

Farede (*Mus Musculus*) Omethoate Toksisitesine Karşı B Vitamininin İyileştirici Etkilerinin Histopatolojik Olarak Araştırılması*

Yusuf ERSAN^{1*}, Onur SEYHAN¹, Evren KOÇ²

¹Kafkas Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kars

²Kafkas Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Kars

8-7A

Özet: Bu çalışma da farelerin (*Mus musculus*) karaciğer dokularında Omethoate toksikasyonuna karşı B vitamininin koruyucu etkisinin histopatolojik yöntemlerle araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmamız da 30-35 gr ağırlığında ve 55-60 günlük 36 adet fare alınarak her grupta 9 adet fare olacak şekilde 4 grup oluşturuldu. 1. gruptaki fareler kontrol grubu, 2. gruptaki farelere 0,1 mg Omethoate, 3. gruptaki farelere 0,1 mg Omethoate + 0,4 mg B vitamini kompleksi, 4. gruptaki farelere de sadece 0,4 mg B vitamini kompleksi 3'er gün süre ile intraperitoneal olarak enjekte edildi. Son enjeksiyondan 24 saat sonra hayvanların yaşamına son verildi. Deney sonunda hayvanlardan alınan karaciğer dokuları %10'luk formaldehit solüsyonunda 48 saat tespit edildikten sonra rutin histolojik metotlarla parafin bloklar hazırlandı. Daha sonra bu bloklardan 5 µ kalınlığında kesitler alınarak H-E ve giemsa boyama yöntemleriyle boyanıp histopatolojik değişiklikler ışık mikroskobunda incelendi. (Olympus BX51, JAPAN). İncelemeler sonucunda yalnız Omethoate uygulanan grupta karaciğer dokusunda hücre sınırlarının kaybolduğu, çekirdek ve sitoplazmasının bozulduğu tespit edildi. Omethoate ve B vitamini kompleksi uygulanan grupta ise, karaciğer dokusunda hepatositler ve sinozoidal yapılarıdaki morfolojik değişiklikler Omethoate uygulanan gruba göre daha az olduğu tespit edildi. Bu bulgular, B vitamini kompleksinin Omethoate toksisitesine karşı koruyucu etkisinin olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Fare, Omethoate, Vitamin B, Histopatoloji

Mouse (*Mus musculus*) to Investigate the Therapeutic Effect of B Vitamins Against Histopathological Toxicity Omethoate

Abstract: In this study, mice (*Mus musculus*) against the toxicity of omethoate in liver tissue protective effects of B vitamins was by investigate the histological methods. Our study 30-35 and 55-60 g in weight at 36 days of age, mice in each group by 9 units to be mice were divided into 4 groups. 1 group of mice in the control group, 2.group 0.1 mg Omethoate in the group of mice, 3. group Mice in group B vitamin complex 0.1 mg Omethoate + 0,4, 4. group Mice in groups only 0.4 mg of the vitamin B complex is 3 days and were injected intraperitoneally. 24 hours after the last injection, the animals were terminated. At the end of the experiment, liver and kidney tissues from animals in 10% formaldehyde solution for 48 hours after being identified by routine histological methods were prepared in paraffin blocks. Then 5 µ thick sections taken from these blocks H-E and stained with Giemsa staining method histopathological changes were examined by light microscopy (Olympus BX51 , JAPAN). Omethoate sinuc alone in views in the group to limit the loss of liver tissue, where in the nucleus and was found to deteriorate. Omethoate applied and, in the group of vitamin B complex in the liver morphological changes in hepatocytes and sinusoidal structure Omethoate applied to only the group were found to be less than. These findings Omethoate toxicity of vitamin B complex is thought to be the protective effect.

Keywords: Mice, Omethoate, Vitamin B, Histopathology

e-mail: yusufersan@hotmail.com

* Bu çalışma 2014 yılında, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak sunulmuştur.

