

RATLARDA DİKLORVOSUN OLUŞTURDUĞU FALLOPIYAN TÜP ZEDELENMELERİNE KARŞI E VE C VİTAMİNLERİNİN KORUYUCU ETKİLERİ

Mehmet GÜNEY*, Hilmi DEMİRİN**, Baha ORAL*, Gülnur TAKE***,
Seren Gülsen GİRAY***, Namık DELİBAŞ**, Tamer MÜNGAN*

* Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Isparta
** Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Biyokimya Anabilim Dalı, Isparta
*** Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı subkronik verilen diklorvosun tuba uterina üzerine toksik etkisini araştırmak, E ve C vitaminlerinin birlikte uygulanması ile bu zedelenmeye karşı koruyucu etkilerini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Deneysel çalışma grupları mısır yağı verilen kontrol grup ratları, 8 mg/kg DDVP verilen çalışma grubu ratları ve 8 mg/kg DDVP'yle beraber kombine E ve C vitamini verilen (DDVP+Vit) grubu ratlarından oluşturuldu. DDVP çalışma grup ratlarına 4 hafta boyunca haftanın 5 günü 8 mg/kg olarak oral yoldan gavaj ile verildi. E vitamini 50 mg/kg intramuskuler, C vitamini 20 mg/kg intraperitoneal DDVP+Vit grubuna oral DDVP verilmesini takiben uygulandı. Lipid peroksidasyonu değerlendirmek için rat plazmasında malondialdehide (MDA) seviyelerine bakıldı. Transmisyon elektron mikroskopi ile fallopian tüplerin histopatolojik incelemesi yapıldı

Bulgular: MDA seviyeleri DDVP grubunda kontrol grubu ratlarına göre yüksek ve DDVP+Vit grubunda ise DDVP grubuna göre daha düşük bulundu. Elektron mikroskopik inceleme sonucunda mikrovillus ve kinosilya hücrelerinde apikal yüzey farklılıkları ve kinosilya hücrelerinin yok olduğu görüldü. Aynı zamanda bu hücrelerde spesifik vakuoller, mitokondriyal kristalosiz ve şişme izlendi. E ve C vitamini verilen grupta ise bu histopatolojik değişikliklerin belirgin olarak azaldığı izlendi.

Sonuç: Sonuç olarak, subkronik DDVP fallopiyan tüp zedelenmesine neden olmaktadır ve bu toksitenin oluşmasında moleküler mekanizmalarından biri de DDVP bağlı ortaya çıkan lipidperoksidasyonu olabilir. Bununla birlikte E ve C vitaminin kombine verilmesi DDVP'nin ratların fallopian tüpleri üzerine olan toksik etkisini azaltabilir.

Türk Jinekoloji ve Obstetrik Derneği Dergisi, 2007; Cilt: 4 Sayı: 4 Sayfa: 259- 66

Anahtar kelimeler: C vitamini, diklorvos, E vitamini fallopion tüpler, lipid peroksidasyon

SUMMARY

Protective Effects of Vitamins E and C Against Dichlorvos-Induced Fallopian Damage in Rats

Objective: The aim of present study is to examine the effect of subchronic dichlorvos (DDVP) administration on fallopian tube damage and assess the preventive effects of combination of vitamins E and C against DDVP toxicity.

Material and Method: The experimental groups were rats treated with corn oil (control group), rats treated with a dose of 8 mg/kg DDVP, and rats treated with a dose of 8 mg/kg body weight DDVP plus vitamins E and C (DDVP +Vit). The groups were given DDVP by oral gavage on 5 days a week for 4 weeks at a daily dose of 8 mg/kg (DDVP and DDVP +Vit) using corn oil as the vehicle. Vitamins E and C were injected at doses of 50 mg/kg intramuscularly and 20 mg/kg intraperitoneally, respectively, after the treatment with DDVP in the DDVP+Vit group. The levels of malondialdehyde (MDA) were determined in the rat plasma.

Results: MDA levels were higher in the DDVP group than in the control group, and lower in the DDVP +Vit group than in the DDVP group. Histopathological examination of fallopian tube was carried out by transmission electron microscopy. In our electron

Yazışma adresi: Mehmet Güney. Kepeci mah. 1218 sok. no. 21 daire. 7, 32100, Isparta
Tel.: (0246) 211 21 45, Cep: (0542) 232 51 80 / e-posta: mguneysdu@yahoo.com
Alındığı tarih: 01.06.2007, revizyon sonrası alınma: 02.08.2007, kabul tarihi: 05.08.2007

microscopic investigations DDVP administration caused the apical surface differentiations of both microvillus and kinociliated cells to fully disappear. Moreover, specific vacuoles, mitochondrial crystallosis and swelling, and chromatin loss occurred in all of the cells. Administration of Vitamin E and C along with DDVP significantly reduced the histopathological changes.

