

Endosülfan, Dimetoat ve Karbarilin Erkek Sıçanların Kalp Kası ve Serum Kalsiyum Seviyeleri Üzerine Birlikte Etkileri

Güldeniz ÖZMEN, E. Arzu ELCÜMAN
Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Beytepe, Ankara-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 20.01.1997

Özet: Bu çalışmada, endosülfan, dimetoat ve karbarilin düşük [günlük alınabilir dozları (ADI)] ve yüksek (10xADI) dozları erkek sıçanlara 3.5 ay süreyle ikili ve üçlü kombinasyon şeklinde uygulanmıştır. Deney sonunda bütün gruplardaki sıçanların serum kalsiyum seviyeleri tespit edilmiş, aynı zamanda kalp kası dokusunda kalsifikasyon olup olmadığı histokimyasal olarak incelenmiştir.

Endosülfan+karbaril ve dimetoat+karbarilin yüksek dozu uygulanan gruplardaki sıçanların serum kalsiyum seviyeleri kontrollerle karşılaştırıldığında önemli derecede düşük bulunmuştur.

Bütün gruplardaki sıçanların kalp kası dokusunda histokimyasal inceleme sonucunda kalsifikasyona rastlanmamıştır.

Anahtar Sözcükler: Pestisit, Sıçan, Kalp, Kalsiyum Seviyesi

Combined Effects of Endosulfan, Dimethoate and Carbaryl on Serum Calcium Levels and Heart Muscle of Rats

Abstract: In this study, combination of low [acceptable daily intake (ADI)] and high (10xADI) doses of endosulfan, dimethoate and carbaryl were administered orally to the male rats for 3.5 months. Serum calcium levels of rats in all groups were determined. At the same time, whether or not there was calcification in heart muscle of rats in all groups were investigated histochemically.

Serum calcium levels of rats treated with high dose of endosulfan+carbaryl and dimethoate+carbaryl mixture decreased significantly in comparison with controls. Calcification was not found in heart muscle tissues of the rats in all groups according to the results of histochemical analysis.

Key Words: Pesticide, Rat, Heart, Calcium Level

Giriş

İnsanlar ve diğer canlılar yaşamları boyunca bünyeleri için yabancı olan birçok kimyasalla sürekli karşı karşıya kalırlar. Organofosforlu ve organoklorlu insektisitlerle ilgili toksikolojik çalışmaların çoğunda, bunların nörotoksitesi, hepatotoksitesi ve nefrotoksitesi üzerine odaklanıldığı, ancak bu maddelerin kardiyovasküler etkilerinin ihmal edildiği bildirilmiştir (1).

Metaller, çözücüler ve pestisitleri içeren çok sayıda kimyasal toksikant, toksik etkilerinin hücre ve moleküler hedefleri olarak hücre kalsiyumunda belirli öneme sahiptir (2). Kalp kası dokusu, hücre dışı sıvıdaki kalsiyum iyon konsantrasyonundaki değişikliklere çok duyarlıdır (3). Organoklorlu bir pestisit olan endosülfan, organofosforlu dimetoat ve karbamatlı karbaril, Akdeniz Bölgesi'nde pamuk zararlı türlerine karşı aynı zamanlarda yoğun olarak kullanılan pestisitlerdir. Sonuçta çok kısa bir zaman içinde ortam çok sayıda pestisit ile bulaşmakta ve dolaylı bir şekilde insana kadar gelip insanları etkilemektedir.

Kas kasılması, ekzokrin, endokrin ve nörokrin salgıların sekresyonunda, glikogenoliz ve glikoneogenezin düzenlenmesi, elektrolit ve sıvıların transport ve salgılanmasında; hücre büyüme ve bölünmesinde kalsiyum haberci sistemi merkezi bir role sahiptir (2). Kalsiyum aracılı fonksiyonların üç genel tipi olan; kas kontraksiyonunu içeren hücre hareketi, sinir impulsu kondüksiyonu ve duyu mekanizmalarını içeren bilgi işleme ve hücre büyüme ve farklılaşmasında hormonların etkileri gibi fonksiyonların hepsi, toksik etki için önemli hedefler olabilirler (2).

Kalsiyumun önemi kalpte çok daha artmaktadır. Kalp, diğer organların yaşama kabiliyeti ve hayvanların hayatta kalmalarında önemli rol oynadığı için, kimyasalın kardiyovasküler toksitesini belirlemenin gerekli olduğu rapor edilmiştir (1).

