

T.C  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**GEBELİK ESNASINDA METHİDATHİON'A (MD) MARUZ  
KALAN GEBE RATLARIN YENİDOĞAN YAVRULARININ  
AKCİĞER DOKUSUNDA OLUŞAN HASAR VE BU HASARA  
KAPEİK ASİT FENİL ESTER (CAPE)'İN ETKİSİNİN  
HİSTOPATOLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI**

**Gölnur ÖZGÜNER**

**ANATOMİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Osman SULAK**

**Tez. No:**

**2007-İSPARTA**

T.C  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GEBELİK ESNASINDA METHİDATHİON'A (MD) MARUZ  
KALAN GEBE RATLARIN YENİDOĞAN YAVRULARININ  
AKCİĞER DOKUSUNDA OLUŞAN HASAR VE BU HASARA  
KAFFEİK ASİT FENİL ESTER (CAPE)'İN ETKİSİNİN  
HİSTOPATOLOJİK OLARAK ARAŞTIRILMASI**

**Gölnur ÖZGÜNER**

**ANATOMİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Osman SULAK**

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından  
1267 Proje numarası ile desteklenmiştir  
Tez No:**

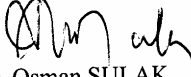
**2007-İSPARTA**

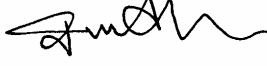
## KABUL VE ONAY


Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

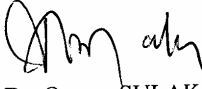
Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Anatomi **Anabilim Dalı** Yüksek Lisans **Programı**  
Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından  
Yüksek Lisans **Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 22 / 08 / 2007

Tez Danışmanı :   
Doç. Dr. Osman SULAK  
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Anatomi Anabilim Dalı

Üye :   
Prof. Dr. M. Ali MALAS  
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Anatomi Anabilim Dalı

Üye :   
Doç. Dr. Alpaslan GÖKÇİMEN  
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi  
~~Anatomi~~ Anabilim Dalı  
Histoloji ve Embriyoloji

Üye :   
Doç. Dr. Osman SULAK  
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Anatomi Anabilim Dalı

Onay: Bu yüksek lisans tezi Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Halis KÖYLÜ  
Enstitü Müdürü

## ÖNSÖZ

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı Laboratuvarı ve Afyon Kocatepe Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmada Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan laboratuvarı'ndan elde edilen 50 adet dişi rat kullanılmıştır. Çalışma için Süleyman Demirel Üniversitesi etik kurul onayı alınmıştır.

Çalışma gebelikte bir organofosfat olan methidathion'a maruz kaban gebe ratların yenidoğan yavrularının akciğer dokusunda oluşan hasarları ve bu hasarlara kafeik asit fenil ester'in iyileştirici etkilerini araştırmak amacı ile yapılmıştır. Çalışmadaki bulguların gebelikte methidathion'a maruz kalan gebelerin yenidoğanlarının akciğerlerinde oluşabilecek patolojilerin teşhis ve tedavisine katkıda bulunabileceğini ümit etmekteyiz.

Çalışmam sırasında değerli yardımları ve eleştirileri ile büyük katkıda bulunan tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Osman SULAK'a, çalışmamın her aşamasında yardım ve katkısını esirgemeyen Anatomi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. M. Ali MALAS'a,

Çalışmamın deney aşamasında yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Neslihan CANKARA'ya,

Yine çalışmamın farklı aşamalarındaki değerli yardımları için Yrd. Doç. Dr. Esra ÇETİN, Arş. Gör. Dr. Kadir DESDİCİOĞLU, ve Arş. Arş. Gör. E. Hilal EVCİL'e,

Ve çalışmam süresince destek ve yardımları ile her zaman yanımda olan eşim ve aileme teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
Kabul ve Onay.....	
Önsöz.....	i
İçindekiler.....	ii
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini.....	iii
Şekiller Dizini.....	iv
Çizelgeler Dizini.....	v
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>4</b>
2-1. Pestisitler .....	4
2-1.1 Organofosfatlar.....	5
2-1.2. Organofosfatların Akut Toksik Etkileri.....	5
2-1.3. Organofosfatların Kronik Toksik Etkileri.....	6
2-1.4. Organofosfatların Kansere Oluşumuna Etkisi.....	9
2-1.5. Organofosfatların Gelişime Olan Etkisi.....	10
2-1.6. Organofosfatların İnsan Yiyeceklerindeki Kalıntıları.....	12
2-2. Methidation (MD).....	13
2-3. CAPE.....	15
<b>3. MATERYAL ve METOT.....</b>	<b>17</b>
3-1. Deney Grupları.....	17
3-2. İstatistiksel Analiz.....	19
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>20</b>
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....</b>	<b>35</b>
<b>ÖZET.....</b>	<b>40</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>41</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>42</b>

***SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ***

<b>AH</b>	Alveolar hemoraji (H&E, 40)
<b>ALP</b>	Alkalın fosfataz
<b>ALT</b>	Alanin aminotransferaz
<b>AST</b>	Aaspartat aminotransferaz
<b>BAH</b>	Bronkoalveolar hemoraji,
<b>CAPE</b>	Caffeic acid phenetyl ester
<b>ChE</b>	Asetilkolinesteraz
<b>DDT</b>	Diklorodifeniltrikloroetan
<b>GGT</b>	Glutamiltransferaz
<b>HDL-C</b>	High-density lipoprotein kolesterol
<b>II</b>	Intrapanrankimal infiltrasyon,
<b>LDH</b>	Laktat dehidrogenaz
<b>LDL-C</b>	Low-density lipoprotein kolesterol
<b>LPO</b>	Lipid peroksidasyonuna
<b>MD</b>	Methidathion
<b>MDA</b>	Malondialdehit
<b>PI</b>	Peribronşial inflamasyon,
<b>SOD</b>	Superoksid dismutaz

**ŞEKİLLER DİZİNİ**

	<b>Sayfa No</b>
Şekil 1. Gebe ratların hamilelik dönemindeki kilo alımı.....	21
Şekil 2. Grup 1- (Kontrol) (H&E,x4).....	26
Şekil 3. Grup 2 - Gebeliğin ilk 7 gününde MD verilen grup (H&E,x 4).....	27
Şekil 4. Grup 2 - Gebeliğin ilk 7 gününde MD verilen grup (H&E, x40).....	28
Şekil 5. Grup 3 - Gebeliğin ilk 7 gününde MD + CAPE verilen grup (H&E,x 4)...	29
Şekil 6. Grup 3 - Gebeliğin ilk 7 gününde MD + CAPE verilen grup (H&E,x 20).	30
Şekil 7. Grup 4 - Gebeliğin son 7 gününde MD verilen grup (H&E, x4).....	31
Şekil 8. Grup 5 - Gebeliğin son 7 gününde MD + CAPE verilen grup (H&E, x10)	32

**ÇİZELGELER DİZİNİ**

	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 1.</b> Deney planı.....	18
<b>Tablo 2.</b> Gebelik dönemi sonrasında gruptaki doğum yapan, ölen ve yavru rat sayıları.....	20
<b>Tablo 3.</b> Gebe ratların hamilelik dönemi sonunda aldıkları kiloların ortalamaları	21
<b>Tablo 4.</b> Yavruların ağırlıklarının ortalamaları .....	22
<b>Tablo 5.</b> Preperatlarda oluşan peribronşial inflamasyon seviyelerinin skorları...	23
<b>Tablo 6.</b> Preperatlarda oluşan Alveolar ve bronşolar hemoraji seviyelerinin skorları.....	24
<b>Tablo 7.</b> Preperatlarda oluşan Intraparankimal vasküler konjesyon ve trombozis seviyelerinin skorları.....	24
<b>Tablo 8.</b> Preperatlarda oluşan alveolar destrüksiyon seviyelerinin skorları.....	25
<b>Tablo 9.</b> Preperatlarda oluşan intraparankimal infiltrasyon seviyelerinin skorları	25
<b>Tablo 10.</b> Akciğer dokusunda oluşan peribronşial inflamasyon, alveolar hemoraji, vasküler konjesyon, alveolar destrüksiyon ve intraparankimal infiltrasyon seviyelerinin gruptaki ortalama değerleri ve standart deviasyonları.....	33



## 1. GİRİŞ

Pestisitler sorun yaratan böcekler, mikroorganizmalar, hayvanlar ve yabancı otların ölmesini ya da davranışlarını değiştirmesini sağlayan biyolojik olarak aktif kimyasallardır. Pestisit olarak ilk kullanılan maddeler arsenik ve kükürttür. Böceklerle karşı savaşta pestisitlerin kullanımı 1940'lı yılların ortalarında başlamıştır. 1942 yılında da diklorodifeniltrikloroetan (DDT) hızla yaygın biçimde kullanılmaya başlamıştır, fakat farelerde kanserojen olduğu tespit edildikten sonra 1971 yılında Amerika' da yasaklanmıştır (1).

Bitki koruma amaçlı kullanılan tarım ilaçlarının tarla, bahçe ve ormanlardaki kullanımı sırasında ilaç zerreleri havaya, toprağa ve topraktan da sulara karışmaktadır. Bitkilerde kalıntı olarak kalan ilaç zerreleri ise besin zinciri ile hayvanlara ve insanlara geçmekte, ani zehirlenmelere ve kanser oluşumuna sebep olmaktadır. Hiç pestisit uygulaması yapılmayan kutuplarda ayı balığı ve eskimolarda DDT'nin varlığının tespiti, bu ilaçların sirkülasyonunun ne kadar güçlü olduğunu göstermektedir (2).

Organofosfatlar, dünyada yaklaşık 50 yıldır en çok kullanılan ve farklı çeşitleri olan tarım ilaçlarıdır. Organofosfatların tarım ürünlerinin korunmasında ve halk sağlığında kontrolsüz kullanılmaları ekolojik dengeyi bozmakta ve hedefte olmayan organizmaları kurban haline getirmektedir (3).

DDT gibi organoklorinli pestisitlerin ekosistemde birikerek sağlığı olumsuz etkilemesi ve ekolojik sisteme zarar vermesinden sonra kullanımlarının yasaklanması ya da sınırlandırılması sonucu organofosfatlar onların yerini almıştır (1).

Dünyada her yıl milyonlarca zehirlenme vakası olmakta ve bunlardan 220.000 tanesi ölümlle sonuçlanmaktadır. Bu zehirlenme vakalarının da yaklaşık % 99'u üçüncü dünya ülkelerinde gerçekleşmektedir (4).

Kazalar ve yanlış kullanımlar dışında pestisitler ile insanların teması; ilaç üretimi, taşıma, depolama, kullanma ve ilaç kalıntısı içeren ürünlerin tüketilmesi şeklinde olmaktadır. Bu etkileşim sonunda pestisit insan vücuduna ağız, deri ve solunum yolu ile girmektedir (2).

Organofosfatlı insektisitler, hem insanlarda hem de hayvanlarda merkezi sinir sistemini, kardiovasküler sistemi, ürogenital sistemi, metabolik ve endokrin sistemi ve nöromusküler kavşağı kolinesterazları inhibe ederek etkilemektedir (5). Asetilkolinesteraz enzimi nöromuskular impulsun iletilmesinin düzenlenmesinde anahtar bir role sahiptir (6).

Methidathion (S-[(2,3- dihydro-5- meth- oxy-2-oxo 1,2,3-thiadiazol-3(2H)- yl] 0,0-dimethyl phosphorodithioate) tarımda ve halk sağlığında en çok kullanılan organofosfatlı insektisitlerden birisidir (7). Methidathion, meyve ağaçlarının, üzüm asmalarının, fındık ve zeytin ağaçlarının, gül tarımının zararlı böceklerine karşı kullanılmaktadır (8). Özellikle Isparta bölgesinde elma ağaçlarının zararlı böceklerine karşı en çok kullanılan organofosfatlardan birisi methidathion'dur (9). Dolayısıyla bu bölgede yaşayan ya da elma tarımı ile uğraşan gebe kadınların methidathion'a maruz kalmaları ve özellikle solunum ile inhale etmeleri muhtemeldir. Çünkü organofosfatların solunum yollarından ve gastrointestinal mukozadan geçerek hızla absorbe edildiği ve lipofilik oldukları için de hızlı bir şekilde deriden de absorbe edildikleri tespit edilmiştir (10,11). Yapılan başka bir çalışmada organofosfatların plasentadan geçtiği de tespit edilmiştir (12). Bundan dolayı da methidathiona maruz kalan annelerin bebeklerinin de methidathion'dan etkilenmesi olasıdır.

Yaptığımız literatür taramalarında gebelikte methidathion'a maruz kalmış gebelerin yeni doğan yavrularında oluşabilecek patolojilerle ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Methidathion'un Isparta bölgesinde en çok kullanılan organofosfatlardan birisi olması, organofosfatların da solunum yollarından hızla absorbe edilmesinden dolayı methidathiondan en fazla etkilenecek organın akciğer olabileceğini düşündük.

Kafeik asit fenil ester (CAPE) bal arılarının propolislerinin aktif bir bileşenidir. CAPE'nin daha önceki çalışmalarda antioksidan, antikarsinojenik ve antiinflamatuvar etkileri tespit edilmiştir.(13,14)

Bu çalışmamızda gebelikte methidathiona maruz kalmış gebelerin yeni doğan yavrularının akciğerlerinde oluşabilecek patolojileri ve bu patolojilere CAPE'nin iyileştirici etkisini araştırmayı amaçladık.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2-1. Pestisitler

Tarım ürünlerine zarar veren her türlü organizmayı yok etmek amacıyla kullanılan kimyasal maddeler veya tarımsal savaş ilaçları pestisitler olarak tanımlanmıştır. Artan dünya nüfusuna karşın tarım alanlarının sınırlı olması tarımdan daha çok verim elde edilmesi zorunluluğunun ortaya çıkmasını, dolayısıyla tarım ilaçlarının kullanılmasını gündeme getirmiştir. Dünyada yılda 3 milyon ton tarım ilacı üretilmekte ve bunların % 29'unu insektisitler oluşturmaktadır. Türkiye'de 1999 yılı itibariyle 2000'e yakın ruhsatlı tarım ilacı vardır (15). 2000 yılında Türkiye'de 11.778.017 kg/lt insektisit kullanılmıştır (15).

