

Metil Parathion'un sıçanların ince bağırsak dokusu üzerine etkisi ve vitamin C ve E'nin koruyucu rolü

Ayşe ÖĞÜTCÜ¹, Yavuz ULUSOY², Kevser KAHRAMAN¹, Meltem UZUNHİSARCIKLİ¹, Fatma Gökçe UZUN¹, Hakkı TAŞTAN³

¹ Gazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü; ² Etlik Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Patoloji Bölümü; ³ Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü

Özet: Organofosfatlı bir insektisit olan metil parathion zirai mücadelede sıklıkla kullanılmakta ve zehirlenmelere neden olmaktadır. Bu çalışmada, metil parathion (0.28 mg/kg gün), vitamin C (200 mg/kg gün)+vitamin E (200 mg/kg gün), vitamin C (200 mg/kg gün)+vitamin E (200 mg/kg gün)+metil parathion (0.28 mg/kg gün) erkek sıçanlara oral gavaj yoluyla verildi. Muameleden 4 hafta ve 7 hafta sonra sıçanların ince bağırsaklarındaki histopatolojik değişiklikler ışık mikroskobuyla incelendi. Metil parathion muamelesinden 4 ve 7 hafta sonra ince bağırsaklardaki villuslarda genişleme tespit edildi. Buna ilaveten 7. hafta sonunda bazı bölgelerde infiltrasyon gözlemlendi. Vitamin C+vitamin E+metil parathion muamelemeli grupta da 4 ve 7 hafta sonra sıçanların ince bağırsaklarında villusların yapısının bozulduğu gözlemlendi.

Sonuç olarak düşük doz metil parathion sıçanların ince bağırsaklarında histopatolojik değişikliklere neden olmaktadır. Vitamin C ve vitamin E'nin, metil parathionun ince bağırsaklarda meydana getirdiği patolojik değişiklikleri önleyemediği tespit edildi.

Anahtar sözcükler: Metil parathion, pestisit, histopatoloji, vitamin C, vitamin E, ince bağırsak

Effect of Methyl Parathion on the Rat Small Intestine Tissue and Protective Role of Vitamin C and E

Summary: Methyl parathion, an organophosphorous insecticide, is widely used in agricultural control and causes poisoning. In the present study, methyl parathion (0.28 mg/kg day), vitamin C (200mg/kg day)+vitamin E(200 mg/kg day), vitamin C (200mg/kg day)+vitamin E (200 mg/kg day)+methyl parathion (0.28 mg/kg day) were given to male rats through gavage. Histopathological changes were investigated using light microscope 4 and 7 weeks after administration. After 4 and 7 weeks of methyl parathion exposure, dilatation was observed in intestinal villi. Addition to this, infiltration in some area was observed 7 weeks after. After 4 and 7 weeks of vitamins C+vitamin E+methyl parathion exposure, degenerative changes were detected in the intestinal villi.

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

Key Words: Methyl parathion, pesticides, histopathology, vitamin C, vitamin E, small intestine

Giriş

Pestisitler, ziraatta istenmeyen böceklerin yok edilmesini sağlayarak besin üretimini yükseltmek ve hastalık yapıcı vektörleri kontrol etmek için yıllardır kullanılmaktadır (Prakasam ve ark., 2001). Yaygın pestisitler arasında olan organofosforlu bileşikler ziraatta, tıpta ve endüstride kullanılmaktadır (Storm ve ark., 2000). Organofosfatlı pestisitler hedef dokularda asetilkolinesteraz ve pseudokolinesterazı inhibe etmektedirler (John ve ark., 2001; Kalender ve ark., 2006). Organofosforlu bileşikler pankreas (Yurumez ve ark., 2007), karaciğer (Kalender ve ark., 2005), kalp (Ogutcu ve ark., 2006) gibi organlarda toksisiteye sebep olabilmektedir.

Metil parathion (C₈H₁₀NO₅PS), (O, O-dimethyl O-4-nitrophenyl phosphorothioate) asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesini inhibe eden

organofosforlu bir pestisittir. Metil parathion tarım ve bahçecilikte pamuk, mısır, lahana, patates, buğday, soya fasülyesi gibi ürünlerdeki istenmeyen böceklerin kontrolünde dünyada yaygın ve etkili olarak kullanılmaktadır. Metil parathiona maruziyet sonucu erkek üreme sisteminde (Uzunhisarcıklı ve ark., 2007) ve böbreklerde (Kalender ve ark., 2007) olumsuz etkiler ortaya çıkmıştır.

