

Metil Parathionun İzole Kurbağa Siyatik Siniri Üzerine Etkileri*

Ülkü ÇÖMELEKOĞLU¹, Belgin BÜYÜKAKILLI¹

ÖZET

Amaç: Organik fosforlu bir insektisit olan metil parathion tarımda, endüstride ve diğer alanlarda zararlıların kontrolünde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada organik fosforlu bir insektisit olan metil parathionun izole kurbağa siyatik siniri üzerine etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: İzole sinir 60 dakika 0.5 ppm metil parathiona maruz bırakıldıktan sonra 0.1 ms süreli eşik ve supramaksimal pulslarla uyarılmış ve hücre dışı kayıt yöntemi kullanılarak bileşik aksiyon potansiyelleri kaydedilmiştir (n=30). Elde edilen kayıtlardan genlik, depolarizasyon süresi, repolarizasyon süresi ve eşik değeri ölçülmüştür.

Bulgular: Metil parathion uygulanan sinirlerde bileşik aksiyon potansiyellerinin depolarizasyon süresi, repolarizasyon süresi ve eşik voltajı kontrol grubuna göre anlamlı olarak artarken, genliği azalmıştır (p<0.05).

Sonuç: Metil parathion izole sinir bileşik aksiyon potansiyelinin dalga formunu değiştirmiştir. Aksiyon potansiyelinin dalga formunda oluşan bu değişikliğin metil parathionun membrandaki iyonik akımları değiştirmesinden kaynaklandığı düşünülmüştür.

Anahtar Sözcükler: Metil parathion, aksiyon potansiyeli, siyatik sinir, sinir iletimi

SUMMARY

EFFECTS OF METIL PARATHION ON THE ISOLATED SCIATIC NERVE OF FROG

Purpose: Methyl parathion, an organophosphate insecticide, is widely used for the control of agricultural, industrial, and domestic pests. The purpose of the study has been to investigate the effect of metil parathion on the isolated sciatic nerve of the frog.

Material and Method: The nerve was exposed 0.5 ppm metil parathion for 60 min and then action potentials were recorded extracellularly. The amplitude, duration of depolarization and repolarization and threshold voltage were measured (n=30).

Results: It was observed that values duration of repolarization, depolarization and threshold voltage were significantly higher (p<0.05) but amplitude was significantly lower (p<0.05) in exposed group than in control group.

Conclusion: Methyl parathion, an organic phosphohate insecticide, changed the action potential waveforms of isolated frog nerves. This changes seen in action potential waveforms after methyl parathion exposure could be explained by functional alterations in axonal ion conductances.

Key Words: Metil parathion, action potentials, sciatic nerve, nerve conduction

GİRİŞ

İnsanların yaşadığı yerlerde ve tarımsal alanlarda böceklerin kontrol altında tutulması amacı ile kullanılan kimyasal maddelere insektisit adı verilmektedir. Tarımsal savaşında kullanılan insektisitler ürün artışına neden olabildikleri gibi seçici olmamaları nedeniyle çeşitli yollarla hedef olmayan organizmalara girerek hasarlara yol açabilmektedirler (1, 2).

Ülkemiz tarım alanlarında organik fosforlu insektisitler yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu gruba giren kimyasal maddeler vücutta birikme özelliğine sahiptirler ve bunlar canlıda başta sinir sistemi olmak üzere endokrin sistem, immün sistem, karaciğer ve diğer sistemleri etkilemektedirler (3-7).

Organik fosforlu bileşikler nörotoksik etkiye sahiptirler ve bunlar sinir fonksiyonlarında önemli değişikliklere neden olurlar (8). Organik fosforlu bileşikler etkilerini kolinerjik sinapslarda asetilkolinesteraz enzimini inaktive ederek gösterirler (9-12). Organik fosforlu bileşiklerin etkisini AChE enzimini inhibe ederek göstermesinin yanısıra insan ve maymun elektroensefalogramında değişikliklere neden olduğu (13), bu bileşiklere maruz kalan kişilerde geçici hafıza kaybı oluşturduğu, ayrıca depresyon, baş ağrısı ve konsantrasyon bozukluğu gibi kalıcı birtakım psikolojik bozukluklara yol açtığı gözlenmiştir (14). Sinir sistemindeki histolojik çalışmalar ise organik fosfor esterleri ile muamele edilmiş sinirlerde büyük çaplı aksonların miyelin kılıflarında

* Bu çalışma Mersin Üniversitesi Araştırma Fonunca desteklenen FEFB(Ü.Ç.)95-2/1 nolu projenin bir bölümüdür

¹: Yrd.Doç.Dr. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik A.D, MERSİN.

dejenerasyon, yine periferik sinirlerin distal uçlarında da morfolojik bozukluklar oluştuğunu göstermiştir. (15).

