



**T.C.**

**SELÇUK ÜNİVERSİTESİ  
MERAM TIP FAKÜLTESİ  
ACİL TIP ANABİLİM DALI**

**Anabilim Dalı Başkanı**

**Doç. Dr. Başar CANDER**

**TAVŞANLARDA AKUT ORGANİK FOSFOR TOKSİSİTESİNDE ALFA  
TOKOFEROLÜN KAN VE DOKU LİPİD PEROKSİDASYONU VE KOLİN  
ESTERAZ AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Dr. Mesut YILDIZ**

**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Yard. Doç. Dr. Ayşegül BAYIR**

**KONYA**

**2009**

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER	II
ŞEKİLLER	II
TABLolar	II
RESİMLER	II
GRAFİKLER	II
SİMGELER VE KISALTMALAR	II
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1 Etki Mekanizmaları	5
2.2 Vücutta Dağılımı	5
2.3 Klinik Bulgular	6
2.4 OF Zehirlenmesinde Tanı Koydurucu Testler ve Laboratuvar Bulguları	12
2.5 Organofosfat Zehirlenmesinde Tedavi	13
2.5.1 Atropin Tedavisi	14
2.5.2 Organofosfat Zehirlenmesinde Oksim Tedavisi	15
2.5.2.1 Pralidoksim Tedavisinin Uygulama Şekilleri	17
2.5.3 OF Zehirlenmelerinde Diğer Tedaviler	18
2.6 Kolinesterazlar	18
2.6.1 Asetilkolinesteraz	19
2.6.2 Bütirilkolinesteraz	19
2.7 Pestisitler ve Oksidatif Stres	19
2.8 Alfa Tokoferol (E Vitamini)	21
2.8.1 E Vitamini Ve Antioksidan Özelliği	21
2.9 Malondialdehit (MDA)	22
3.MATERYAL VE METOT	23
3.1 Deneysel Yöntem	23
3.2 Biyokimyasal Yöntem	25
3.2.1 Plazmada ve KC Dokusunda Kolin Esteraz Analizi	25
3.2.1.1 Plazma ya da eritrosit KE aktivitesi ölçümü için elektrometrik metod	25

<b>3.2.1.2 KC KE aktivite ölçümü</b>	<b>26</b>
<b>3.2.2 Plazma KC dokusu ve Eritrositte MDA Analizi</b>	<b>26</b>
<b>3.2.2.1 Plazma MDA ölçümü</b>	<b>26</b>
<b>3.2.2.2 Doku MDA ölçümü</b>	<b>27</b>
<b>3.2.2.3 Eritrosit MDA Düzeyi Ölçümü</b>	<b>28</b>
<b>3.3 İstatistiksel Yöntem</b>	<b>28</b>
<b>4. BULGULAR</b>	<b>30</b>
<b>5. TARTIŞMA</b>	<b>34</b>
<b>SONUÇ</b>	<b>44</b>
<b>ÖZET</b>	<b>46</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>48</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>50</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>54</b>

	<b>Sayfa</b>
<b>ŞEKİLLER</b>	
Şekil 1. Organofosfat (OF)'ların genel kimyasal yapıları	<b>4</b>
Şekil 2. Oksim uygulaması ile enzim reaktivasyonu	<b>18</b>
<b>TABLolar</b>	
Tablo 1. Kullanımda Olan Pestisitlerin Klasik Sınıflaması	<b>3</b>
Tablo 2. OF'lu bileşiklerin değişik organlarda oluşturdukları başlıca belirtiler	<b>7</b>
Tablo 3. Organofosfatlı böcek öldürücülerle zehirlenmelerde görülen belirti ve bulgular	<b>8</b>
Tablo 4. Zehirlenme Derecesine Göre Ortaya Çıkan Belirtiler	<b>9</b>
Tablo 5. Grupların ortalama serum BKE aktiviteleri	<b>31</b>
Tablo 6. Gruplar arası, saatlere göre serum MDA seviyeleri	<b>32</b>
Tablo 7. Gruplar arası, saatlere göre Eritrosit MDA seviyeleri.	<b>33</b>
<b>RESİMLER</b>	
Resim 1. Santral Kulak Arteri Kateterizasyonu	<b>24</b>
Resim 2. Orogastrik Feeding Tüp Takılması	<b>25</b>
<b>GRAFİKLER</b>	
Grafik 1. KC doku kolinesteraz aktiviteleri	<b>34</b>
Grafik 2. KC doku MDA düzeyleri	<b>34</b>

<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b>	
<b>ACh</b>	Asetilkolin
<b>AKE</b>	Asetilkolinesteraz
<b>AS</b>	Ara Sendrom
<b>BKE</b>	Butirilkolinesteraz
<b>CAT</b>	Katalaz
<b>CCl4</b>	Karbontetraklorür
<b>eNOS</b>	Endotelyal NOS
<b>GSH-Px</b>	Glutasyon Peroksidaz
<b>HPLC</b>	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
<b>iNOS</b>	İndüklenebilir NOS
<b>KE</b>	Kolinesteraz
<b>MDA</b>	Malondialdehit
<b>MSS</b>	Merkezi Sinir Sistemi
<b>NMDA</b>	N-methyl-D-aspartat
<b>nNOS</b>	Nöronal NOS
<b>NOS</b>	Nitrik Oksit Sentaz
<b>OF</b>	Organofosfat
<b>OSS</b>	Otonom Sinir Sistemi
<b>PAM</b>	Pralidoksim
<b>ROS</b>	Reaktif oksijen türleri
<b>SDS</b>	Sodyum Dodesilsülfat
<b>SOD</b>	Süperoksit Dismutaz
<b>TBARS</b>	Tiobarbitürik Asit Reaktif Substans
<b>TCA</b>	Trikloroasetik asit

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Besin maddelerinin üretimi, tüketimi ve depolanmaları sırasında, besin değerini bozan, besinleri yok eden, zarar veren; haşereleri, mikroorganizmaları ve diğer zararlıları (pestleri) yok etmek için kullanılan kimyasal maddelere pestisitler denir.

Pestisitlerin bir grubu olan organofosfatlar bahçe, tarım ve orman zararlılarına karşı yaygın olarak kullanılır ve bundan dolayı insanlar için maruz kalma potansiyeli oldukça yüksektir. Zehirlenmelere bağlı acil servislere başvurular içinde pestisitlerle özellikle de organofosfatlar ile olan zehirlenmeler önemli bir yer tutar. Ayrıca bu kimyasal maddelerin sadece sindirim sistemi yolu ile değil, solunum sistemi ve cilt yolu ile de emilebilir olması zehirlenme gelişmesi ihtimalini arttırmaktadır. Ağır organofosfat zehirlenmelerinde ölüm oranı oldukça yüksektir.