Kimyasal maddelerin biyotransformasyonu sonucunda elektrofiller, radikaller ve oksijen türleri oluşabilir. Bunlar ise doku alkilasyonu ve doku peroksidasyonlarına neden olur. Doku peroksidasyonu sonucunda hücrelerin kalsiyum geçirgenliğinde artış meydana gelir, bu durum hücrelerin ölümüne neden olabilir. Kalsiyum birçok katabolik enzimi uyarabilme yeteneğindedir (4).

Kalsiyumun kimyasal toksisitede önemi sebebiyle, Akdeniz Bölgesi'nde pamuk zararlılarına karşı yoğun olarak kullanılan pestisitler olan endosülfan, dimetoat ve karbarilin sıçanların serum kalsiyum seviyeleri ve kalp dokusunda kalsifikasyon üzerine etkileri araştırılmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmada kullanılan Swiss albino erkek sıçanlar H.Ü. Deney Hayvanları biriminden temin edilmiştir. 140-160 g ağırlığındaki sıçanlar her kafeste 2 tane olacak şekilde rastgele gruplara dağıtılmıştır. Bir hafta süreyle laboratuvar şartlarına alışmaları sağlanmıştır. Çalışmada 9 grup yer almıştır. Birini kontrol grubu, 8'ini pestisitlerin ikili ve üçlü kombinasyonları uygulanan uygulama grupları oluşturmuştur. Uygulama gruplarını ise endosülfan (E), dimetoat (D) ve karbaril (K)'in düşük (I) ve yüksek (II) dozlarının karışımları uygulanan gruplar oluşturmuştur. Pestisitlerin günlük alınabilir dozları, endosülfan için 0.00612 mg/kg, dimetoat için 0.0204 mg/kg ve karbaril için 0.0101 mg/kg'dır (5, 6). Sıçanlara pestisit uygulaması 3.5 ay süreyle günlük olarak ağız yoluyla yapılmıştır. Sıçanların her hafta ağırlıkları tartılarak, verilecek ilaç miktarları tespit edilmiştir. İlaçlar ayçiçek yağı içinde çözülmüştür. İlaç karışımları haftalık olarak hazırlanmıştır. 3.5 aylık uygulama süresi boyunca bütün gruplardaki sıçanlar standart sıçan pelet yemi ve çeşme suyu ile beslenmişlerdir.

Çalışmada kullanılan endosülfanın (6, 7, 8, 9, 10, 10-hexachloro-1, 5, 5a, 6, 9, 9a-hexahydro-6, 9-methano-2, 4, 3-benzodioxathiepin 3-oxide) % 98'lik aktif maddesi Bayer Türk Kimya San. Şti.'den, dimetoatın (O, O-dimethyl S-[2-(methylamino)-2-oxoethyl] phosphorodithioate) % 98'lik aktif maddesi Agro-San firmasından ve karbarilin (1-naphthyl methyl-carbamate) % 99'lük aktif maddesi ise Hektaş ilaç firmasından temin edilmiştir.

3.5 aylık deney süresi sonunda sıçanlar boyunları kırılarak (cervical dislocation) öldürülmüş ve kalplerinden kan örnekleri alınmıştır. Kanlar 3200 rpm'de santrifüj edilerek serumları ayrılmıştır. Daha sonra serum kalsiyum seviyeleri Coulter-Electronics, Inc. Dcrete Analyzer with Continuous Optical Scanning model makinada tespit edilmiştir.

Bütün gruplardaki sıçanların kalpleri alınmış ve organ ağırlıkları tespit edilmiştir. Alınan kalpler % 10'luk nötral formalin'e koyulmuş ve rutin histolojik işlemlere tabi tutulmuştur. 5-6 mikron kalınlığındaki preparatlar, Von kossa boyası ile boyanarak kalp dokusunda kalsifikasyon olup olmadığı ışık mikroskopunda histokimyasal olarak incelenmiştir.

İstatiksel olarak gruplararası karşılaştırmalar Student's t-testi kullanılarak yapılmıştır (7). Değerler ortalama \pm standart hata şeklinde verilmiştir.