Giriş

Bilinçsizce yapılan ve tekniğine uygun olmayan pestisit uygulamaları sonucunda insan, hayvan ve çevre sağlığı tehdit edilmekte hava, su ve toprak olumsuz etkilenmekte, gıda maddelerinde ilaç kalıntıları söz konusu olmaktadır. Hedef alınan zararlılar da direnç oluşmakta, önemli olmayan bazı zararlılar ana zararlı konumuna geçmekte, yararlıların ve doğal hayatın öldürülmesiyle doğal denge bozulmakta ve bitkilerde fitotoksisite görülmektedir (Yıldırım, 2000; Kara et al. 2002). Pestisitler tarımda istenmeyen ikincil türler için kullanılan maddelerdir. Ancak doğal ortamda diğer canlılara da zarar vermektedir. Pestisitlerin tarımsal ürünlere uygulanmasından sonra, yeterli bekleme süresini tamamlamadan bu ürünlerin tüketilmeleri insan sağlığını etkilemektedir. Bu maddelerin kanserojenik etkisi büyük insan kitlesini risk altında almaktadır. Bitki ve hayvanlara da genetik ve mutajenik yönden zarar verirler. Toprakta kalıntı halinde bulunan bu bileşiklerin yağmur ve sulama sularıyla yeraltı sularını kirlettiği veya yüzeysel akış ile göl veya nehirlere ulaşabildiği de gözlenmektedir. Ancak çevre için zararlı olan durum, bu maddelerin içme ve kullanma suyuna karışması ve gıda zinciri ile insana kadar ulaşmaktadır. Pestisitlerin hedef olmayan organizmaları tehdit etmesi ve

su kaynaklarını kirletmesi nedeniyle pestisit davranışlarını kontrol eden mekanizmaların anlaşılması ve teşhis edilmesi yönünde artan bir ihtiyaç vardır (Atasoy ve Rastgeldi, 2006; Masutti, 2003).

Günümüzde zararlılarla mücadelede pestisit kullanılmasından vazgeçmek mümkün değildir. Bu nedenle, tarımda kullanılacak olan pestisitlerin seçilmesinde toprak mikroorganizmaları tarafından kullanılabilen dolayısıyla hızlı ayrışabilenlerin tercih edilmesine, çevrede ve gıda maddelerinde kalıntı bırakmamasına, uygun konsantrasyon da ve belirli aralıklarla kullanılmasına, çevre-ekosistem ve halk sağlığı yönünden zorunlu olduğu sonucuna varılmıştır (Dığrak ve Özçelik, 1998). Ancak, pestisitlerin bilinçsiz ve kontrolsüz kullanımı sonucu, zararlı organizmalarda dayanıklılık oluşturabilme riskleri ve kalıntılar yoluyla insan sağlığına ve çevreye olumsuz etkileri kesinlikle göz ardı edilmemelidir (Delen et al. 2005; Yorulmaz et al. 2010). Çocuklar ve erişkinler, yiyecekler üzerindeki kalıntıların alınımıyla veya evlerdeki ve bahçelerdeki kontamine olmuş yüzeylerden temas ile organofosfat bileşiklerine maruz kalabilirler (Schuh et al. 2002). Organofosfat zehirlenmelerinde birkaç gün sonra meydana gelen ölüm nedenlerinden birinde pankreatit olduğu görülmüştür. Organofosfatlar solunum yollarından ve

gastrointestinal mukozadan geçerek hızla lipofilik oldukları için hızlı bir şekilde deriden absorbe edilir (Jungueria et al. 1998).

Omethoate'ın oluşturduğu hasarı tespit etmek ve oluşan hasarı tedavi etme de B vitamini kompleksinin etkisini görmek için fare karaciğer dokuları histopatolojik olarak incelenmiştir. Böylelikle omethoate'a maruz kalan canlılarda gelişecek hasarı önleme de B vitamini kompleksinin etkili olup olmayacağı amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

1. Hayvan Materyali

Araştırmada Kafkas Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesinden temin edilen 55-60 günlük 30-35 gram ağırlığında sahip 36 adet erişkin dişi fare (*Mus musculus*) kullanıldı. Bütün hayvanlar deney süresince normal oda ısısında ($22\pm^{\circ}\text{C}$) ve 12/12 saat gece/gündüz periyodunda tutuldu ve standart fare yemi ve normal su ile *ad libitum* olarak beslendi.

2. Deney Düzenegi

Her bir grupta 9'ar adet fare bulunan 4 grup oluşturuldu. 1.gruptaki fareler kontrol grubu olarak belirlenerek intraperitoneal olarak serum fizyolojik, 2. gruptaki farelere 0,1 mol/lit'lik omethoate, 3.gruptaki farelere 0,1