Conclusion: *From these results, it can be concluded that subchronic DDVP causes fallopian tube damage, and lipid peroxidation may be a molecular mechanism involved in DDVP-induced toxicity. Furthermore, the combination of vitamins E and C can reduce the toxic effects of DDVP on fallopian tube tissue of rats.*

Journal of Turkish Obstetric and Gynecology Society, 2007; Vol: 4 Issue: 4 Pages: 259- 66

Key words: *dichlorvos, fallopian tube, lipid peroxidation, vitamin C, vitamin E*

GİRİŞ

Organophosphate insektisidler (OPIs) tarımda zararlı canlılarla mücadelede kullanılan pestisitlerin en yaygın olanlarındandır. OPI'lerin yaygın kullanımı insanı da içeren hedef dışı türlerde zararlı etkilere yol açmaktadır (1). İlâveten, kazayla ya da intihar amaçlı kullanımda yıllar içinde artmıştır(2). OPI toksisitesi pek çok organda istenmeyen yan etkilere yol açmaktadır. OPI'den etkilenen dokular karaciğer(3), silyalı hücreler (4), immun sistem(5), böbrek(6), damar duvarı ve kalp (7,8), reproduktif sistem(9), hematolojik sistem(10) ve nörolojik sistemdir(11,12). Genel olarak, OPI'ler nöronal kolinesteraz (ChE) aktivitesini inhibe ederek nörotoksik özelliğindedir. Bazı çalışmalar OPI toksisite mekanizmasının önemli bir komponenti olarak oksidatif stresi ortaya koymuşlardır. OPI'ler serbest radikal oluşturma ve antioksidanlarda ya da reaktif oksijen species (ROS) temizleyen enzimlerde değişikliklere yol açarak oksidatif strese neden olabilmektedirler(13-15). Böylece OPI'ler hücre membranı ve ROS'lara etki yaparak lipid peroksidasyonunu (LPO) artırır(16). Bazı çalışmalar aynı zamanda OPI'ye bağlı toksisitede LPO'yu moleküler mekanizmalardan bir tanesi olarak ortaya koymuştur(17,18). Bununla birlikte OPI'lerin LPO'ya bağlı olarak fallop tüplerinde hasara yol açabileceği konusunda bilgi yoktur.

Vitamin E (-tocopherol) ve Vitamin C (askorbik asit) antioksidatif aktiviteleri olan bileşiklerdir. Vitamin E protein-lipid membranları stabilize eder, yağ asitlerinin peroksidasyonlarını önler ve serbest radikalleri ortamdan temizler. Diğer taraftan Vitamin C interplasma membran boşluklarının redoks sistemleri için elektron donörüdür ve Vitamin E'nin rejenarasyonunu sağlar(19). Pek çok çalışma vitamin E ve C kombinasyonun toksik maddelere üretilen LPO'yu azalttığı göstermiştir(7, 8, 20, 21).

Dichlorvos (2,2-dichlorovinyl dimethyl phosphate; DDVP) tarımda ve halk sağlığı programında yaygın olarak kullanılan OPI'lerden biridir. Dichlorvos ayrıca

Isparta bölgesinde yaygın olarak kullanılan OPI'lerden bir tanesidir. (Isparta Tarım İl Müdürlüğü). OPI'lerin zararlı etkileri konusunda çok sayıda çalışma olmasına rağmen fallop tüpleri üzerine zararlı etkileri araştırmacıların çok az ilgisini çekmiştir. Çalışmamızın amaçları sıçanlarda DDVP'ye bağlı fallop tüp hasarlanmasını, buna bağlı LPO oluşumunu ve ultrastrüktürel değişiklikleri ve Vitamin E ve C 'nin koruyucu etkilerini araştırmaktır.

MATERYAL VE METOD

Kimyasallar ve ilaçlar

Dichlorvos (55% w/v; Didifos 55 EC) Hektaş İstanbul firmasından sağlandı ve oral gavaj yoluyla verilmek üzere mısır yağında çözüldü. Vitamin E (Evigen ampul) Aksu Farma firmasından sağlandı ve vitamin C (Redoxon ampule) Roche İstanbul firmasından sağlandı.

Ratlar ve tedavi

Bu çalışmada 21 tane seksüel olgun, en az 3 ardışık, düzenli estrus siklusu gösteren dişi Wistar-albino ratlar kullanıldı. Ratlar Süleyman Demirel Üniversitesi hayvan yetiştirme laboratuvarından temin edildi. Deneyde kullanılan ratların bakımı Süleyman Demirel Üniversitesi hayvan laboratuvarı etik komitesince hazırlanan bakım ve kullanım ilkelerine göre yapıldı. Çalışma öncesi onam alındı. Ratlar çalışma başlamadan önceki 3 hafta boyunca kontrollü ısı (22- 26°C), nem (55-60%) ve ışık periyodunda (12 h aydınlık ve 12 h karanlık) tutuldu. Gerektiği kadar yem (Hasyem Ltd., Isparta, Türkiye) ve su sağlandı.

21 rat her birisi 7 rattan oluşan 3 gruba randomize olarak bölündü: Kontrol grubu, DDVP tedavi grubu, ve DDVP + Vitamin E + Vitamin C grubu (DDVP+Vit). İlaç uygulamasından önce düzenli siklus takibi için tüm ratlardan vaginal smear alındı. DDVP ve DDVP+Vit gruplarına mısır yağı içerisinde hazırlanan DDVP'den vucut ağırlığına

göre 8 mg/kg dozunda 4 hafta boyunca haftada 5 gün verildi. Kontrol grubuna aynı yolla sadece mısır yağı verildi. Mısır yağı dozu 4mL/kg/gün idi ve vucut ağırlığı değişimlerine göre ayarlandı. DDVP+Vit grubunda DDVP'nin her uygulama dozundan 30 dakika sonra Vitamin E ve C sırasıyla 50 mg/kg intramusküler ve 20 mg/kg intraperitoneal olarak uygulandı. Kontrol ve DDVP gruplarına Vitamin C yerine eşit miktarda serum fizyolojik ve vitamin E yerine eşit miktarda zeytin yağı verildi. Ratlar 4. haftanın sonunda ve son oral dozdan 24 saat sonra 60 mg/kg i.m. ketamin hidroklorür anestezisi altında sakrifiye edildiler. Kalp ponksiyonu ile venöz kan örnekleri toplandı. Plazması ayrıştırılarak -85 C bekletildi. Fallop tüpleri çıkarılarak sodyum fosfat tampon çözeltisinde yıkandı. Fallop tüp dokuları elektron mikroskop incelemeleri için hazırlandı.

