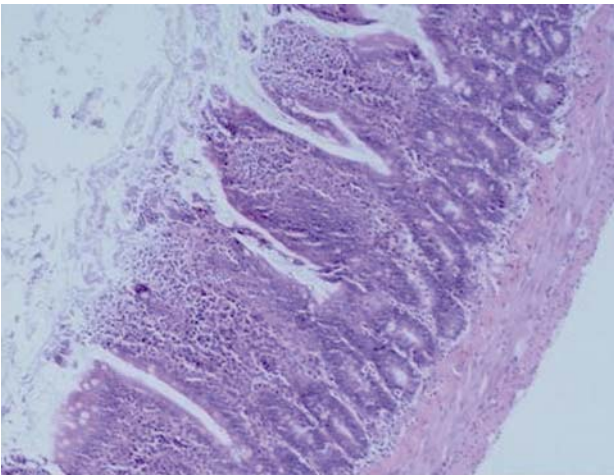
Şekil 5. Dichlorvos muamelesinden 4 hafta sonra ratların ince bağırsaklarında villuslarda kısalma ve enine genişleme. X200.



Şekil 6. Vitamin C+vitamin E+dichlorvos muamelesinden 4 hafta sonra ratların ince bağırsaklarında yüzey epitelinde dökülme. X200.



Şekil 7. Dichlorvos muamelesinden 7 hafta sonra ratların ince bağırsaklarında villuslarda kısalma ve enine genişleme. X200.



Şekil 8. Vitamin C+vitamin E+dichlorvos muamelesinden 7 hafta sonra ratların ince bağırsaklarında yüzey epitelinde dökülme. X200.

Tartışma ve Sonuç

Dichlorvosun da dahil olduğu organofosforlu bileşiklerin deri, sindirim kanalı ve özellikle akciğerlerden hızlı bir şekilde absorbe olabildiği deneysel ve epidemiyolojik çalışmalar ile gösterilmiştir (DESI ve NAGYMAJTENYI, 1999). Dichlorvosun erkek ratlar için akut oral LD₅₀ değeri 80mg/kg'dır (OKAMURA ve ark., 2005). Dichlorvos yalnızca memeli canlılar üzerinde toksik etki göstermez aynı zamanda balıklar, kuşlar, bal arıları ve hedef olmayan omurgasızlar üzerinde de toksik etkilere sebep olabilmektedir (URAL ve KÖPRÜCÜ, 2006).

Ratlara subkutan yoldan uygulanan 1mg/kg ve 4 mg/kg dichlorvosun sperm motilitesinde azalmaya sebep olduğu ifade edilmiştir (OKAMURA ve ark., 2005). 1,6 mg/kg dichlorvosun oral yoldan uygulandığı ratlarda hepatotoksik hasar gözlenmiştir (OGUTCU ve ark., 2008). Bu çalışmada da dichlorvos 1/50 LD₅₀ oranında erkek ratlara uygulandı ve uygulamadan 4 ve 7 hafta sonra ratların ince bağırsak dokularında patolojik bulgulara rastlandı. Deneysel periyot boyunca ratlarda ölüm meydana gelmedi.

Pestisitler çeşitli dokularda histopatolojik ve sitopatolojik değişikliklere neden olmaktadır (KALENDER ve ark., 2004; KALENDER ve ark., 2005a; OGUTCU ve ark., 2006; UZUNHİSARCİKLİ ve ark., 2007; OGUTCU ve ark., 2008). Organofosforlu bir pestisit olan metil parathionun uygulandığı sıçanların ince bağırsak dokularında villuslarda dejenerasyon, granülasyon, genişleme ve bazı bölgelerde hücre infiltrasyonu tespit edilmiştir (ÖĞÜTCÜ ve ark., 2007). Bu çalışmada dichlorvos muamelesinden 4 ve 7 hafta sonra villuslarda dejenerasyon tespit edildi.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda vitamin C ve E kombinasyonunun pestisitlerin sebep olduğu hasarı önlediği ya da azalttığı bildirilmiştir (UZUNHİSARCİKLİ ve ark., 2007; KALENDER ve ark., 2007; OGUTCU ve ark., 2008). Vitamin E biyolojik membranlarda bulunan lipidde çözünebilir, potansiyel bir antioksidandır. Vitamin C ekstrasellüler alandaki serbest radikalleri toplar ve tokoferoksil radikalini tokoferole redükler (SENTHIL KUMAR ve ark., 2004). Bu çalışmada vitamin C+vitamin E+dichlorvos uygulanmış ratların ince bağırsaklarında histopatolojik değişiklikler gözlemlendi.

Sonuç olarak dichlorvos ratların ince bağırsak dokularında histopatolojik değişikliklere sebep oldu. Vitamin C ve E kombinasyonu dichlorvos ile birlikte verildiğinde de ince bağırsakta patolojik değişiklikler gözlemlendi. Vitamin C ve E kombinasyonunun ince bağırsakta dichlorvosun sebep olduğu hasarı önleyemediğini söylemek mümkündür.