Kullanılan bu ilaçlar hedefleri dışında çevreye yayılarak toprakta, suda, tohumlarda, meyve ve sebzelerde kalıntı bırakarak insan sağlığına zarar vermektedirler (2). Pestisitler etki ettikleri zararlılara göre şu şekilde sınıflandırılır (1).

İnsektisit:	böcek öldürücü
Fungusit:	mantar yok edici
Herbisit:	yabancı ot öldürücü
Mollusit:	yumuşakça öldürücü
Bakterisit:	bakteri öldürücü
Rodentisit:	fare ve rat öldürücü

Pestisitler kimyasal yapılarına göre ise şu şekilde sınıflandırılmıştır (1).

1. Organofosfatlar
2. N - Metil karbamatlar
3. Klorlu hidrokarbonlar
4. Bisditiyokarbamatlar
5. Organotinler
6. Botanik kökenli maddeler

7. Arsenikler
8. Fenoksialifatik asitler
9. Fenol türevleri
10. Mikrobialler

### **2-1.1. Organofosfatlar**

Organofosfatlar sinir gazına benzemektedirler ve toksik etkisini sinir kavşaklarında asetilkolineseraz enzimini inhibe ederek göstermektedir. Bu da kolinerjik aktivitenin artmasına neden olur (16). Asetilkolinesteraz sinaptik uçlarda asetilkolini parçalar ve sinir iletiminin düzenlenmesinde önemli rol oynar. Organofosfat toksitesinin biyolojik göstergesi kanda kolinesteraz seviyesinde azalmadır (17).

### **2-1.2. Organofosfatların Akut Toksik Etkileri**

Organofosfatlı insektisitlerle akut zehirlenmenin klinik bulguları şunlardır:

#### **1. Parasempatometik (muskarinik) belirtiler:**

Tükürük, göz yaşı ve burun ile bronş mukoza salgılarının aşırı derece artması, terleme, miyozis, ve akomodasyon spazmı, görme bozukluğu, konjunktivada konjesyon, bulantı, kusma, şiddetli ishal, idrar tutamama, bronkospazm, nefes darlığı, akciğer ödemi, bradikardi ve kan basıncı düşüklüğü (18).

#### **2. Çizgili kas belirtileri:**

Göz kapakları, yüz, dil, ekstremiteler kasları ve diğer kaslarda seğirme, istem dışı hareketler ve güçsüzlük ve ileri dönemde çizgili kas felci (18).

### **3. Santral Sinir Sistemi belirtileri:**

En önemlileri konfüzyon, ataksi, konuşma güçlüğü, reflekslerin bozulması, konvülsiyonlar ve komadır. Primer ölüm nedeni genelde solunum felcidir. Bu felç solunum merkezi ve solunum organlarının felcine bağlıdır. Akut olarak maruz kalındığında ölüm 5 dakika ile 24 saate kadar değişen bir süre içerisinde olur (18).

İn vivo ve in vitro deneysel çalışmalarda, akut ve kronik organofosfat uygulamalarının sonucu ortaya çıkan toksik etkilerin (hepatotoksisite, nörotoksisite, genetik toksisite, embryotoksisite, immünotoksisite) patogeneğinde organofosfatlı insektisitlerin yol açtığı oksidatif stresin sebep olduğu belirtilmiştir (19,20).

Yapılan çoğu çalışmalarda akut ve kronik olarak uygulanan organofosfatların damar duvarlarındaki kollajen ve elastik fibrillerde dejenerasyonlara sebep olduğu gösterilmiştir (21).

### **2-1.3. Organofosfatların Kronik Toksik Etkileri**

Yüksek doz organofosfatlarla zehirlenmelerin engelleyici ve sınırlayıcı akciğer disfonksiyonlarına sebep olduğu rapor edilmiştir. Yüksek doz organofosfata maruz kalınması respiratuar sistemde bronkokonstriksiyon, pulmoner ödem ve solunum kaslarında paraliziye neden olur (22, 23). Kısa dönem düşük doz organofosfat maruziyetinde ise göğüs ağrısı, öksürük, hırıltılı soluk alıp verme, solunumda zorluk, burun akıntısı ve boğazda tahriş gözlenmiştir (24). Yirmi yılı aşkın süredir laboratuvar hayvanları üzerinde yapılan deneysel çalışmalar organofosfatların antikolinerjik ve nonkolinerjik yollarla toksik etki yaparak immun sistemi baskıladığını göstermiştir (25). Ayrıca bu çalışmalarda immun sisteminin, organ ve dokularında histopatolojik değişikliklerin, hücresel patolojik değişikliklerin, maturasyon değişikliklerinin ve lenfatik sistemde değişikliklerin olduğu gösterilmiştir (26).

Pestisitlerin, immün sisteme toksik etkilerinden dolayı, özellikle çok kullanıldıkları bölgelerde uzun dönemde oluşabilecek sağlık riskleri kaygı vericidir (27). Bu sağlık risklerinin ise sürekli olarak düşük dozda organofosfatlara maruz kalınması ile insanlarda kronik kalp rahatsızlıkları, kardiyovasküler rahatsızlıklar, hipertansiyon, cilt hastalıkları veya kanser şeklinde oluşabileceği belirtilmiştir. Orta doz organofosfat etkisi gecikmiş nöropatiye akut zehirlenmelerdeki etkisi ise sürekli nörolojik özürülöklere sebep olur (28). Organofosfatların orta derecedeki çeşitli toksik etkileri iyi bilinmekte ise de, kolinerjik septom oluşturamayacak düşük dozlarının metabolik etkileri tam olarak bilinmemektedir. Düşük dozda veya indirekt olarak uzun dönem tarım ilaçlarına maruz kalınması klinik olarak anlaşılamayan fakat gittikçe artan metabolik etkilerle sağlığı olumsuz etkileyebilir (28).

Düşük doz organofosfatların akciğer fonksiyonlarına etkisini araştırmak için yapılan bir çalışmada organofosfatlı insektisitleri kullanan çiftçiler ve yakın bölgede yaşayan ve sadece çevreden etkilendiği düşünülen balıkçılar deney grupları olarak alınmış, kontrol grubu olarak ise uzak bölgede yaşayan ve hiç etkilendiği düşünülen balıkçılar değerlendirilmiştir. Tarım ilaçlarının kullanıldığı sezondan sonra asetilkolinesteraz seviyesinde çiftçilerde % 12.7 ve çevre şartlarından etkilendiği düşünülen deney grubunda ki balıkçılarda % 5.62 azalma tespit edilmiştir. Çalışmada işi gereği organofosfatlara maruz kalan kişilerde sınırlayıcı akciğer disfonksiyonları meydana geldiği fakat çevresel olarak maruz kalındığında klinik değişiklikler olmadan metabolik değişikliklerin oluştuğu tespit edilmiştir (29).

Handy ve ark.(27) yaptıkları çalışmada organofosfatlı insektisit olan diazinon (LD 1250 mg/kg) farelere 300 mg/kg dozunda, oral olarak 45 gün verilmiş. Çalışmanın sonucunda dalakta, timusta, kan hücrelerinde ve lenf nodlarında çeşitli histopatolojik değişikliklerin oluştuğu tespit edilmiştir. Bu histopatolojiler dalakta; parankimada atrofi, splenik kapsülde kalınlık, trabeküler nekrozis ve hemoraji, kırmızı ve beyaz pulpalarda hiperplazi, atrofi ve piknozis, kırmızı pulpalarda daha çok olmak üzere hemoraji olarak belirlendi. Thymus'da görülen patolojiler; kapsül rüptürü, inflamasyonu, kapsül ve parankimanın ayrılması, korteks ve medullada atrofi, hiperplazi ve piknozis, medullada makrofajlarda artma, venlerde hemoraji ve

hipertrofi olarak belirlenmiştir. Mesenterik lenf nodlarında görülen patolojiler; kapsül inflamasyonu, korteks ile medullada atrofi, hiperplazi ve piknozis, venlerde hemoraji görülmüştür. Kan hücrelerinde görülen patolojiler; Anormal şekilli kırmızı hücreler olarak belirlenmiştir.

Kalender ve ark.(30) yaptıkları çalışmada yetişkin erkek ratlara 10 mg/kg diazinon mısır yağında hazırlanarak günde tek doz olarak 7 hafta verilmiş. Çalışmanın sonucunda karaciğer dokusunda total protein ve albumin seviyesinde azalma, ALP (alkalin fosfataz), AST (aspartat aminotransferaz), ALT (alanin aminotransferaz) aktivitelerinde artma, mitokondrilerde şişme ve çekirdekte kromatin yoğunluğunun homojenliğinin bozulduğu tespit edilmiştir.

Gökçimen ve ark.(31) yaptıkları çalışmada 200mg/kg(%10-15 LD<sub>50</sub>) olarak uygulanan diazinon'un ratlarda pankreasda akut pankreatit oluşturduğunu, karaciğerde ise nekrotik alanlar oluşturduğunu ve karaciğerin normal histolojik yapısının net olarak gözlenmediğini tespit etmişlerdir.

Diazinon'un plazmada ki lipid bileşenlerine etkisini araştırmak için yapılan çalışmada ratlara LD<sub>50</sub> dozunun 1/2 si, 1/8 i ve 1/32 oranında diazinon oral olarak verilmiş. Çalışmanın sonucunda high-density lipoprotein kolesterol (HDL-C) ve fosfolipid seviyesinde önemli azalma, low-density lipoprotein kolesterol (LDL-C) seviyesinde ise önemli artma tespit edilmiştir. Lipid peroksidasyonunun artması organofosfatların toksik etkilerinin bir sonucu oluşmuştur (32).

Bir organofosfat olan kloryprifos'un karaciğer dokusuna olan toksik etkisini araştırmak için yapılan çalışmada antioksidan enzimlerden glutatyon peroksidaz ve katalaz aktivitelerinde önemli azalma tespit edilmiştir. Histolojik kesitlerde ise özellikle portal alanlarda belirgin olmak üzere perivasküler alanlarda artmış mononükleer ve polimorfonükleer hücreler gözlenmiştir. Bunun yanında portal alanlarda safra kanalı proliferasyonu, mast hücre hiperplazisi ve kollajen artışı gözlenmiştir. Bazı santral venlerin çevresinde karışık hücre infiltrasyonları, sinüzoidal dilatasyon ve bağ dokusu artışı gözlenmiştir (33).



Klorpyrifos'un nefrotoksik etkisini araştırmak için yapılan bir çalışmada deney grubundaki ratların böbrek dokusunda glomeruluslarda; hızlı hücre çoğalması, proksimal ve distal tübül epitelinde hidropik dejenerasyon ve lümenlerinin bazı kısımlarında glomerular sklerozis ve kistik ektazi tespit edilmiştir. Bowman kapsüllerinin büyüklüğünün minimum seviyede olduğu ayrıca çoğu damarlarda da tıkanık olduğu tespit edilmiştir (34).

#### **2-1.4. Organofosfatların Kanser Oluşumuna Etkisi**

Pestisit kullanımı ile akciğer kanseri arasındaki ilişkiyi incelemek için 1993-1997 yılları arasında 57 284 iftciye anket uygulanmıştır(35). Bunlardan 32 333 kişinin akciğer kanseri ile ilgili bir geçmişinin bulunmadığı tespit edilmiştir. Daha sonra bu iftciler 2001 yılı sonuna kadar takip edilmiş düşük sigara içme oranına rağmen iftcilerin genelinde % 0.44 oranında kanser vakası tespit edilmiştir. Amerika da en çok kullanılan organofosfatlardan olan diazinon ve klorpyrifos'a maruz kalan iftcilerde kansere yakalanma oranının daha fazla olduğu belirtilmiştir.

Diazinon'un muhtemel kanser riskini araştırmak için Amerika da 1993-1997 yılları arasında toplam 23 106 adet pestisit'e maruz kalan erkeğe anket uygulanmış ve bu kişilerden 4961 tanesinin diazinona maruz kaldığı tespit edilmiştir. Aralık 2002 de diazinon'a maruz kalan bu kişilerden 301 tanesinin kanser olduğu tespit edilmiştir. Her gün diazinon'a maruz kalınması akciğer kanseri ve lösemi oluşması riskini artırmaktadır (36).

### 2-1.5. Organofosfatların Gelişime Olan Etkisi

Gelişme döneminde organofosfatlı bileşiklerin kolinerjik fonksiyona etkisini araştırmak için tavuk embriyolarına Avrupa’da en fazla kullanılan organofosfatlı bileşiklerden olan diazinon, klorprifos, malathion ve phentoate uygulanmıştır. Çalışmada parametre olarak invitro deneylerde; hücre çoğalması ve hücre farklılaşması, in vivo deneylerde ise pre-gastrula embriyonun gelişim hızı, büyüklüğü, şekli ve nöral tüp, kalp, baş ve gözdeki gelişimsel anomoliler alınmıştır. Bu çalışmada döllenmiş tavuk yumurtalarının 38.5 °C de, nemi kontrol edilen ortamda 24-96 saat kuluçkada kalmaları sağlanmış daha sonra steril ortamda yumurtanın kabuğunda bir pencere açılarak disk yerleştirilmiştir. 15 mikrolitre olarak hazırlanan ilaçlar enjekte edilmiş, kontrol grubuna ise aynı miktar serum fizyolojik enjekte edilmiştir. Kuluçka döneminden sonra kontrol ve deney grubu embriyolarına morfolojik, histokimyasal ve immunohistokimyasal analizler yapılmıştır. Deneyin sonucunda; embriyonun etkilenmesinin doza ve zamana bağlı olarak değiştiği ve embriyonun erken dönemde maruz kalmasına bağlı olarak ilacın en ağır etkisini gösterdiği belirtilmiştir. Aynı dozun daha sonra gastrula safhasında ise ölümlere veya ağır anomolilere sebep olduğu belirtilmiştir. Diazinon, genel olarak etkisini yavaş gelişme ve doza bağlı olarak küçük embriyo gelişimi olarak göstermiştir. Gelişimin ileri safhalarında asetilkolinesteraz aktivitesinin kontrolünde doku ve organlarda anomoliler meydana gelmiştir. Bu anomoliler eksik veya tamamen gelişmeyen damarlar, somitler, tam gelişmeyen kalp ve baş olarak belirtilmiştir. Ayrıca organofosfatlı ilaçların embriyolarda “cardia bifida” oluşturduğu gözlenmiştir. Burada kalbin iki kısmının birbirleri ile bağlantılı olmadığı gözlenmiştir (37).