Biyokimyasal analizler

Plasma LPO analizi modifiye Griesmacher ve ark.⁽²³⁾ yöntemine göre MDA ve tiyobarbitürük asit (TBA) arasındaki reaksiyona dayalı kromatografik yöntemle yapıldı. Kısaca , 500 µL plasma ve 750 µL 440 mM H₃PO₄ ve 250 µL 42 mM TBA solüsyon eklendi. Sonuçta 1.5 mL volüm elde edildi. . Karışım 1 saat 100°C, inkübe edildi. Daha sonra 500 µL kısmı 500 µL Methanol: 1M NaOH (91:9,v:v) eklendi. 4000 rpm'de 5 dakika Vortekslenildikten sonra 30 µL supematant HPLC sistemine (Thermo Finnigan) enjekte edildi. Butanol ekstresinin floresans ölçümü 539 nm eksitasyon dalga boyunda ve 533 nm lik emisyon dalga boylarında yapıldı. 1,1,3,3 Tetraethoxypropane (Sigma) standart solüsyon olarak kullanıldı ve değerler µmol/L olarak verildi. ChE'nin serum aktiviteyi ChE ticari kitleri kullanılarak UV dedektörü olan otoanalizörde tayin edildi. (Abbott Aeroset, Abbott[®] Park, III., USA)

Elektron mikroskop çalışması

Elektron mikroskopik inceleme için tüm grupların dokuları 2.5% gluteraldehide içeren fosfat tamponda 2-3 saat bekletildi. Daha sonra 1% osmium tetraoxide (OsO₄) de postfiksasyon yapıldı ve derecelenmiş alkolde dehidrate edildi (50, 60, 70, 80, 90, 96 ve 100% ethanol). Propylene oksideten geçirildikten sonra spesmenler Araldyte CY 212, DDSA (2-dodecenyl succinic anhydride), BDMA (benzylidimethyl amine) ve dibutylphthalate içine gömüldü. Yarı incelikteki kesitler toluidin blue ile boyandı ve otomikroskopta (BH₂ Olympus, Japan) incelendi. Uygun spesmenlerin seçiminden sonra ince kesitler uranyl acetate ve lead citrate ile boyanarak elektron mikroskopi altında incelendi (Carl Zeiss EM 900, Germany).

İstatistiksel analiz

Veriler SPSS 12.0 windows tabanlı program ile analiz edildi. Gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal-Wallis testi ve Mann-Whitney U-testi yardımıyla yapıldı. Sonuçlar aritmetik ortalama ±S.D olarak verildi. P<0.05 anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

DDVP uygulanan ratlarda her uygulama sonrasında ileri derecede fasikulasyonlar görüldü. DDVP+Vit grubunda DDVP grubuna göre yorgunluk semptomları daha hafif olarak görüldü. Fasikulasyonlar 1-1.5 saat kadar görüldü ardından yorgunluk semptomları izlendi. Hiçbir grupta ölüm izlenmedi.

Biyokimya bulguları

Bulgular Tablo I de görülmektedir. Kontrol grubuna göre DDVP grubunda MDA anlamlı olarak artış gösterdi. (p<0.05). DDVP Vitamin E ve C ile birlikte verildiğinde MDA daki artış anlamlı olarak daha düşüktü. (p<0.05). DDVP+Vit ile kontrol grubu arasında MDA düzeyleri bakımından anlamlı olmayan farklılıklar bulundu (p>0.05). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında DDVP ve DDVP+Vit gruplarında ChE aktivitesi anlamlı olarak azalmıştı (p<0.05). DDVP vitamin E ve C ile birlikte verildiğinde ChE aktivitesindeki azalma tek başına DDVP verilen gruba göre daha az olmuştur.

Tablo I: DDVP grubu, kontrol grubu, DDVP+Vit gruplarında ChE aktivitesi ve plasma malondialdehide (MDA) düzeyleri

Gruplar	MDA (µmol/L)	ChE(U/L)
Kontrol (n=7)	0.98 0.11	569 69.9
DDVP (n=7)	2.57 0.21	371 50.7
DDVP+Vit (n=7)	1.19 0.20	482 58.7
p değeri		
Kontrol – DDVP	<0.05	<0.05
Kontrol – DDVP+Vit	>0.05	<0.05
DDVP – DDVP+Vit	<0.05	<0.05