Pestisitlerin farklı sınıflarının reaktif oksijen türlerinin üretimini artırdığı ve oksidatif doku hasarının doku seviyesindeki toksik etkilenmenin önemli bir belirteci olduğu çok sayıda yayında belirtilmiştir. Reaktif oksijen türleri, pek çok toksik madde ve patolojik şartlara yanıt olarak oluşan programlı hücre ölümünde genel bir aracı olarak görev yapabilirler. Malondialdehit veya tiobarbitürik asit reaktif substans (TBARS), reaktif oksijen türlerinin (ROS) hücrel membranlarla etkileşiminden kaynaklanan membran lipid peroksidasyonunun bir belirtecidir. ROS'un neden olduğu membran lipid peroksidasyonu membran karakteristiklerinin değişimiyle hücrel homeostazis bozulmasına yol açabilir. ROS düzeylerini ve bunların meydana getirdiği hasarı sınırlandırmak için vücutta birçok savunma mekanizması gelişmiştir. Bunlar, "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler.

Vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol) antioksidatif aktivitesi olan bir bileşiktir. Vitamin E protein-lipid membranları stabilize eder, yağ asitlerinin peroksidasyonunu önler ve serbest radikalleri ortamdan temizler.

Bu çalışmanın amacı tavşanlarda geliştirilen akut organofosfat zehirlenmesinde antidot tedavisi ile birlikte kullanılan alfa tokoferolün kandaki ve karaciğer dokusundaki malondialdehit(MDA) düzeyleri ve kolin esteraz aktivitesi üzerine etkilerini araştırmak ve antidot tedavisi ile karşılaştırmaktır.

## 2.GENEL BİLGİLER

Böcek öldürücü kimyasal maddeler tarımsal faaliyetlerin fazla olduğu ülkelerde yaygın olarak kullanılır. Günümüzde kullanılan böcek öldürücü kimyasal maddeler organofosfatlı bileşikler, karbamatlar, organoklorinler ve pretrinler olmak üzere dört grupta toplanır (Tablo 1) (1).

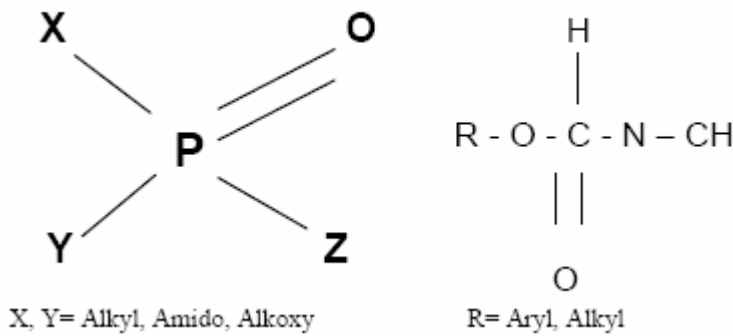
**Tablo 1. Türkiye’de yaygın olarak kullanılan böcek öldürücüler**

Gruplar	Etken madde	Ticari isimleri
<b>1. Asetilkolinesteraz enzim inhibitörleri</b>		
a.Organofosfatlı böcek öldürücüler	Metil paration	Folidol®
	Diazinon	Bazinon®, Basudin®
	Diklorvos	DDVP®, Didifos®, Nogos®
	Klorpirifos	Dursban®, Agrosban®, Megaban®, Korban®
	Malation	Hektion®, Malaton®, Malathion®
	Bromofos	Bromo®
b.Karbamatlı böcek öldürücüler	Aldikarb	Temik®
	Karbofuran	Furadan®
	Karbosulfan	Marshal®, Agrostar®, General®
	Metomil	Lannate®
	Dioxikarb	Hexacarb®
	Karbaril	Agrovin®, Hektavin®



<b>2. Organoklorlu böcek öldürücüler</b>	Endosulfan	Thiodan®, Korsulfan®, Hektionex®, Endol®
	DDT*(diklorodifeniltrikloroetan) ve analogları	
<b>3. Piretrin ve piretroidler</b>	Sipermetrin	İmperator®, Arrivo®, Matador®, Siperkor®
	Sialotrin	Karate®, Kung-fu®, Tekvando®, Tomcat®, Tornado®
	Deltametrin	K-othrin®, Decis®
	Permetrin	Helisin®, Primethrin®

\*DDT'nin Türkiye'de üretimi ve tüketimi yasaklanmış olmasına karşın halk arasında böcek ilaçları sıklıkla "DDT" olarak bilinir.



**Şekil 1:** Organofosfat (OF)'ların genel kimyasal yapıları

Organofosfat (OF) içeren böcek öldürücüler Diazinon, Orthene, Malathion, Parathion ve Chlorpyrifos'tur. Bu maddeler ayrıca kimyasal savaş ajanı olarak da 2. Dünya Savaşı'ndan bu yana kullanılmaktadırlar.

Zehirlenme bu kimyasalların üretim, taşınma ve kullanım alanlarında, evde kaza sonucu ve intihar amaçlı oluşabilir. Yaygın olarak kullanılan bu kimyasal maddelerin yiyeceklere bulaşması ile kitlesel zehirlenme olasılığı da vardır. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde intihar amaçlı OF kullanımı önemli bir sorundur. OF'ların emilimi solunum yolundan, sindirim sisteminden, konjonktivadan, deriden ve mukozalardan olur (1).

### **2.1 Etki Mekanizmaları:**

OF'lu ve karbamatlı ürünler sinir sisteminde Asetilkolinesterazı (AKE) baskırlarlar. AKE'nin baskılanması merkezi sinir sisteminde (MSS), otonom sinir sisteminde (OSS) ve kas-sinir kavşağında asetilkolinin birikimine yol açar. Başlangıçtaki aşırı uyarıyı MSS'de, otonomik ganglionlarda, parasempatik ve bazı sempatik sinir sonlarında ve somatik sinirlerde kolinerjik sinaptik iletim felci takip eder. Kolinerjik kriz denilen bu durum merkezi ve periferik klinik bulgularla sonuçlanır (1).

Ayrıca OF'lu bileşikler AKE'ye kovalent bağ ile bağlanır. Geçici bir süre için OF'un fosfat molekülü ile AKE arasında durgun fakat geri dönüşümlü bir bağ oluşur. OF'un fosfor molekülünden bir grup ayrıldığında OF-AKE arasındaki bağ geri dönüşümsüz hale gelir. Bu durum "yaşlanma" olarak adlandırılır. Yaşlanma oluştuğunda kolinesteraz enzim aktivitesi kalıcı olarak bozulur. Yaşlanma zamanı OF'lu maddeye göre dakikalardan günlere kadar değişir. OF'lar ile zehirlenme sonrasındaki en kısa süre içinde pralidoksimin verilmesi yaşlanmayı geri çevirebilir. Klinik bulguların gerilemesi ve doğal enzimatik işlevlerin geri dönmesi için yeni enzim yapılmalıdır (1).

