

Araştırma Makalesi

**Deltametrinin Oluşturduğu Periferik Sinir Hasarı Üzerine
E Vitaminin Etkisinin Araştırılması**

Effect of Vitamin E on Peripheral Nerve Damage Formed by Deltamethrin

**Ebru BALLI¹, Serap YALIN², Birgül MAZMANCI³, Mehmet Ali MAZMANCI⁴,
Fatma SÖĞÜT⁵, Pelin EROĞLU⁶, Derya YETKİN¹, Selma KORKUTAN⁵, Ülkü ÇÖMELEKOĞLU⁵**

¹Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Mersin

²Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Mersin

³Mersin Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Mersin

⁴Mersin Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümü, Mersin

⁵Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı, Mersin

⁶Mersin Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, Mersin

Özet

Amaç: Deltametrin, tarımsal zararlılarla mücadelede yaygın olarak kullanılan tip II piretroid grubundan bir böcek öldürücü ilaçtır. Bu çalışmada deltametrinin sıçan siyatik siniri üzerine toksik etkisinin giderilmesinde E vitamininin koruyucu rolü olup olmadığının araştırılması amaçlandı.

Yöntem: Çalışmada 28 adet Wistar albino sıçan kullanıldı. Sıçanlar grup I (kontrol), grup II (deltametrin), grup III (deltametrin+E vitamini) ve grup IV (deltametrin uygulamasından sonra 15 gün E vitamini) olarak rastgele dört gruba ayrıldı. Grup I'e ağız yoluyla sadece mısır yağı verildi. Grup II'ye 1.28 mg/kg dozunda deltametrin, grup III'e deltametrin+E vitamini kombinasyonu, grup IV'e ise deltametrin uygulaması tamamlandıktan sonra başlamak üzere E vitamini uygulaması yapıldı. Deltametrin ve E vitamini mısır yağında çözüldü. Uygulama 30 gün boyunca 48 saat aralıklarla tekrarlandı. Uygulamalardan sonra sıçanların bileşik sinir aksiyon potansiyelleri kayıtlanarak genlik ve latans ölçüldü. Kayıtlardan sonra siyatik sinirler izole edildi. İzole sinirlerde biyokimyasal teknikler kullanılarak süperoksit dismutaz, katalaz ve malondialdehit düzeyleri ölçüldü ve ışık mikroskobu kullanılarak yapısal değişiklikler saptandı.

Bulgular: Grup II ve grup IV'de aksiyon potansiyelinin genliği kontrole göre önemli miktarda azaldı, malondialdehit düzeyi ise arttı. Her iki grupta miyelinli sinir liflerinin miyelin kılıflarında ve aksonlarında hasar izlendi. Grup III'de ise aksiyon potansiyelinin genliği ve süresi ile malondialdehit düzeyi açısından grup I'e göre önemli bir fark gözlenmedi. Bu grupta histolojik değerlendirmede de miyelinli sinir liflerinin çoğunlukla normal görünümüne sahip oldukları belirlendi.

Sonuç: Bu çalışmada deltametrinin sıçan siyatik sinirinde oksidatif strese yol açarak akson ve miyelin hasarı oluşturduğu, deltametrinle birlikte antioksidan E vitaminin verilmesinin bu hasarı önlediği, hasar oluşuktan sonra tedavi amaçlı E vitamini uygulanmasının ise hasarı kısmen azalttığı saptanmıştır.

Anahtar Sözcükler: deltametrin; E vitamini; siyatik sinir hasarı

Abstract

Aim: Deltamethrin, which is a type II pyrethroid pesticide group, is widely used for controlling agricultural pests. This study aimed to investigate the protective role of vitamin E in elimination of the toxic effects of deltamethrin on rat sciatic nerve.

Method: In this study, 28 Wistar albino rats were used. Rats were randomly assigned into four groups as Group I (control), Group II (deltamethrin), Group III (deltamethrin + vitamin E) and Group IV (after the administration of deltamethrin vitamin E administration for 15 days). Group I was given only corn oil orally. Animals of Group II and Group III were given deltamethrin at a dose of 1.28mg/kg, and deltamethrin + vitamin E, respectively. Animals of Group IV were given vitamin E after deltamethrin administration. Deltamethrin and vitamin E were dissolved in corn oil. Administration was repeated at 48 hour intervals for 30 days. After the administrations, compound nerve action potentials of rats were recorded and measured as amplitude and latency. Sciatic nerves were isolated after the recordings. Superoxide dismutase, catalase and malondialdehyde levels were measured on isolated nerves using biochemical techniques, and ultra-structural changes were determined using techniques of electron microscopy.