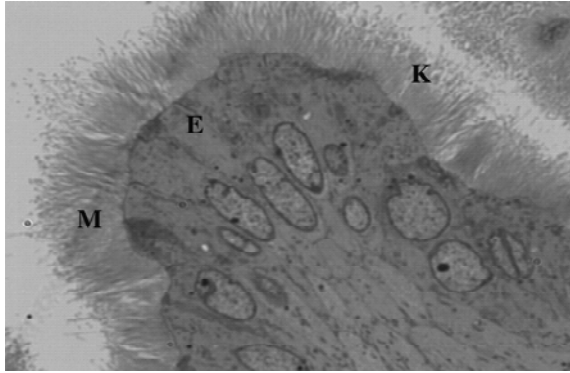
Değerler ortalama ± SD olarak verilmiştir

Fallop tüplerinde elektron mikroskopik ultrastrüktürel değişiklikler

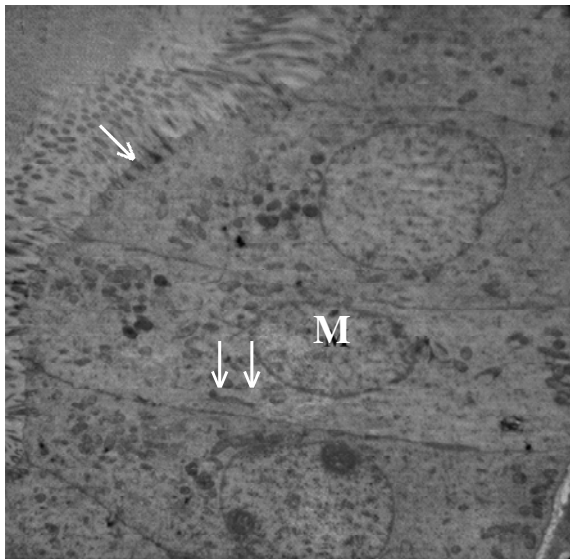
Tüm ratlardan alınan fallop tüplerine ait spesmenler elektron mikroskopik olarak değerlendirildi. Kontrol grubunda silialı ve mikrovilluslu hücreleri içeren yüzey epiteli normal bulundu. Hücrelerin yan yüzlerindeki bağlantı yapıları da yine normal bulundu.

Mitokondrialar ve granüler endoplasmik retikulum tubulusları doğal yapıdaydı. Stromal hücreler ve kollagen lifleri normal görünümdeydi. (Resim 1,2,3).

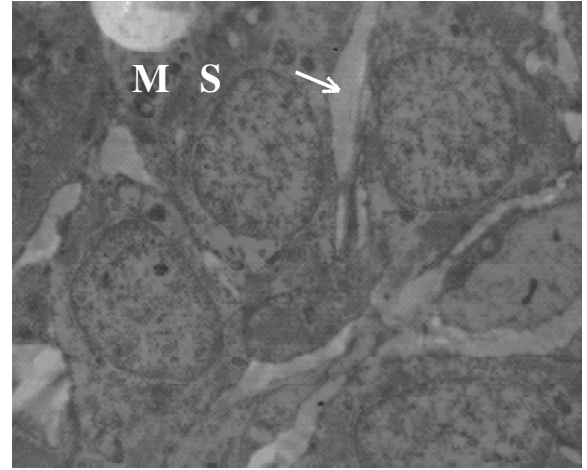
DDVP grubunda tuba epitelyumunda ağır dejeneratif değişiklikler görüldü. Küçük büyütmede silialı epitelyum hücreleri sayıca oldukça azalmış ve yerlerini mikrovillu hücreler almıştı. Yüksek büyütmede silia incelemesinde dejenerasyonlar görüldü. Mikrotübül yapıda merkezi tübülüslerin yokluğu saptandı. Hücrelerin mikrovillusları sayıca azalmıştı. Tüm epitelyum hücrelerinde mitokondrial kristalleşme mevcuttu. Lifler normal organizasyondaydı, bir grup stromal hücrelerin nükleolarında kromatin yoğunlaşması ve buna bağlı apoptotik değişiklikler izlendi. Tüm hücrelerin nükleolarında kromatin kaybı mevcuttu. Diğer hücrelerde organel içeriğinde bozulmalar mevcuttu. Bunlar arasında mitokondrial kristalleşme ve şişme bulguları belirgindi. (Resim 4-6)



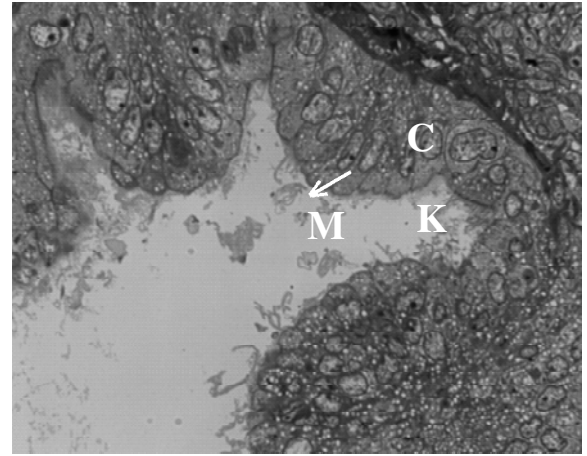
Resim 1: Kontrol grubunda fallop tüpünün yarınca kesiti, Epithelial hücre (E), microvillus (M), kinocillia (K) (X1000 OB)