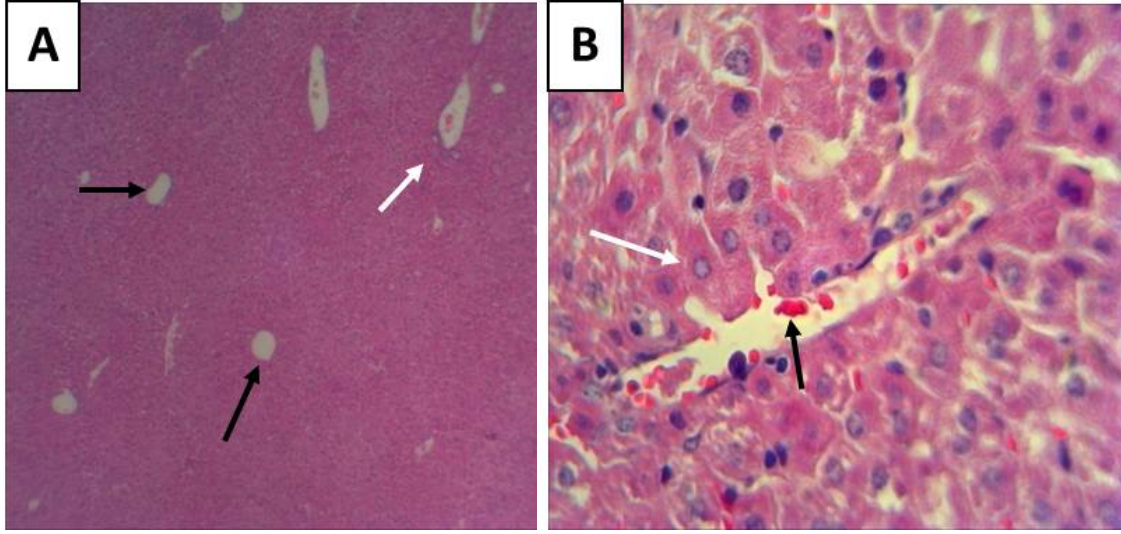
absorbe edilir ve ayrıca organofosfatlar mol/lit'lik omethoate + 0,4 mol/lit'lik B vitamini kompleksi, 4.gruptaki farelere de sadece 0,4 mol/lit'lik B vitamini kompleksi 3'er gün süre ile intraperitoneal olarak enjekte edildi. Deney süresi sonunda kontrol ve deney grubundaki hayvanlar eter anestezi altında serebral dislokasyon yöntemiyle dekapite edilerek karaciğer numuneleri alınarak rutin histolojik metotlarla parafin bloklar hazırlandı ve bloklardan 5 mikron kalınlığında kesitler alındı. Kesitlerin tamamı hematoksilin-eozin ile boyanarak ışık mikroskopunda değerlendirildi.

Bulgular

1. Makroskopik Bulgular

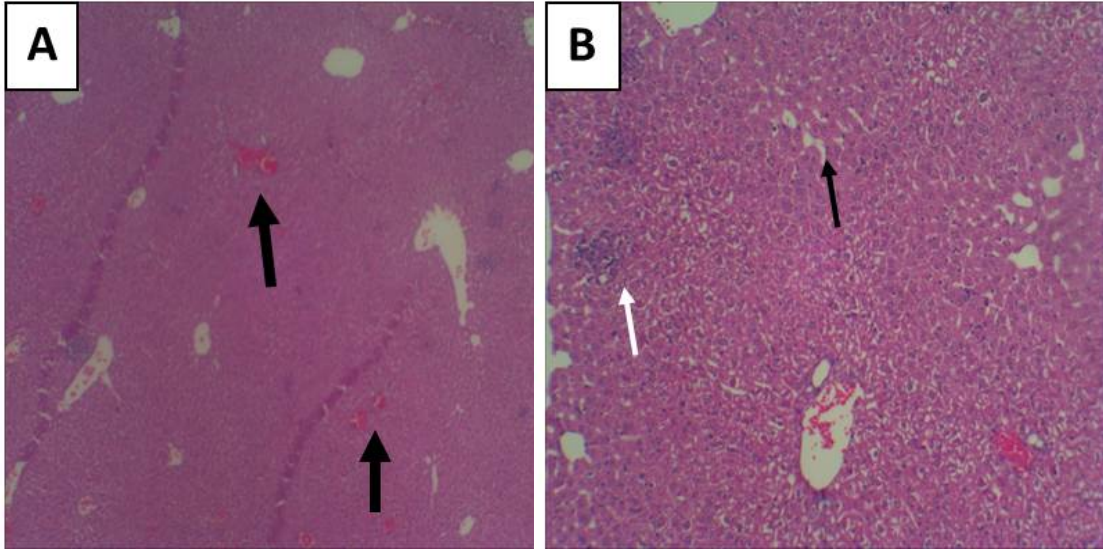
Yapılan bu araştırmada kontrol grubu olarak ele alınan hayvanlarda deney süresince herhangi bir anormallik gözlenmedi. Normal yaşamsal faaliyetlerine devam ettiler. Bu araştırmada vitamin b uygulanan grupta enjeksiyondan hemen sonra hayvanlarda fazla hareket gözlenirken omethoate uygulanan gruplarda belirli bir süre hareketsizlik gözlenmiştir. Deneylerin son dönemine yakın periyotlarda ise hayvanlarda yem ve su tüketiminin azlığına bağlı olarak zayıflama, ishal ve uyuşukluk gibi makroskopik veriler dikkat çekmiştir.