Pestisit toksisitesini içeren deneysel çalışmalarda vitamin C ve vitamin E kullanılmaktadır (Kalender ve ark., 2007; Uzunhisarcıklı ve ark., 2007). İnsektisitlerin çoğu hidrofobik moleküllerdir ve biyolojik membranların özellikle fosfolipid tabakalarına bağlanırlar (Lee ve ark., 1991). Vitamin E lipofilik özelliktedir, çok güçlü bir antioksidan olan vitamin E hücre membran fosfolipidlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal etkilerinden

koruyucu savunma elemanıdır. Vitamin E süperoksit, hidroksil, singlet oksijen ve lipid peroksil radikallerini temizler. Lipid peroksidasyonunu inhibe eder (John ve ark., 2001). Vitamin C hidrofilik özelliktedir ve ekstrasellüler sıvıdaki serbest radikalleri ve sıvı fazdaki radikalleri temizler ve biyomembranları peroksidatif hasardan korumak üzere hareket eder (Yavuz ve ark., 2004; Sulak ve ark., 2005). Süperoksit ve hidroksil radikalleri ile kolayca reaksiyona girerek onları temizler. Aynı zamanda vitamin C membrandaki tokoferoksil radikalinin tokoferole redüklenmesini sağlar (Lunec ve Blake 1990).

Bu çalışmanın amacı metil parathion muamelesinden 4 ve 7 hafta sonra sıçanların ince bağırsak dokusunda meydana gelen histopatolojik değişiklikleri incelemek ve aynı zamanda metil parathionun ince bağırsak dokusunda sebep olduğu patolojik değişiklikler üzerine vitamin C ve vitamin E'nin koruyucu etkisini araştırmaktır.

Matertal ve Metot

Hayvanlar: Deneyde 320-340 g ağırlığında erkek Wistar sıçanlar kullanıldı. Refik Saydam Hıfzısıhha Enstitüsü'nden temin edilen sıçanlar özel besleme kafesleri içinde, her kafeste 6 sıçan olacak şekilde yerleştirildi. Sıçanlar standart laboratuvar diyeti ve su ile beslendi. Sıçanlara 18-22°C oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık fotoperiyodu uygulandı. Sıçanlar uygulama yapılmadan 10 gün önce karantina altına alındı.

Kimyasallar: %99 saflıkta metil parathion, Ankara Zirai Mücadele Merkezi'nden sağlandı. Vitamin E (DL- α -tokoferol) (Merck) ve vitamin C (L-askorbik asit) (Carlo Erba), Dizdarer firmasından sağlandı.

Hayvanlara uygulama planı: Sıçanlar kontrol grubu (n=12) ve uygulama grubu (n=36) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Uygulama grubu da kendi içinde üç gruba ayrıldı, metil parathion uygulanan grup (n=12), vitamin C+vitamin E uygulanan grup (vitaminli grup) (n=12), metil parathion+vitamin C+vitamin E uygulanan grup (n=12). Her gruptan 6 sıçan uygulamadan 4 ve 7 hafta sonra disekte edildi ve ince bağırsak dokuları ışık mikroskobu incelemeleri için alındı.

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

Vitamin C+vitamin E muameleli grup: Her bir sıçana günlük 200 mg/kg vitamin C (L-askorbik asit)

oral gavaj yolu ile verildi. Daha sonra aynı sıçanlara 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.

Metil parathion muameleli grup: Her bir sıçana günlük 0.28 mg/kg (1/50 LD50) dozunda metil parathion mısır yağı içinde çözülerek oral gavaj yolu ile uygulandı.