Başka bir çalışmada erken postnatal kloryprifos’a maruz kalan ratlarda lokomotor aktivitenin azaldığı tespit edilmiştir (38).

Gupta ve ark.(39) yaptıkları çalışmada gebeliğin 6-20. günlerinde organofosfat olan metilparathion’a gebe ratlar maruz bırakılmış, yavruların davranış ve beyin nöronlarının gelişimine olan etkisini araştırılmıştır. Çalışmada postnatal 28. günde yavruların beyin asetilkolinesteraz ve kolintransferaz seviyeleri ölçülmüş ve beyin

asetilkolinesteraz seviyesinde azalma kolintransferaz seviyesinde ise artma tespit edilmiştir. Ayrıca prenatal metilparathion maruziyetinin davranışlarda değişikliğe sebep olmadığı fakat lokomotor aktivitelere uyum sağlamayı ve işlevsel karışık davranışları gerçekleştirmei zayıflattığı belirtilmiştir.

Lassiter ve ark.(40) yaptıkları bir çalışmada gebeliğin 14-18. günlerinde 7mg/kg kloryprifos'a maruz kalan gebe ratların ve yavrularının beyin kolinesteraz seviyeleri araştırılmıştır. Bu çalışmada fetal ve maternal beyin kolinesteraz seviyelerindeki maksimum azalmanın doz verildikten sonra aynı saatte gerçekleştiği, fetal beyin kolinesteraz seviyesindeki azalmanın maternal kolinesteraz seviyesindeki azalmaya göre 4.7 kat daha az olduğu ayrıca fetal dokudaki detoksifikasyonun maternal dokudaki detoksifikasyondan çok daha yavaş olduğu tespit edilmiştir.

Chanda ve ark.(41) yaptıkları bir çalışmada gebeliğin 16. ve 20. günleri ile postnatal 3. günde ratlara tek doz 200 mg/kg kloryprifos verdiklerinde fetal beyin kolinesteraz seviyesinde % 42-44 oranında azalmanın olduğunu tespit etmişlerdir. Postnatal 3. günde ise fetal beyin kolinesteraz seviyesindeki azalmanın hala % 30 olduğu ifade edilmiştir. Gebelik döneminde kloryprifos'a maruz kalan ratların yavrularının nörotoksik etkiye maruz kaldığı ve fetus gelişimlerinin etkilendiği belirtilmiştir .

Organofosfatların insanlar üzerindeki direkt etkisini araştırmak için Amerika'da 230 hamile bayanda yapılan bir çalışmada teneffüs ettikleri havada 9 farklı pestisit tespit edilmiştir. Bunlardan 4 tanesinin de organofosfat olduğu bildirilmiştir. Bu organofosfatlar diazinon, kloryprifos, malathion ve metilparathion olarak tespit edilmiş ayrıca diazinon ve kloryprifos'un bütün hava örneklerinde olduğu belirtilmiştir. Doğumda göbek kordonundan alınan kan örneklerinde ise % 48-83 oranında 7 farklı pestisit belirlemişler bunlardan en fazla oranda olan iki tanesinin diazinon ve kloryprifos olduğu belirtilmiştir. Bu çalışma grubundaki hamilelerin yeni doğanlarının doğum ağırlıkları ve boyları ölçüldüğünde kordonun plazma seviyesindeki kloryprifos ve diazinon miktarının artmasıyla doğum ağırlıkları ve boy uzunluklarında azalma tespit edilmiştir (12).

Tian ve ark.(42) yaptıkları bir çalışmada hamileliğin 0. gününde anne ratlar kloryprifos'a maruz bırakılmıştır. Gebeliğin 3. gününde alınan embriyolarda hücre sayısında önemli oranda azalma ve mikronükleus sayısında artış tespit edilmiş ve bu durumun hücrelerde genetik zarar oluşturduğu ifade edilmiştir. Sonuç olarak maternal organofosfat maruziyeti ile hücre sayısında azalma ve mikronükleus sayısında artma oluşmakta ve embriyonun zarar gördüğü tespit edilmiştir.

Başka bir çalışmada ise hamileliğin 6-15. günlerinde 25 mg/kg organofosfatlı kloryprifos'a maruz kalan anne ratların yavrularında fetal ölümler ile erken rezorbsiyonda artma, yaşayan yavrularda ise küçük oranda iskelet varyasyonları ve fetal ağırlık ile boy uzunluğunda azalma gözlenmiştir. Ayrıca anne ratlarda maternal etki etki olarak kilo azalması tespit edilmiştir(43).

Gebeliğin 10. gününde 80 mg/kg kloryprifos'a maruz kalan farelerin yavrularında yaşayan fetus sayısında azalma, rezorbsiyon sayısında artma, yarık damak, torasik vertebra yokluğu, kaudal vertebra sayısında azalma tespit edilmiştir (44).

Yaptığımız literatür taramalarında çalışmamızda kullandığımız methidathion'un embriyonal ve fetal gelişime etkilerini araştıran herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

## **2-1.6. Organofosfatların İnsan Yiyeceklerindeki Kalıntıları**

2002 yılında Amerika da yaşları 2-5 arasında değişen farklı eyaletlerde yaşayan 13 çocuğun içeriği aynı olan diyetleri üzerinde yapılan analizler sonunda 10 çocuğun diyetinde birisi de methidathion olmak üzere 6 farklı organofosfat tespit edilmiştir (45).

İtalya'da en çok kullanılan organofosfatların çiğ sütlerle olan kontaminasyonunu ölçmek için yapılan çalışmada ilkbahar-yaz ve sonbahar-kış dönemlerinde toplanan 135 çiğ süt örneğinden 37 sinde kalıntı tespit edilmiş ve bunların 10 tanesinde 5 ile 18 mikrogram/kg arasında değişen organofosfat tespit edilmiştir. Kalıntıların en yüksek olduğu dönem ise sonbahar-kış dönemi olduğu ve bunun sebebinin ise yazın tarım ilacı yapılan bitkilerin kış döneminde ineklere yedirilmesi olarak belirtilmiştir (46).

Portekiz ve İspanya'daki marketlerde satılan ballardaki pestisit kalıntılarını ölçmek için yapılan çalışmada 2002 yılında 50 örnek değerlendirilmiştir. Örneklerin % 4'ünde methidathion olmak üzere % 22 sinde organofosfat kalıntısı tespit edilmiştir (47).

İspanyadaki meyvelerde pestisit kalıntılarını tespit etmek için yapılan çalışmada 200 örnek değerlendirilmiştir. Meyvelerin % 32.2'sinin pestisit kalıntısı içerdiği ve bunlardan % 6.9'unun Avrupa birliğinin kabul ettiği maksimum seviyeden daha fazla olduğu belirtilmiştir (48).

## 2-2. Methidathion (MD)

MD (S-[(2,3- dihydro-5- meth- oxy-2-oxo 1,2,3-thiadiazol-3(2H)- yl] 0,0-dimethyl phosphorodithioate ) organofosfat bir insektisittir.

MD meyve ağaçlarının, üzüm asmalarının, fındık ve zeytin ağaçlarının zararlı böceklerine karşı kullanılmaktadır. Özellikle Isparta bölgesinde elma ağaçlarının zararlı böceklerine karşı en çok kullanılan organofosfatlardan birisidir(9). Dolayısıyla bu bölgede yaşayan ya da elma tarımı ile uğraşan hamile kadınların methidathion'a maruz kalmaları muhtemeldir. Bu maruziyet, direk inhalasyonla, yiyecek ve içeceklerdeki kalıntılarla veya deri yoluyla olabilmektedir.

MD ile yapılan deneysel rat çalışmalarında MD'un zararlı etkileri tespit edilmiştir. MD'un erişkin rat böbrek dokusunda oluşturduğu toksik etkisini araştırmak için yapılan bir çalışmada; dokuda asetilkolinesteraz aktivitesinde önemli derecede azalma ve malondialdehit (MDA) seviyesinde ise önemli artma tespit edilmiştir. Aynı çalışmanın histopatolojik incelemesinde glomerular sklerozis, damarlarda tıkanıklık, fibrosis ve tübüler nekrosis'in oldukça fazla olduğu, ayrıca proksimal ve distal tübüllerin epitel hücrelerinde dejenerasyon ile bağ dokuda mononükleer hücre infiltrasyonları gözlenmiştir (49).

Yapılan başka bir çalışmada MD'un karaciğerde parankim dokusunda mononükleer infiltrasyon, hücrede ise nekrotik alanlar, sinusoidal dilatasyon, granüler dejenerasyon ve piknotik çekirdek tespit edilmiştir (50).

Methidathion'un lipid peroksidasyonuna ve bazı karaciğer enzimlerine etkisini araştırmak için yapılan başka bir çalışmada ise MD'nin karaciğer dokusunda lipid peroksidasyonunun artmasına ve asetilkolinesteraz (ChE) aktivitesinin azalmasına sebep olduğu tespit edilmiştir. MD'nin karaciğer enzimlerinde ise AST, ALP, glutamyltransferaz (GGT) ve laktat dehidrogenaz (LDH) aktivasyonlarında artmaya ve ALT aktivitesinde ise azalma sebep olduğu tespit edilmiştir (51).

Methidathion'un damar duvarlarına olan zararlı etkilerini araştırmak için yapılan bir çalışmada ise aort dokusunda malondialdehit (MDA) seviyesinde artma tespit edilmiştir. Torakal aort dokusunun histopatolojik incelemelerinde ise aort duvarının orta kısmında elastik fibrillerde düzensiz kırılmalar ve ayrıca dağınık vakulasyon tespit edilmiştir. Aort lümeninin çapında ise önemli oranda artma tespit edilmiştir (52).

İtalya da intihar amacı ile 50 yaşındaki bir kadın yaklaşık 6.2 gr methidathion'u vücuduna enjekte etmiş ve akut zehirlenme oluşmuştur. Sonuçta methidathion'un plazmada 6 gün, idrar da 7 gün, mide sıvısında 8 gün kaldığı ve yağ biopsisinde tamamen kaybolmasının 10 gün sürdüğü belirtilmiştir (53).

Yapılan başka bir çalışmada pestisitlerin yetişkin ve genç ratlar üzerindeki akut toksik etkileri araştırılmıştır. Yapılan bu çalışmada methidathion'un genç ratlara daha toksik olduğu bildirilmiştir (54).

### **2-3. CAPE**

Propolis bal arılarının bitkilerden topladığı ve kendilerini zararlı bakteri, virüs ve mantarlara karşı korudukları bitki reçinesidir (55). Propolisin antimikrobial, antioksidant, antiviral ve antiinflamatuvar özellikleri ve thymus aktivitesi ile bağışıklık sistemini harekete geçiren özellikleri bilinmektedir (56,57,58).

CAPE ise propolislerin aktif bir bileşenidir ve CAPE'nin antioksidant, antiviral, antiinflamatuvar, antimikrobial ve antikarsinojenik etkileri bilinmektedir (59).

CAPE ve propolisin böbrek, akciğer ve meme kanserine karşı antikanserojen özellikleri vardır. Rat kolon kanserine propolis ve CAPE'nin etkisini araştırmak için yapılan çalışmada propolis etkili olmadığı ancak CAPE'nin önemli oranda tümör formasyonunu azalttığı tespit edilmiştir (55).

Lityum verilen ratların böbreklerinde meydana gelen renal tubuler hasar ile oksidatif stresi ve Gentamicin verilen ratlarda oluşan akut renal toksiteyi CAPE'nin azalttığı rat deneyleri ile tespit edilmiştir (59,60).

Lityum verilen ratlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada lityum'un rat akciğerlerinde MDA seviyesinde artma ve histopatolojik olarak peribronşial ve intraparankimal mononükleer hücre infiltrasyonları meydana getirdiği, oluşan bu toksik etkileri CAPE'nin azalttığı bildirilmiştir (61).

CAPE'nin rat özafagusunda yaralanma sonucu oluşan yanmalara etkisini araştırmak için yapılan bir çalışmada 28 gün 10 mikromol/kg/gün CAPE uygulanması ile oluşan histopatolojik değişliklerde azalma tespit edilmiştir (62).

Soğuk uygulaması ile çevresel stres oluşturulan dişi ratların karaciğerlerinde oluşan nekroz, hepatik dejenerasyon, sinusoidal dilatasyon, hemoraji ve vaskuler konjesyon gibi değişlikleri CAPE'nin önemli oranda azalttığı tespit edilmiştir (63).

Karaciğerde sigaranın oluşturduğu biyokimyasal ve histopatolojik zararlara CAPE'nin koruyucu etkisini araştırmak için yapılan bir çalışmada sadece sigaraya maruz kalan ratlarda oluşan ALT, AST, total bilirubin, superoksid dismutaz (SOD), GSH-Px ve MDA seviyelerinde önemli oranda artma ve ışık mikroskopundaki incelemelerde tespit edilen mononkler hücre infiltrasyonlarını, sinusoidlerdeki genişlemeyi ve hiperkromatik nükleus oluşumunu CAPE'nin önemli oranda azalttığı tespit edilmiştir (64).

Mollaoğlu ve ark.(65) yaptıkları çalışmada kadmiyum'un ratlarda oluşturduğu yüksek tansiyonu ve kalp zayıflamasını CAPE'nin önemli oranda azalttığı tespit edilmiştir.

zyurt ve ark.(66) yaptıkları bir çalışmada ratlarda akciğer dokusunda bleomycin ile pulmoner fibrosis oluşturulmuş ve bu ratlara 10mikromol/kg CAPE intraperitoneal olarak verilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda CAPE'nin akciğerde oluşan fibrosisi önemli oranda azalttığı tespit edilmiştir.