Kaynaklar

1. Carr RL, Richardson JR, Guarisco JA, Kachroo A, Chambers JE, Couch TA, Durunna GC, Meek EC, (2002). *Effect of PBC exposure on the toxic impact of organophosphorus insecticides*. Toxicol Sci 67, 311-321.
2. Choudhary S, Gill KD, (2001). *Protective effect of nimodipine on dichlorvos-induced delayed neurotoxicity in rat brain*. Biochem Pharmacol. 62, 1265-1272
3. Desi I, Nagymajtenyi L, (1999). *Electrophysiological biomarkers of an organophosphorus pesticide, dichlorvos*. Toxicol Lett 1, 55-64.
4. Kalender S, Kalender Y, Ateş A, Yel M, Olcay E, Candan S, (2002). *Protective role of antioxidant vitamin E and catechin on idarubicin-induced cardiotoxicity in rats*. Braz J Med Biol Res. 35, 1379-1387.
5. Kalender S, Kalender Y, Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Durak D, Acikgoz F, (2004). *Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats: The protective effect of vitamin E*. Toxicology 3, 227-235.
6. Kalender S, Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Acikgoz F, Durak D, Ulusoy Y, Kalender Y, (2005a). *Diazinon-induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes*. Toxicology 211, 197-206.
7. Kalender, Y., Yel, M., Kalender, S., (2005b). *Doxorubicin hepatotoxicity and hepatic free radical metabolism in rats. The effects of vitamin E and catechin*. Toxicology. 209 (1), 39-45.
8. Kalender Y, Uzunhisarcikli M, Ogutcu A, Acikgöz F, Kalender S, (2006). *Effects of diazinon pseudocholinesterase activity and haematological indicators in rats: The protective role of vitamin E*. Environ Toxicol Phar. 22,46-51.
9. Kalender S, Kalender Y, Durak D, Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Cevrimli BS, Yildirim M, (2007). *Methyl parathion induced nephrotoxicity in male rats and protective role of vitamins C and E*. Pestic Biochem Phys. 88, 213-218.
10. Maitra SK, Mitra A, (2008). *Testicular functions and serum titers of LH and testosterone in methyl parathion-fed roseringed parakeets*. Ecotoxicol Environ Safe. 71, 236-244.
11. Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Kalender S, Durak D, Bayrakdar F, Kalender Y, (2006). *The effects of organophosphate insecticide diazinon on malondialdehyde levels and myocardial cells in rat heart tissue and protective role of vitamin E*. Pestic Biochem Phys. 86, 93-98.
12. Ogutcu A, Suludere Z, Kalender Y, (2008). *Dichlorvos-induced hepatotoxicity in rats and the protective effects of vitamins C and E*. Environ Toxicol Pharm. 26, 355-361.
13. Okamura A, Kamijima M, Shibata E, Ohtani K, Takagi K, Ueyama J, Watanabe Y, Omura M, Wang H, Ichihara G, Kondo T, Nakajima T, (2005). *A comprehensive evaluation of the testicular toxicity of dichlorvos in Wistar rats*. Toxicology 213, 129-137.
14. Ögütçü A, Ulusoy Y, Kahraman K, Uzunhisarcikli M, Uzun FG, Taştan H, (2007). *Metil parathion'un sıçanların ince bağırsak dokusu üzerine etkisi ve vitamin C ve E'nin koruyucu rolü*. Etlik Vet Mikrobiyol Derg 18, 21-26.
15. Raheja G, Gill KD, (2002). *Calcium homeostasis and dichlorvos induced neurotoxicity in rat brain*. Mol Cell Biochem. 232, 13-18 (2002).
16. Sarin S, Gill KD, (1999). *Dichlorvos induced alterations in glucose homeostasis: possible implications on the state of neuronal function in rats*. Mol Cell Biochem. 199, 87-82.
17. Senthil Kumar J, Banudevi S, Sharmila M, Murugesan P, Srinivasan N, Balasubramanian K, Aruldas MM, Arunakaran J, (2004). *Effects of Vitamin C and Vitamin E on PCB (Aroclor 1254) induced oxidative stress, androgen binding protein and lactate in rat Sertoli cells*. Reprod Toxicol. 19, 201-208.
18. Ulusoy Y, Toprak B, Uzunhisarcikli M, Ögütçü A, (2004). *Diazinonun sıçan hepatositleri üzerine etkisinin elektron mikroskopu ile incelenmesi*. Etlik Vet Mikrobiyol Derg 15, 1-2.
19. Ural MŞ, Köprücü SŞ, (2006). *Acute toxicity of dichlorvos on Fingerling European Catfish, Silurus glanis*. Bull Environ Contam Toxicol 76, 871-876.
20. Uzunhisarcikli M, Kalender Y, Dirican K, Kalender S, Ogutcu A, Buyukkomurcu F, (2007). *Acute, subacute and subchronic administration of methyl parathion-induced testicular damage in male rats and protective role of vitamins C and E*. Pestic Biochem Phys. 87, 115-122.
21. Yarsan E, Cakir O, (2006). *Effects of dichlorvos on lipid peroxidation in mice on subacute and subchronic periods*. Pestic Biochem Physiol 86, 106-109.
22. Young, IS, Woodside JV, (2001). *Antioxidants in health and disease*. J Clin Pathol. 54,76-86.