Results: As compared to the control group, at Group II and Group IV substantial decrease on the amplitude of the action potentials, and increase of malondialdehyde levels were observed. In both groups, damage on axons and myelinated fibers were detected. Comparing to the control group, in Group III, a significant difference was not observed on the amplitude and duration of the action potentials, and the levels of malondialdehyde. In this group, according to the histological evaluation myelinated nerve fibers were mostly appeared to be normal.

Conclusion: In this study, deltamethrin was found to be creating axon and myelin damages by leading oxidative stress in the rat sciatic nerve. It is observed that, administration of antioxidant vitamin E along with deltamethrin prevented such damage, and the therapeutic administration of vitamin E was found to partially reduce this damage.

Keywords: deltamethrin; vitamine E; sciatic nerve damage

*Çalışma 2013 yılında Mersin'de yapılan 21. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi'nde poster olarak sunulmuştur.

Mersin Univ Sağlık Bilim Derg, 2014;7(1):17-23

Geliş tarihi : 30.05.2014

Kabul tarihi : 06.08.2014

Yazışma adresi : Doç. Dr. Ebru BALLI, Mersin Üniversitesi,
Çiftlikköy Kampüsü, Tıp Fakültesi, Histoloji ve
Embriyoloji Anabilim Dalı, Mersin

Tel : 0324 3610684

Faks : 0324 3412400

E-posta : ebruballi@mersin.edu.tr

Giriş

Deltametrin, düşük toksisitesi nedeniyle dünyada ve ülkemizde yaygın olarak kullanılan tip II piretroid grubundan bir insektisittir. Piretroidler tip I ve tip II olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Tip II piretroidler tip I'lerden farklı olarak alfa-karboksil grubuna bağlı bir siyano grup içerirler (1). Diğer tüm insektisit gruplarında olduğu gibi piretroidler de hedef canlılar kadar hedef olmayan canlılarda da toksik etki gösterirler. Piretroidlerin akut etkisine maruz kalan insanlarda sinir sistemi, gastrointestinal sistem, solunum sistemi ve kardiyovasküler sistemde hasar olduğu saptanmıştır (2). Piretroid insektisitlerin ana hedefleri voltaj kapılı sodyum kanallarıdır (3). Voltaj kapılı sodyum kanallarının inaktivasyonunu geciktirerek hedef olmayan canlılarda nöronal eksitabiliteye yol açarlar. Sodyum kanalının inaktivasyonunun gecikmesi daha fazla sodyum iyonunun hücre içerisine girmesine ve sinir hücre zarındaki depolarizasyonun artmasına neden olur (4). Tip II piretroidlerin inaktivasyon kapısında oluşturduğu gecikme tip I piretroidlere göre daha fazladır (5). Piretroid insektisitler voltaj kapılı sodyum kanallarına ek olarak voltaj kapılı kalsiyum kanallarını ve voltaj kapılı klorür kanallarını da etkilerler (6,7). Voltaj kapılı sodyum kanalları, kalsiyum kanalları ve klorür kanalları nöronal uyarılabilirlikte kritik öneme sahiptirler. Piretroid insektisitlere maruz kalan kişilerde iyon kanallarının etkilenmesiyle hareketsiz kalma, koordinasyon bozukluğu, aşırı yorgunluk, felç olma, agresif davranışlar tüm vücutta tremor, hiperaktivite, tükürük salgısında artma, kontrolsüz davranışlar, kasılma ve titreme nöbetleri oluşur (8,9).

Deltametrinin hem merkezi sinir sistemi hem de periferik sinir sistemi üzerine etkilerine ilişkin çalışmalar mevcuttur. Tayebati ve ark. (10) tarafından sıçanlarda yapılan bir çalışmada dermal yoldan uygulanan deltametrinin serebrokortikal alanda hücre kaybına yol açtığı, astrogliyozise neden olduğu, hipokampal dopamin ve dopamin taşıyıcılarının kaybına neden olduğu, bununla ilişkili olarak da Parkinson hastalığı için risk faktörü olabileceği bildirilmiştir. Harrili ve ark. (11) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise düşük doz permtrin ve deltametrinin frontal korteks bölgelerinde gen ekspresyonunu değiştirdiği ve normal nöronal gelişimi bozarak nörotoksik etki gösterdiği belirtilmiştir.

Guo ve ark. (12) tarafından yapılan çalışmada ise deltametrinin beyinde sinir hücre apoptozisini inhibe ederek hasar oluşturduğu ve bu hasarın giderilmesinde melatoninin koruyucu rolü olduğu öne sürülmüştür. Theodiphidilis ve ark. (13) tarafından yapılan bir başka çalışmada altı piretroid insektisitinin izole kurbağa siyatik siniri üzerine toksik etkileri aksiyon potansiyeli kayıt tekniği kullanılarak incelenmiş ve deltametrinin aksiyon potansiyelinin genliğinde yaklaşık %50 oranında

azalmaya yol açtığı bildirilmiştir. Calore ve ark. (14) ise deltametrinin periferik sinirlerde oluşturduğu morfolojik değişiklikleri incelemiştir. Çalışmada deltametrinin siyatik sinir ve tibial sinirde oluşturduğu morfolojik değişiklikler saptanmıştır. Elektron mikroskop ile yapılan incelemede sinirlerde miyelin hasarı ve aksonal hasar olduğu gözlenmiştir. Bu etkilere ek olarak deltametrinin aerobik metabolizma sırasında serbest radikal oluşumunu artırarak oksidatif strese yol açtığı bildirilmiştir (15-17).