Şimdiye kadar yapılmış olan elektrofizyolojik çalışmalar organik fosforlu insektisitlerin toksik etkilerinin temelinde sinapsalardaki AChE bağlanması ve onu inaktive etmesinin yattığını bildirmektedir. Ancak bu grup insektisitlerin periferik sinirlerin elektrofizyolojik özellikleri üzerine etkileri ile ilgili ayrıntılı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada organik fosforlu bir insektisit olan metil parathionun canlı organizmalarda uzak mesafeler arasında iletişimi sağlayan sinir sinyalleri olan aksiyon potansiyeli parametreleri üzerine etkileri incelenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deneylerde ortalama ağırlıkları 52 ± 8.45 gram olan 30 adet su kurbağası (*Rana cameroni*) kullanılmıştır. Kurbağalar, makasla gözlerinin hemen üzerinden üst çeneden kesilmiş ve bir enjektör iğnesi ile vertebral kolona girilerek medulla spinalis haraplanmıştır ve disseke edilerek 5-6 cm uzunluğundaki siyatik sinir demetleri çıkarılmıştır. Sinir demetinin çevresindeki dokular iyice temizlendikten sonra 115 mM NaCl, 2.5 mM KCl, 1.8 mM CaCl₂, 2.15 mM Na₂HPO₄ ve 0.95 mM NaH₂PO₄ içeren Ringer çözeltisi içerisine konulmuştur. Ringer çözeltisinin pH sı 7.0 a ayarlanmıştır. Bütün ölçümler 22-25 °C oda sıcaklığında yapılmıştır.

Bileşik aksiyon potansiyeli hücre dışı kayıt yöntemi kullanılarak ölçülmüştür (16, 17). Ölçümler pleksiglass kullanılarak yapılan ve gümüş-gümüş klorür (Ag/AgCl) elektrot içeren sinir kutusunda alınmıştır. Sinirler Grass S48 stimülatör ile uyarılmış ve uyarım için 0.1-0.5

ms süreli tek eşik ve supramaksimal kare pulslar kullanılmıştır. Uyarıya yanıt olarak oluşan aksiyon potansiyelleri Kenwood CS-6010 100 MHz Digital Readout osiloskobu kullanılarak kayıtlanmıştır. Kayıt ve gözlem, stimülatörün trig out'undan gelen bir puls ile tetiklenmiştir. Kayıtlanan bileşik aksiyon potansiyellerinin latans, genlik, depolarizasyon süresi, repolarizasyon süresi ve eşik değeri ölçülmüştür. Analizler için osiloskobun sinyallerin voltaj ve sürelerini sayısal olarak analiz edebilme özelliğinden yararlanılmıştır.

Başlangıçta sinir preparatları Ringer çözeltisi içerisinde bir saat bekletilmiş ve daha sonra sinir kutusuna yerleştirilerek 0.1 ms süreli pulslarla uyarılmış ve bu uyarıya yanıt olarak oluşan aksiyon potansiyelleri kayıtlanmıştır (kontrol grubu). Daha sonra sinir preparatları 0.5 ppm insektisit içeren banyo çözeltisine alınmış ve bu çözeltide de bir saat bekletildikten sonra tekrar aksiyon potansiyelleri kayıtlanmıştır (deney grubu). Kayıtlanan bileşik sinir aksiyon potansiyellerinde genlik, depolarizasyon süresi, repolarizasyon süresi, eşik değer gibi parametreler ölçülmüştür. Deneylerde metil parathionun %80 lik etkili maddesi (Hektaş) kullanılmıştır.

İnsektisit ile muamele edilen ve edilmeyen gruplar arasında aksiyon potansiyeli parametreleri açısından anlamlı bir farkın olup olmadığı iki eş arasındaki farkın önemlilik testi kullanılarak saptanmıştır (18). İstatistiksel anlamlılığın sınırı $p < 0.05$ olarak belirlenmiştir.

BULGULAR

30 adet siyatik sinir preparatına 0.5 ppm metil parathion uygulanarak ölçülen aksiyon potansiyeli parametreleri değerleri ile kontrol grubundan elde edilen değerler Tablo da verilmiştir.