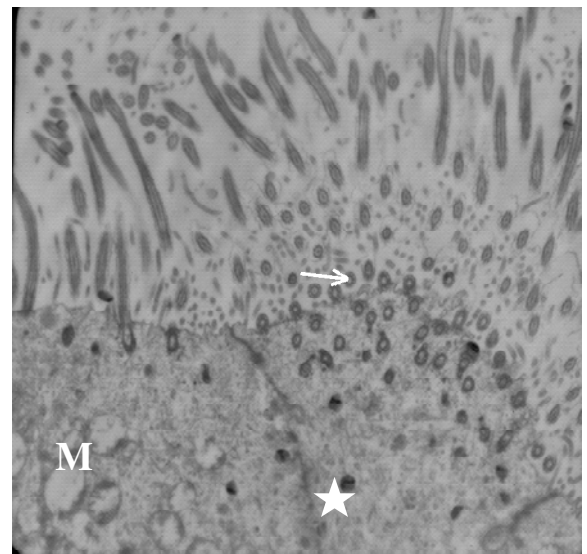
Resim 2: Kontrol grubunda fallop tüpünün liümen epiteli. M: Mitochondria í: Kinocilia ØØ: Rough Endoplasmic Reticulum (rER) tubulusları (Uranyl acetate-Lead citrate Uranyl acetate-Lead citrate X3000)



Resim 3: Kontrol grubunda fallop tüpü stroması. S: Stromal hücre M: Mitochondria E: Kollagen fibrili (Uranyl acetate-Lead citrate X7000)



Resim 4: DDVP grubu. Mikrovillularda kayıp (M) ve kinocillia (K) yapıları. Mitochondrial kristalleşme (ok), çok sayıda spesifik vakuoller ('). Tüm hücrelerde nükleuslarda kromatin kaybı (C). (X1000 OB)

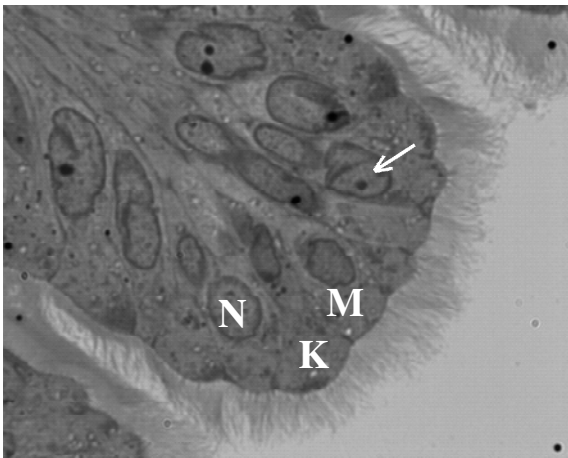


Resim 5: DDVP grubunda fallop tüpünde luminal epithelium. M: Mitochondria í: kinocillilerde dejenere mikrotübül konfigürasyonu, ☆: Lizozom (Uranyl acetate-Lead citrate X3000)

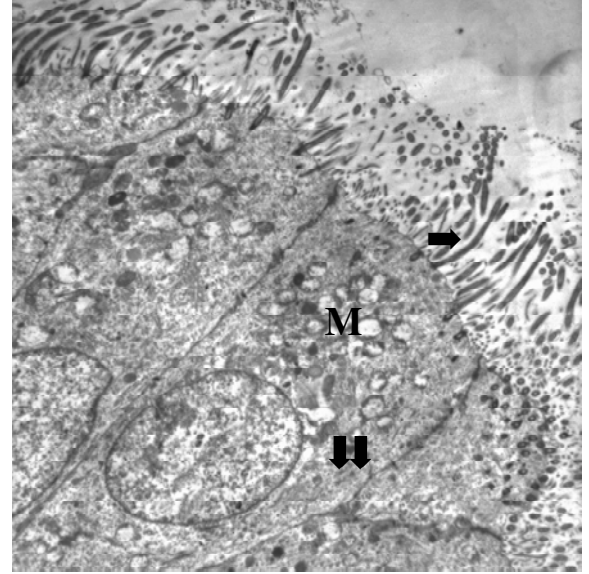


Resim 6: DDVP grubunda fallopiyan tüp stroması S: Stromal apoptotik hücreler.

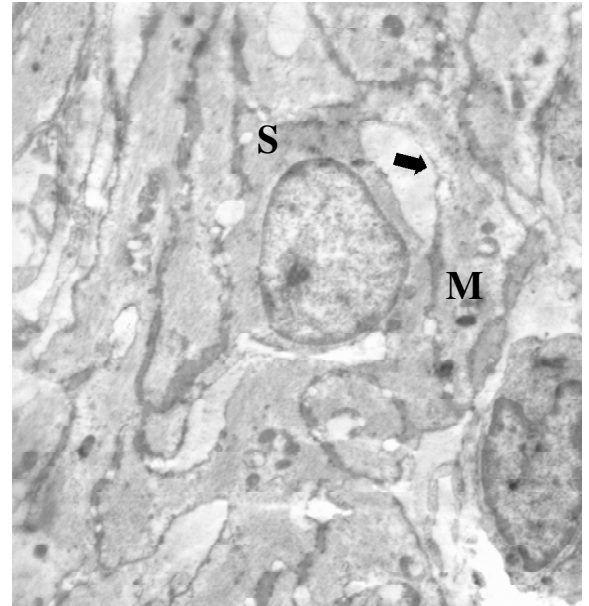
DDVP+Vit grubunda kontrol grubuna eşit sayıda mikrovilluslu ve kinosillialı hücreler mevcuttu. Olası vitamin etkisine bağlı olarak sitoplazmadaki vakuolleşme görülmedi. Fakat mitokondrial kristalleşme mevcuttu. İlaveten DDVP grubunun aksine kromatin yapısı korunmuştu. Apikal yüzey yapılarında dejenerasyon bazı bölgelerde devam etmekteydi. Bu bölgelerde nükleer yapılar korunmuştu. Oysa mitokondrialar da serbest düzensiz vakuoller mevcuttu. Bu grubun stroma incelemesinde hiçbir apoptotik hücre bulunmadı. Stromal hücre içerikleri ve kollagen lif paternleri normal görünümdeydi(Resim 7,8,9).