Yılmaz ve ark.(67) yaptıkları çalışmada diyabetik ratların karaciğerinde lipid peroksidasyonuna (LPO) ve antioksidan enzim seviyelerine CAPE'nin etkisi araştırılmıştır. Bu alışmada CAPE verilen diyabetik ratların karaciğerinde verilmeyen diyabetik ratlara oranla SOD ve katalaz aktivitelerinde azalma tespit edilmiştir. Ayrıca CAPE'nin LPO'yu azalttığı bildirilmiştir.



### 3. MATERYAL VE METOT

Çalışmamızda Süleyman Demirel Üniversitesi hayvan laboratuvarından alınan 50 adet (ağırlıkları 140-200 gr) dişi rat kullanıldı. Çalışma için Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul onayı alındı (Tarih: 14/12/2005, Karar no: 12/09). Dişi ratlar rastgele her grupta 10 rat olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. Öncelikle dişi ratların gebe kalmaları için her kafese bir erkek ve bir dişi rat bir gece konuldu. Daha sonra erkek ratlar alınarak gebeliğin ilk günü kabul edildi. Her gruptaki 10 rattan gebe kalanlar çalışmaya dahil edildi, gebe kalmayanlar deneyden çıkarıldı. Ratlar laboratuvar ortamında istedikleri zaman ulaşabilecekleri rat yemi ve çeşme suyu ile beslendiler.

#### 3-1. Deney Grupları

Grup 1: Kontrol grubu (n:10)

Grup 2: Gebeliğin ilk 7 gününde Methidathion verilen grup (n:10)

Grup 3: Gebeliğin ilk 7 gününde Methidathion + CAPE verilen grup (n:10)

Grup 4: Gebeliğin son 7 gününde Methidathion verilen grup (n:10)

Grup 5: Gebeliğin son 7 gününde Methidathion + CAPE verilen grup (n:10)

Grup 1'e (kontrol grubuna) gebeliğin ilk ve son 7 günü 5 mg/kg/gün oral gavaj ile mısır yağı verildi,

Grup 2'ye gebeliğin ilk 7 gününde 5 mg/kg/gün methidathion oral gavaj ile verildi. MD mısır yağı içerisinde çözülerek kullanıldı (11,23).

Grup 3'e gebeliğin ilk 7 gününde 5 mg/kg /gün MD oral gavaj + 10 mikromol/kg CAPE intraperitoneal olarak verildi (65,70).

Grup 4'e gebeliğin son 7 gününde 5mg/kg/gün MD oral gavaj ile verildi.

Grup 5'e gebeliğin son 7 gününde 5 mg/kg/gün MD oral gavaj + 10 mikromol/kg CAPE intraperitoneal verildi.

Deney grupları ve deney planı Tablo 1'de özetlenmiştir:

**Tablo 1.** Deney planı.

Deney grupları	Gebe rat sayısı	Verilen ilaçlar ve dozları	Süre
I	4	5 mg/kg/gün mısır yağı	İlk ve son 7 gün
II	8	5mg/kg/gün Methidathion	İlk 7 gün
III	5	5mg/kg Methidathion 10 mikromol/kg CAPE	İlk 7 gün
IV	6	5mg/kg/gün Methidathion	Son 7 gün
V	5	5mg/kg Methidathion 10 mikromol/kg CAPE	Son 7 gün

Methidathion için  $LD_{50} = 32$  mg/kg

Gebe ratların hamilelik süresince aldıkları kiloları belirlemek için ratlar gebeliğin 1.- 7.-14. ve 20. günlerinde tartıldı. Gebe ratlar gebeliğin 21. ve 22. günlerinde doğum yaptılar. Yenidoğan yavruların ağırlıkları alındı ve yavrular makroskopik olarak incelendi. Yenidoğan yavrular doğduktan 3 gün sonraya kadar bekletildi. Sonra doğum yapan her bir rattan yavru sayısı 5 ten fazla olanlardan 5 yavru, 5'ten az olanlardan ise yavruların hepsi dekapite edildi. Dekapite edilen yavrular diseke edilerek akciğerleri çıkarıldı ve fiksasyon için % 10'luk formaldehit içerisine konuldu. Sonra değerlendirme için sistematik rastgele yöntemle her gruba ait 10'ar tane yavru rat seçildi. Seçilen yavruların akciğerlerine rutin histolojik doku takibi sonrası parafin bloklama yapıldı. Bloklardan 4µm'lik kesitler alındı. Hemotoksilen – Eozin ile boyandı. Daha sonra preperatlarda oluşan histopatolojik değişiklikler ışık mikroskopunda (Nicon microscope eclipse E600W, Tokyo, Japan) incelendi ve dijital kamera (Microscope Digitale Camera DP70, Tokyo, Japan) ile fotoğrafları çekildi.

Daha sonra her preparat daha önceki literatürlerde (61,68) yayınlanan skorlama metoduna göre bu değişikliklerin preparattaki dağılımının derecesi 0 ile 3 arasında ve yoğunluğunun derecesi 0 ile 3 arasında (0= değişiklik yok, 1= minimum derecede, 2= orta derecede, 3= yüksek derecede) skorlandı. Sonra bu 2 değer toplanarak bir preparatta oluşan patolojilerin seviyesi 0- 6 arasında belirlendi.

Buna göre:

- 0 -Değişiklik yok
- 1- Minimum seviyede değişiklik
- 2- Düşük seviyede değişiklik
- 3- Orta seviyede değişiklik
- 4- Şiddetli seviyede değişiklik
- 5- Yoğun seviyede değişiklik
- 6- Çok yoğun seviyede değişiklik

olarak değerlendirildi.

### **3-2. İstatistiksel Analiz**

Preperatlarda oluşan patolojilerin istatistiksel değerlendirmeleri için 'SPSS 10.0 For Windows' paket programı kullanıldı. Genel olarak gruplar arasında anlamlı bir fark olup olmadığını belirlemek için Kruskal-Wallis varyans analiz testi ve grupların ikişerli karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Sonuçlar, ortalama  $\pm$  SS olarak verildi. İstatistiksel olarak  $P < 0,05$  anlamlı kabul edildi. Gebe ratların hamilelik döneminde aldıkları kiloları değerlendirmek için One Way Anova testi uygulandı. Ayrıca doğan yavru sayıları ile yavruların ortalama ağırlıklarını değerlendirmek için ise One Way Anova testi kullanıldı.

## 4. BULGULAR

Gebe ratlarda gebelik esnasında methidathion verildikten 1 - 2 dakika sonra yaygın titreme, titremeden sonra hareketsizlik gözlemlendi. Ayrıca gebelik esnasında grup 2, 3, 4 ve 5' teki ratların bir kısmı öldü (Tablo 2). Grup 2'deki 8 gebe rattan 4 tanesi (gebeliğin 4.-5.- ve 6. günlerinde) öldü. Grup 3'teki 5 gebe rattan 2 tanesi (gebeliğin 5. ve -6.- günlerinde) öldü. Grup 4'teki 6 gebe rattan 3 tanesi (gebeliğin 18.-19. ve 20. günlerinde) öldü. Grup 5'teki 5 gebe rattan ise 1 tanesi (gebeliğin 20. gününde) öldü. Ölen gebe ratların uterusları açıldığında bütün yavruların intrauterin öldüğü tespit edildi.

**Tablo 2.** Gebelik dönemi sonrasında gruplardaki doğum yapan ratlar, ölen ratlar ve yavru rat sayıları.

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
Hamile kalan rat sayısı	4	8	5	6	5
Doğum yapan rat sayısı	4	4	3	3	4
Gebelik döneminde ölen rat sayısı	0	4	2	3	1
Doğan yavru sayısı	38	26	27	20	26
Yavruların ortalama ağırlıkları	5,8 gr	5,6 gr	5,9gr	4,7 gr	5,3gr

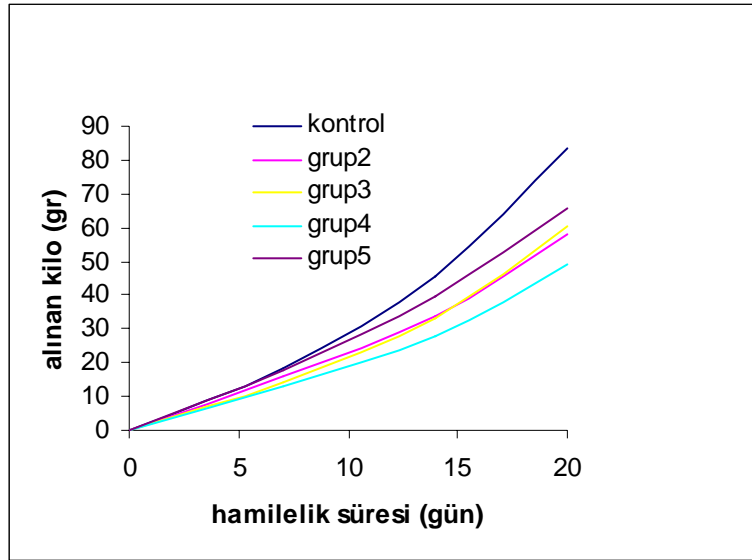
Gebe ratların gebelik süreleri arasında kontrol grubu ile deney grupları arasında herhangi bir fark tespit edilmedi. Gebe ratların hepsi gebeliğin 21. ile 22. günde doğum yaptılar. Gebe ratların hamilelik süresinde aldıkları kiloların gruplar arasında değerlendirilmesi sonucu elde edilen veriler Tablo 3'de gösterilmiştir.

**Tablo 3.** Gebe ratların gebelik dönemi sonunda aldıkları kiloların ortalamaları.

Gruplar	Ortalamalar Gr± SS	P<0,05*	N
1	83,25±11,3	2, 3, 4, 5	4
2	57,75±8,1	1	4
3	60,33±2,0	1	3
4	49,33±11,5	1, 5	3
5	66,00±9,4	1, 4	4

\* Farklı olan gruplar

Deney grubundaki gebe ratların gebelik sonunda aldıkları kiloların ortalamasının kontrol grubundaki gebe ratların hamilelik sonunda aldıkları kiloların ortalamasından önemli derecede düşük olduğu tespit edildi.

**Şekil 1.** Gebe ratların hamilelik dönemindeki kilo alımı.

Gebelik sonunda anne ratlardan doğan yavruların ağırlıklarının ortalamalarının gruplar arası karşılaştırılması sonucunda elde edilen veriler Tablo 4’de verilmiştir.

**Tablo 4.** Yavruların ağırlıklarının ortalamaları.

<b>Gruplar</b>	<b>Ortalamalar Gr ±SS</b>	<b>P&lt;0,05*</b>	<b>N</b>
1	5,88± 0,72	4,5	38
2	5,67±0,50	4	26
3	5,91±0,45	4,5	27
4	4,70±0,61	1,2,3,5	20
5	5,34±0,75	1,3,4	26
<b>Toplam</b>			<b>137</b>

\* Farklı olan gruplar

Gebeliğin sonunda anne ratlardan doğan yavru sayıları ve yavruların ortalama ağırlıklarının deney grupları arasında karşılaştırılmasında Grup 4 ve Grup 5’te ki yavruların ortalama ağırlıklarının kontrol grubundaki yavruların ortalama ağırlıklarından önemli derecede düşük olduğu tespit edildi. Grup 4 ile Grup 5 kendi aralarında değerlendirildiğinde Grup 5’teki yavruların ortalama ağırlıklarının Grup 4’ten fazla olduğu saptandı. Ayrıca Grup 4’teki yavruların ortalama ağırlıklarının bütün grupların ortalama ağırlıklarından daha az olduğu gözlemlendi. Grup 2 ve Grup 3’teki yavruların ortalama ağırlıklarının kontrol grubu ile değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemedi.

Daha sonra yenidoğan yavrular makroskopik olarak incelendi ve herhangi bir anomali yada patolojiye rastlanmadı. Çalışma için ayrılan yani yavru sayısı 5’ten fazla olanlardan 5 yavru, 5’ten az olanların ise bütün yavrular 3. günde dekapite edildi ve akciğerleri diseke edilerek %10’luk formaldehit içerisinde alındı. Deney grubu akciğerleri patolojik olarak incelendiğinde yer yer kanamalı odaklar gözlemlendi.

Seçilen ratların akciğerlerine rutin doku takip çalışmaları uygulandı ve kesitler alındı. Bu kesitler histopatolojik olarak ışık mikroskopu ile değerlendirildi. Değerlendirmeler sonucunda akciğer dokusunda şu patolojiler tespit edildi:

**1- Peribronşial inflamasyon**

**2- Alveolar ve bronşolar hemoraji**

**3- Intraparankimal vasküler konjesyon ve tromboz**

**4- Alveolar destrüksiyon**

**5- Intraparankimal infiltrasyon**

Tespit edilen söz konusu bu patolojilerin seviyeleri Tablo 5, 6, 7, 8 ve 9'da verilmiştir. Ayrıca kontrol ve deney gruplarına ait preparatlardan çekilen fotoğraflar Şekil 2, 3, 4, 5, 6'da sunulmuştur.