Bulgular

Serum Kalsiyum Seviyeleri

Kontrol grubu ve pestisit karışımı uygulanan gruplardaki sıçanlara ait serum kalsiyum değerleri Tablo 1'de verilmiştir. Uygulama gruplarındaki sıçanların serum kalsiyum değerleri kontrol grubu sıçanların serum kalsiyum değerleri ile karşılaştırıldığında, endosülfan+karbaril (EK II) ve dimetoat+karbarilin yüksek dozları uygulanan (DK II) gruplardaki sıçanların değerleri istatistiksel olarak önemli derecede düşük bulunmuştur.

Aynı ilaç kombinasyonunun dozlararası istatistiksel karşılaştırması yapıldığında, dimetoat ve karbaril karışımı uygulanan gruplar (DKI ve DKII) hariç istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır (Tablo 2). Dimetoat ve karbaril karışımı uygulanan gruplarda ise, bu pestisitlerin düşük dozları uygulanan DKI grubundaki sıçanların serum kalsiyum seviyeleri DKII grubu sıçanlarının değerinden istatistiksel olarak önemli derecede düşük bulunmuştur.

Farklı ilaç kombinasyonları uygulanan deney gruplarındaki sıçanların serum kalsiyum seviyeleri karşılaştırıldığında (Tablo 2) endosülfan, dimetoat ve karbaril'in düşük dozlarının ikili kombinasyonu uygulanan gruplardaki (ED I, EK I ve DK I) sıçanların değerleri, üçlü kombinasyon uygulanan EDK I grubundaki sıçanların değerinden önemli derecede düşük bulunmuştur. Aynı şekilde EK I grubundaki sıçanların serum kalsiyum seviyelerinin ED I grubu sıçanlarının değerinden önemli derecede düşük olduğu görülmüştür. Pestisitlerin yüksek dozlarının ikili ve üçlü kombinasyonları uygulanan gruplardaki sıçanların serum kalsiyum seviyeleri karşılaştırıldığında, EK II ve DK II gruplarındaki sıçanların değerleri EDK II ve ED II gruplarındaki sıçanların değerlerinden istatistiksel olarak önemli derecede düşük bulunmuştur.

Gruplar	Kalsiyum (mg/dL)	Kalp/vücut ağırlık oranı (x10 ⁻³)
Kontrol	11.48±0.29	3.2±0.1048
EDK I	11.87±0.20	3.1±0.0325
EDK II	11.44±0.26	3.2±0.0864
ED I	11.24±0.14	2.9±0.1147
ED II	11.38±0.30	3.0±0.1061
EK I	10.86±0.09	2.9±0.1142
EK II	10.59±0.15*	3.1±0.0453
DK I	10.92±0.09	3.1±0.0771
DK II	10.60±0.09 [†]	2.9±0.0538

Tablo 1. Kontrol grubu ve pestisit kombinasyonları uygulanan gruplardaki sıçanların serum kalsiyum seviyeleri ve organ ağırlık/vücut ağırlık oranları.

* : İstatiksel olarak kontrolden farklı (P<0.05)

EDK I : 0.00612 mg endosülfan/kg+0.0204 mg dimetoat/kg+0.0101 mg karbaril/kg

EDK II : 0.0612 mg endosülfan/kg+0.204 mg dimetoat/kg+0.0101 mg karbaril/kg

ED I : 0.00612 mg endosülfan/kg+0.0204 mg dimetoat/kg

ED II : 0.0612 mg endosülfan/kg+0.204 mg dimetoat/kg

EK I : 0.00612 mg endosülfan/kg+0.0101 mg karbaril/kg

EK II : 0.0612 mg endosülfan/kg+0.101 mg karbaril/kg

DK I : 0.0204 mg dimetoat/kg+0.0101 mg karbaril/kg

DK II : 0.204 mg dimetoat/kg+0.101 mg karbaril/kg

Organ Ağırlık Sonuçları

Deney süresi sonunda, bütün gruplardaki sıçanların kalp ağırlıkları kaydedilmiştir. Kontrol grubu ve uygulama gruplarındaki sıçanların kalp ağırlığı/vücut ağırlığı oranları Tablo 1'de verilmiştir. Uygulama gruplarındaki sıçanların oranları kontrol grubu sıçanlarının oranları ile karşılaştırıldığında, DK II grubundaki sıçanların oranı önemli derecede düşük (P<0.05) bulunmuştur. Diğer gruplardaki sıçanların kalp/vücut ağırlığı oranlarında önemli farklılık görülmemiştir.