E vitamininin serbest radikalleri yok eden, oluşumlarını bloke eden veya endojen antioksidan yeteneklerini arttıran bir ajan olduğu bilinmektedir (18). Bu bilgiler ışığında E vitamininin deltametrinin oluşturduğu sinir hasarında koruyucu rolü olabileceği düşünülmüştür. Bu çalışmada deltametrinin oluşturduğu periferik sinir hasarının giderilmesinde E vitamininin koruyucu ve tedavi edici rolünün olup olmadığının biyofiziksel, biyokimyasal ve histolojik yöntemler kullanılarak araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler

Deney Hayvanları ve Deney Protokolü

Deneylerde ağırlıkları 200-220 gram arasında değişen 28 adet Wistar albino sıçan kullanıldı. Sıçanlar deney süresince 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda, oda sıcaklığı 21°C ve ortalama nem yaklaşık %50 olacak şekilde galvaniz kafeslerde tutuldu. Deney süresince standart sıçan yemi ile beslenen sıçanların, su gereksinimleri, *ad libitum* olarak karşılandı. Sıçanlara tüm işlemler Mersin Üniversitesi Hayvan Deneyleri ve Yerel Etik Kurulu'nun onayı alındıktan sonra uygulandı. Sıçanlar her grupta 7 hayvan olacak şekilde grup I (kontrol), grup II (deltametrin), grup III (deltametrin+E vitamini) ve grup IV (deltametrin uygulamasından sonra 15 gün E vitamini) olarak dört gruba ayrıldı. Deneylerde deltametrinin litrede 25 g saf madde içeren Decis 2.5 EC (Bayer, Türkiye) ticari preparatı kullanıldı. Deltametrinin sıçanlar için oral LD50 değeri 128 mg/kg'dır. Deneyler için LD50 dozunun 1/100'üne karşılık gelen 1.28 mg/kg dozu seçildi. Doz seçimine ön deneylerle karar verildi. E vitaminin dozu önceki çalışmalar (18) dikkate alınarak 100 mg/kg olarak belirlendi. Deltametrin ve E vitamini 0.5 mL mısır yağında çözülerek uygulandı. Grup I'e oral yoldan sadece mısır yağı verildi. Grup II'ye 0.5 mL mısır yağında çözülmüş 1.28 mg/kg dozunda deltametrin, grup III'e 0.5 mL mısır yağında çözülmüş deltametrin+E vitamini kombinasyonu, grup IV'e ise deltametrin uygulaması tamamlandıktan sonra başlamak üzere 15 gün E vitamini uygulaması yapıldı. Bu grupta çözücü olarak kullanılan mısır yağının toplamda 0.5 mL'yi geçmemesi sağlandı. Tüm gruplardaki her uygulama 30 gün boyunca 48 saat aralıklarla tekrarlandı.

Bileşik Sinir Aksiyon Potansiyellerinin Kayıtlanması

Sıçanlar 8 mg/100 gr ketamin ve 1 mg/100 gr xylazin karışımının intraperitoneal verilmesiyle anestezi edildi ve uyluk bölgeleri traş edildi. Bileşik sinir aksiyon potansiyelleri (BKAP) sinir iletim teknikleri kullanılarak kaydedildi. Stimülasyon için bipolar yüzeyel elektrotlar (Medelec küçük bipolar sinir elektrotları, 6894T, Oxford, UK), gastrokinemius kasından kayıtlar için ise disk şeklinde yüzeyel elektrotlar (Medelec, numara 017K006, Oxford, UK) kullanıldı. Toprak elektrotu kaydın yapılmadığı bacak üzerine yerleştirildi. BKAP'lar BIOPAC MP 100 veri toplama sistemi (versiyon 3.5.7, Santa Barbara, USA) ile kayıtları. Supramaksimal uyaran süresi 0.5 ms olarak ayarlandı. BKAP verileri, 22346 örnek/s örnekleme hızıyla 16 bit'lik bir analog/dijital çevirici ile sayısal değere dönüştürülüp daha sonra analiz edilmek üzere bilgisayarda depolandı. BKAP parametrelerinden genlik ve süreyi ölçmek için BIOPAC Acqnowledge Analiz programı (ACK 100 W 5.7 versiyon) kullanıldı. Uyarılmayı sağlayan değer uyarı eşiği olarak kabul edildi. Elde edilen BKAP kayıtlarından aksiyon potansiyelinin genlik ve süresi ölçüldü.