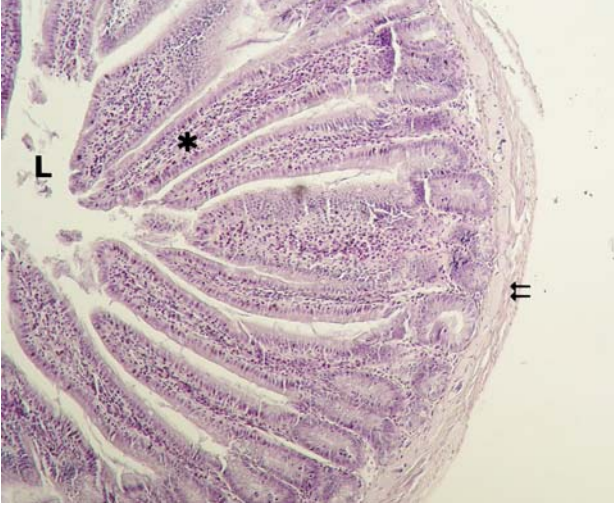
Metil parathion+vitamin C+vitamin E muameleli grup: Her bir sıçana günlük 200 mg/kg dozda vitamin E (DL- α -tokoferol) mısır yağı içinde çözülerek oral gavaj yoluyla verildi. Yine aynı sıçanlara 200 mg/kg dozda vitamin C (L-askorbik asit) distile su içinde çözülerek yine oral gavaj yoluyla verildi. Aynı sıçanlara günlük 0.28 mg/kg (1/50 LD50) dozunda metil parathion mısır yağı içinde çözülerek oral gavaj yoluyla uygulandı. Sıçanlara metil parathion uygulaması vitaminler uygulandıktan 30 dakika sonra yapıldı.

Işık mikroskobu incelemeleri: Histopatolojik incelemeler için, ince bağırsak dokuları disekte edildi ve doku örnekleri Bouin solusyonu içinde 14-18 saat tespit edildi, dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidre olan dokular parafin ortamında bloklandı. Parafin bloklardan 6-7 μ m kalınlığında ince kesitler alındı ve alınan kesitler ışık mikroskobu incelemeleri için hematoksilin eozin ile boyandı. Kesitler fotoğraf makinesi (Olympus C-5050, Olympus Optical Co. Ltd., Japan) ataçmanlı ışık mikroskobunda (Olympus BX51, Tokyo, Japan) incelendi ve fotoğrafları çekildi.

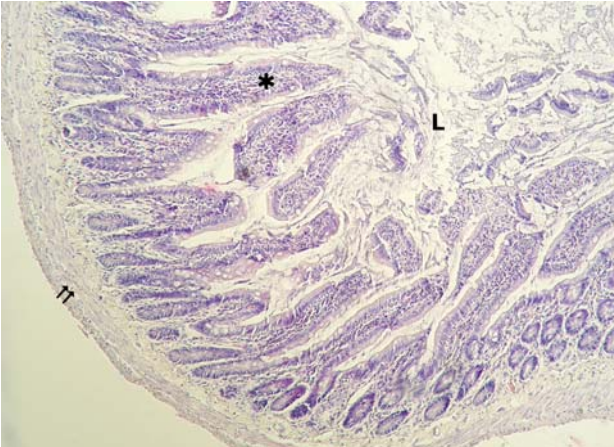
Bulgular

Kontrol grubu ve vitamin C+vitamin E muameleli sıçanların ince bağırsaklarına ait histolojik kesitlerde herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı. İnce bağırsağı astarlayan villuslar ve bu yapıların üzerinde bulunan epitel hücreleri normal yapıda görülmektedir (Resim 1, Resim 2). Metil parathion verildikten 4 hafta sonra sıçanların ince bağırsaklarındaki villuslarda genişleme tespit edildi (Resim 3). Vitamin C+vitamin E+metil parathion muamelesinden 4 hafta sonra sıçanların ince bağırsaklarındaki bazı villuslarda dejenerasyon ve granülasyon gözlemlendi (Resim 4). Metil parathion verildikten 7 hafta sonra sıçanların ince bağırsaklarındaki villuslarda genişlemenin yanı sıra aşırı derecede granülasyon tespit edildi (Resim 5). Buna ilaveten bazı bölgelerde hücre infiltrasyonu gözlemlendi (Resim 5). Vitamin

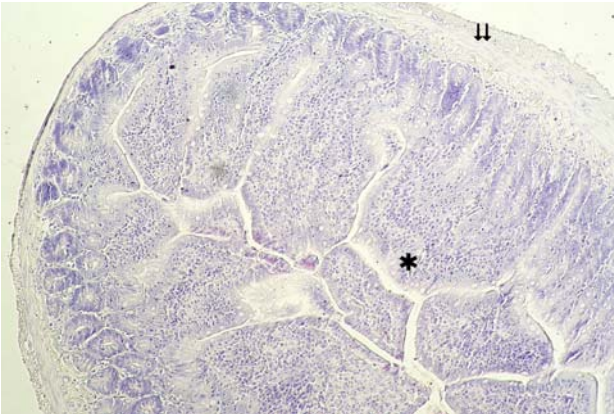
C+vitamin E+metil parathion muamelesinden 7 hafta sonra sıçanların ince bağırsaklarında villus yapısının bozulduğu gözlemlendi (Resim 6).