### **2.2 Vücutta Dağılımı :**

Çoğu OF'lar yağda çözünürlüğü yüksek bileşiklerdir. Hızla vücut dokularına dağılırlar. Karaciğer ve böbrekte yüksek yoğunlukta birikirler. Yağda çözünürlüğü yüksek olanlar kan-beyin engelini kolaylıkla geçerler ve bu sebeple MSS'ne etkilidirler. Başlıca

karaciğerde esteraz hidrolizi ve konjugasyon ile yıkılırlar. Malation ve Paration'un oksidatif ürünleri (malokson ve parakson) etkili şekilleridir. Hidroliz ile etkisiz ürünlere dönüşürler. OF'ların ve ürünlerinin vücuttan atılımı idrar, safra ve dışkı yolu ile olur (2).

### **2.3 Klinik Bulgular:**

Klinik bulgular alınan ürüne, alınış yoluna ve alınan miktara bağı olarak değişir (1). OF'lu bileşiklere maruziyeti takiben genellikle 30 dakika ile 3 saat içinde zehirlenme bulguları görülür (2). Bununla birlikte yağda çözünürlüğü yüksek bileşikler yağ dokusundan tekrar salınarak tekrarlayan ya da geciken bulgulara sebep olurlar.

Malathion gibi OF'lar deri ve solunum yollarında bölgesel tahrişe sebep olur. Sistemik emilim bulguları olmadan hırıltılı solunum ve deride hasar meydana gelebilir. Kolinesteraz baskılanmasından bağımsız olarak nadiren dirençli hava yolu hastalığı yaptığı da bildirilmiştir (1).

**Tablo 2. OF'lu bileşiklerin değişik organlarda oluşturdukları başlıca belirtiler (37)**

<b>Etki yeri:</b>	<b>Belirtiler:</b>
Bronşlar	Bronkokonstrüksiyon, dispne, öksürük, bronşiyal sekresyonlarda artış
GİS	İştahsızlık, bulantı, kusma, epigastrik ağrı, ishal, tenesmus, istem dışı defekasyon
Salgı bezleri	Terleme, aşırı tükürük salgınımı
Pupilla	Miyozis
Siliyer organlar	Görme bozukluğu
Mesane	Sık idrar yapma
İskelet kası	Yorgunluk, bitkinlik, fāsikülasyon, kramp, istem dışı hareket, paralizi, dispne ve apne
Sempatik ganglion	Kan basıncında artma
Merkezi sinir sistemi	Baş dönmesi, tinnitus, anksiyete, emasyonel labilite, halüsinasyon, uykusuzluk, sersemlik, ataksi, dizartri, Cheyne-Stokes solunumu, dispne, siyanoz, hipotansiyon, koma
Kardiyovasküler sistem	Bradikardi, kalp debisinde düşme, vazomotor paralizi, ani kalp durması

Akut sistemik OF zehirlenmelerinde değişik derecelerde MSS, muskarinik, nikotinik ve somatik motor nöron bulguları oluşur. Solunum yolu ile alınmaları halinde başlangıç çok hızlıdır. Deriden emilim ise daha yavaştır. Fakat hasarlı deriden emilim daha çabuk olur. Ağızdan yolu ile fazla miktarda alınmalarında da bulgular dakikalar içinde başlar (3).

**Tablo 3. Organofosfatlı böcek öldürücülerle zehirlenmelerde görülen belirti ve bulgular**

<b>Muskarinik etkiler</b>	<b>Nikotinik etkiler</b>	<b>Merkezi Sinir Sistemi (MSS) etkileri</b>
Miyozis	Midriyazis	MSS baskılanması
Bradikardi	Taşikardi	Ajitasyon
Bronkospazm	Hipertansiyon	Dalgınlık
Bronş salgısında artış	Seyirmeler	Deliryum
Tükrükte artma	Kas krampları	Konvülsiyon
Göz yaşarması	Kas zayıflığı	Koma
Burun akıntısı	Solunum felci	
Terleme		
Kusma		
İshal		
İdrar kaçıрма		

OF zehirlenmelerinde klinik belirtiler üç dönemde tariflenir; akut kolinerjik sendrom, ara sendrom ve gecikmiş polinöropati (3).

**Akut kolinerjik sendrom:**

OF zehirlenmelerinde sinir reseptör alanında asetilkolinin birikimi sonucu oluşur. Klinik semptom ve bulgular muskarinik, nikotinik ve MSS bulgularıdır (1). AK'in muskarinik alanda birikimi ile salgı artışı (bronkore, tükrük salgısında artış, terleme, göz yaşında artış), hava yollarında daralma (göğüste sıkışma, hırıltılı solunum), bradikardi, kusma, barsak hareketlerinde artış (batında gerginlik ve ağrı), miyozis ve bulanık görme oluşur. Nikotinik alanlarda AK artışının etkileri (örneğin kas sinir kavşağında) depolarizasyonun engellenmesine bağlı kaslarda seyirme ve felç gelişmesidir. AKE'in beyinde baskılanması baş ağrısı, baş dönmesi, konfüzyon ve uyuklamaya yol açar. Şiddetli olgularda konuşma bozukluğu, bilinç bulanıklığı ve solunum baskılanması oluşur. Ölüm kolinerjik dönem esnasında kalp, solunum ve beyindeki etkilere bağlı olur. Kolinerjik dönem genellikle 24-48 saat sürer ve yoğun bakım biriminde tedavi gerektirir (3).

**Tablo 4. Zehirlenme Derecesine Göre Ortaya Çıkan Belirtiler.**

Hafif	Bitkinlik, baş ağrısı, baş dönmesi, görmede azalma, salivasyon, lakrimasyon, bulantı, kusma, iştahsızlık, ağızda acı tat, miyozis, hafif bronşiyal spazm, AChE'da %60 azalma
Orta	İleri derecede bitkinlik, baş dönmesi, görme bozuklukları, aşırı salivasyon, terleme, kusma, diyare, bradikardi, hipertoni, fasiyal kaslarının seyirmesi, ağızda acılık, ellerde titreme, miyozis, nistagmus, göğüste ağrı, dispne, mukozalarda siyanoz, akciğerlerde krepatasyon, ACh E'da %60-90 azalma
Ağır	Şiddetli tremor, generalize konvülziyon, psişik bozukluklar, yaygın siyanoz, akut akciğer ödemi, koma, kalp ve akciğer yetmezliğine bağlı ölüm, ACh E'da %90-100 azalma

Zehirlenmeyi takiben en sık oluşan kardiyak bulgular kan basıncında düşme ve kalp atımının azalmasıdır. Nikotik reseptör uyarısına bağlı olarak hastalarda nadiren kalp hızında artma ve kan basıncında yükselme olur. Ölüm genellikle kardiyak etkilenmenin sonucudur. Elektrokardiyografik bulgular uzamış QT aralığı, ST segment yüksekliği, T dalga çöküklüğü ve PR süresinde uzamadır. Sinüs bradikardisi, ventriküler ekstrasistol, ventriküler taşikardi ve ventriküler fibrilasyon gibi ritim bozuklukları da olabilir (2).