Resim 7: DDVP+Vit grubu. Normal microvillus (M) ve kinosillialı (K) selluler yapı. Mitokondrialarda Kristalleşme (K) Korunmuş nükleus kromatin yapısı (N) (X1000 OB).



Resim 8: DDVP+Vit grubunda tubanın luminal epiteli. M: Mitochondria K: Kinocilia rER: rER tubules, L: Lysosome (Uranyl acetate-Lead citrate X3000)



Resim 9: DDVP+Vit grubunda fallop tüpünün stroması. S: stromal hücre M: Mitochondria K: Kollagen fibril (Uranyl acetate-Lead citrate X7000)

TARTIŞMA

İnsektisitler mitokondrial solunum, ilaç metabolizması, karbonhidrat metabolizması ve protein biyosentezi gibi bazı biyokimyasal proseslere etki yapabilirler⁽¹⁷⁾. OPI'ler sinir iletimi gibi membran olaylarına ve plasma membran aktivitesi ile organel enzimlerine etki gösterebilirler. Son araştırmalar OPI'lerin ChE

inhibisyonu dışında membran lipitlerine etki ederek enzimlerin allosterik davranışlarını bozabildiğini göstermiştir⁽¹⁵⁾.

Bazı çalışmalar phosphomidon, trichlorfon, ve methidathion gibi OPI'lerin artmış MDA üretimi ile birlikte oksidatif strese yol açtıklarını göstermiştir⁽²⁴⁾. Malondialdehyde ROS ve hücre membranı etkileşiminde ortaya çıkan bir membran LPO belirteçidir⁽¹⁶⁾. Bizim daha önceki invitro ve invivo çalışmalarımızda şimdiki çalışmamıza benzer olarak methidathion, phosalone ve diazinonin uygulanması sonucunda MDA oluşumu artmıştır^(7,8,20,21). MDA'daki artış DDVP'nin kendisinin LPO'yu indüklenmesine bağlı olabileceği gibi ROS artışına da bağlı olabilir. Aynı zamanda histopatolojik değişiklikler de LPO'ya eşlik etmiştir. Bu sonuçlar LPO'nun OPI'ye bağlı tubal hasardaki moleküler mekanizmada yer aldığı hipotezini desteklemektedir.

Vitamin E ve vitamin C gibi nonenzimatik antioksidanlar serbest radikallerin temizlenmesinde önemli ve farklı bir role sahiptirler. Vitamin C'nin suda çözünürlük özelliği onun ilk basamak antioksidan olarak seçilmesine yol açar. Vitamin E yağda eriyen bir moleküldür ve peroksilize polignature yağ asitlerini peroksil serbest radikale fenolik hidrojen transfer eder. Böylece selüler ve subselüler membran fosfolipidlerinde lipid peroksidasyonu önler. Bu etki belirgin olarak mitokondrialarda ve mikrozomlarda görülür. -tocopherolün aksine askorbik asit hidrofiliktir ve su ortamında daha iyi fonksiyon yapar. Oksitlenmiş -tocopherolun antioksidan özelliğini restore edebilir. Buda bize askorbik asitin bir önemli fonksiyonunu tokoferoksil radikallerin tekrar döngüsünü sağlamak olduğunu gösterir⁽²⁵⁾. Böylece vitamin E ve vitamin C interaktif etkilere sahip olabilmektedir.

Daha önceki çalışmalarımızda chlorpyrifos-ethyl ve methidathion gibi OPI'ler LPO'da belirgin bir artışa yol açmıştır, vitamin E ve C tedavisi ise LPO'da belirgin azalmaya neden olduğu gösterilmiştir^(7,8). Bu çalışmada DDVP'den 30 dakika sonra uygulanan vitamin E ve C LPO'da anlamlı bir düşüş sağlamıştır. Çalışmamızda subkronik DDVP uygulamasının rat plasmasında belirgin LPO artışına yol açtığını saptadık. Buna elektron mikroskopik histopatolojik değişikliklerde eşlik etti. bir OPI olan dimethoatın mitokondrial enzim aktivitesini inhibe ettiğini göstermişlerdir⁽²⁶⁾. yine bir OPI olan malathionun rat hepatositlerinde mitokondrial şişmeye neden olduğunu