**Tablo 5.** Preparatlarda oluşan **peribronşial inflamasyon** seviyelerinin skorları.

<b>Peribronşial inflamasyon</b>	<b>Grup 1</b>	<b>Grup 2</b>	<b>Grup 3</b>	<b>Grup 4</b>	<b>Grup 5</b>
1. yavru	0	3	2	2	2
2. yavru	0	3	0	3	0
3. yavru	0	2	0	3	2
4. yavru	0	3	0	2	0
5. yavru	0	3	0	3	2
6. yavru	2	3	2	3	0
7. yavru	0	2	0	3	2
8. yavru	0	2	2	3	2
9. yavru	0	2	2	2	2
10. yavru	0	3	2	3	2

**Tablo 6.** Preperatlarda oluşan **Alveolar ve bronşial hemoraji** seviyelerinin skorları.

<b>Alveolar ve bronşial hemoraji</b>	<b>Grup 1</b>	<b>Grup 2</b>	<b>Grup 3</b>	<b>Grup 4</b>	<b>Grup 5</b>
1. yavru	0	5	0	5	2
2. yavru	0	6	0	6	2
3. yavru	0	3	2	5	3
4. yavru	0	4	0	6	2
5. yavru	0	5	0	5	2
6. yavru	0	4	2	6	3
7. yavru	0	5	0	5	2
8. yavru	0	4	2	6	3
9. yavru	0	4	3	5	2
10. yavru	0	5	2	5	2

**Tablo 7.** Preperatlarda oluşan **Intraparankimal vasküler konjesyon ve trombozis** seviyelerinin skorları.

<b>Intraparankimal vasküler konjesyon ve trombozis</b>	<b>Grup 1</b>	<b>Grup 2</b>	<b>Grup 3</b>	<b>Grup 4</b>	<b>Grup 5</b>
1. yavru	0	3	0	2	2
2. yavru	1	3	0	3	0
3. yavru	0	2	0	3	2
4. yavru	0	3	0	2	0
5. yavru	0	3	0	3	2
6. yavru	0	3	0	3	0
7. yavru	0	2	0	3	2
8. yavru	1	3	2	3	2
9. yavru	0	3	0	3	0
10. yavru	0	2	0	3	0

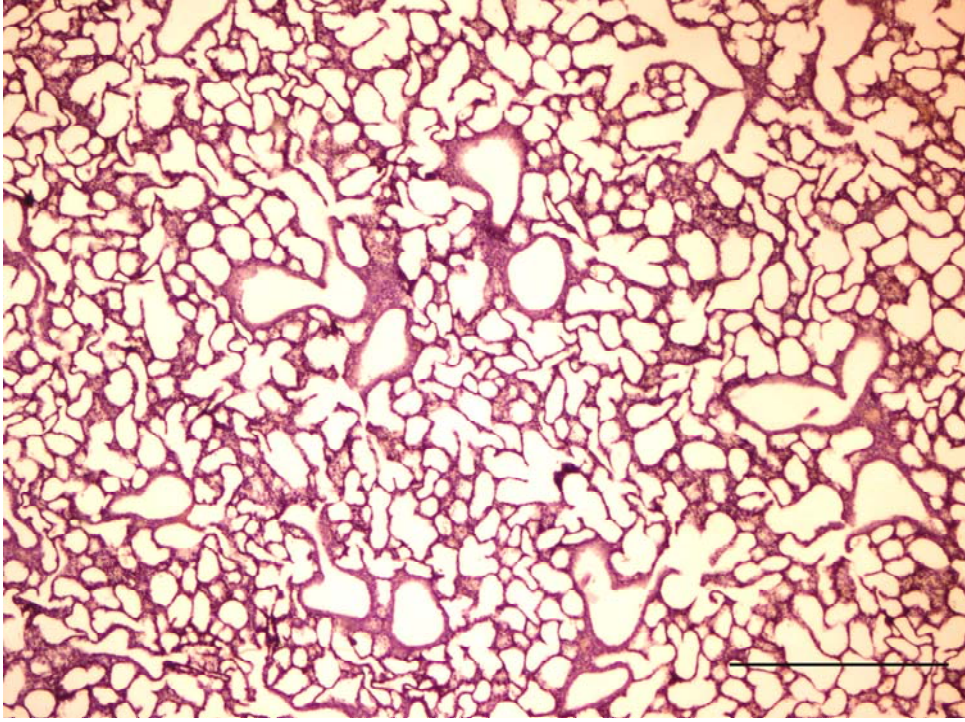


**Tablo 8.** Preperatlarda oluşan **alveolar destrüksiyon** seviyelerinin skorları.

<b>Alveolar destrüksiyon</b>	<b>Grup 1</b>	<b>Grup 2</b>	<b>Grup 3</b>	<b>Grup 4</b>	<b>Grup 5</b>
1. yavru	0	3	2	3	2
2. yavru	0	3	0	3	0
3. yavru	0	2	0	2	2
4. yavru	0	3	0	3	0
5. yavru	0	2	0	3	2
6. yavru	0	3	2	3	0
7. yavru	0	2	0	3	0
8. yavru	0	2	0	3	2
9. yavru	0	2	0	3	0
10. yavru	0	3	2	3	0

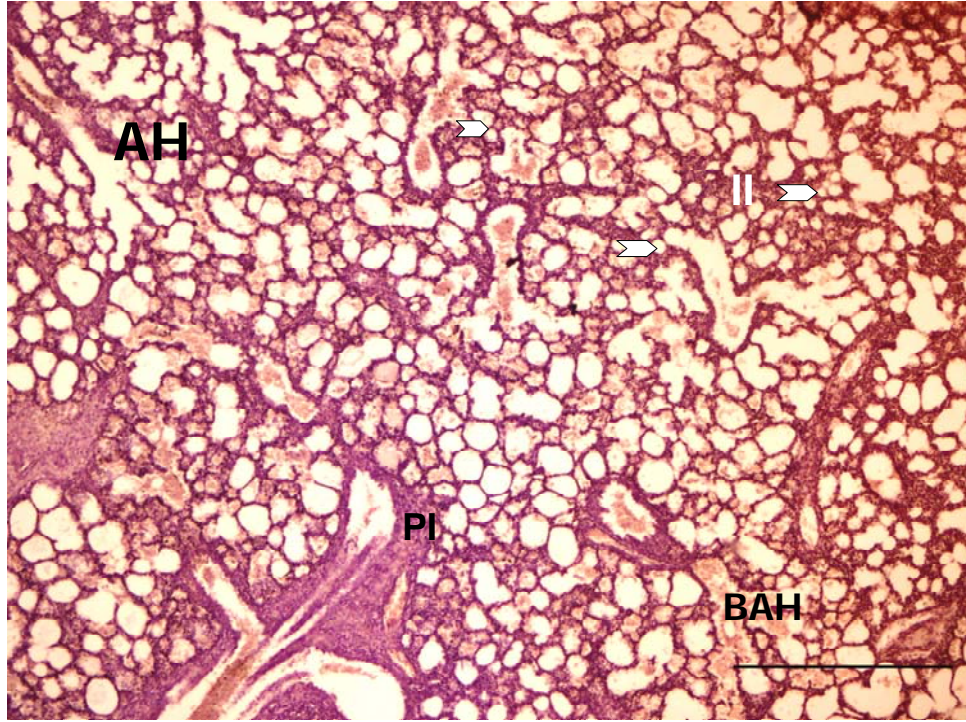
**Tablo 9.** Preperatlarda oluşan **intraparankimal infiltrasyon** seviyelerinin skorları.

<b>Intraparankimal infiltrasyon</b>	<b>Grup 1</b>	<b>Grup 2</b>	<b>Grup 3</b>	<b>Grup 4</b>	<b>Grup 5</b>
1. yavru	0	3	2	3	2
2. yavru	0	3	0	3	2
3. yavru	2	2	0	2	0
4. yavru	0	3	0	3	0
5. yavru	0	2	0	3	2
6. yavru	0	3	2	3	0
7. yavru	0	3	2	3	2
8. yavru	0	3	0	3	2
9. yavru	0	2	0	3	0
10. yavru	0	3	2	3	2



**Şekil 2.**

Grup 1: Kontrol grubu normal akciğer dokusu (H&E, x 4).



**Şekil 3.**

Grup 2: Gebeliğin ilk 7 gününde Methidathion verilen gruba ait akciğer dokusu (H&E, x 4).

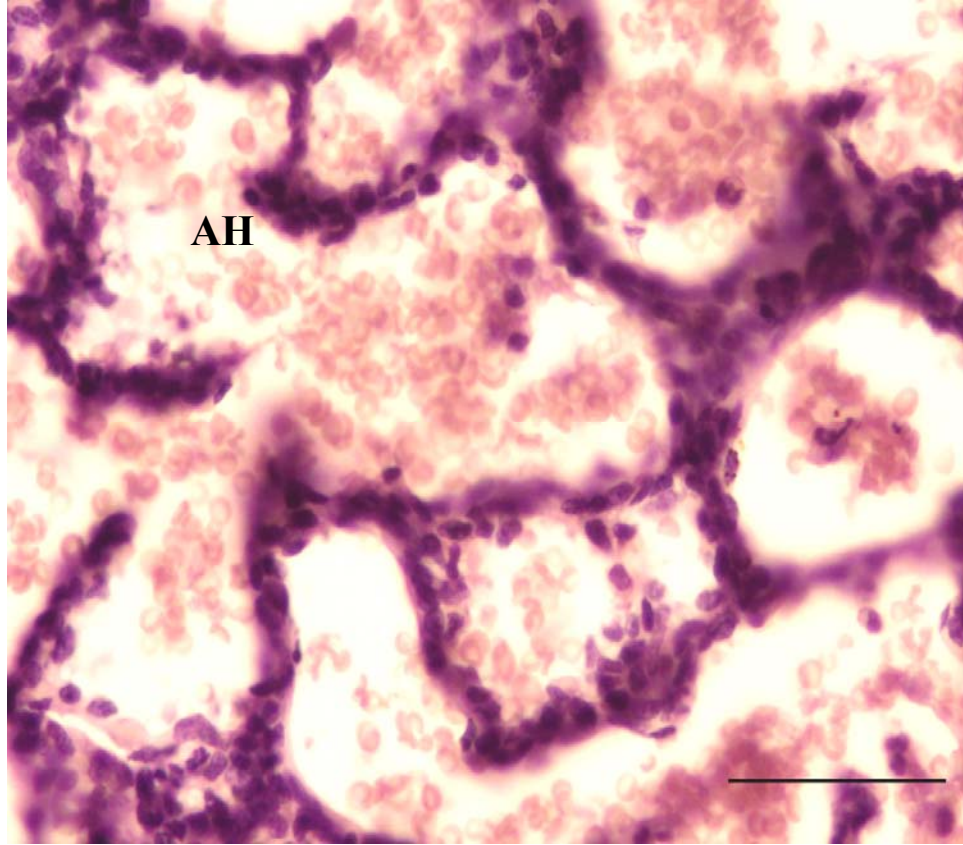
PI: Peribronşial inflamasyon,

II: Intraparankimal infiltrasyon,

Beyaz oklar: Alveolar destrüksiyon,

BAH: Bronkoalveolar hemoraji,

AH: Alveolar hemoraji

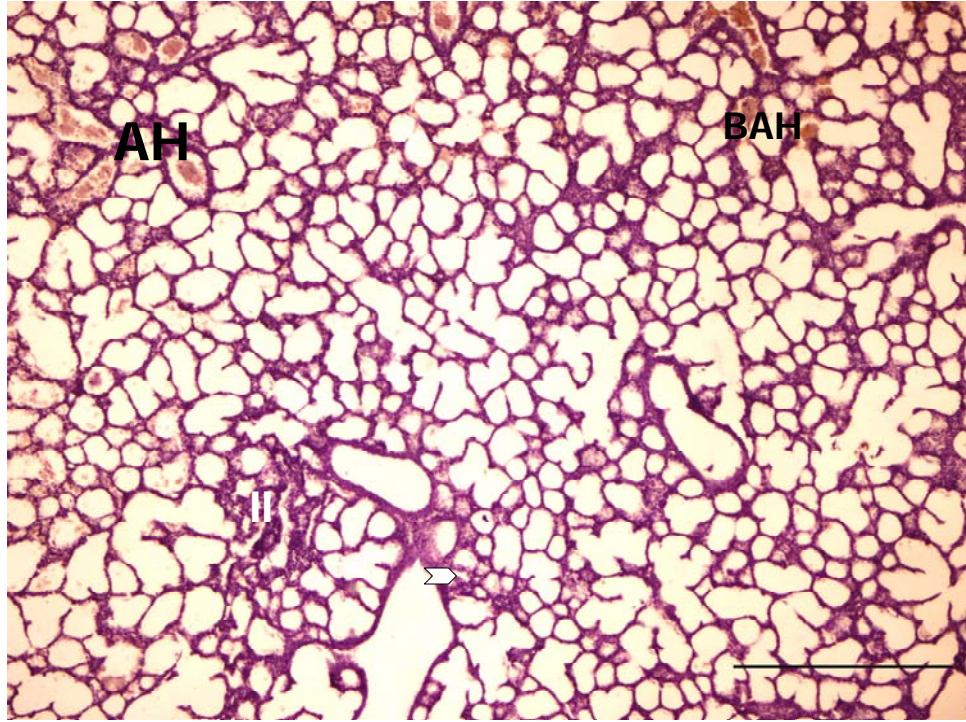


**Şekil 4.**

Grup 2: Gebeliğin ilk 7 gününde Methidathion verilen gruba ait alveolar hemorajiyi gösteren resim (Şekil 3'ün büyütülmüş hali) (H&E, x40).

AH: Alveolar hemoraji

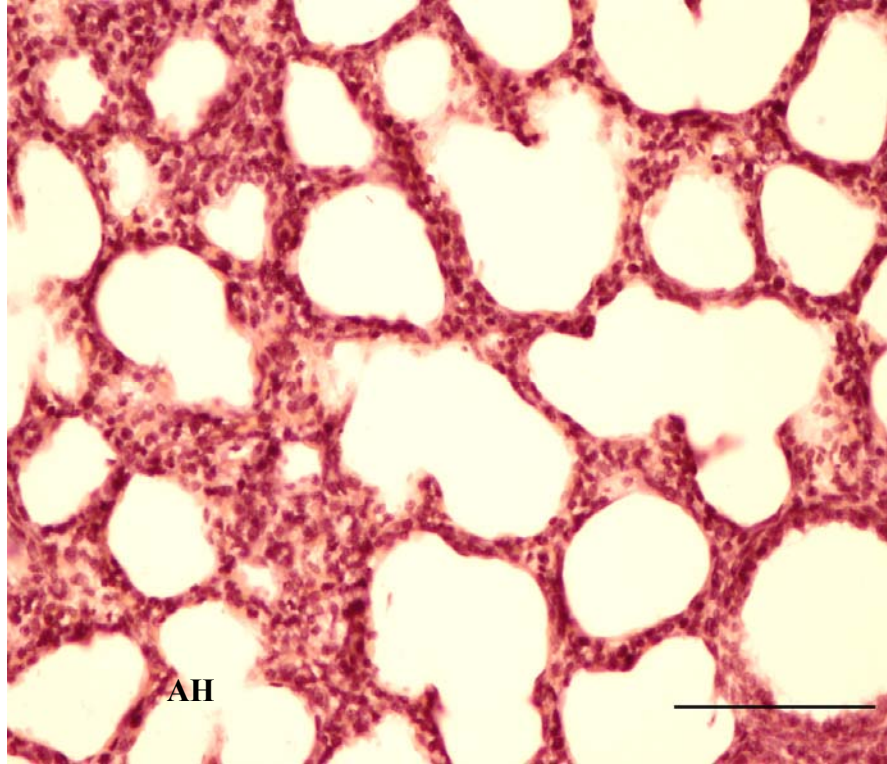




**Şekil 5.**

Grup 3: Gebeliğin ilk 7 gününde Methidathion + CAPE verilen gruba ait akciğer dokusu (H&E, x4). Şekil 4 teki histopatolojik bulguların burada azaldığı gözlenmektedir.