Akut zehirlenmede OF'ların muskarinik reseptörler üzerindeki etkisine bağlı olarak solunum sistemi ile ilgili burun akıntısı, bronkospazm ve laringeal spazm gibi bulgular oluşur. Bu durum hava yolu tıkanıklığına yol açar. Nikotik uyarı ile orofarengial kas güçsüzlüğü ve üst hava yolu tıkanıklığı görülebilir. Diyafram kasında felç oluşur. MSS'ne etkisi ile santral solunum baskılanması gelişir. Akut OF zehirlenmesi akut akciğer ödemi ve erişkin solunum sıkıntısı sendromuna (ARDS) yol açabilir. Akut dönemden sonra akciğer enfeksiyonları, pnömotoraks ve astım gelişimi bildirilmiştir (4).

OF'lu bileşiklerin ağızdan alınması sonucu kusma, karın ağrısı, ishal gibi gastroenterite benzer bulgular gelişir (2). OF zehirlenmelerinde nadiren akut pankreatit oluşabilir. Akut pankreatitin erken tanı ve uygun tedavisi iyileşme ile sonuçlanır. Akut pankreatit tanısı genellikle yüksek serum amilaz düzeyi ile saptanır. Bir çalışmada OF zehirlenmelerinde erken serum amilaz yüksekliğinin sonradan ortaya çıkacak solunum yetmezliğinin ön belirtisi olabileceği gösterilmiştir (6). OF'lar parotit oluşturabilir, özellikle OF zehirlenmesi olan ve serum lipaz yüksekliği olmadan hiperamilazeminin olduğu olgularda parotitis düşünülmelidir.

Deneysel hayvan çalışmalarında gebelik sırasında OF ile zehirlenme doğum öncesi fetal ölüm, omurga bozukluğu, polidaktili, inguinal herni, yarı damak ve hidroüreter gibi doğumsal bozukluklara sebep olduğu gösterilmiştir (3).

Akut OF zehirlenmesinde glukoz metabolizmasında ve plazma Adrenokortikotropik hormonun (ACTH) diurnal ritminde değişiklik oluşabilir. Nonketotik hiperglisemi ve glikozüri gözlenebilir. Sıçanlara Malathion verilmesi sonrası serum Triiodotironin (T3) ve Tiroksin (T4) seviyesinde önemli azalma ve Tiroid stimulan hormon (TSH) artışı gözlenmiştir (2). OF'lu bileşiklerin endokrin sistemde özellikle hipofiz hormonları üzerindeki etkilerini saptamak için yapılan bir çalışmada OF zehirlenmesinde Prolaktin, ACTH, Kortizol ve Folikül Stimulan Hormon (FSH) seviyesinin etkilendiği, Luteinizan Hormon (LH) seviyesinde değişiklik olmadığı gösterilmiştir. OF zehirlenmelerinde ayrıca "hasta ötroid sendromu" oluşabileceği gösterilmiştir. Bu durum OF'ların direkt etkisine, asetilkolinin etkisine ve zehirlenmenin sebep olduğu strese bağlı olabilir (7).

### **Ara Sendrom:**

Ara Sendrom (AS) ilk kez Wadia ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. Bu sendrom zehirlenmeden 24-96 saat sonra oluşur. Akut kolinerjik krizin iyileşmesini takiben ve gecikmiş nöropatinin başlangıcından önce bazı hastalarda kas felci gelişir (2).

AS; Parathion, Metilparathion, Diazinon, Malathion, Fenthion, Monocrotophos, Dimethoate ve Methamidophos ile sık oluşur. Bu sendromun oluşumunda yağda çözünen OF'ların yağ dokusundan yeniden salınması sorumlu tutulmaktadır. AS'ın yetersiz oksim tedavisinden kaynaklandığını bildiren çalışmalar vardır (5). Bu sendromun esas bulgusu boyun fleksör ve proksimal ekstremite kaslarını etkileyen kas güçsüzlüğüdür. Kafa sinirlerinden çoğunlukla göz kaslarını uyaran sinirler ve daha az olarak 7 ve 10 etkilenir (2). Solunum kaslarının tutulumu ile hızla solunum zorluğu oluşur ve tedavi edilmez ise solunum yetmezliğine bağlı olarak bilinç bozukluğunu takiben ölüm görülür (3). Tam iyileşme yeterli solunum desteği ile 4-21 gün içinde olur (4). AS tedavisinde atropinin ve pralidoksimin etkili olduğunu gösteren güçlü kanıtlar olmamasına rağmen AS seyrinde gelişen kolinerjik bulguların tedavisinde bu ilaçlar kullanılmaktadır (5).

#### **Gecikmiş polinöropati:**

OF'lerle temas sonrası nispeten nadir görülen nöro-dejeneratif bozukluktur. Omuriliğin inen ve çıkan yolunda ve periferik sinirlerin duyu ve motor aksonlarının uç bölgelerinde işlev kaybı vardır.

Gecikmiş polinöropati OF'lara temastan sonraki 14-28 gün içinde oluşur ve periferik kas güçsüzlüğüne bağlı sakatlığa sebep olur. Periferik kas güçsüzlüğü iki taraflıdır ve duyu bozukluğu da olabilir. Duyu bozukluğu motor bozukluktan daha hafiftir (3). Bacak kaslarında keskin kramp benzeri ağrı, el ve ayaklarda seyirme, uyuşukluk ve karıncalanma erken sinir sistemi bulgularıdır. Ağrı ve kas güçsüzlüğü hızla yayılır, hastalar çalışamaz ve kendi dengelerini koruyamaz hale gelir. Derin tendon refleksi baskılanır. Üst ekstremitelerde benzer biçimde birkaç gün sonra etkilenir. Fizik muayenede baskın olarak motor polinöropatiye bağlı gevşek felç ve distal kaslarda güçsüzlük görülür. Bulgular şiddetli olgularda kuadriplejiye kadar değişir. Bazı işlevler zamanla iyileşebilir fakat piramidal sistem ve MSS tutulumunda kalıcı hasarlar görülür. OF'lar ile sinir dokusunda nöropati target



esterazın (NTE) geri dönüşümsüz baskılanması polinöropati oluşumundan sorumlu olduğu düşünülmektedir. OF'lar çok nadir de olsa kas yıkımına neden olabilirler. Rabdomiyoliz sonucu akut böbrek yetmezliği gelişebilir. OF bileşikleri ile zehirlenmelerde ölümün sebebi genellikle muskarinik etkilenmedir.

#### **2.4 Organofosfat Zehirlenmesinde Tanı Koydurucu Testler ve Laboratuvar Bulguları:**

OF zehirlenmesinde tanı hikaye ve özgün klinik bulguların birlikteliği ile konur. Solunumda ve kusmakta OF'un keskin sarımsak benzeri kokusu tanı açısından önemlidir (2).