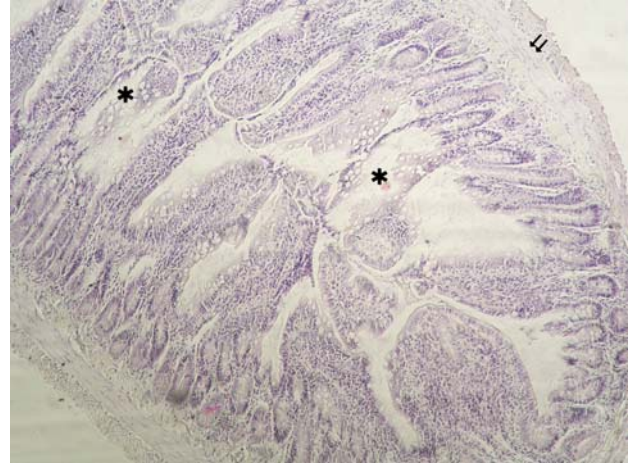
Şekil 1: Kontrol grubu ratların ince bağırsaklarının histolojik yapısı. L: Lümen, ó: Villus, I: Kas, X200



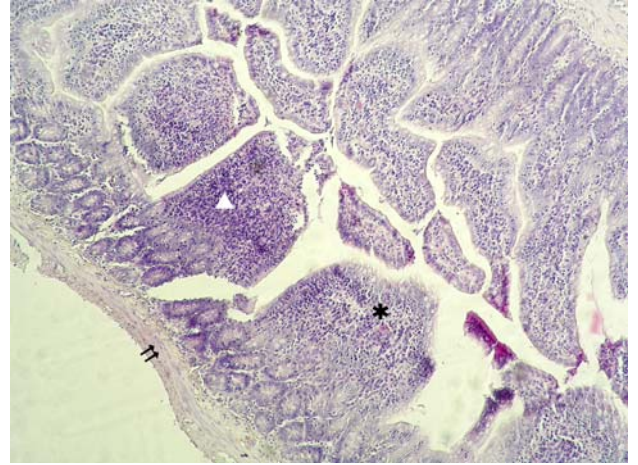
Şekil 2: Vitamin C+vitamin E uygulanmış ratların ince bağırsaklarının histolojik yapısı. L: Lümen, ó: Villus, I: Kas, X200



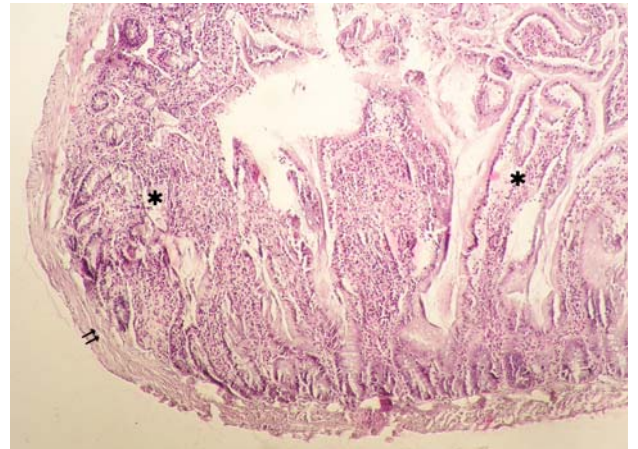
Şekil 3: Metil parathion muamelesinden 4 hafta sonra ratların ince bağırsaklarında villuslarda genişleme (ó) . I: Kas, X200



Şekil 4: Vitamin C+vitamin E+metil parathion muamelesinden 4 hafta sonra ratların ince bağırsaklarında villuslarda dejenerasyon (ó).I: Kas, X200



Şekil 5: Metil parathion muamelesinden 7 hafta sonra ratların ince bağırsaklarında villuslarda genişleme (ó) ve granülasyon (▲), I: Kas, X200



Şekil 6: Vitamin C+vitamin E+metil parathion muamelesinden 7 hafta sonra ratların ince bağırsaklarında villuslarda dejenerasyon (ó).I: Kas, X200