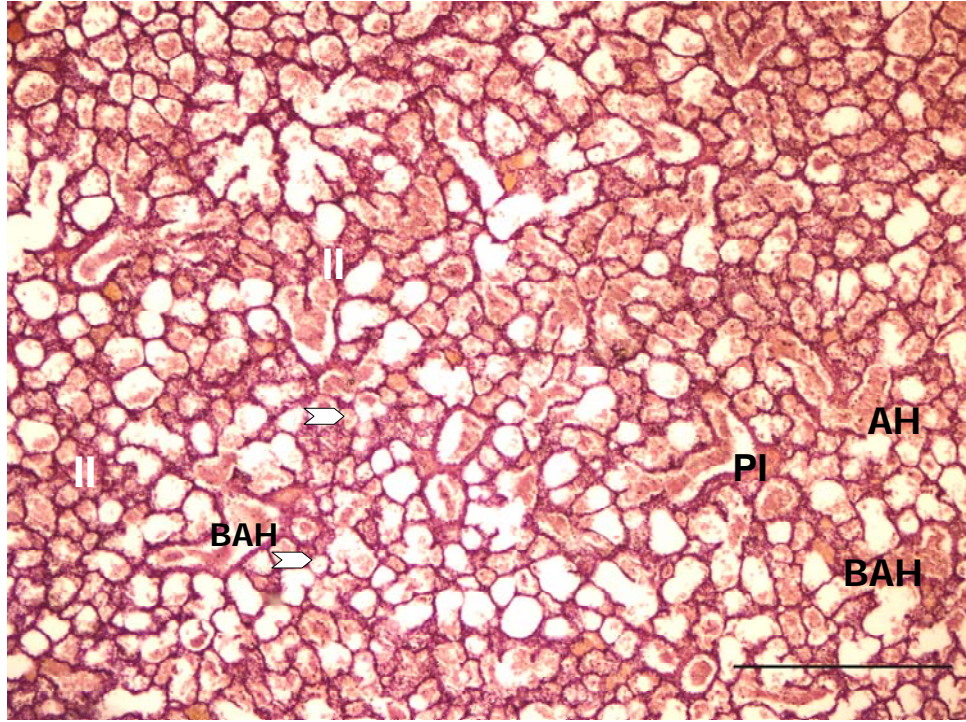
II: Intraparankimal infiltrasyon,  
Beyaz oklar: Alveolar destrüksiyon,  
BAH: Bronkoalveolar hemoraji,  
AH: Alveolar hemoraji



**Şekil 6.**

Grup 3: Gebeliğin ilk 7 gününde Methidathion + CAPE verilen gruba ait akciğer dokusu (şekil 5' in büyütülmüş hali) (H&E,x 20).

AH: Alveolar hemoraji



**Şekil 7.**

Grup 4: Gebeliğin son 7 gününde Methidathion verilen gruba ait akciğer dokusu (H&E, x4).

II: İntraparankimal infiltrasyon

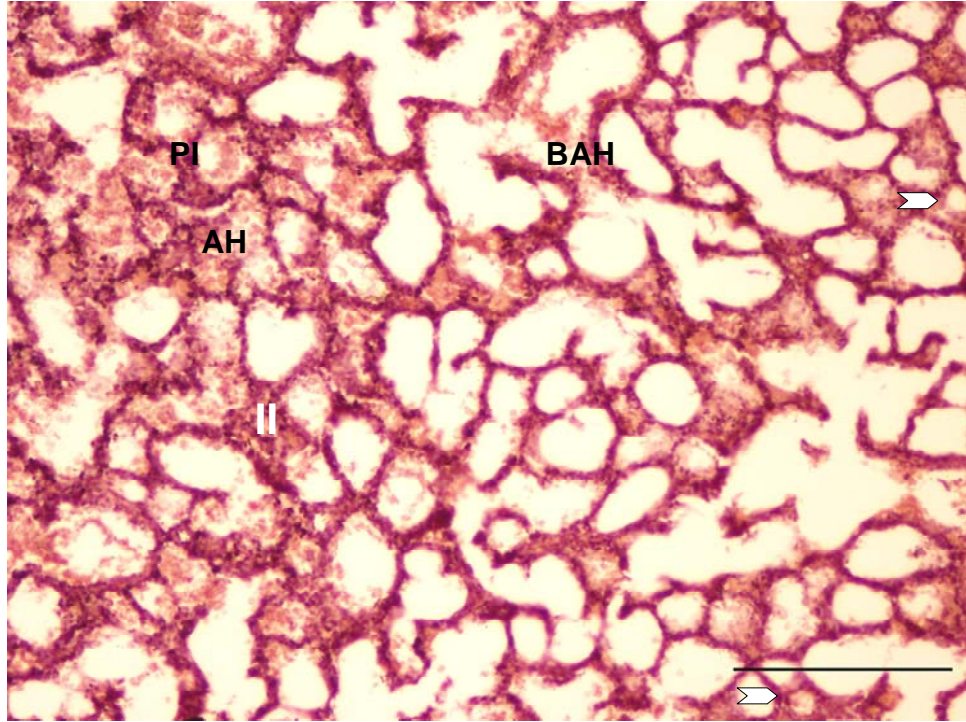
Beyaz oklar: Alveolar destrüksiyon

AH: Alveolar hemoraji

BAH: Bronkoalveolar hemoraji

Grup 2'ye oranla intraparenkimal infiltrasyon, alveolar destrüksiyon, bronkoalveolar hemoraji, alveolar hemoraji ve peribronşial inflamasyon da daha fazla artma gözlenmektedir





**Şekil 8.**

Grup 5: Gebeliğin son 7 gününde Methidathion + CAPE verilen gruba ait Akciğer dokusu (H&E, x10).

II: İntraparankimal infiltrasyon

Beyaz oklar: Alveolar destrüksiyon

AH: Alveolar hemoraji

BAH: Bronkoalveolar hemoraji

Grup 3'e göre peribronşial inflamasyon, İntraparankimal infiltrasyon, Alveolar destrüksiyonda daha az azalma gözlenmektedir.



**Tablo 10.** Akciğer dokusunda oluşan peribronşial inflamasyon, alveolar hemoraji, vasküler konjesyon, alveolar destrüksiyon ve intraparakimal infiltrasyon seviyelerinin gruplardaki ortalama değerleri ve standart sapmaları.

	<b>Grup 1 (n:10)</b>	<b>Grup2 (n:10)</b>	<b>Grup 3 (n:10)</b>	<b>Grup4(n:10)</b>	<b>Grup 5 (n:10)</b>
<b>Peribronşial inflamasyon</b>	0.2±0.63	2.6±0.51 <sup>a</sup>	1.0±1.05 <sup>b</sup>	2.7±0.48 <sup>a</sup>	1.4±0.96 <sup>a, d</sup>
<b>Alveolar ve bronşolar hemoraji</b>	0.00±0.00	4.5±0.84 <sup>a</sup>	1.1±1.19 <sup>a,b,</sup>	5.4±0.51 <sup>a, c</sup>	2.3±0.48 <sup>a, d, e</sup>
<b>İntraparakimal vasküler konjesyon ve trombozis</b>	0.2±0.42	2.7±0.48 <sup>a</sup>	0.2±0.63 <sup>b</sup>	2.8±0.42 <sup>a</sup>	1.0±1.05 <sup>d</sup>
<b>Alveolar destrüksiyon</b>	0.00±0.00	2.5±0.52 <sup>a</sup>	0.6±0.96 <sup>b</sup>	2.9±0.31 <sup>a</sup>	0.8±1.03 <sup>a, d</sup>
<b>İntraparakimal infiltrasyon</b>	0.2±0.63	2.7±0.48 <sup>a</sup>	0.8±1.03 <sup>b</sup>	2.9±0.31 <sup>a</sup>	1.2±1.03 <sup>a, d</sup>

<sup>a</sup> Grup 2, Grup 3, Grup 4 ve Grup 5'in Grup 1 ile karşılaştırıldığında p<0.05 olarak anlamlılık düzeyleri

<sup>b</sup> Grup 3'in Grup 2 ile karşılaştırıldığında p<0.05 olarak anlamlılık düzeyleri

<sup>c</sup> Grup 4'in Grup 2 ile karşılaştırıldığında p<0.05 olarak anlamlılık düzeyleri

<sup>d</sup> Grup 5'in Grup 4 ile karşılaştırıldığında p<0.05 olarak anlamlılık düzeyleri

<sup>e</sup> Grup 3'ün Grup 5 ile karşılaştırıldığında p<0.05 olarak anlamlılık düzeyleri

Peribronşial inflamasyon değerlendirildiğinde, Grup 2 ve Grup 4’de verilen methidation’un kontrol grubuna oranla peribronşial inflamasyonda anlamlı artışa neden olduğu tespit edildi. Grup 2 Grup 3 ile karşılaştırıldığında, Grup 3’te peribronşial inflamasyonda anlamlı azalma tespit edildi. Fakat Grup 3’teki peribronşial inflamasyon kontrol grubu ile karşılaştırıldığında grup 3’te azalan inflamasyonun kontrol grubu seviyelerine inmediği saptandı. Aynı şekilde Grup 4 Grup 5 ile karşılaştırıldığında Grup 5’te de peribronşial inflamasyonda anlamlı azalma tespit edildi ancak grup 5’teki peribronşial inflamasyonun azalması kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak önemli değildi.

Alveolar ve bronşial hemorajide Grup 2 ve Grup 4 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı artış saptandı. Grup 2 Grup 3 ile karşılaştırıldığında Grup 3 de ve Grup 4 de Grup 5 ile karşılaştırıldığında Grup 5 de anlamlı azalma tespit edildi. Bu azalma Grup 3 de Grup 5 e göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu.

İntraparankimal vasküler konjesyon ve trombosiste Grup 2 ve Grup 4 de kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı artış saptandı. Grup 3 de Grup 2 ye oranla ve Grup 5 de Grup 4’e oranla anlamlı azalma tespit edildi. Bu azalma Grup 3 de Grup 5 e göre daha fazla olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Alveolar destrüksiyonda Grup 2 ve Grup 4’de kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı artış saptandı. Grup 3’te Grup 2’ye oranla ve Grup 5’de Grup 4’e oranla anlamlı azalma tespit edildi.

İntraparankimal infiltrasyonda Grup 2 ve Grup 4 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı artış saptandı. Grup 2 Grup 3 ile karşılaştırıldığında Grup 3’te ve Grup 4 Grup 5 ile karşılaştırıldığında Grup 5’te anlamlı azalma tespit edildi.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamızda gebeliğin ilk ve son 7 gününde methidathiona maruz kalan anne ratların yavrularının akciğer dokusunda oluşan patolojiler incelendi ve bu patolojilere CAPE'nin iyileştirici etkileri araştırıldı.

Farag ve ark. (69) yaptıkları çalışmada gebeliğin 6-15. günleri arasında 28mg/kg organofosfatlı insektisit olan dimethoate'e maruz kalan ratlarda maternal toksite olarak titreme, halsizlik ve tükrük salgısında artma, ayrıca gebe ratların yiyecek tüketimi ve kilo almalarında azalma tespit etmişlerdir.

Breslin ve ark. (70) yaptıkları çalışmada gebeliğin 6-15. günleri arasında klorprifos'a maruz kalan gebe ratlarda benzer şekilde titreme ve tükrük salgısında artma gözlenmiştir.

Çalışmamızda da gebe ratlara methidathion verildikten çok kısa süre sonra anne ratlarda titreme ve daha sonra da halsizlik gözlendi. Ayrıca çalışmamızda gebelikte MD'ye maruz kalan kontrol ve deney grubu ratlarının hamilelik sonunda aldıkları kilolar karşılaştırıldığında deney grubundaki ratlarının aldıkları kiloların ortalamasının kontrol grubundaki ratların aldıkları kiloların ortalamasından önemli oranda az olduğu tespit edildi. Bu durumun medidathionun maternal toksisitesi nedeniyle deney gruplarında iştah azalması ve kilo kaybı yaptığı düşünülmüştür.

Farag ve ark.(69) yaptıkları aynı çalışmada yavrularda herhangi bir external, visseral yada iskelet anamolisi tespit edilmemiştir. Çalışmamızda da yavru ratlarda herhangi bir organ veya iskelette anamolisine rastlanmamıştır.

Farag ve ark.(69) yaptıkları çalışmada dimethoate adlı organofosfatın organogenesis döneminde yaşayan fetüs sayısında ve fetal ağırlıkta azalma ve erken resorbsiyonda artma tespit etmişlerdir.

Breslin ve ark. (70) yaptıkları çalışmada deney grubu gebe ratlardan doğan yavrularda düşük doğum ağırlığı ve yavru ölümlerinde artma tespit edilmiştir.

Çalışmamızda da kontrol grubundaki gebe ratlardan ölen olmadığı fakat deney grubuna ait gebe ratlardan, gebeliğin ilk döneminde 6 tanesinin, gebeliğin son döneminde de ise 4 tanesinin öldüğü görüldü. Ölen ratların uterusları açıldığında yavruların absorbe olduğu gözlemlendi. Ayrıca çalışmamızda deney gruplarındaki yenidoğan yavru sayısının kontrol grubundaki yavru sayısından daha az olduğu gözlemlendi (Tablo 2). Farag ve ar. Ve Breslin ve ark.nın yaptığı çalışmalardaki gibi bizim çalışmamızda da methidathion'un doğan yavru sayısını azalttığı, gebeliğin son döneminde uygulandığında fetal ağırlığı azalttığı ve intrauterin resorpsiyonda artma yaptığı gözlemlendi.