İdrar, mide içeriği, cilt ve giysilerin organofosfat ve ürünleri açısından incelenmesi yararlıdır. OF alımı AKE enzim etkinliğinin ölçümü ile gösterilmelidir. OF zehirlenmesinde AKE baskılanmasını ölçen testlerin uygun ve kolay elde edilebilir olması gerekir. AKE etkinliğinin sinir dokusunda ölçülmesi sinir doku örneği gerektirir. Kullanacağımız dokular eritrosit veya plazma gibi kolay elde edilebilir olmalıdır (5). OF zehirlenmesinde eritrosit AKE ve Bütirikolinesteraz (BKE) enzim aktivitesi ölçülmektedir (4) Eritrosit AKE ölçümleri sinaptik aralıktaki kolinesteraz baskılanmasını daha iyi gösterir (1).

AKE, eritrositler, iskelet kası ve sinir dokusunda bulunurken, BKE özellikle karaciğer, plazma, kalp, beynin beyaz maddesi ve pankreasta bulunmaktadır (1).

Kokain, süksinilkolin, morfin, kodein gibi ilaçlar BKE düzeyini etkilerler. Bazı nefrotik sendrom olgularında yüksek BKE düzeyi saptanabilir, bu durum serum albumin konsantrasyonu ve enzim etkinliği arasındaki ters ilişkiye bağlıdır (5).

Eritrosit membranında proteolitik enzimlerle yapılan çalışmalarda AKE ya da onun aktif bölgelerinin insanda eritrositin yüzeyine yerleştiği, eritrosit membranının %2'sinin AKE aktivitesi olduğu gösterilmiştir. İnsanda AKE aktivitesi eritrositlerde en yüksek, trombositlerde ise en düşük düzeydedir. Ayrıca yapılan araştırmalarda memeliler arasında eritrosit AKE aktivitesi insanda en yüksek olduğu görülmüştür (8-9).

Eritrosit AKE düzeyi organofosfatlarla ciddi miktarda baskılanır, bununla beraber anemide ve sıtma tedavisinde bir miktar azalma görülür (5).

BKE' ın baskılandığı durumlar:

Kalıtsal nedenler: enzimin kalıtsal eksikliği (1).

Fizyolojik nedenler: gebelik, ergenlik, yenidoğan ve küçük çocuklarda (1).

Hastalıklar: karaciğer hastalığı, akut hepatit, siroz, kollajen doku hastalıkları, akut enfeksiyonlar, karsinomalar, yetersiz beslenme, belirgin zayıflamanın olduğu kronik hastalıklar, yanıklar, hemodiyaliz, miksödem, miyokard enfarktüsü ve anemi (1,4).

Kimyasal maddeler ve ilaçlar: OF zehirlenmeleri, monoaminoksidaz inhibitörleri (5).

BKE baskılanma derecesine bağlı olarak bulgular değişir. Normal değerine göre %50'den fazla azalma olduğunda bulgular başlar, %60 azalma ile birlikte baş ağrısı ve parasempatik uyarı gelişir. BKE düzeyi %60-90 oranında azaldığında kas güçsüzlüğü, titreme ve bilişsel bulgular gelişir. Bu azalma %90'dan fazla ise nöbet, akciğer ödemi ve kas güçsüzlüğüne bağlı solunum yetmezliği, siyanoz, koma ve ölüm olur. BKE tedavisiz 4-6 haftada, eritrosit kolinesterazı 90-120 günde normal değerine döner. BKE seviyesi ile gereken atropin miktarı ve solunum desteği arasında ilişki yoktur. Uzun süreli temasta kolinesteraz düşüş hızı yavaş olduğundan klinik bulgular azdır.

OF'ların direk ölçümü mesleki maruziyet olanlarda tarama amaçlı ve giysilerin koruyucu özelliğini değerlendirmede kullanılmaktadır. Çok yüksek miktarlarda alınmadıkça OF'lar hızla parçalanır, kan seviyesi genellikle çok düşük çıkar. OF bileşikleri özgül alkil fosfatın gaz kromatografisi ve idrarda fenolik metabolitler ile belirlenir. Bu yöntemler maruziyetten sonra ilk 24 saat içinde kullanılır (4).

## **2.5 Organofosfat Zehirlenmesinde Tedavi:**

OF zehirlenme tedavisinde semptomatik ve destekleyici tedavinin yanısıra OF bileşiklerinin emiliminin engellenmesi, atılımının arttırılması, anti-kolinerjik ilaçlarla anti-

muskarinik tedavi, pyridinium oksimler ile AKE'nin yenilenmesi ve anti nikotinik tedavinin sağlanması amaçlanır (4).

OF ile daha fazla temasın önlenmesi için hasta kontamine çevreden uzaklaştırılır ve giysileri çıkartılır. Deriden emilimi önlemek için etanol içeren sabun ve bol su ile cilt yıkanır (1). OF alındıktan sonra ilk 30 dakika içinde midenin yıkanması çok etkilidir. Aktif kömürün ağızdan veya nazogastrik tüpten verilmesi OF emilimini azaltır. İpeka şurubu gibi kusturuculardan hava güvenliği olmayan olgularda kaçınılmalıdır. Mannitol gibi katartikler emilmemiş OF'ların bağırsaklardan atılımını artırır (4).

### **2.5.1 Atropin Tedavisi:**

Tedavide ikinci öncelik artmış muskarinik aktiviteyi kontrol altına almaktır. Atropin sülfat muskarinik reseptörlerde AK'nin yarışmalı antagonistidir. Artmış salgı, miyozis, bronkospazm, kusma, ishal, terleme ve idrar kaçırmaı geri çevirir.

Atropin sadece postsinaptik muskarinik reseptörde etkili olup, nikotinik reseptörlerde etkili değildir. Kas güçsüzlüğü, felç ve AKE'nin yenilemesi üzerine etkisi yoktur (5).

Antimuskarinik ilaçlar AK'nin gözde oluşturduğu etkileri tersine çevirirler. Siliyer kaslarda gevşeme yaparak midriyazis ve akomodasyon felcine neden olurlar.

Hipoksi ve miyokard iskemisi varlığında atropin ventriküler taşikardi ve ventriküler fibrilasyonu içeren kalp ritim bozukluğuna sebep olur. Atropin kan beyin bariyerini geçerek MSS'de serum seviyesinin ancak %23'üne ulaşır. Sanrı, deliryum ve koma oluşturabilir. Solunum merkezini baskılayabilir. Atropin için tedavinin etkili olduğunu gösteren bulgu hava yolu salgılarının ortadan kalkmasıdır. Taşikardi ve pupil dilatasyonu atropin tedavisinde kriter değildir. Atropinizasyon (deri ve mukoz membranlarda kuruma, bağırsak seslerinde azalma veya yokluk, taşikardi, salgılarda azalma ve midriyazis) oluştuktan sonra etkisini sürdürmek için uygun dozlarda atropine devam etmek gerekir (5). Erişkinlerde venöz yoldan 1-5 mg,

çocuklarda 0,05 mg/kg doz ile başlanır, atropinizasyon oluşana kadar 2-3 dakikada bir tekrarlanır. Atropin tedavisi tam iyileşme oluncaya kadar sürmelidir.