Tartışma ve Sonuç

Akut ve kronik çalışmalar metil parathionun memelilere çok toksik olduğunu göstermiştir. Memeliler metil parathion oral, dermal ve inhalasyon yoluyla maruz kalmaktadır (Garcia ve ark., 2003). Metil parathion yalnız memelilere değil aynı zamanda balıklara, kuşlara ve hedef olmayan diğer omurgasızlara da toksik etki göstermektedir (Solecki ve ark., 1996; Fanta ve ark., 2003). Metil parathionun oral LD₅₀ dozu erkek ratlarda 14 mg/kg, dişi ratlarda ise 24 mg/kg olarak tespit edilmiştir (Gains, 1960). 0.218 mg/kg ve 0.872 mg/kg metil parathion ratlara oral yolla uyguladıktan sonra ratlarda nörotoksik ve immünotoksik değişiklikler olduğunu ifade edilmiştir (Institoris ve ark., 2004). Bu çalışmada da metil parathion 1/50 LD₅₀ oranında erkek ratlara verildi ve muameleden 4 ve 7 hafta sonra ince bağırsakta patolojik değişiklikler gözlemlendi. Fakat deney süreci boyunca ölüm gözlenmedi.

Bu çalışmada metil parathionun subakut (4 hafta) ve subkronik (7 hafta) etkisi araştırıldı. Metil parathionun akut toksisitesi asetilkolinesterazın inhibisyonu sonucu ortaya çıkar. Bu çalışmada asetilkolin esteraz ölçümü yapılmadı. Ancak metil parathionun da diğer organofosfatlı insektisitler gibi asetilkolin esterazı inhibe ettiği bilinmektedir (Abou-Donia, 1994; Abu-Qare ve Abou-Donia 2001).

Pestisitler memelilerde ve diğer canlı dokularında histopatolojik ve sitopatolojik değişikliklere neden olmaktadır (Kalender ve ark., 2005; Sulak ve ark., 2005; Tos-Luty ve ark., 2001; Tos-Luty ve ark., 2003). Metil parathion uygulandığı sıçanların testis dokularında nekroz ve ödeme sebep olurken, böbreklerinde de nekroz, ödem, glomerular atrofi ve infiltrasyona yol açmıştır (Uzunhisarcıklı ve ark., 2007; Kalender ve ark., 2007). Bu çalışmada metil parathion muamelesinden 4 ve 7 hafta sonra ratların ince bağırsaklarında patolojik değişiklikler gözlemlendi. Ayrıca metil parathion muamelesinden 7 hafta sonra hücre infiltrasyonu tespit edildi. Mononükleer hücre infiltrasyonu ince bağırsakta ödem ve inflamasyon olduğunun bir göstergesidir.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda vitamin C ve vitamin E'nin toksik maddelerin sebep olduğu hasarı önlediği ya da azalttığı gösterilmiştir (Kalender ve ark., 2004; Kalender ve ark., 2005; Kalender ve ark., 2007; Yavuz ve ark., 2004). Vitamin E biyolojik zarlarda bulunan potansiyel bir antioksidan

maddedir. Vitamin C indirgeyici aktivitesiyle güçlü bir antioksidandır. Her iki vitamin de hücrelerde meydana gelen ve hasara neden olan serbest radikalleri yok eden antioksidanlardır. Bu çalışmada vitamin C+vitamin E+metil parathion uygulanmış ratların ince bağırsaklarında da histopatolojik değişiklikler gözlemlendi.

Sonuç olarak metil parathion ince bağırsakta ciddi patolojik değişikliklere sebep oldu. Vitamin C ve vitamin E, metil parathionla beraber verildiklerinde de ince bağırsaklarda patolojik değişiklikler izlenmiştir. Sonuç olarak vitamin C ve vitamin E'nin, ince bağırsakta metil parathionun sebep olduğu hasarı koruyamadığını söylemek mümkündür.