2. Mikroskopik Bulgular



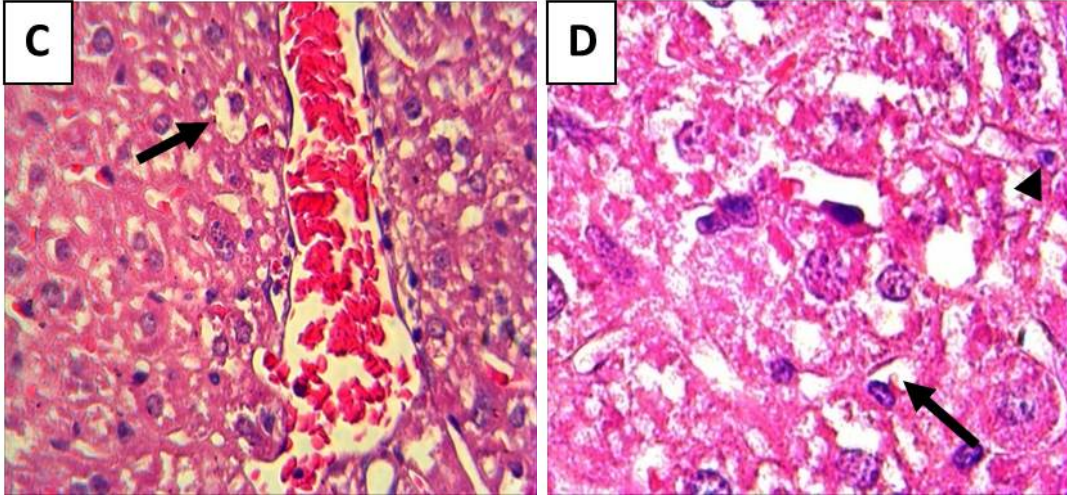
Resim 1. A. Kontrol karaciğer. V.centralis (siyah ok) çevresindeki hepatosit ve portal alan (beyaz ok) net bir şekilde izlenmektedir H-E 4x.

B. Hepatositler (Beyaz ok) ve V. centralisin lümenindeki eritrositler (siyah ok) net olarak gözlenmektedir H-E 40x.



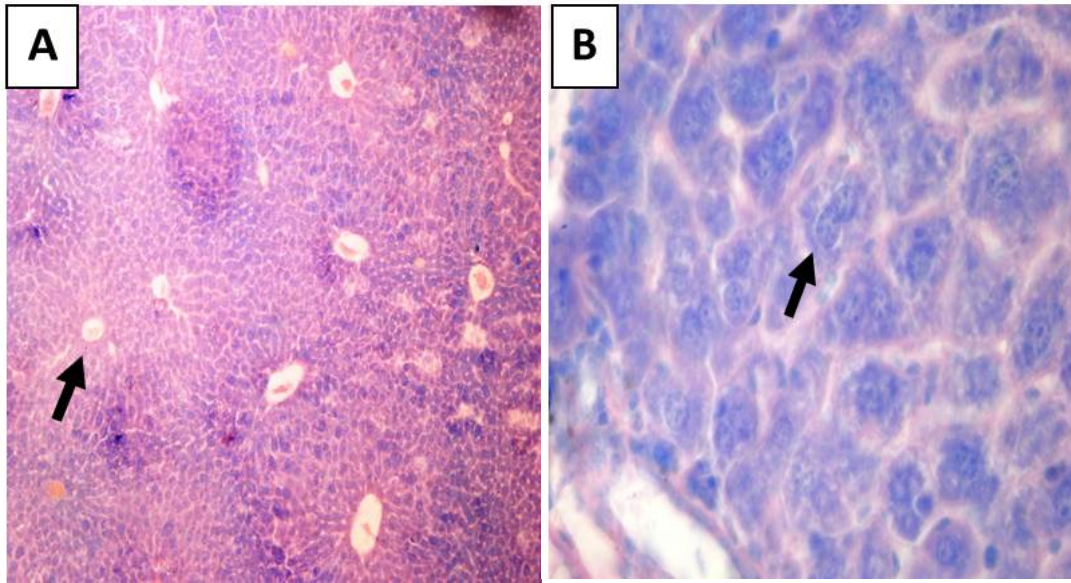
Resim 2. A. Omethoate uygulanan gruplarda V. Centralis lümeninde belirli bir şekilde izlenen hiperemi dikkat çekmektedir H-E 4x.