Atropin nikotinic reseptörler ve MSS kaynaklı semptomlar (kas zayıflığı, fasikülasyon, solunumun baskılanması, nöbet, v.s.) üzerine etkisizdir.

Hastalarda atropinizasyon infüzyon şeklinde de sağlanabilir. Yetişkinlerde 0,5-1 mg/saat dozunda başlanan infüzyon dozu artırılabilir. Çocuklarda ise infüzyon dozu 0,025 mg/kg/saat olarak başlanır. Atropin tedavisi dozu azaltılarak kesilir. Mesane ve mide kateterizasyonu, atropin tedavisi alan hastada mutlaka yapılmalıdır. Antimuskarinik MSS toksisitesi görülen durumlarda MSS'ne geçişi daha iyi olan, glikopirolat (yetişkinde 1-2 mg tekrarlayan dozlarda, çocuklarda 0,025 mg/kg'dan yetişkin dozuna dek) ve skopolamin önerilmektedir (10).

### **2.5.2 Organofosfat Zehirlenmesinde Oksim Tedavisi:**

AKE insan vücudunda bulunan çok önemli bir enzimdir. AKE kolinerjik sinir aralıklarında asetilkolini hidroliz ile parçalayarak uyarı iletimini sonlandırır. OF'lar AKE'ın aktif bölgesindeki serin aminoasidinin hidroksil grubuna kovalent bağ ile bağlanarak AKE'yi baskılar. AKE'ın oksijen molekülü ile OF'un fosfat molekülü arasındaki kimyasal bağ çok güçlüdür. Enzimin fosfat molekülünden ayrılarak kendiliğinden tekrar etkin hale gelmesi oldukça yavaştır. Bazı güçlü nükleofilik ilaçlar AKE'ı defosforile ederek tekrar etkin hale gelmesini hızlandırırlar. Bu ilaçlar OF ile baskılanmış AKE'ın yenileyicileri olarak bilinirler. Fosfat molekülüne bağlı alkil grubunun biri ayrıldığında AKE-OF arasında geri dönüşümsüz bağ oluşur. Bu olay "yaşlanma" olarak adlandırılır. Yenileyiciler olarak bilinen Oksimler, AKE-OF kompleks haline geldiğinde etkisizdir, yaşlanma oluşmadan zehirlenmenin ilk 24-36 saati içinde verilmeleri gerekir (4).

OF zehirlenmelerinin tedavisinde ilk kez 1956'da Hiraki ve arkadaşları oksimleri kullanmıştır (4). Oksimler, aldoksim ve buna bağlı kuaterner nitrojen grubu içeren

bileşiklerdir. Dörtlü nitrojen grubu, baskılanmış AKE'in yenilenmesinde önemli bir etmendir. Pralidoksim (2-hydroxyiminomethyl-1-methylpyridinium iodide) tek kuaterner nitrojen grubu içerirken, Obidoksim, Trimedoksim birbirine karbon zinciri ile bağlı iki kuaterner nitrojen grubu içerir. Tek kuaterner nitrojen grubu içeren bileşiklerle karşılaştırıldığında iki kuaterner nitrojen grubu içeren bileşiklerin OF ile baskılanmış AKE'a ilgisi daha fazladır.

Pralidoksim (2-pyridine aldoxime, 2-PAM), Obidoksim, HI-6, Trimedoksim (TMB-6) deneysel insan çalışmalarında incelenmiş oksimlerdir ve bunlardan ilk ikisi tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Pralidoksim bugün en sık kullanılan oksimdir (4).

Pralidoksim üç şekilde etki gösterir

1. Aktif alandan fosforil grubunu ayırarak AKE'ı tekrar etkin hale getirir.
2. Serbest OF moleküllerini bağlar.
3. Normal dozlarda antikolinergik etki gösterir.

Pralidoksimin etkisi nöromusküler kavşakta belirgindir. OF zehirlenmesine bağlı muskarinik bulguları geri çevirmede etkisizdir. Kuaterner amonyum bileşimindeki yapısı kan-beyin bariyerini geçmesini engeller.

Yan etkileri düşük dozlarda azdır. Hızlı verilmesi AKE'yi geçici olarak baskılar ve hafif kolinerjik etkiler oluşturur, kas-sinir kavşağında blokaja ve merkezi solunum baskılanmasına yol açar.

Pralidoksim verilmesi sırasında hipertansiyon, baş ağrısı, görme bozukluğu (bulanık görme, çift görme, akomodasyonda bozulma), mide-barsak rahatsızlığı ve kas içine verildiğinde ağrı olur. Geçici lenfositoz ve aminotransferazlarda yükselme bildirilmiştir. Elektrokardiyografide P-R aralığında uzama, T dalga sivriliği olur. Pralidoksimin teratojenik ve mutajenik olmadığı hayvan ve laboratuvar çalışmalarında gösterilmiştir (4).

Pralidoksim ağızdan, venöz yoldan, kas içinden, deri altından ve dil altından uygulanabilir. Ağızdan alındığında 2-3 saatte, kas içine verildiğinde 5-30 dakikada, venöz

yoldan verildiğinde 15-30 dakikada plazmada zirveye ulaşır. Yarılanma ömrü venöz yoldan verildiğinde 1-2 saat, kas içine verildiğinde 3 saattir. Piridinium oksimlerin %20-30'u değişmeden esas olarak böbrek yolu ile atılır (4).

Oksimlerin kalsiyum bağlayıcı etkisi göz önüne alınarak kas spazmlarına hazırlıklı olunmalı ve kalsiyum solüsyonları gerektiğinde kullanılmalıdır. Hipertansiyon, kardiyak disritmiler, hepatotoksisite, baş ağrısı, görme bozukluğu ve baş dönmesi diğer yan etkilerdir.

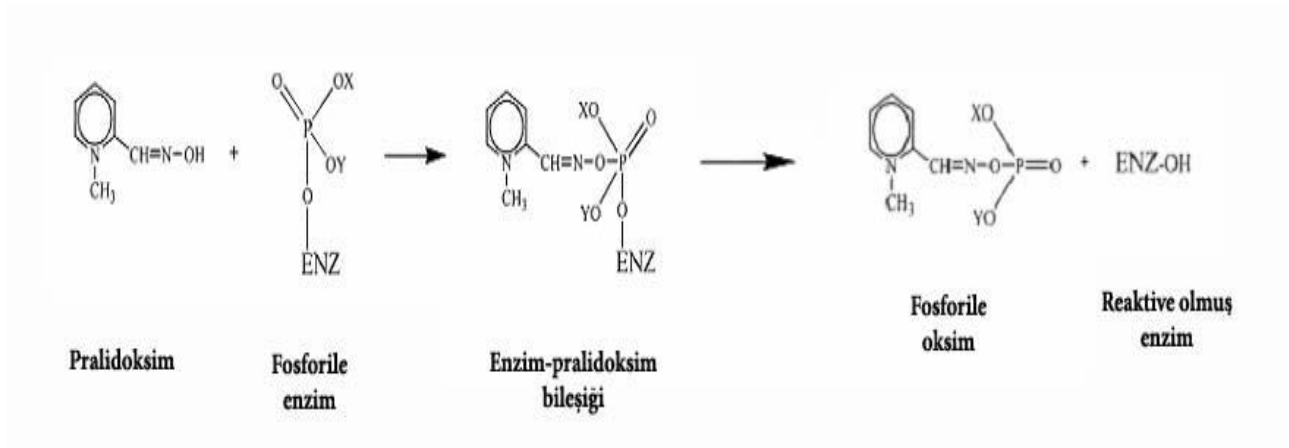
### **2.5.2.1 Pralidoksim Tedavisinin Uygulama Şekilleri:**