Kaynaklar

1. **Abou-Donia MB**, (1994). Organophosphorous pesticides. In: Chang, L.W., Dyer, R.S., (Eds.), Handbook of neurotoxicity. Marcel Dekker, New York. 419-473.
2. **Abu-Qare AW, Abou-Donia MB**, (2001). Inhibition and recovery of maternal and fetal cholinesterase enzyme activity following a single cutaneous dose of methyl parathion and diazinon, alone and in combination, in pregnant rats. *J Appl Toxicol.* 21, 307-316.
3. **Fanta E, Rios FSA, Romao S, Vianna ACC, Freiburger S**, (2003). Histopathology of the fish *Corydoras paleatus* contaminated with sublethal levels of organophosphorus in water and food. *Ecotox Environ Safe.* 54, 119-130.
4. **Gains TB**, (1960). The acute toxicity of pesticides to rats. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2, 88-99.
5. **Garcia SJ, Abu-Qare AW, Meeker-O'connell WA, Borton AJ, Abou-Donia MB**, (2003). Methyl Parathion: A review of health effects. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 6, 185-210.
6. **Institoris L, Papp A, Siroki O, Banerjee BD**, (2004). Comparative investigation of behavioral, neurotoxicological, and immunotoxicological indices in detection of subacute combined exposure with methyl parathion and propoxur in rats. *Ecotox Environ Safe.* 57, 270-277.
7. **John S, Kale M, Rathore N, Bhatnagar D**, (2001). Protective effect of vitamin E dimethoate and malathion induced oxidative stress in rat erythrocytes. *J Nutr Biochem.* 12, 500-504.
8. **Kalender S, Kalender Y, Ögütçü A, Uzunhisarcıklı M, Durak D, Açıköz F**, (2004). Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats: The protective effect of vitamin E. *Toxicology.* 3, 227-235.
9. **Kalender S, Ögütçü A, Uzunhisarcıklı M, Açıköz F, Durak D, Ulusoy Y, Kalender Y**, (2005). Diazinon-induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E

- on some biochemical indices and ultrastructural changes. *Toxicology* 211, 197-206.
10. **Kalender Y, Uzunhisarcıklı M, Ögütçü A, Acıkgöz 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.
 11. **Kalender S, Kalender Y, Durak D, Ögütçü A, Uzunhisarcıklı M, Cevrimli BS, Yıldırım M,** (2007). Methyl parathion induced nephrotoxicity in male rats and protective role of vitamins C and E. *Pestic Biochem Physiol.* 88, 213–218.
 12. **Lee A, East J, Balgaug P,** (1991). Interactions of insecticides with biological membranes. *Pestic Sci.* 32,317-327.
 13. **Lunec J, Blake D,** (1990). Oxygen Free Radicals: Their relevance to disease processes, In: Cohen RD, Lewis B, Albert KGMM. *The Metabolic and Molecular Basis of Acquired Disease*, Bailliere Tindall, London. p.189-212.
 14. **Ögütçü A, Uzunhisarcıklı M, Kalender S, Durak D, Bayraktar 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 Physiol.* 86(2), 93-98.
 15. **Prakasam A, Sethupathy S, Lalitha S,** (2001). Plasma and RBCs antioxidant status in occupational male pesticide sprayers. *Clin Chim Acta.* 103, 107–112.
 16. **Solecki R, Fagi AS, Pfeil R, Hilbig V,** (1996). Effects of methyl parathion on reproduction in the Japanese quail. *Bull Environ Contam Toxicol.* 57, 902-908.
 17. **Storm E, Karl KR, Doull J,** (2000). Occupational exposure limits for 30 organophosphate pesticides based on inhibition of red cell acetylcholinesterase. *Toxicology.* 150,1–29.
 18. **Sulak O, Altuntaş I, Karahan N, Yıldırım B, Akturk O, Yılmaz Hr, Delibaş N,** (2005). Nephrotoxicity in rats induced by organophosphate insecticide methidathion and ameliorating effects of vitamin E and C. *Pestic Biochem Physiol.* 83, 21-287.
 19. **Tos-Luty S, Haratym-Maj, Latuszynska J, Obuchowska-Przebirowska D, Tokarska-Rodak M,** (2001) Oral toxicity of deltamethrin and fenvalerate in swiss mice. *Ann Agric Environ Med.* 8, 245-254.
 20. **Tos-Luty S, Obuchowska-Przebirowska D, Latuszynska J, Tokarska-Rodak M, Haratym-Maj A,** (2003). Dermal and oral toxicity of malathion in rats. *Ann Agric Environ Med.* 10, 101-106.
 21. **Uzunhisarcıklı M, Kalender Y, Dirican K, Kalender S, Ögütçü A, Büyükkömürçü 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 and Physiol.* 87, 115–122.
 22. **Yavuz T, Delibaş N, Yıldırım B, Altuntas I, Candır O, Cora A, Karahan N, İbrişim E, Kutsal A,** (2004). Vascular wall damage in rats induced by methidathion and ameliorating effect of vitamins E and C. *Arch Toxicol.* 78, 655-659.
 23. **Yürümez Y, Yavuz Y, Sahin O, Ciftçi İH, Özkan S, Büyükkuroğlu ME,** (2007). Can diphenhydramine prevent organophosphate-induced acute pancreatitis? An experimental study in rats. *Pestic Biochem Physiol.* 87, 271–275.