TabloI: Kontrol ve deney gruplarına ait bileşik sinir aksiyon potansiyeli parametrelerinin değerleri

	Deney Grubu (n=30)	Kontrol Grubu (n=30)	
Genlik (mV)*	30.10 ± 3.2	38.8 ± 3.8	$p < 0.05$
Depolarizasyon süresi (ms)*	0.35 ± 0.16	0.19 ± 0.03	$p < 0.05$
Repolarizasyon süresi (ms)*	0.67 ± 0.20	0.48 ± 0.14	$p < 0.05$
Eşik Voltaj (V)*	0.34 ± 0.02	0.16 ± 0.02	$p < 0.05$

(*)Ortalama+Standart sapma

Metil parathiona maruz kalmış sinir preparatlarından kayıtlanan bileşik sinir aksiyon potansiyelinin genliğinde insektisit uygulanmayan preparatlara oranla anlamlı bir azalma olmuştur ($p < 0.05$). Kontrol grubundan ve deney grubundan kayıtlanan aksiyon potansiyellerinin depolarizasyon süresi incelendiğinde deney grubunda bu sürenin anlamlı bir biçimde arttığı gözlenmiştir ($p < 0.05$). Repolarizasyon süresinde de metil parathiona maruz bırakılan sinir demetlerinde, kontrol grubuna oranla anlamlı bir artış göze çarpmaktadır. Deney grubu ve kontrol grubu eşik voltajları açısından karşılaştırıldığında metil parathion uygulanan preparatlarda eşik voltaj değerlerinin anlamlı bir şekilde arttığı gözlenmiştir.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Canlı organizmada uzak mesafeler arasındaki bilgi iletimi sinir sinyalleri aracılığı ile yapılmaktadır. Sinir sinyalleri zar potansiyelindeki hızlı değişimlerden ibaret olan aksiyon potansiyelleri aracılığı ile iletilmektedir. Her aksiyon potansiyeli, zar dinlenim potansiyelinin negatif değerden pozitif bir değere yükselmesiyle başlar ve hemen hemen aynı hızda tekrar negatif potansiyele dönmesiyle oluşur. Aksiyon potansiyeli olduğu noktadan itibaren zayıflamadan sabit genlikle iletilir (19-23). Aksiyon potansiyeli parametrelerinin ölçülmesi canlıdaki bilgi iletim süreçleri hakkında önemli ipuçları verir.

Banyo ortamına organik fosforlu bir insektisit olan metil parathionun uygulandığı preparatlardan yapılan ölçümlerde sinir aksiyon potansiyelinin genliğinde azalma, depolarizasyon ve repolarizasyon sürelerinde uzama ve eşik voltajında artış gözlenmiştir. Elde edilen bu

sonucun metil parathionun siyatik sinir membranının Na^+ ve K^+ geçirgenliğini değiştirmesine bağlı olduğu düşünülmektedir.

Insektisidlerin bir çoğu sinir membranına penetre olur ve sodyum kanallarına bağlanarak kanalların açılmasını kolaylaştırır ya da güçleştirirler (24). Nörotoksik etkiye sahip insektisidlerin etkilerini Na^+ kanal aktivitesini değiştirerek gösterdiklerine ilişkin bir çok çalışma vardır (25,26). Banyo ortamına 0.5 ppm metil parathion uygulanması ile aksiyon potansiyelinin genliğinde gözlenen azalmanın, sinir demetine uygulanan insektisid karışımının membranındaki özel protein moleküllerini etkileyerek depolarizasyon yapabilecek nitelikteki uyanların sodyum kanallarını açmasını kısmen engellemesine bağlı olduğu düşünülmektedir. Bu etki sonucunda açılan sodyum kanal sayısındaki azalmaya bağlı olarak daha az sodyum iyonunun sinir hücresi içine girmesi ve uygulanan elektriksel uyarıya karşı oluşan aksiyon potansiyelinin genliğinde azalmaya yol açmış olması olasıdır. Eksitasyon eşığının yükselmesinden de büyük olasılıkla bu mekanizmanın sorumlu olduğu düşünülmektedir. Depolarizasyon süresinin uzamış olması ise metil parathionun sodyum kanallarının aktivasyon kapısının kapanmasını geciktirdiği şeklinde yorumlanabilir.

Repolarizasyon süresinde meydana gelen artış ise metil parathionun ikincil bir etki olarak membranın potasyuma karşı geçirgenliğini değiştirdiğini, geçirgenliği azaltarak membranın repolarize olmasını kısmen engellediğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak olarak metil parathion sinapslardaki etkilerine ek olarak periferik sinirlerde bilgi iletimini olumsuz etkilemektedir.