Pralidoksimin en uygun dozunun ne kadar olduğu hakkında kesin bir bilgi yoktur. OF zehirlenmesinde pralidoksimin yetişkin için önerilen başlangıç dozu IV 1-2 gr'dır. Bu doz venöz yoldan 100 mL %0,09 sodyum klorid içinde uygulanır. Hızlı verilmesi (>200 mg/dakika) solunum ve kalp durmasına neden olur. Çocuklarda ise venöz yoldan 20-40 mg/kg dozunda 30 dakikanın üstünde verilir. Bu başlangıç dozları kas seyirmeleri ve güçsüzlüğü devam ediyorsa tekrarlanır. Zehirlenme bulgularının devam ettiği süre boyunca 3-8 saat ara ile ek dozlar uygulanır.

Diğer bir yol yükleme dozunun ardından sürekli infüzyon tedavisidir. Bu yolun çocuklarda ve yetişkinlerde güvenli ve pralidoksimin minimum etkin konsantrasyonunu sürdürmede etkili olduğunu bildirilmiştir. Yetişkinlerde sürekli infüzyon tedavisi 250- 500 mg/saattir. Hastanın klinik bulgularına göre doz ayarlanır (5).

PAM'ın plazmadan temizlenmesi ve dağılım hacmi çocuklarda fazladır. Bu nedenle çocuklarda pralidoksim tedavisi semptomların şiddetine göre 20-40 mg/kg dozda, 15-30 dakikada yükleme yapıldıktan sonra 10-20 mg/kg/saat sürekli infüzyon şeklinde uygulanır.

Şekil 2:Oksim uygulaması ile enzim reaktivasyonu (10).



### 2.5.3 OF Zehirlenmelerinde Diğer Tedaviler:

Tedavide yaygın olarak uygulanmasa da MgSO<sub>4</sub>, klonidin, sodyum bikarbonat, sodyum florid ve taze donmuş plazma, OF ile zehirlenmelerde, rapor edilmiş diğer tedavi uygulamalarıdır. Yağda çözünürlüğü yüksek olan OF'larla olan zehirlenmelerde hemoperfüzyon yapılabilir (11,12).

### 2.6 Kolinesterazlar:

Kolinesterazlar (KE), optimal koşullarda kolin esterlerini diğer esterlerden daha hızlı hidrolize eden enzim grubudur. KE'lar kolinerjik ve non-kolinerjik dokular kadar serum ve diğer vücut sıvılarında da bulunurlar. KE'lar substrat spesifikliklerine, aşırı substrat varlığındaki davranışlarına ve inhibitörlere olan hassasiyetlerine göre iki ana sınıfa ayrılırlar.

1. Asetilkolinesteraz (AKE) veya asetilkolin asetil hidrolaz (EC 3.1.1.7). Aynı zamanda gerçek, spesifik veya tip1 kolinesteraz olarak bilinir. Bu enzim eritrositlerde, sinir uçlarında, kaslarda, akciğerde, dalakta ve beyinin tüm bölümlerinde bulunur.

2. Bütirilkolinesteraz (BKE) (EC 3.1.1.8) plazma KE, serum KE, benzoil KE, yalancı, nonspesifik veya Tip II KE olarak da bilinen enzimdir. BKE plazmada, karaciğerde, düz

kasta, ince barsakta, pankreasta, kalpte ve beyin beyaz cevherinde vardır. Asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz farklı kromozomlarda bulunan genler tarafından kodlanmalarına rağmen amioasit dizilişlerinin %65'i aynıdır ve aynı moleküler formlar ile aynı aktif bölge yapılarına sahiptirler.

### **2.6.1 Asetilkolinesteraz:**

AKE, BKE gibi, yüksek ökaryotlardaki esteraz ailesine mensup bir serin hidrolazdır. Bu aile değişik tipte karboksilik esterler üzerine etki eder. AKE'in en önemli biyolojik görevi AK'i hidrolize ederek sinir sistemindeki kolinerjik sinapslarda uyarı iletimini sonlandırmasıdır. Bu nedenle AKE, bilinen en hızlı enzimlerdendir.

### **2.6.2 Bütirilkolinesteraz:**

BKE, AKE'a benzediğinden dolayı, OF maruziyetinin monitörizasyon aracı olarak kullanılmaktadır.

### **2.7 Pestisitler ve Oksidatif Stres:**

Serbest radikaller, pestisidlerin ve çevresel kimyasalların toksisitelerinde önemli rol oynarlar. Pestisidler, oksidatif strese, serbest radikal üretimine, antioksidanlarda değişime yol açabilirler. Lipid peroksidasyonu, pestisidlerin neden olduğu zehirlenmelerde zehirlenme mekanizmalarından biri olarak belirtilmiştir (13).

Fazla miktarda reaktif oksijen grubunun açığa çıkması, glutatyon tükenmesine, selenyum, bakır gibi bazı metallerin eksikliği veya fazlalığına yol açar. Böylece açığa çıkan reaktif oksijen türleri hücre zarları, DNA, RNA gibi yapılarda hasara neden olur. Bu durum, pestisidlerin karaciğer, böbrek, sinirler ve kaslarda yol açtıkları hasarın başlıca nedenleri arasındadır. Paratiyon, paraokson, metilparatiyon, malatiyon, malaokson, dimetilmalatiyon, klortiyon, DDT, dikaptiyon, fenitrotiyon, heksaklorobenzen, triklorfon, mireks, CCl<sub>4</sub>, uçucu halojenli bileşikler, fenilkarbamatlar, fenilüre, propanil, asilanilidler, bipiridil türevi herbisidler lipid peroksidasyona yol açarlar. Mevinfos, fosfamidon, dikrotofos,



tetraklorvinfos, temivenfos gibi vinilfosfat türevi organik fosfor bileşikleri ile pentaklorofenoller peroksidasyonu kolaylaştırırlar. Aminotriazid gibi pestisidler ise katalazın etkinliğini engellerler.