B. Omethoate uygulanan grubun başka bir preparasyonun da hücrelerde bozulmalar (siyah ok) ve infiltrasyonlar (beyaz ok) gözlenmektedir H-E 10x.



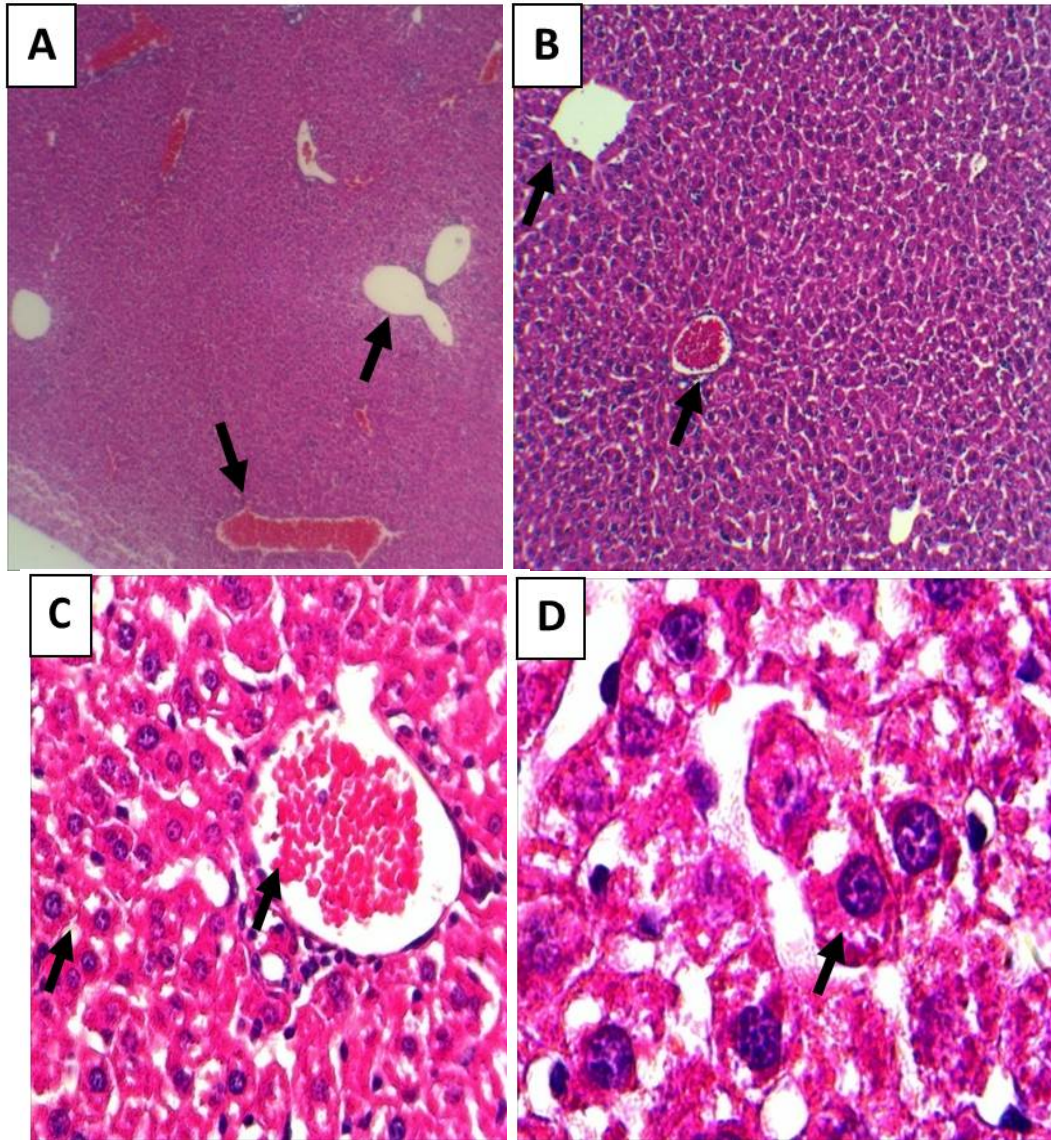
Resim 2. C. Omethoate uygulanan grubun başka bir preparasyonunun da hücrelerde vakuoler (siyah ok) ve piknotik (beyaz ok) dejenerasyonlar izlenmektedir H-E 40x.