Aksiyon potansiyelleri kayıtlandıktan sonra sıçanlar yüksek doz anestezi madde verilerek sakrifiye edildi. İzole edilen siyatik sinirin bir bölümü histolojik analiz, diğer bölümü de biyokimyasal analizde kullanılmak üzere ayrıldı.

Biyokimyasal Analizler

Katalaz (CAT) aktivitesi Aebi'nin (19) geliştirdiği yöntem ile ölçüldü. Bu yöntemde deney ortamına eklenen H₂O₂, katalaz tarafından su ve oksijene dönüşmektedir. Bu dönüşüm esnasında H₂O₂'in absorbans azalması 240 nm'de izlenerek katalaz aktivitesi tayin edildi. Spesifik aktivite ünite/mg cinsinden hesaplandı.

Oksidatif yolla enerji üretimi sırasında oluşan endojen ve eksojen kaynaklı toksik süperoksit radikallerinin suya ve moleküler oksijene dismutasyonunu hızlandıran süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesinin ölçüm prensibi, ksantin varlığında ksantin oksidazın açığa çıkardığı süperoksit radikallerinin nitroblue tetrazolium ile 560 nm'de absorblanan rengin ölçülmesine dayanır (20). Çalışmada örneklerin 560 nm'de absorbanslar ölçülerek SOD aktivitesi tayin edildi. Spesifik aktivite U/mg protein cinsinden ifade edildi.

Malondialdehit (MDA) ölçümü lipid peroksidasyon ürünlerinden en stabili olan MDA'nın tiobarbitirik asit ile reaksiyonu sonucu oluşan pembe kırmızı rengin absorbansının spektrofotometrik olarak değerlendirilmesi esasına dayanmaktadır (21). 1,1,3,3-tetraepoksi-propan standart olarak kullanılarak yoğunluk-absorbans grafiği çizildi. Regresyon analizi ile saptanan formül kullanılarak örneklerdeki MDA yoğunlukları hesaplan-

dı. Bulunan değerler dokuda protein miktarı ile oranlanarak mmol/mg protein cinsinden ifade edildi.

Total protein tayin yönteminin prensibi alkali çözeltide oluşan bakır-protein kompleksinin fosfomolibdatfosfotungstat reaktifini (Folin-Ciocalteus-Phenol Reaktifi) redüklemesi ve oluşan ve koyu mavi rengin 750 nm'de ölçülmesine dayanmaktadır. Burada rengin koyuluğu ortamdaki protein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır (Lowry OH). Herbir örnek için protein miktarı, BSA standart çözeltileri ile hazırlanan standart eğrisine göre ve dilüsyon faktörüyle çarpılarak hesaplandı. %10'luk doku homojenatlarında ve 10.000 g süpernatant fraksiyonlarında protein miktarı mg olarak bulundu.

Histolojik Değerlendirme

Siyatik sinir dokusu örnekleri %2.5'lük gluteraldehit ile fikse edildikten sonra, %1'lik OsO₄ ile postfiksasyon yapıldı. Dehidratasyon işlemi yükselen derecelerde alkol kullanılarak gerçekleştirildi. Propilen oksitle şeffaflandırma ve resine alıştırma aşamalarından sonra dokular resine gömüldü. 24 saatlik polimerizasyon işleminden sonra, bloklardan ultramikrotom (Leica Ultracut UCT-125) ile 1 µm kalınlığında yarı ince kesitler alındı. Yarı ince kesitler toluidin mavisi ile boyandıktan sonra Olympus BX50 ışık mikroskopunda incelendi ve mikroskoba eklenmiş dijital kamera ile fotoğrafları çekildi.

İstatistiksel Analiz

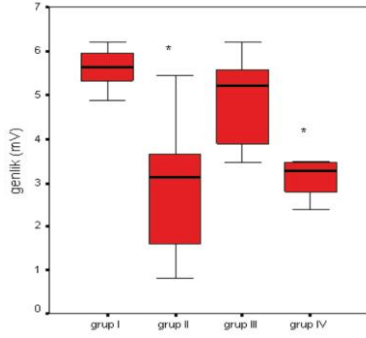
Verilerin normal dağılımı Kolmogorov-Smirnov testiyle belirlendikten sonra gruplar arasında fark olup olmadığı varyans analizi (ANOVA) yöntemiyle saptandı. Çoklu karşılaştırmalar için LSD testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılığın sınırı p<0.05 olarak belirlendi.