göstermişlerdir⁽²⁷⁾. Kalender ve ark. diazinon tedavi grubunda hepatositlerde mitokondrial şişmesi ve mitokondrial kristalarda kırılma bulmuşlardır. Vitamin E eklenen grupta ise patolojik bulgunun olmadığını göstermişlerdir⁽²⁸⁾. Çalışmamızda DDVP grubunda tuba epitelyumunda ağır dejeneratif değişiklikler görüldü. Mikrovilluslu ve kinosialı hücrelerin apikal yüzey değişiklikleri tamamen kaybolmuştu. Ayrıca tüm hücrelerde spesifik vakuoller, mitokondrial kristalleşme ve şişme ve kromatin kaybı görüldü. OPI intoksikasyonu olan hayvanlarda mitokondrial değişiklikler toksik etkileri yenmek için hücrenin artmış enerji gereksinimleri düşündürmektedir, böylece vitamin E ve C kombinasyonu DDVP'ye bağlı histolojik değişiklikleri düzeltti. Ancak bu değişiklikleri tamamen normale getirmemiştir. DDVP+vit grubunda vitamin E ve C kombinasyonu muhtemelen fallop tüplerinde direk koruyucu etki göstermişlerdir. Bununla birlikte bu vitamin kombinasyonu DDVP'ye bağlı fallop tüp hasarını kısmen önlemiştir. İnkomplet bir düzelme söz konusu olduğundan, LPO dışında başka reaktif oksijen türlerin rol oynadığını düşünebiliriz.

Matkovics ve ark. OPI'nin ChE inhibe edici etkisinin en iyi vitamin E tarafından kompanse edildiğini ortaya koymuşlardır⁽²⁹⁾. Daha önceki çalışmamızda, methidathion ChE aktivitesinde anlamlı bir düşüşe yol açmıştı^(7, 8, 20, 21). Dahası methidathion uygulamasından sonra vitamin E ve C verilmesi ChE aktivitesinde anlamlı bir yükselmeye neden olmuştur. Çalışmamızda, önceki çalışmalara paralel olarak DDVP verilen grupta ChE aktivitesinde anlamlı bir düşüş oldu. Vitamin kombinasyonu kullandığımızda ChE aktivitesinde parsiyel restorasyon sağlandı. Bu bulgular bize vitamin E ve C kombinasyonunun subkronik DDVP tedavisi alan ratlarda ChE aktivitesini kısmi olarak restore ettiğini göstermiştir.

Çeşitli çalışmalar infertilite ve asiste fertilitate patofizyolojisinde, oksidatif stresin bir rolü olduğunu göstermiştir. Endometriozis, tubal faktör infertilitesi ve açıklanamayan infertilitede oksidatif stresin rolü kanıtlanmıştır. Fallop tüpünün infundubulum bölgesi ovulasyon sonrasında oosit kümülüs kompleksini yakalayıp fertilizasyonun olduğu ampulla bölgesine iletmekten sorumludur. Fallop tüpü eş zamanlı olarak uterotubal bileşkedeki bir rezervuardan spermi aksi yönde hareket ettirir. Fallop tüpü spermatozoa kapasitasyonu, fertilizasyon, preimplantasyon gelişimi ve preimplantasyon embrioların uterusu transportu için uygun bir mikro

çevre oluşturur. DDVP'ye bağlı LPO artışı bu proseslerin herhangi birini bozabilir böylece tubal faktör infertilitesi ve ektopik gebelik gelişebilir. Biz özellikle OPI kullanımının yaygın olduğu tarım kesimindeki çiftlerde fallop tüple ilgili araştırmaların yapılmasını önermekteyiz.

Sonuç olarak subkronik DDVP verilmesinin fallop tüp hasarına yol açtığı muhtemeldir ve DDVP'ye bağlı bu toksitedeki moleküler mekanizmalardan bir tanesi LPO olabilir. DDVP sonrası vitamin E ve C kombinasyon tedavisi LPO'yu ve fallop tüp hasarını önleyebilir.