D. Omethoate uygulanan grubun başka bir preparasyonunun da hücrelerde vakuoler (siyah ok) ve piknotik (ok başı) dejenerasyonlar daha net izlenmektedir H-E 100x.



Resim 3. A. Vit. B uygulanan gruplarda V. Centralisler belirgin bir şekilde izlenirken hepatik hücrelerin ışınsal tertiplenişi de gayet iyi bir şekilde dikkat çekmektedir H-E 4x.

B. Ayrıca Vit. B uygulanan grubun diğer bir preparasyonunda ise hepatik hücreler çekirdekleri ile birlikte ve bazı yerlerde mitozlarda gözlenmektedir H-E 20x.



Resim 4. A. Omethoate ve Vit. B uygulanan gruplarda küçük büyütmelerde bazı V. centralislerde hiperemi gözlenirken bazılarında izlenemedi H-E 4x.

B. Omethoate ve Vit. B uygulanan gruplarda küçük büyütmelerde bazı V. centralislerde hiperemi gözlenirken bazılarında izlenemediği gibi hepatik hücrelerin çekirdekleri ayırt edilebiliyordu H-E 10x.

C. Omethoate ve Vit. B uygulanan grubun diğer bir preparasyonunda V. centralisinde hiperemi ve hepatik hücrelerin irili ufaklı çekirdekleri aynı zamanda kupfferin yıldız hücreleri de gözleniyordu H -E 40x.

D Omethoate ve Vit. B uygulanan grubun diğer bir preparasyonunda hepatik hücreler net bir şekilde izlenmektedir H-E 100x.

Tartışma ve Sonuç

Yapılan bu çalışma da omethoate'in oluşturduğu hasarı tespit etmek ve oluşan hasarı tedavi etme de B vitamini kompleksinin etkisini görmek için fare karaciğer dokuları histopatolojik olarak incelenmiştir. Böylelikle, omethoate'a maruz kalan canlılarda gelişecek hasarı önleme de B vitamini kompleksinin etkili olup olmayacağı amaçlanmıştır.

Yapılan literatür taramalarında pestisitlerin toksik etkilerinin birçok araştırmacı tarafından çalışılmış ve histopatolojik değişimler gözlenmiştir. Pestisitlerin bir grubu olan fungusitlerden Mancozeb ve Maneb rat hamile dişilere verilmiş karaciğer, böbrek ve kalplerindeki Zn konsantrasyonlarında çok büyük artışa neden olduğu belirtilmiştir (Güven et al. 1999). İnsektisitler, oksidatif miktarda reaktif oksijen grubunun açığa çıkmasıyla reaktif oksijen türleri, hücre zarı, DNA ve RNA gibi yapılarda hasara neden olur. Bu durum, insektisitlerin karaciğer, böbrek, sinir, kas ve benzeri doku ve organlardaki hasarların başlıca nedenleridir (Mercan, 2004). Organofosfat bileşik ile yapılmış olan bir çalışmada rat karaciğer dokusunda mitokondri ve hepatositlerde şişme, hepatositlerde piknotik çekirdek, sitoplazmada vakuolizasyon meydana geldiğini ortaya çıkarmıştır (Ukusoy et al. 2004). Bu çalışmada ise hepatositlerde şişme, piknotik çekirdek, sitoplazmada vakuolizasyon meydana gelişi yukarıdaki literatür bilgileriyle uygunluk göstermiştir.

Balıklara (Sudak *Stizostedion lucioperca* L. 1758) bazı pestisit formlarının uygulanmasıyla ilgili verileri sunulmuştur. Bu histopatolojik çalışma da dokularda saptanan belli başlı bozukluklar karaciğer hücrelerinde vakuoler dejenerasyon, hemorajik odaklar ve nekroz, böbrek tübüllerinde parçalanma, hemapoetik dokuda azalma, dalak dokusundaki lenfositlerde sayıca azalma, hemoraji ve lenfoid hücrelerde lysis