Bulgular

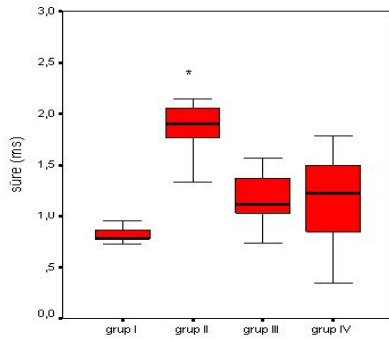
Biyofiziksel Bulgular

Şekil 1 aksiyon potansiyeli genliğinin gruplara göre değişimini göstermektedir. Şekil 1'de görüldüğü gibi grup II ve grup IV'de aksiyon potansiyelinin genliği kontrol grubuna (grup I) göre önemli ölçüde azalmıştır (p<0.05). Ancak grup III ile kontrol grubu arasında önemli bir fark bulunmamıştır (p>0.05).

Şekil 2 ise aksiyon potansiyeli süresinin gruplara göre değişimini göstermektedir. Şekilden de görüldüğü gibi aksiyon potansiyelinin süresi grup II'de kontrole göre önemli miktarda uzarken (p<0.05) grup III ve grup IV'de kontrole göre önemli bir değişiklik olmamıştır (p>0.05).



Şekil 1. Aksiyon potansiyeli genişliğinin gruplara göre değişimi



Şekil 2. Aksiyon potansiyeli süresinin gruplara göre değişimi

Biyokimyasal Bulgular

Gruplara ait CAT, SOD ve MDA değerleri Tablo I'de gösterilmiştir. Tablodan da görüldüğü gibi CAT aktivitesi grup II'de kontrole göre değişmezken ($p>0.05$), grup III ve grup IV'de kontrole göre anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0.05$). SOD aktivitesi grup II'de grup I'e göre anlamlı olarak azalırken, grup III ve grup IV'de anlamlı olarak artmıştır ($p<0.05$). MDA düzeyleri grup II ve grup IV'de grup I'e göre anlamlı düzeyde artmış, grup III'de ise artış anlamlı düzeyde bulunmamıştır ($p>0.05$).

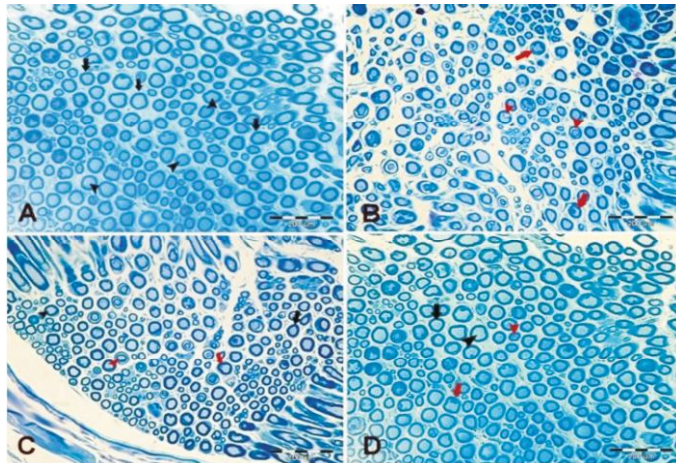
Histolojik Bulgular

Histolojik değerlendirmede grup I'de çoğunlukla normal görünüme sahip miyelinli sinir lifleri gözlenmiştir. (Şekil 3A ve Şekil 4A). Grup II'de miyelinli sinir liflerinde miyelin kılıfta ve aksonda yaygın hasar saptanmıştır (Şekil 3B ve Şekil 4B). Grup III'teki miyelinli sinir liflerinin çoğunlukla normal görünüme sahip olduğu gözlenmiştir. Miyelin kılıf ve akson hasarı olan sinir liflerine nadiren rastlanmıştır (Şekil 3C ve Şekil 4C). Grup IV'te ise yer yer normal morfolojik görünüme sahip miyelinli sinir liflerine rastlanmakla birlikte çoğunlukla miyelinli sinir liflerinde miyelin kılıfta ve aksonda hasar izlenmiştir (Şekil 3D ve Şekil 4D).

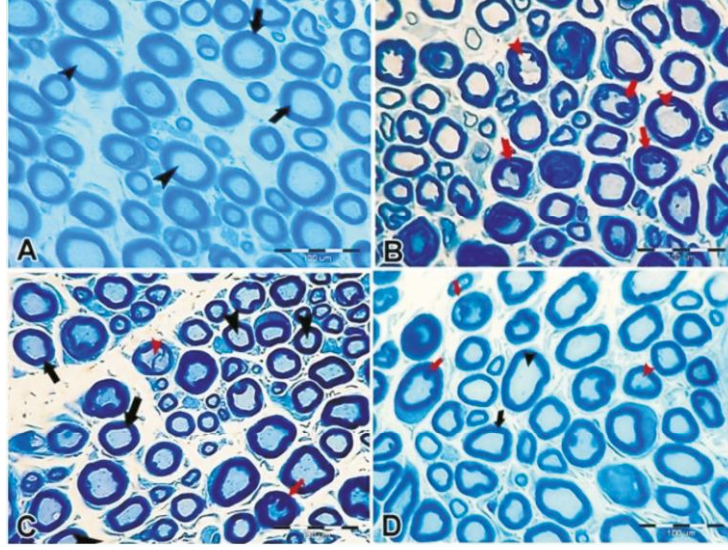
Tablo 1. Gruplara ait CAT, SOD ve MDA değerleri