	EDK I	EDK II	ED I	ED II	EK I	EK II	DK I	DK II
K						x		x
EK I			x		x		x	
EK II						x		x
ED I					x			
ED II								x
EK I								
EK II								
DK I								x
DK II								

Tablo 2. Pestisit kombinasyonları uygulanan gruplardaki sıçanların serum kalsiyum seviyelerinin gruplar arası karşılaştırılması.

Histokimyasal Değerlendirme

—Deney sonunda, bütün gruplardaki sıçanlardan alınan kalp dokuları, Von kossa ile boyanmıştır. Çalışma gruplarındaki sıçanların kalp dokularında ışık mikroskobu ile yapılan incelemeler sonucunda, pestisit karışımları uygulanan sıçanların kalp kası dokularında kontrol grubu sıçanlarıninkinden herhangi bir farklılık görülmemiştir. Pestisit uygulaması yapılan sıçanların kalp dokularında kalsifikasyona rastlanmamıştır.

Deney gruplarındaki sıçanların kalp dokularının mikroskopik incelemelerinde uygulama yapılan bütün gruplardaki sıçanların kalp kaslarının çizgilenmelerinin normal olduğu, herhangi bir çizgilenme kaybı olmadığı görülmüştür.

Tartışma ve Sonuç

Kalp kası hücrelerinin kasılmasında, hücre dışı kalsiyum iyonları dolaylı ve dolaysız etkilere sahiptir (3). İnsektisitlerin kardiyovasküler etkileri ile ilgili az sayıda kayıt olduğu bildirilmektedir (8). Organofosforlu bir pestisit olan diklorvos (DDVP) ile yapılan bir çalışmada diklorvos'un 30, 50, 70 ve 90 mg/kg vücut ağırlığı akut dozlarının erkek sıçanlara enjeksiyonundan sonra kalp atış hızında azalma olduğu bildirilmiştir (8). Marosi ve arkadaşları (1985) dimetoatın 110 µg/g'lık dozunun koyalara intraperitoneal enjeksiyonun kalpte yetersizliğe ve EKG'lerinde karışıklığa neden olduğunu gözlemişlerdir. Aynı zamanda kolinesteraz enzim aktivitesinde inhibisyon gözlemişlerdir. Ancak dimetoatın neden olduğu kalp yetersizliğinin kolinesteraz inhibisyonu ile direkt bağlantılı olmadığını bildirmektedirler (9). Sıçanların kalbinde kalsiyum pompası üzerine organoklorlu pestisitler olan dieldrin, aldrin ve endrinin etkilerinin araştırıldığı çalışmada, aldrin (40 µM) ve endrin (100 µM)'nin 3 gün süreyle uygulanmasının Ca²⁺-ATPaz aktivitesinde inhibisyona neden olduğu bulunmuştur. Böylece bu pestisitlerin kalpte Ca²⁺-pompası aktivitesini önemli derecede inhibe ettiği gösterilmiştir (10). Garg ve arkadaşları (1980), 7 hafta süreyle oral yolla 20 mg/kg vücut ağırlığı dozunda endosülfan alan erkek sıçanların plazma kalsiyum seviyelerinde azalma olduğunu gözlemişlerdir (11). Balıklarla yapılan çalışmada, endosülfanın letal ve subletal konsantrasyonlarına maruz kalan *Tilapia mossambicca*'nın kan kalsiyum seviyesinde azalma olduğu bildirilmiştir (12).

Çalışmamızda endosülfan+karbarilin yüksek dozları uygulanan (EK II) ve dimetoat+karbarilin yüksek dozları uygulanan (DK II) gruplardaki sıçanların serum kalsiyum seviyeleri kontrol grubu değerinden önemli derecede düşük bulunmuştur. Kalsiyumun pek çok pestisit ve toksikant için hedef oluşturması nedeni ile çalışma gruplarımızdaki sıçanların serum kalsiyum seviyelerindeki değişikliklerden kullanılan pestisitler sorumlu olabilir. Serum kalsiyum seviyesinde yükselme olduğunda çeşitli dokularda kalsifikasyon meydana gelebileceği bildirilmektedir (13). Uygulama gruplarındaki sıçanların kalp dokularında yapılan mikroskopik incelemelerde kalsifikasyona rastlanmamıştır. Bu da serum kalsiyum seviyelerinde önemli derecede yükselme görülmemesiyle paralellik göstermiştir. Aynı zamanda uygulama yapılan sıçanların kalp kası dokularında çizgilenmenin normal olduğu gözlenmiştir.