görülmüştür. Pestisite maruz bırakılan balıkların solungaç ve beyin dokularında görülen histopatolojik tabloda ise solungaç filamentlerinde hyperplasia, hemoraji ve lamellalarda birbirine yapışma, beyin dokularında ise hiperemi ile sinir ipliklerinde lysis saptanmıştır (Uluköy, 1992). Bir diğer çalışmada ise balıkların solungaç lamellar yapısında bozulmalar, yaprakçıkların erimesi, epitel dokuda kaynaşmalar görülürken, karaciğer ve böbrekte sulanma, iltihaplanma, hücre ölüm, hücreler arası sıvıda bozulmalar gözlemlenmiştir (Atamanalp, 2004). Chlorpyrifos ile yaptıkları bir başka çalışmada deri altı yoluyla CE uygulamasında akut dönemde sıçanlarda kısa süreli hafızayı etkilediği, kavrama ve motor fonksiyonlarda bozukluklar meydana getirdiği görülmüştür (Gültekin et al. 2000). Chlorpyrifos ile yapılan bir çalışmada CE'nin ratlarda oksidatif strese neden olduğu, bu oksidatif stresin CE toksisitesinde rol oynayabileceği ve melatonin ile vitamin E + vitamin C kombinasyonunun CE nin toksik etkilerini anlamlı olarak azaltabileceği kanaatine varmışlardır (Kılınç et al. 2003).

Ayrıca chlorpyrifos(CE) toksisitesine karşı B vitamini kompleksinin etkisini araştırılmış diğer bir çalışmada da, incelemeler sonucunda yalnız CE uygulanan grupta karaciğer dokusunda hücre sınırlarının kaybolduğu, çekirdek ve sitoplazmanın bozulduğu tespit edilmiştir. Böbrek dokusunda ise bowman kapsülünde yer alan proksimal tubuluslarda hücre kaybı, distal tubuluslarda ise bozulmalar olduğu ve yer yer kanama odaklarının varlığı gözlenmiştir. CE+B vitamini kompleksi uygulanan grupta ise, karaciğer dokusunda hepatositler ve sinozoidal yapılardaki morfolojik değişiklikler sadece CE uygulanan gruba göre daha az olduğu tespit edilmiş olup böbrek dokusunda ise, bowman kapsülü ve tubulus yapılarının daha iyi durumda olduğu ve kanama odaklarının azaldığı gözlemlenmiştir. Bu bulgulara göre de B vitamini kompleksinin Chlorpyrifos toksisitesine karşı koruyucu etkisinin

olabileceğini belirtmiştir (Demiroğlu, 2012). Organofosfat insektisit ile yapılan bir araştırmada da karaciğerde, özellikle central ven periferinde lokalize hepatositlerde daha belirgin olmak üzere parankim de hidropik ve vakuoler dejenerasyonlar, sinüzoidlerde dilaterasyon ve Kupffer hücre proliferasyonu gözlemlenildi. Böbrek dokusunda karaciğere oranla daha fazla yapısal değişiklikler saptandı. Perivasküler ve peritubuler mononükleer hücre infiltrasyonları, glomerüller ve tubuler dejenerasyonlar tespit edilmiştir (Kayhan et al. 2009). Bir diğer çalışmada ise organofosfat insektisit rat ince bağırsaklarında nekroz, ödem ve hiperemi gibi histopatolojik değişiklikler gözlemlerken vitamin C + vitamin E + malathion uygulanan grupta nekroz ve mononükleer hücre infiltrasyonu ortaya çıkmıştır (Uzun, 2010).

Yapılan bu çalışmada, yukarıdaki literatürlerle uygunluk göstererek 0,1 mol/lit'lik omethoate

uygulanan farelerde lenfositik infiltrasyon dikkat çekmiştir. Bazı alanlarda hepatositlerin çekirdeklerinin görünümü normal seyrederken bazılarında hücresel yapılarda bozulmalar görülmüş, çekirdekler kaybolmuş ve nekrotik alanların yanı sıra dejenerasyon (vakuoler ve hidropik) alanlar gözlenmiştir. Yürütülen çalışmada 0,1 mol/lit'lik omethoate + 0,4 mol/lit'lik B vitamini kompleksi uygulanan grupta sadece 0,1 mol/lit'lik omethoate uygulanan gruba göre karaciğer dokusunda hepatositlerin ve sinüzoidal yapıdaki bozulmaların daha az olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak elde ettiğimiz bulgulara göre, omethoate'a maruz bırakılan farelerin karaciğer dokusunda toksikasyona yol açtığı ve bu toksikasyona karşı farklı vitamin uygulamalarında olduğu gibi B vitamini kompleksinin de koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak konuyla ilgili daha kapsamlı ve kontrollü çalışmalar yapıldığında daha kesin sonuçlar alınabilir.