Değişkenler	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV
CAT	3.25±0.92	1.88±0.64	7.90±2.16*	13.24±1.86*
SOD	4.45±0.63	2.22±0.54*	6.65±0.70*	10.20±1.38*
MDA	0.21±0.056	0.88±0.053*	0.249±0.069	0.56±0.093*

*Karşılaştırmalar grup I'e göre yapılmıştır.



Şekil 3. A) Grup I. Normal görünüme sahip miyelinli sinir lifleri (siyah ok) ve aksonlar (siyah ok başı). B) Grup II. Miyelinli sinir liflerinde miyelin kılıfta (kırmızı ok) ve aksonda (kırmızı ok başı) hasar. C) Grup III. Normal görünüme sahip miyelinli sinir lifleri (siyah ok), normal yapıda aksonlar (siyah ok başı), miyelinli sinir liflerinde miyelin kılıfta (kırmızı ok) ve aksonda (kırmızı ok başı) hasar. D) Grup IV. Normal görünüme sahip miyelinli sinir lifleri (siyah ok), normal görünüme sahip aksonlar (siyah ok başı), miyelinli sinir liflerinde miyelin kılıfta (kırmızı ok) ve aksonda (kırmızı ok başı) hasar. x1200.



Şekil 4. A) Grup I. Normal görünümüne sahip miyelinli sinir lifleri (siyah ok) ve aksonlar (siyah ok başı). B) Grup II. Miyelinli sinir liflerinde miyelin kılıfta (kırmızı ok) ve aksonda (kırmızı ok başı) hasar. C) Grup III. Normal görünümüne sahip miyelinli sinir lifleri (siyah ok), normal görünümüne sahip aksonlar (siyah ok başı), miyelinli sinir liflerinde miyelin kılıfta (kırmızı ok) ve aksonda (kırmızı ok başı) hasar. D) Grup IV. Normal görünümüne sahip miyelinli sinir lifleri (siyah ok), normal görünümüne sahip aksonlar (siyah ok başı), miyelinli sinir liflerinde miyelin kılıfta (kırmızı ok) ve aksonda (kırmızı ok başı) hasar. x3000.

Tartışma

Bu çalışmada tip II piretroid insektisitlerden deltametrinin oluşturduğu periferik sinir hasarı üzerine E vitamininin koruyucu rolü araştırılmış, deltametrinle birlikte E vitamini verilmesinin deltametrinin periferik sinirde oluşturduğu aksonal hasar ile miyelin hasarını engellediği gözlenmiştir.

Sınırlı sayıda da olsa deltametrinin periferik sinirlerde hasar oluşturduğuna dair çalışmalar mevcuttur. Theodiphidilis ve ark. (13) izole kurbağa siyatik sinirinde yaptıkları çalışmada aralarında deltametrinin de bulunduğu dört tip II piretroid insektisitün uygulamasından 45 saat sonra bileşik aksiyon potansiyeli üzerine etkisini incelemişler ve aksiyon potansiyelinin genliğinin bu insektisitlere maruz kalma sonucunda yaklaşık %50 oranında azaldığını bulmuşlardır. Deltametrinin bu insektisitler arasında en toksiklerden biri olduğunu belirtmişlerdir. Calore ve ark. (14) tarafından yapılan çalışmada ise deltametrinin periferik sinirlerde oluşturduğu morfolojik değişiklikler incelenmiştir. Çalışmada sıçanlara 45 mg/kg dozunda deltametrin üç gün boyunca uygulanmış ve uygulamadan dört gün ve yedi gün sonra deltametrinin siyatik sinir ve tibial sinirde oluşturduğu morfolojik değişiklikler elektron mikroskop ile saptanmıştır. Elektron mikroskop ile yapılan incelemede uygulamanın tamamlanmasından dört gün sonra sinirlerde miyelin hasarı ve aksonal hasar oluştuğu gözlenmiştir. Yedi gün sonrasına ait örneklerde yapılan incelemede ise bu etkinin azaldığı, sinirdeki hasarın toparlanma sürecine