Farag ve ark.(43) yaptıkları başka bir çalışmada gebeliğin 6-15. günleri arasında anne ratlara 25 mg/kg olarak uygulanan kloropirifos'un yavrularda düşük doğum ağırlığı ve iskelet varyasyonlarına neden olduğu, ayrıca gebeliğin 10. gününde 80 mg/kg tek doz olarak verilen kloropirifos'un yavrularda yarı damak ve torasik vertebra yokluğu gibi çeşitli anomalilere sebep olduğu belirtilmiştir(44). Whyatt ve ark.(12) yaptıkları çalışmada ise insanlarda gebelikte organofosfatlara maruz kalan annelerin yavrularında düşük doğum ağırlığı tespit edilmiştir.

Çalışmamızda ise gebeliğin ilk döneminde verilen methidation'un yavru ağırlıkları üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etki yapmadığı ve herhangi bir makroskobik anomaliye neden olmadığı belirlenmiştir. Gebeliğin son döneminde verilen methidation'un ise yavrularda makroskobik olarak herhangi bir anomaliye sebebiyet vermediği, yavru sayısı kontrol grubuna oranla az olmasına rağmen yavruların ağırlıklarının da önemli oranda azaldığı tespit edilmiştir. Bu durum da gebeliğin son döneminde verilen methidathion'un gebeliğin ilk döneminde verilen methidathiona oranla yavruların gelişimi üzerindeki olumsuz etkisinin daha fazla olduğu söylenebilir. Grup 5'teki yavruların ağırlıklarının Grup 4'teki yavruların ağırlıklarından fazla olması ise CAPE'nin methidathion'un zararlı etkisini önemli

derecede azalttığını, ancak kontrol grubuna göre kilo azalmasını yeterince engelleyemediğini düşündürmektedir.

Öncü ve ark.(33) yaptıkları çalışmada klorpryfos uygulanan ratların akciğerlerinde histopatolojik olarak peribronşial ve perivasküler alanlarda mononükleer hücre infiltrasyonları ve bağ dokusunda kalınlaşma tespit edilmiştir. Fakat yaptığımız literatür taramalarında methidathionun yenidoğan yavruların akciğerlerine patolojik etkileri ve CAPE'nin bu patolojileri iyileştirici etkileri ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Çalışmamızda yeni doğan yavruların akciğerleri histopatolojik olarak incelendiğinde akciğer dokusunda; peribronşial inflamasyon, alveolar ve bronşolar hemoraji, intraparakimal vasküler konjesyon ve tromboz, alveolar destrüksiyon, intraparakimal infiltrasyon tespit edildi.

Lityum verilen ratların akciğerlerinde oluşan peribronşial ve intraparakimal lenfosit ve makrofaj infiltrasyonlarını CAPE'nin azalttığı bir çalışmada tespit edilmişti (61).

Özyurt ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada akciğerde bleomycin'in oluşturduğu pulmoner fibrosis'i CAPE'nin azalttığı tespit edilmişti (66) . Çalışmamızda da akciğerde oluşan söz konusu patolojilerin özellikle gebeliğin ilk döneminde uygulanan CAPE ile önemli oranda azaltıldığı tespit edilmiştir

Çalışmamızda gebeliğin ilk ve son döneminde verilen methidation'un Grup 2 ve Grup 4 de peribronşial inflamasyona sebep olduğu görüldü. Meydana gelen peribronşial inflamasyonu antiinflamatuvar ve antioksidan özelliği olduğunu bildiğimiz CAPE verildiğinde Grup 3 ve Grup 5 de peribronşial inflamasyonun önemli derecede azaldığı tespit edildi. Görüldüğü üzere antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri olan CAPE, meydana gelen peribronşial inflamasyonu önemli derecede azaltmıştır. Gebeliğin ilk döneminde verilen CAPE'nin peribronşial

inflamasyonu azaltmada gebeliğin son döneminde verilen CAPE'ye göre daha etkili olduğu gözlenmiştir.

Methidathion'un kontrol grubu hariç diğer bütün gruplarda alveolar ve bronşiyolar hemorajiye neden olduğu histopatolojik inceleme sonucunda tespit edilmiştir. Antiinflamatuvar ve antioksidan etkili CAPE verildiğinde Grup 2 ve Grup 4'de meydana gelen hemorajinin Grup 3 ve Grup 5'de azaldığı tespit edildi. Hemorajideki azalmanın Grup 3'de Grup 5'e göre daha fazla olduğu gözlendi. Methidation verildiğinde meydana gelen alveolar ve bronşiyal hemoraji akciğerde oluşan en ciddi patolojilerden biri olup çalışmamızda hemorajinin CAPE ile düzeltilme oranının diğer patolojilere göre anlamlı olarak düşük olduğu gözlenmiştir. Yani CAPE'nin meydana gelen hemorajiyi iyileştirici etkisinin diğer patolojileri düzeltici etkisinden daha az olduğu söylenebilir.

Gebeliğin ilk ve son döneminde verilen methidation'un intraparankimal vasküler konjesyon ve trombosise neden olduğu gözlenmiştir. Methidation ve CAPE'nin birlikte uygulandığı Grup 3 ve Grup 5'de söz konusu patolojilerin önemli derecede azaldığı gözlenmiştir. Gebeliğin ilk ve son döneminde verilen methidation'un akciğerlerde alveolar destrüksiyona sebebiyet verdiği gözlenmiştir. Methidation ve CAPE'nin birlikte uygulandığı Grup 3 ve Grup 5'de oluşan alveolar destrüksiyonun CAPE ile önemli ölçüde düzeltildiği gösterilmiştir.

Gebeliğin ilk ve son döneminde uygulanan methidation'un akciğerlerde önemli derecede intraparankimal infiltrasyona sebebiyet verdiği görülmüştür. Oluşan bu infiltrasyonun methidation'un CAPE ile birlikte verildiği durumlarda (Grup 3 ve Grup 5'te) önemli ölçüde düzeldiği gözlenmiştir.

CAPE antioksidan, antiinflamatuvar ve antimikrobial özelliklerinden dolayı methidathionun oluşturduğu söz konusu bu patolojileri özellikle gebeliğin ilk döneminde kontrol grubuna oranla önemli derecede azaltmıştır. Gebeliğin son döneminde methidathion ile birlikte uygulanan CAPE'nin patolojileri düzeltme oranının gebeliğin ilk dönemindeki kadar etkin olmadığı gözlenmiştir.

Sonuç olarak methidathionun gebe ratların kilo alımını azalttığı, intrauterin dönemde yavru ölümlerine neden olduğu, doğan yavrularda düşük doğum ağırlığına neden olduğu, doğan yavruların akciğer dokularında histopatolojik olarak peribronşial inflamasyon, alveolar ve bronşiyolar hemoraji, intraparakimal vasküler konjesyon ve tromboz, alveolar destrüksiyon, intraparakimal infiltrasyona neden olduğu ve oluşan bu histopatolojik değişiklikleri CAPE'nin azalttığı tespit edilmiştir.

## ÖZET

### **Gebelik Esnasında Methidathion'a (MD) Maruz Kalan Gebe Ratların Yenidoğan Yavrularının Akciğer Dokusunda Oluşan Hasar ve Bu Hasara Kafeik Asit Fenil Ester (CAPE)'in Etkisinin Histopatolojik Olarak Araştırılması.**

Methidathion tarım ürünlerine zarar veren böceklere karşı yaygın olarak kullanılan ve geniş bir kullanım alanına sahip olan organofosfatlı insektisittir. Organofosfatların plesantadan geçtiği daha önceki çalışmalarda tespit edilmiştir. CAPE ise bal arılarının propolislerinin aktif bir bileşenidir. CAPE'nin daha önceki çalışmalarda antiinflamatuvar, antimikrobial ve antioksidan özellikleri tespit edilmiştir. Bu nedenle bu çalışmada gebelikte MD'ye maruz kalan anne ratların yavrularının akciğerlerinde oluşan patolojiler ve bu patolojilere CAPE'nin koruyucu etkisinin histopatolojik açıdan incelenmesi amaçlandı.

Deney grupları; Grup 1: kontrol, Grup 2: Gebeliğin ilk 7 gününde 5mg/kg/gün MD, Grup 3: ilk 7 gününde 5 mg/kg MD + 10 mikromol/kg CAPE, Grup 4: Gebeliğin son 7 gününde 5mg/kg MD, Grup 5: Gebeliğin ilk 7 gününde 5 mg/kg /gün MD + 10 mikromol/kg CAPE verilen gruplar şeklinde oluşturuldu. MD oral gavaj ile ve CAPE de intraperitoneal olarak verildi. Gebeliğin sonunda yavrular doğduktan 3 gün sonra dekapite edildi, akciğerleri diseke edilerek %10'luk formaldehid içerisine konuldu ve rutin histolojik doku takibi yapıldı. Daha sonra preperatlar ışık mikroskobunda değerlendirildi.

Değerlendirmeler sonunda gebeliğin ilk ve son döneminde MD'ye maruz kalan anne ratların akciğerlerinde peribronşial inflamasyon, alveolar ve bronşolar hemoraji, intraparankimal vasküler konjesyon ve tromboz, alveolar destrüksiyon ve intraparankimal infiltrasyon tespit edildi. CAPE uygulanması ile bu patolojilerde önemli oranda azalma tespit edildi. Ayrıca CAPE'nin özellikle gebeliğin ilk döneminde uygulanmasının gebeliğin son döneminde uygulanmasına göre daha fazla iyileştirici etkisi olduğu gözlemlendi.

Sonuç olarak gebelikte MD ye maruz kalan anne ratların yavrularının akciğerlerinde söz konusu patolojiler oluşmakta ve CAPE uygulanması ile de özellikle gebeliğin ilk döneminde bu patolojiler önemli oranda azalmaktadır.

**Anahtar Kelimeler: Methidation, CAPE, , Histopatoloji, Akciğer, Rat.**



## SUMMARY

### **A Histopathological Investigation of Lung Tissue Damage in Infants of Rats Induced by Methidathion During Their Pregnancy Period: Effects of CAPE**

Methidation is an organophosphate insecticide that has a wide spectrum of use in agriculture to insects that harm agricultural products. Previous studies determined that organophosphates pass through placenta. Research up to date is also revealed antiinflammatar, antimicrobial, and antioxidant properties of CAPE that is an active component of honeybee propolis. This study therefore investigated pathologies occurred in lung of baby rats whose mothers exposed to MD during their pregnancy.

Experiment groups are formed as; Group 1: control group, Group 2: 5mg/kg/gün MD in the first 7 days of pregnancy, Group 3: 5 mg/kg/day MD + 10 micromole/kg/day CAPE in the first 7 days of pregnancy, Group 4: 5mg/kg/day MD in the last 7 days of pregnancy, Group 5: 5 mg/kg/day MD + 10 micromole/kg/day CAPE in the first 7 days of pregnancy. MD is given with oral gavage while CAPE is given by intraperitoneal injection. Three days after the end of pregnancy, baby rats were decapitated and their lungs dissected and put in formaldehyde %10. Routine histological tissue analyse were performed and preparations were then examined by an optical microscope.

Examinations revealed peribronchiale inflammation, alveolar and bronchiale hemorrhage, intraparenchymal vascular congestion and thrombosis, alveolar destruction, and intraparenchymal infiltration in experimental preparations. It is also observed that administration of CAPE has considerably reduced these pathologies and, ameliorating effects were higher in the first period, rather than the last period, of pregnancy.

As a result, above pathologies may occur in infants whose mothers are exposed to MD during their pregnancy. However, it can be said that administration of CAPE in the first period of pregnancy may considerably reduce these pathologies

**Keywords: Methidation, CAPE, Histopathology, Lung, Rat**

## KAYNAKLAR

1. Güler Ç., Çobanoğlu Z. Pestisitler. Çevre Sağlığı temel kaynak Dizisi No:52 Ankara 1997. (s 10-12)
2. internet sitesi: [http://www.cedgm.gov.tr/cevre\\_atlasi/tarim](http://www.cedgm.gov.tr/cevre_atlasi/tarim) (en son ziyaret edilen tarih14/8/2008)
3. Das,B.K., Mukherjee, S.C.,2000. Chronic toxic effects of quinalphos on some biochemical parameters in *Labeo rohita*(ham.). *Toxicol. Lett.* 114, 11-18.
4. Tinoco R., Halperin D. Poverty, production and health: inhibition of erythrocyte cholinesterase via occupational exposure to organo-phosphate insecticides in Chiapas, Mexico, *Arch. Environ. Health* 53 (1998) 29-35
5. Karalliadde L, Senanayake N. Organophosphorus insecticide poisoning. *Journal of the International Federation of Clinical Chemistry* 1999; 11: 1-9.
6. Aluigi M.G., Angelini C., Falugi C., Fossa R., Genever P., Gallus L., Layer P.G., Prestipino G., Rakonczay Z., Sgro M., Thielecke H., Trombino S. Interaction between organophosphate compounds and cholinergic functions during development. *Chemico-Biological Interactions* 157-158(2005) 305 – 316.
7. Altuntas I, Delibas N, Demirci M, Kilinc I, Tamer N. The effects of methidathion on lipid peroxidation and some liver enzymes: role of vitamins E and C. *Arc Toxicol* (2002) 76: 470-473
8. İnternet sitesi: [http://www.bitki\\_sagligi.net](http://www.bitki_sagligi.net) (en son ziyaret edilen tarih14/8/2008)
9. Isparta Tarım İl Müdürlüğü 2004 yılına ait yayımlanan meyve zararları ile mücadele raporu. Tasdik eden Onur Çarıkcı 2005.
10. Karalliadde L. Organophosphorus poisoning and anesthesia. *Anesthesia* 1999;54: 1073-1088
11. Zendzian RP. Pesticide residue on/in the washed skin and its potential contribution to dermal toxicity. *J Appl Toxicol.* 2003; 23: 121-136.
12. Whyatt R,M., Rauh V, Barr D,B., Camann D,E., Andrews H,F., Garfinkel R. et al. Prenatal insecticide Exposures and Birth Weight and Length among an Urban Minority Cohort. *Environmental Health Perspectives:* (2004)112 (10) 1125-1132.
13. Ocakci A, Kanter M, Cabuk M, Buyukbas S. Role of caffeic acid phenethyl ester, an active component of propolis, against NAOH- induced esophageal burns in rats. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2006 Oct; 70(10): 1731-9
14. Ozyurt B, Iraz M, Koca K, Ozyurt H,Sahin S. Protective effects of caffeic acid phenethyl ester on skeletal muscle ischemia-reperfusion injury in rats. *Mol Cell Biochem.* 2006 Nov; 292(1-2):197-203.
15. <http://www.zmo.org.tr/etkinlikler/5tk02/40> (en son ziyaret edilen tarih 16/8/07)