Kaynaklar

Atamanalp M 2004. Pestisitlerin balıkların üreme biyolojisi üzerine etkileri. *4. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi*, pp. 122-199, Isparta.

Atasoy DA, Rastgeldi C 2006. Şanlıurfa Pestisit Kullanımı. *GAP V. Mühendislik Kongresi*, s1462-s1467, Şanlıurfa.

Delen N, Durmuşoğlu E, Güncan A, Güngör N, Turgut C, Burçak A 2005. Türkiye'de pestisit kullanımı, kalıntı ve organizmalarda duyarlılık azalışı sorunları. *Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongresi*, Ankara.

Demiroğlu EG 2012. Fare (*Mus musculus*)'un karaciğer ve böbrek dokularında chlorpyrifos toksisitesine karşı B vitamini kompleksinin (B₁, B₆, B₁₂) Koruyucu etkisinin histopatolojik yöntemlerle araştırılması. *Kafkas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Yüksek Lisans Tezi.

Dığrak M, Özçelik S 1998. Bazı pestisitlerin *Saccharomyces cerevisiae* WET 136 tarafından parçalanması. *Ekoloji*, 7(28): 16-19.

Gültekin F, Kaleli S, Altuntaş İ, Öncü M, Gökçimen A, Sütçü R 2000. Chlorpyrifos-ethylin rat testis dokusunda in vivo lipoperoksidatif etkisi. *Genel Tıp Dergisi*, 10(4):147-152.

Güven K, Deveci E, de Pomerai D 1999. The Accumulation and histological effects of the organometallic fungicide propineb on the organs of fetuses and female rats during pregnancy. *Turkish Journal of Biology*, 23(4):413-422.

Jungueria CL, Carneiro J, Kelley RO 1998. Basic Histology, Çeviri: AYTEKİN Y, SOLAKOĞLU S, AHİSKALI B, *Barış Kitabevi*, İstanbul, s307-s322.

Kara EE, Pırlak U, Arlı M, Dođan E 2002. Niğde İli'nde bazı tarımsal bitkilerde kullanılan pestisitlerin araştırılması. *Çev-Kor Dergisi*, 11(42):21-26.

Kayhan FEB, Koç ND, Contuk G, Muşlu MN, Sesal NC 2009. Sıçan böbrek dokusunda endosulfan ve malathion'un oluşturduğu yapısal değişiklikler. *Cankaya University Journal of Humanities and Social Sciences*, 12(2):43-52.

Kılınç İ, Altuntaş İ, Kaptanağası M, Kumbul Dođuç D, Mollaođlu H, Kaleli S 2003. Chlorpyrifos-ethyl'in rat plazmasında in vivo lipoperoksidatif etkisi ile melatonin ve vitamin C+ vitamin E'nin koruyucu etkilerinin araştırılması. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 10:1-28.

Masutti, CSM 2003. Fate of fipronil in soils under sugar cane cultivation from the northeast of Brazil: sorption and degradation. *Department Of Soil Science, University of Saskatchewan*, Phd Thesis, p20.

Mercan U 2004. Toksikolojide serbest radikallerin önemi'. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Vet Fak Derg*, 15(1-2):91-96.

Schuh RA, Lein PJ, Beckles RA, Jett DA 2002. Noncholinesterase mechanism of chlorpyrifos neurotoxicology: altered phosphorylation of Ca²⁺ / cAMP response element binding protein in cultered neurons. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 182:176-185.

Ukusoy Y, Toprak B, Ogutcu A 2004. Electron microscopic investigation of effects of diazinon on rat's hepatocytes. *The Journal of Etlik Veterinary Microbiology*, 15(1-2): s.29.

Uluköy G 1992. Sudak (*stizostedion lucioperca* L. 1758) balıklarında farklı konsantrasyondaki bazı pestisitlerin oluşturabileceği hematolojik ve histopatolojik değişimlerin incelenmesi üzerine bir araştırma. *Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.*

Uzun FG 2010. Effects of malathion in small intestine tissue of rats and protective role of vitamin C and vitamin E. *Journal of Etlik Veterinary Microbiology*, 21(1):11-16.

Yıldırım E 2000. Tarımsal Zararlılarla Mücadele Yöntemleri ve Kullanılan İlaçlar. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi*, s.345

Yorulmaz S, Ay R 2010. Akar ve Böceklerde Pestisitlerin Detoksifikasyonunda Rol Oynayan Enzimler. *Journal of Agricultural Faculty*, 24(2):137-148.