girdiği belirtilmiştir. Aksonal hasar ve miyelin hasarı konusunda bizim çalışmamızda da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmamızda deltametrin 48 saatte bir olmak üzere 1.28 mg/kg dozunda 30 gün boyunca uygulanmış ve uygulamanın tamamlanmasından 24 saat sonra siyatik sinirlerde bileşik sinir aksiyon potansiyelleri kayıtlanmıştır. Deltametrinin aksiyon potansiyelinin genliğini azalttığı ve süresini uzattığı gözlenmiştir. Aksiyon potansiyelinin genliğindeki azalma aksonal hasarın, süresinin uzaması ise miyelin hasarının göstergesi olarak kabul edilmektedir (22). Ayrıca yarı ince kesitlerde yapılan ışık mikroskopik incelemede de gözlenen aksonal hasar ve miyelin hasarı elektrofizyolojik bulgularımızı desteklemektedir. Biyokimyasal incelemede deltametrin grubunda antioksidan sistem enzimlerinden CAT ve SOD enzim düzeyleri azalmış, MDA düzeyleri ise artmıştır. CAT ve SOD düzeylerinin azalması oluşan serbest radikallere antioksidan sistemin yeterli defansı gösteremediğinin göstergesi olarak kabul edilebilir. Ortamdaki bu serbest radikallerin lipid moleküllerine verdiği zararın en önemli göstergesi yüksek MDA düzeyidir (23). Deltametrin grubunda MDA düzeyinin yüksek olması oksidatif stresin varlığını ortaya koymaktadır. Bu sonuç deltametrinin farklı dokularda oksidatif strese yol açtığını gösteren çalışmalarla (24,25) uyumludur.

Çalışmamızda E vitamini sıçanlara deltametrinle birlikte 15 gün (grup III) ve deltametrin verilip sinir hasarı oluşturulduktan sonra tedavi amaçlı olmak üzere 15 gün (grup IV) uygulanmıştır. Deltametrinle birlikte 48

saat aralıklarla 30 gün E vitamini uygulanan grupta aksiyon potansiyelinin genliği ve süresi açısından kontrol grubuna göre önemli bir fark bulunmamıştır. CAT ve SOD enzim düzeyleri kontrol grubuna göre önemli oranda artmış, MDA düzeyleri ise düşmüştür. Histolojik bulgular da normal görünüme sahip miyelini siyatik sinir ve aksonlar gözlenmiştir. E vitamini sinir hasarı oluştuktan sonra tedavi amaçlı verildiği grupta ise bu vitaminin koruyucu etkisinin daha az olduğu saptanmıştır. Bu grupta elektrofizyolojik ölçümlerde aksiyon potansiyelinin süresi kontrole göre değişmemesine rağmen, bileşik aksiyon potansiyelinin genliği kontrole göre önemli oranda düşük bulunmuştur. Yine bu grupta histolojik incelemede hasarlı miyelini ve aksonların varlığı gösterilmiştir. Bu sonuç grup IV'de tedavi amaçlı verilen E vitamini akson hasarını önlemede koruyucu olarak verilen E vitamini kadar etkili olmadığını düşündürmüştür. E vitamini deltametrinin oluşturduğu toksik etkiye karşı koruyucu rolü olduğu farklı araştırmacılar tarafından gösterilmiştir (24-26). Moghrapy ve Taha (26) tarafından yapılan çalışmada sıçanlara 7.5 mg/kg deltametrin+100 mg/kg E vitamini verilmiş ve E vitamini deltametrinin oluşturduğu toksik etkiyi antioksidan özelliğiyle azalttığı bildirilmiştir. Rehman ve ark. (27) albino farelere 15 gün boyunca 5.6 mg/kg deltametrin+E vitamini kombinasyonu uygulamışlar ve bu uygulamanın lipid peroksidasyonunu azalttığını ileri sürmüşlerdir. Yousef ve Mohamed (18)'in sıçanlarda yaptıkları çalışmada 1.28 mg/kg deltametrin+100 mg/kg E vitamini kombinasyonunu uygulamışlar ve bu uygulamanın lipid peroksidasyonunu azaltarak ve antioksidan enzim aktivitelerini değiştirerek deltametrinin toksik etkisini azalttığını belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda deltametrinin toksik etkisine karşı E vitamini koruyucu rolüne ilişkin bulgular önceki çalışmalarla uyumludur. Mevcut çalışmalarda E vitamini antioksidan etkisi kanda incelenmiştir. Biz bu etkiyi doğrudan sinir dokusunda gösterdik. Böylece deltametrinin sinir dokusunda oluşturduğu hasarı ve E vitamini koruyucu rolünü birlikte değerlendirebildik.