KAYNAKLAR

1. Mc Even FL, Stephenson GL: The use and significance of pesticides in the environment. New York: John Wiley & Sons Pub., 1979; 538.
2. Amdur MO, Doull J, Klassen CD: Casarett and Doull's Toxicology: The basic science of poisons. New York: Pergamon Press, 1991; 565-623.
3. Guest JA, Copley MP, Homernic KL: Carcinogenic effects of pesticides. Pathol. Pharmacol. 1991; 71(3); 387-390.
4. Ami BH, Haim SA: Direct effect of phosphamidon on isolated working rat heart electrical and mechanical function. Toxicol. Apply Pharmacol. 1992; 110 (3); 429-434.
5. İzushi F, Ogata M: Hepatic and muscle injuries in mice treated with heptachlor. Toxicol. Lett. 1990; 54 (1); 47-54.
6. Weizman Z, Sofer S: Acute pancreatitis in children with anticholinesterase pesticide intoxication. Pediatrics. 1992; 204-206.
7. Blasiak J, Walter Z, Bawronska M: The changes of osmotic fragility of pig

- erythrocytes induced by organophosphorus insecticides. *Acta Biochim. Pol.*1997; 38 (1): 75-77.
8. Kelly SS, Mutch E, Williams FM, Blain PG: Electrophysiological and biochemical effects following single doses of organophosphates in the mouse. *Arc.Toxicol.* 1994; 68: 450-466.
 9. Zwiener, R.J., Ginsburg, C.M., Organophosphate and carbamate poisoning in infants and children *Pediatrics.* 1988; 81(1): 121-126.
 10. Carbett JR: The biochemical mode of action of pesticides. Academic Press, London, 1974; 130-137.
 11. Sterling GH: Poisoning by cholinesterase-inhibiting insecticides. *Am.Family Physician.*1983;27;159-162.
 12. Savage EP, Keefe TJ, Maunce LM, Heaton RK, Lewis JA, Burcar PJ: Chronic neurological sequelae of acute organophosphate pesticide poisoning. *Arc Environ Health.* 1987; 43; 38-45.
 13. Burcfeil JL, Duffy FH: Organophosphate neurotoxicity: chronic effect of sarin on the electroencefalogram of monkey and man. *Neurobehav Toxicol teratol,* 1997; 4(6); 767-771.
 14. Mearns J, Dunn J, Lees-Haley PR: Psychological effects of organophosphate pesticides: a review and call for research by psychologists. *J Clin Psychol,* 1994; 50(2): 286-294.
 15. Sprague GR, Bickford AA: Effect of multiple diisopropylfluorophosphate injections in hens: behavioral, biochemical and histological investigation. *J. Toxicol. Environ. Health,* 1995; 165-167.
 16. Andrew BL: *Experimental physiology.* , London: Churchill Livingstone. 1972: 17-43.
 17. Katz B: *Nerve, muscle and synapse.* New York: Mc Graw Hill Book Company, 1966; 27-65.
 18. Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V: *Biyoistatistik.* Ankara: Özdemir Yayıncılık, 1994:86.
 19. Eldefrawi MES, Sherby SM, Abalis IM, and Eldefrawi AT: Interaction of pyrethroid and cyclodiene insecticides with nicotinic acetylcholine and GABA receptors. *Neurotoxicology.* 1985; 6; 47-62.
 20. Matsumara F: *Toxicology of insecticides.* New York: Plenum Press, 1985: 39-67.
 21. Ganong WF : *Tıbbi Fizyoloji.* İstanbul: 16. Baskı. 1995; 51-66.
 22. Guyton AC: *Tıbbi Fizyoloji.* 1. Baskı. Ankara: Merck yayıncılık, 1986:152-175.
 23. Noyan A: *Yaşamda ve hekimlikte fizyoloji.* Ankara: Meteksan, 1993: 204-229.
 24. Simkiss K: Ecotoxicants at the cell membrane barrier. In Newman MC, Jagoe CH.(Eds). *Ecotoxicology.* New York: Lewis Publishers, 1996; 59-82.
 25. Soderlund DM, Bloomquist JR: Neurotoxic actions of pyrethroid insecticides. *Annu Rev Entomol.* 1989; 34: 77-96.
 26. Valentine WM, *Toxicology of selected pesticides, drugs, and chemicals.* Vet. Clin Northam Small Anim Pract. 1990: 20(2); 375-82.