KAYNAKLAR

- Gultekin F, Delibas N, Yasar S, Kilinc I. In vivo changes in antioxidant systems and protective role of melatonin and a combination of vitamin C and vitamin E on oxidative damage in erythrocytes induced by chlorpyrifos-ethyl in rats. *Archives of Toxicology* 2001; 75: 88- 96.
- Vittozzi L, Fabriz L, Di Consiglio E, Testai E. Mechanistic aspects of organophosphorothionate toxicity in fish and humans. *Environ Int* 2001; 26(3): 125- 9.
- Gomes J, Dawodu AH, Lloyd O, Revitt DM, Aniall SV. Hepatic injury and disturbed amino acid metabolism in mice following prolonged exposure to organophosphorus pesticides. *Hum Exp Toxicol* 1999; 18 (1): 33- 7.
- Swann JM Schultz TW, Kennedy JR. The effects of the organophosphorous insecticides Dursban and Lorsban on the ciliated epithelium of the frog palate in vitro. *Arch Environ Contam Toxicol* 1996; 30: 188- 94.
- Handy RD, Abd-El Samei HA, Bayomy MFF, Mahran AM, Abdeen AM, El-Elaimy EA. Chronic diazinon exposure: pathologies of spleen, thymus, blood cells, and lymph nodes are modulated by dietary protein or lipid in the mouse. *Toxicology* 2002; 172: 13-34.
- Rodrigo L, Hernandez AF, Lopez-Caballero JJ, Gil F, Pla A. Immunohistochemical evidence for the expression and induction of paraoxonase in rat liver, kidney, lung and brain tissue, implications for its physiological role. *Chem Biol Interact* 2001; 137: 123-37.
- Yavuz T, Altuntas I, Delibas N, Yıldırım B, Candir O, Cora A, Karahan N, Ibrism E, Kutsal A. Cardiotoxicity in rats induced by methidathion and ameliorating effect of vitamins E and C. *Hum. Exp. Toxicol.* 2004a 23: 323- 9.
- Yavuz T, Delibas N, Yildirim B, Altuntas I, Candir O, Cora A, Karahan N, Ibrism E, Kutsal A. Vascular wall damage in rats induced by organophosphorus insecticide methidathion. *Toxicol Lett* 2005; 155: 59- 64.
- Nanda N, Kaliwal BB. Effect of edifenphos on compensatory ovarian hypertrophy, follicular kinetics and estrous cycle in hemicastrated rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 2003; 14: 373- 86.
- Blaquiere GE, Waters L, Blain PG, Williams FM. Electrophysiological and biochemical effects of single and multiple doses of the organophosphate diazinon in the mouse. *Toxicol Appl Pharmacol* 2000; 166: 81- 91.
- Bazylewicz-Walczak B, Majezakowa W, Szymczak M. Behavioral effects of occupational exposure to organophosphorus pesticides in female green house planting workers. *Neurotoxicology* 1999; 20(5): 819- 26.
- Hunter DL., Lassiter, DL, Padilla S. Gestational exposure to chlorpyrifos; comparative distribution of trichloropyridinol in the fetus and dam. *Toxicol Appl Pharmacol* 1999; 158: 16-23.
- Bagchi D, Bagchi M, Hassoun EA, Stohs SJ.. In vitro and in vivo generation of reactive oxygen species, DNA damage and lactate dehydrogenase leakage by selected pesticides. *Toxicology* 1995; 104: 129- 40.
- Ranjbar A, Pasalar P, Abdollahi M. Induction of oxidative stress and acetylcholinesterase inhibition in organophosphorous pesticide manufacturing workers. *Hum Exp Toxicol* 2002; 21(4): 179- 82.
- Gultekin F, Delibas N, Yasar S, Kilinc I. In vivo changes in antioxidant systems and protective role of melatonin and a combination of vitamin C and vitamin E on oxidative damage in erythrocytes induced by chlorpyrifos-ethyl in rats. *Arch Toxicol* 2001; 75: 88- 96.
- Aslan R, Sekeroglu MR, Gultekin F, Bayiroglu F. Blood lipoperoxidation and antioxidant enzymes in healthy individuals: relation to age, sex, habits, life style and environment. *J Environ Sci Health A* 1997; 32(8): 2102- 9.
- Gupta Dasgupta J, Datta J, Sarkar A, Sengupta D. Effect of malathion on antioxidant defence system in human fetus-an in vitro study. *Indian J Exp Biol* 1992; 30: 352- 4.
- Bachowski S, Kolaja KL, Xu Y, Ketcham CA, Stevenson DE, Walborg Jr EF, Klaunig JE. Role of oxidative stress in the mechanism of dieldrin's hepatotoxicity. *Ann Clin Lab Sci* 1997; 27: 196- 209.
- Dalvit GC, Beconi C, Beconi MT. Effect of α -tocopherol and ascorbic acid on bovine in vitro fertilization. *Theriogenology* 1998; 49: 619- 27.
- Altuntas I, Delibas N, Demirci M, Kilinc I, Tamer N. The effects of methidathion on lipid peroxidation and some liver enzyme: role of vitamins E and C. *Arch Toxicol* 2002; 7: 470- 3.
- Altuntas I, Delibas N, Sutcu R. The effects of organophosphate insecticide methidathion on lipid peroxidation and anti-oxidant enzymes in rat erythrocytes: role of vitamins E and C. *Hum*

- Exp Toxicol 2002;21:681-5.
22. Romero NG, Lopez AT, Rojas OA, Fernandez MC. Effect of dichlorvos on hepatic and pancreatic glucokinase activity and gene expression, and on insulin mRNA levels. *Life Sciences* 2006; 78: 1015- 20.
 23. Griesmacher A, Kindhauser M, Andert SE, Schreiner W, Toma C, Knoebl P, Pietschmann P, Prager R, Schnack C, Schernthaner G. Enhanced serum levels of thiobarbituric-acid-reactive substances in diabetes mellitus. *Am J Med* 1995; 98(5): 469-75.
 24. Yamano T, Morita S. Hepatotoxicity of trichlorfon and dichlorvos in isolated rat hepatocytes. *Toxicology* 1992; 76: 69- 77.
 25. Ming Z, Fan YJ, Yang X, Lutt WW. Synergistic protection by S-adenosylmethionine with vitamins E and C on liver injury induced by thioacetamide in rats. *Free Raical Biol* 2006; 40: 617- 24.
 26. Moussa TA, Hafez MM. The effect of dimethoate on the mitochondria of the guinea pig. *Egypt J Histol* 1995; 6: 101-6.
 27. Tos-Luty S, Obuchowska-Przebirowska D, Latuszynska J, Tokarsa-Rodak M, Haratym-Maj A. Dermal and oral toxicity of malathion in rats. *Ann Agric Environ Med* 2003; 10: 101-6.
 28. Kalender S, Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Acikgoz F, Durak D, Ulusoy Y, Kalender Y. Diazinon-induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes. *Toxicology* 2005; 211: 197- 206.
 29. Matkovics B, Szabo L, Ivan J, Gaal I. Some further data on the effects of two organophosphate pesticides on the oxidative metabolism in the liver. *Gen Pharmacol* 1983; 14: 689- 91.
 30. Agarwal A, Gupta S, Sharma RK. Role of oxidative stress in female reproduction. *Reprod Biomed* 2005;11(5): 641- 50.1