Sonuç

Sonuç olarak bu çalışmada deltametrinin sıçan siyatik sinirinde oksidatif strese yol açarak akson ve miyelini hasarı oluşturduğu, deltametrinle birlikte bir antioksidan olan E vitamini verilmesinin bu hasarı önlediği, hasar oluştuktan sonra tedavi amaçlı E vitamini uygulanmasının hasarı kısmen azalttığı saptanmıştır. E vitamini bu etkisinin serbest radikalleri uzaklaştırmakla ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Ülkemizde hiçbir önlem alınmadan yoğun bir şekilde kullanılan insektisitlerin oluşturacağı hasarın önlenmesinde özellikle insektisitleri uygulayanlara E vitamini desteğinin önerilmesinin uygun olabileceği düşünülmüştür.

Kaynaklar

1. Verschoyle RD, Aldridge WN. Structure-activity relationships of some pyrethroids in rats. *Arch Toxicol* 1980;145 (4):325-9.
2. Hallenbeck WH, Cunningham-Burns KM. Pesticides and Human Health; 1st ed. New York: Springer-Verlag, 1985:118.
3. Meyer DA, Carter JM, Johnstone AF, Shafer TJ. Pyrethroid modulation of spontaneous neuronal excitability and neurotransmission in hippocampal neurons in culture. *Neurotoxicology* 2008;29(2):213-25.
4. Soderlund DM, Knipple DC. The molecular biology of knockdown resistance to pyrethroid insecticides. *Insect Biochem Mol Biol* 2003;33(6):563-77.
5. Ray DE. Pyrethroid insecticides: mechanisms of toxicity, systemic poisoning syndromes, paresthesia, and therapy. In: Krieger R, Doull J, Ecobichon D Eds: Handbook of pesticide toxicology, 2nd Ed., San Diego: Academic Press, 2001:1289-303.
6. Hildebrand ME, McRory JE, Snutch TP, Stea A. Mammalian voltage-gated calcium channels are potently blocked by the pyrethroid insecticide allethrin. *J Pharmacol Exp Ther* 2004;308(3):805-13.
7. Burr SA, Ray DE. Structure-activity and interaction effects of 14 different pyrethroids on voltage-gated chloride ion channels. *Toxicol Sci* 2004;77(2):341-6.
8. Gray AJ. Pyrethroid structure-toxicity relationships in mammals. *Neurotoxicology* 1985;6(2):127-37.
9. Vijverberg HP, van den Bercken J. Neurotoxicological effects and the mode of action of pyrethroid insecticides. *Crit Rev Toxicol* 1990;21(2):105-26.
10. Tayebati SK, Di Tullio MA, Ricci A, Amenta F. Influence of dermal exposure to the pyrethroid insecticide deltamethrin on rat brain microanatomy and cholinergic/dopaminergic neurochemistry. *Brain Res* 2009;1301:180-8.
11. Harrill JA, Li Z, Wright FA, Radio NM, Mundy WR, Tornero-Velez R, Crofton KM. Transcriptional response of rat frontal cortex following acute in vivo exposure to the pyrethroid insecticides permethrin and deltamethrin. *BMC Genomics* 2008;9:546.
12. Guo L, Sun M, Xu PP, Xu YP, Lu HP, Si HY, Yan H. Effects of melatonin on nerve cell apoptosis and expression of Bcl-2 & cytochrome C genes in rat cerebrum with deltamethrin induction. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi* 2008;26(4):215-8.
13. Theophilidis G, Benaki M, Papadopoulou-Mourkidou E. Neurotoxic action of six pyrethroid insecticides on the isolated sciatic nerve of a frog (*Rana ridibunda*). *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol* 1997;118(1):97-103.

14. Calore EE, Cavaliere MJ, Puga FR, Calore NM, Rosa AR, Weg R, Dias SS, Santos RP. Histologic peripheral nerve changes in rats induced by deltamethrin. *Ecotoxicol Environ Saf* 2000;47(1):82-6.
15. Dubey N, Khan AM, Raina R. Sub-acute deltamethrin and fluoride toxicity induced hepatic oxidative stress and biochemical alterations in rats. *Bull Environ Contam Toxicol* 2013;91(3):334-8.
16. Li HY, Shi N, Chen D, Dai ZH, Lu WH, Wang B, Li YR. Oxidative stress of deltamethrin on rat nervous system. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi* 2005;23(2):97-101.
17. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993;49(3):481-93
18. Yousef MI, Awad TI, Mohamed EH. Deltamethrin-induced oxidative damage and biochemical alterations in rat and its attenuation by vitamin E. *Toxicology* 2006;227(3):240-7.
19. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 1984;105:121-6.
20. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988;34(3):497-500.
21. Yagi K. Simple procedure for specific enzyme of lipid hydroperoxides in serum or plasma. *Methods Mol Biol* 1998;108:107-10.
22. Kimura J. Electrodiagnosis in disease of nerve and muscle: principles and practice. 2nd Ed., Philadelphia, USA, FA Davis Company, 1989: 373.