16. Carr RL, Richardson JR, Guarisco JA, Kachroo A, Chambers JE, Couch TA, Duruna GC, and Meek EC. Effects of PBC exposure on the toxic impact of organophosphors insectised. *Toxicological Sciences* 2002;67:311-321.
17. R. Tinoco, D. Halperin, Poverty, production and health: inhibition of erythrocyte cholinesterase via occupational exposure to organo-phosphate insecticides in Chiapas, Mexico, *Arch. Environ. Health* 53 (1998) 29-35
18. Kayaalp S. O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Hacettepe Taş. 1998, 1152-1153
19. Dwivedi PD, Mukul D, Khanna SK. Role of cytochrome p - 450 in quinalphos toxicity: Effect on hepatic and brain antioksidant benzymes in rats. *Foods and Chemical Toxicology* 1998; 36, 437- 444.
20. Stephen B, Kyle L, Yong X, Cynthia A, Donald E, Earl F, James E. Role of oxidative stres in the mechanism of dieldrin's hepatotoxicity. *Annals of Clinical and Laboratory Science* 1997; 27(3) : 196- 208.
21. Yavuz T, Delibaş N, Yıldırım B, Altunaş İ, Candır O, Cora A, Karaman N, İbrişim E, Kutsal A. Vascular wall damage in rats induced by methidathion and ameliorating effect of vitamins E and C. *Arch Toxicol* (2004) 78: 655 – 659
22. Deschamps D, Questel F, Baud FJ, Gervais P, Dally S. Persistent asma after acute inhalation of organophosphate insecticide. *Lancet* 1994; 344: 1712
23. Senanayake N, Karalliedde L Neurotoxic effectes of organophosphate insecticides: an intermediate syndrome. *N Eng J Med* 1987; 316: 761- 3.
24. Ohayo –Mitoko GJA Kromhout H, Simwa JM, Boleji JSM, Heederik D. Self reported symptoms and inhibition of acetylcholinesterase activity among Kenyan agricultural workers. *Occup Environ. Med* 2000; 57: 195-200.
25. Galloway, T.S. and Deledge, M.H. (2001). Immunotoxicity in intervebrates: measurement and ecotoxicological relevance. *Ecotoxicology* 10, 1-23.
26. Voccia, I., Blakley, B., brousseau, P. And fournier, M (1999). Immunotoxicity of pecticides: a reviw. *Toxicol. Indust. Healt* 15, 119 – 32.
27. R.D. Handy, H.A. abd-El Samei, M.F.F. Bayomy, A.M. Mahran, A.M. Abdeen, E.A. El –Elaimy(2001). Chronic diazinon exposure: pathologies of spleen, thymus, blood cells and lymph nodes are modulated by dietary protein or lipid in the mouse. *Toxicology* 172: 13-34.
28. Bebe N.F, Panemangalore M. Exposure to Low Doses of Endosulfan and Chlorpyrifos Modifies Endogenous Antioxidants in Tissues of Rats. *Journal of Environmental Science and Health Part B- Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes* Vol. B38, No. 3, pp. 349-363, 2003.
29. John RJP, Ruberu KD, Wickremasinghe RA, Hoek W. Low- level exposure to organophosphate pesticides leads to restrictive lung dysfunction. *Respiratory Medicine* (2005) 99, 1319- 1324.

30. Kalender S, Ogutcu A, Uzunhisarcıklı M, Açıkgöz F, Durak D, Ulusoy Y, Kalender Y. Diazinon – induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes. *Toxicology* 211 (2005) 197- 206.
31. Gokcimen A, Gulle K, Demirin H, Bayram D, Kocak A, Altuntas I. Effects of diazinon at different doses on rat liver and pancreas tissues. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 87 (2007) 103-108.
32. Nagi A. Ibrahim and Basiouny A. El-Gamal. Effect of Diazinon, an Organophosphate Insecticide, on Plasma Lipid Constituents in Experimental Animals. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. 2003.(36,5) 499-504.
33. Öncü M, Gültekin F, Karaöz E, Altuntaş İ, Delibaş N. Klorprifos-etil tarafından Oluşturulan Oksidatif Hasarın Sıçan Karaciğerine Etkileri. *T Klin Tıp Bilimleri* 2002, 22: 50 -55.
34. Oncu M, Gultekin F, Karaöz E, Altuntas I, Delibas N. Nephrotoxicity in rats induced by chlorpryfos-ethyl and ameliorating effects of antioxidants. *Human & Experimental Toxicology* (2002) 21, 223-230.
35. Alavanja MC, Dosemeci M, Samanic C, Lubin J, Lynch CF, Knott C, Barker J, Sandler DP, Coble J, Thomas K, Blair A. Pesticides and lung cancer risk in the agricultural health study cohort. *Am J Epidemiol*. 2004 Nov 1; 160(9): 876- 85.
36. Beane Freeman LE, Bonner MR, Blair A, Hoppin JA, Sandler DP, Lubin JH, Dosemeci M, Lynch CF, Knott C, Alavanja MC. Cancer Incidence among Male Pesticide Applicators in the Agricultural Health Study Cohort Exposed to Diazinon. *Am J Epidemiol*. 2005 1; 162(11): 1070-9.
37. Aluigi M.G, Angelini C, Falugi C, Fossa R, Genever P, Gallus L. Interaction between organophosphate compounds and cholinergic functions during development. *Chemico-Biological Interactions* 157-158(2005) 305 –316.
38. Carr R.L, Chambers H.W, Guarisco J.A, Richardson J.R, Tang J, Chambers J.E. Effects of Repeated Oral Postnatal Exposure to Chlorpyrifos on Open Field Behavior in Juvenile Rats. *Toxicological sciences* 59, 260-267 (2001).
39. Gupta RC, Rech RH, Lovell KL, Welsch F, Thornburg JE. Brain cholinergic, behavioral and morphological developmental in rats exposed in utero to metylparathion. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1985 Mar 15; 77(3): 405- 13.
40. Lassiter TL, Padilla S, Mortensen SR, Chanda SM, Moser VC, Barone S Jr. Gestational exposure to chlorpyrifos: apparent protection of the fetus? *Toxicol Appl Pharmacol*. 1998 Sep; 152(1): 56-65.
41. Chanda SM, Harp P, Liu J, Pope CN. Comparative developmental and maternal neurotoxicity following acute gestational exposure to chlorpyrifos in rats. *J. Toxicol Environ Health*. 1995 Feb; 44(2): 189-202.

42. Tian Y, Yamauchi T. Micronucleus formation in 3 day Mouse embryos associated with maternal exposure to chlorpyrifos during the early preimplantation period. *Reprod. Toxicol.* 17(2003) 401-405.
43. Farag AT, El-Okazy AM, El-Aswed. Developmental toxicity study of chlorpyrifos in rats. *Reprod Toxicol* 2003; 17: 203-8.
44. Tian Y, Ishikawa H, Yamauchi T, Yokoyama K. Teratogenicity and development toxicity of chlorpyrifos Maternal exposure during organogenesis in mice. *Reproductive Toxicology* 20 (2005) 267- 271.
45. Fenske RA, Kedan G, LU C, Fisker-Andersan JA, Curl CL. Assessment of organophosphorous pesticide exposure in the diets of preschool children in Washinton State. *J Expo Anal Environ Epidemiol*, 2002 Jan –Feb; 12 (1): 21-8.
46. Pagliuca G, Serraino A, Gazzotti T, Zironi E, Borsari A, Rosmini R. Organophosphorus pesticides residues in Italian raw milk. *Journal of Dairy Reserch* (2006) 1-5.
47. Blasco C, Fernandez M, Pena A, Lino C, Silveria MI, Font G, Pico Y. Assessment of Pesticide Residues in Honey Samples from Portugal and Spain. *J. Agric. Food Chem.* 2003, 51, 8132- 8138.
48. Torres MC, Pico Y, Marin R, Manes J. Evaluation of organophosphorus Pesticide Residues in Citrus Fruits from Valencian Community (Spain). *Journal of AOAC International* Vol.80. No. 5. 1997.
49. Sulak O, Altuntaş I, Karahan N, Yıldırım B, Akturk O, Sulak O, Altuntaş I, Karahan N, Yıldırım B, Akturk O, Yılmaz HR, Delibaş N. Nephrotoxicity in rats induced by organophosphate insecticide methidathion and ameliorating effectes of vitamins E and C. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 83 (2005) 21-28.
50. Sutcu R, Altuntas I, Yıldırım B, Karahan N, Demirin H, Delibas N. The effects of subchronic methidathion toxicity on rat liver: Role of antioxidant vitamins C and E. *Cell Biol Toxicol* 2006; 22: 221-227.
51. Altuntas I, Delibas N, Demirci M, Kilinc I, Tamer N. The effects of methidathion on lipid peroxidation and some liver enzymes: role of vitamins E and C. *Arc Toxicol* (2002) 76: 470-473
52. Yavuz T, Delibas N, Yıldırım B, Altuntas I, Candır O, Cora A, Karaman N, Ibrisim E, Kutsal A. Vascular wall damage in rats induced by organophosphorus insecticide methidathion. *Toxicology Letters* 155 (2005) 59- 64.
53. Zoppellari R, Targa L, Tonini P, Zatelli R. Acute poisoning with methidathion: a case. *Hum Exp Toxicol.* 1990 Nov;9(6):415-9.
54. Gaines TB, Linder RE. Acute toxicity of pesticides in adult and weanling rats. *Fundam Appl Toxicol.* 1986 Aug; 7(2): 299-308.
55. Borelli F, Izzo A.A, Di Carlo G, Maffia P, Russo A, Maiello F.M. et all. Effect of a propolis extract and caffeic acid phenethyl ester on formation of aberrant crypt foci and tumors in the rat colon. *Fitoterapia* 73 Suppl.1 (2002) S38- S43.

56. Krol W, Scheller S, Czuba Z, et al., *J Ethnopharmacol* 55 (1996) 19.
57. Kujumgiev A, Tsvetkova I, Serkedjjeva Y.U, Bankova V, Christov R, Popov S. *Ethnopharmacol* 64 (1999) 235.
58. Okutan H, Özçelik N, Yılmaz HR, Uz E. Effects of caffeic acid phenethyl ester on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rat heart. *Clin. Biochem.* 2005 Feb; 38(2):191-6.
59. Oktem F, Ozguner F, Sulak O, Olgar S, Akturk O, Yılmaz H.R. Et all. Lithium-induced renal toxicity in rats: Protection by a novel antioxidant caffeic acid phenethyl ester. *Molecular and Cellular Biochemistry* 277: 109- 115, 2005.
60. Parlakpınar H, Tasdemir S, Polat A, Bay- Karabulut A, Vardi N. Et all. Protective role of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on gentamicin-induced acute renal toxicity in rats. *Toxicology* 207 (2005) 169- 177.
61. Sahin O, Sulak O, Yavuz Y, Uz E, Eren I, Yılmaz H.R.et all. Lithium-induced lung toxicity in rats: The effect of caffeic acid phenethyl ester(CAPE). *Pathology*(february 2006) 38(1). pp. 58-62.
62. Ocakci A, Kanter M, Cabuk M, Buyukbas S. Role of caffeic acid phenethyl ester, an active component of propolis, against NAOH- induced esophageal burns in rats. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2006 oct; 70 (10): 1731-9.
63. Ates B, Dogru MI, Gul M, Erdoğan A, Doğru AK, Yılmaz I, Yurekli M, Esrefoglu M. Protective role of caffeic acid phenethyl ester in the liver of rats exposed to cold stres.
64. Pekmez H, Kus I, Colakoglu N, Ogeturk M, Ozyurt H, Turkoglu A.et all. The protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) against liver damage induced by cigarette smoke inhalation in rats. *Cell Biochemistry and Function.* Dec 2005.
65. Mollaoğlu H, Gokcimen A, Ozguner F, et al. Caffeic acid phenethyl ester prevents cadmium-induced cardiac impairment in rat. *Toxicology* 227 (2006) 15-20.
66. Özyurt H, Söğüt S, Yıldırım Z, Kart L, Iraz M, Armutcu F.et all. Inhibitory effect of caffeic acid phenethyl ester on bleomycine-induced lung fibrosis in rats. *Clin. Chim. Acta.* 2004 Jan; 339 (1-2): 65-75.
67. Yılmaz H.R, Uz E, Yucel N, Altuntas I, Ozcelik. Protective effect of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) on Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzymes in Diabetic Rat liver. *J Biochem Molecular Toxicology* Volume 18, Number 4, 2004.
68. Fidan F, Unlu M, Sezer M, et al. Acute effects of environmental tobacco smoke and dried dung smoke on lung histopathology in rabbits. *Pathology* 2006; 38: 53–57.
69. Farag AT, Karkour TA, Okazy A. Developmental Toxicity of orally administered technical dimethoate in rats.*Birth Defects Research (part B)* 77: 40-46 (2006)

70. Breslin WJ, Liberacki AB, Dittenber DA, Quast JF. Evaluation of the developmental and reproductive toxicity of chlorpyrifos in the rat. *Fundam Appl Toxicol.* (1): 119-30. 1996 Jan;29