Anand ve arkadaşları (1990) organoklorlu pestisitler olan heksaklorosikloheksan (HCH) ve endosülfanın 2.5 ve 5.0 mg/kg'lık dozlarının tavşanlara 12 ay süre ile her hafta iki kez enjeksiyonunun kan basıncı ve kalp hızında yükselmeye ve de miyokardiyal hasara neden olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca her iki dozda da sıçanların EKG'lerinde değişiklikler gözlemiştir (14).

Pestisitlerin serum kalsiyum seviyesi ve kalp kalsifikasyonu üzerine etkileriyle ilgili çalışmalar çok sınırlıdır. Ayrıca literatürde pestisit kombinasyonlarının söz konusu parametreler üzerine etkilerinin olup olmadığıyla ilgili bir bilgi mevcut değildir. Bu yüzden, yapılan bu çalışmanın sonuçları daha sonraki çalışmalara basamak teşkil edecektir.

Sonuç olarak, endosülfan, dimetoat ve karbarilin karışım şeklinde uygulanmasının serum kalsiyum seviyesi üzerinde düşme şeklinde hafif bir etkiye neden olurken, kalp dokusunda önemli bir etkiye neden olmadığı söylenebilir.

Kaynaklar

1. Anwar-Saad A. Abd-Elfattah, Cardiovascular System as a Potential Target for Toxic Injury: Pesticides, Alcohol, Organic Solvents, Heavy Metals and Drugs. 3rd Congress of Toxicology in Developing Countries, Cairo, Egypt 19-23 November 1995.
2. Pounds, J.G., The Role of Cell Calcium in Current Approaches to Toxicology. Environmental Health Perspectives, Vol. 84:7-15, 1990.
3. Martini, F.H., Fundamentals of Anatomy and Physiology, Third Edition, Prentice Hall International, Inc., New Jersey, 1995, p.656.
4. Orrenius, S. and Nicotera, P., On the Role of Calcium in Chemical Toxicity: Mechanisms and Models in Toxicology. Arch. Toxicity, suppl 11, 11-19, 1987.
5. FAO/WHO, International Programme on Chemical Safety (IPSC). Summary of Toxicological Evaluations Performed by The Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues (JMPR) JHO Geneva, Switzerland, 1993.
6. Gangolli, S.D., WHO Report. UNDP/TUR/75/023. Pollution by Pesticides. 1-17, 1975.
7. Kutsal, A., Muluk, F.Z., Uygulamalı Temel İstatistik. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, A2, 1972.
8. Naidu, K.A., Viswanatha, S. and Kirshnakumari, M.K., Cardiotoxic Effects of Dichlorvos (DDVP) in Albino Rats. Ind. J. Physiol. Pharmacol., Vol. 31, Number 1, 19-24, 1987.
9. Marossi, G., Ivan, J., Nagymajtenyi, L., Csatlai, I. and Toszegi, A., Dimethoate-Induced Toxic Cardiac Failure in The Guinea Pig. Arch. Toxicol., 57:142-143, 1985.
10. Mehrotra, B.D., Moorthy, K.S., Reddy, S.R. and Desai, D., Effects of Cyclo-diene Compounds on Calcium-Pump Activity in Rat Brain and Heart. Toxicology, 54:17-29, 1989.
11. Garg, A., Kunwar, K., Das, N. and Gupta, P.K., Endosulfan Intoxication: Blood Glucose, Electrolytes, Ca Levels, Ascorbic Acid and Glutathione in Rats. Toxic Lett., 5(2): 119-123, 1980.
12. Rangaswamy, C.P. and Naidu, B., Endosulfan Induced Changes In The Serum Calcium and Magnesium Levels in The Food Fish, Tilapia mossambica (Peters). J. Envir. Biol., 10:245-249, 1989.
13. Tighe, J.R. and Davies, D.R., Pathology. Fourth Edition, Biddles Ltd. of Guildford, Great Britain, 1984, 280.
14. Anand, M., Gulati, A., Gopal, K., Gupta, G.S.D., Khanna, R.N., Ray, P.K. and Chantro, S.V., Hypertensional Myocarditis in Rabbits Exposed to Hexachlorocyclohexane and Endosulfan. Vet. Hum. Toxicol., 32(6) December: 521-523, 1990.