Nitro-aromatik yapılı organik fosforlu bileşikler vücutta biyotransformasyonları sırasında süperoksid grupları açığa çıkarırlar; hücre zarı fosfolipidlerinde lipid peroksidasyonuna ve sonuçta hücre hasarına yol açarlar. Fosfolipidlerin peroksidasyonunu kolaylaştıran organik fosforlu bileşiklerin biyotransformasyonları sırasında ortak metabolit olarak 2,4-diklorofenilasil klorür oluşur. Bu madde glutatyonun tükenmesine yol açarak lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu mekanizmaları zayıflatır. Ayrıca tiyodemeton, NADPH ve askorbik asitle yavaşlatılan lipid peroksidasyonu teşvik eder. Bazı çalışmalarda lipid peroksidasyonunun, organik fosforlu insektisid toksisitesinin moleküler mekanizmalarından biri olduğu ileri sürülmüştür (14, 15, 16, 17). Organik fosforlu bileşiklerin neden olduğu felçler, oksidatif stresle ilişkilidir. Aynı zamanda organik fosforlu bileşiklerle zehirlenmeye eşlik eden akut tubüler nekrozun, lipid peroksidasyonu ve reaktif oksijen türleriyle ilişkili olduğu belirtilmektedir (18).

Klorpirifos-etil eritrositlerde lipid peroksidasyonunun artmasına neden olduğu gösterilmiştir. Altuntaş ve arkadaşları (19), organik fosforlu insektisidlerden fosalonun yüksek dozlarda MDA şekillenmesinde bir artışa, katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz aktivitelerinde bir azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir.

DDT ve metoksiklorun oksidatif stres ve lipid peroksidasyona neden olduğu kanıtlanmıştır. Aynı zamanda metoksiklorun erkek üreme sistemi üzerindeki istenmeyen etkileri tanımlanmıştır ki bunlar, keçilerin epididimal spermelerindeki antioksidanların azalmasına bağlı olmaktadır. Lipid peroksidasyonu, lindan toksisitesine bağlı meydana gelen doku hasarında önemli patofizyolojik moleküler mekanizma olarak belirtilmiştir. DDT ve lindanın neden olduğu immünotoksistide serbest radikallerin ilgisi olduğu kanıtlanmıştır.

Endosulfan ile dieldrinin de oksidatif strese yol açtığı bildirilmektedir. Artmış MDA düzeyi endosulfan hasarının bir göstergesidir. LD50' nin altındaki dozlarda bile endosulfan, miyokard hücrelerini etkiler. Vit E, serbest radikal oluşumunu inhibe ederken, aynı zamanda endosulfanın kardiyotoksitesini de azaltır (18,20).

## **2.8 Alfa Tokoferol (E Vitamini)**

### **2.8.1 E Vitamini Ve Antioksidan Özelliği:**

Yağda çözünen E vitamini, ince bağırsaktan emilir ve kan yoluyla karaciğere iletilir.  $\alpha$ - tokoferol tekrar kana salınır. Doğal olarak mevcut olan 8 tane tokoferol vardır ve bunlardan en aktif olanı  $\alpha$ -tokoferoldur (21,22).  $\alpha$ -tokoferol plazmadaki E vitamininin %80-90'ını oluşturmaktadır.

E vitamini antioksidan etkinliğinin olması nedeniyle peroksidleri ve oksijen radikallerini nötralize eder (23, 24, 25). Hücrelerde doymamış yağ asitleri (lineoleik asit ve araşinodik asit gibi) kendiliğinden ya da oksidan metabolitlerin etkisi ile kolayca oksitlenebilirler. Böylece lipid peroksidasyonuna veya protein ve yağlara kovalent bağlanarak membran hasarına neden olurlar (21, 26). Serbest oksijen radikali oluşumunun eşlik ettiği bu olay zincirini membranda önleyen ve oluştuğunda nötralize eden en güçlü antioksidan E vitamini dir. Diğer antioksidan sistemleri (C vitamini, glutation, peroksidaz ve beta karoten gibi) E vitamini kadar etkili değildir. Bütün hücre membranlarının lipitleri serbest radikaller tarafından oksidasyona maruz kalarak yıkılırlar. Alfa tokoferol membranlardaki oksidasyon zincirini engeller ve serbest radikalleri durdurur. Böylece membran stabilitesini sağlar (21,27).

E vitamini lipid peroksil radikallerini etkisiz hale getirmek için, kendinin bir fenolik hidrojen atomunu 2 basamaklı bir reaksiyon ile peroksil radikaline (R00\*) transfer eder (21).

## **2.9 Malondialdehit (MDA):**

Günümüzde birçok hastalığın ortaya çıkmasında, serbest radikallerin önemli rolü olduğu ileri sürülmektedir (28). Serbest radikallerin, membran reseptörlerine kovalent bağlanması çoklu doymamış yağ asidi/protein oranını değiştirir ve lipit peroksidasyonu başlatır. Lipit peroksidasyonuna bağlı olarak da organellerde fonksiyon bozukluğu oluşur (29). Bu şekilde oluşan lipit peroksitleri kolaylıkla yıkılarak, en önemlisi MDA olan reaktif karbon bileşiklerini meydana getirirler. Bu nedenle MDA miktarı ölçümü dokulardaki lipit peroksidasyonunun derecesini yansıtmaktadır. Lipit peroksidasyonu yıkım ürünü olan MDA, moleküler oksijen azalması ile süperoksit anyonu ve hidrojen peroksit oluşumuna neden olur, bu ürünlerde hücre ve dokulara hasarlayıcı etki yaparlar (30). Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar. Sonuçta iyon geçirgenliği ve enzim aktivitesinde değişiklik meydana gelir. MDA DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girebilir ve bundan dolayı mutajenik, hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojeniktir (20, 31)

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1 Deneysel Yöntem

Çalışma Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Deneysel Tıp ve Araştırma Merkezi Etik Kurulu'nun onayı alınarak, Meram Tıp Fakültesi Deneysel Tıp ve Araştırma Merkezi'nde yapıldı. Çalışmada 20 tane (12 erkek, 8 dişi) Yeni Zelanda tipi tavşan kullanıldı. Deneklerin ağırlığı 2500 gr ile 4400 gr arasında değişiyordu. Denekler sham grubu (n=8), PAM+atropin grubu (n=6) ve vitamin E grubu (n=6) olarak 3 gruba ayrıldılar. Tüm deneklere 50 mg/kg Ketamin ve 15 mg/kg Ksilasin HCL (Rompun®) intramüsküler verilerek anestezi uygulandı. Yine tüm deneklerin santral kulak arteri ve marjinal kulak veni kateterize edildi (Resim 1). Her bir denekten toksisite öncesi plazma KE, plazma ve eritrosit MDA ölçümlerini yapmak için EDTA'lı tüplere bazal venöz kan örnekleri alındı.

Bazal kan örnekleri alındıktan sonra deneklere orogastrik feeding tüp takılarak. 50 mg/kg (LD50=50 mg/kg) DDVP (diklorvos) verildi (Resim 2). Toksikite belirtileri (hipersalivasyon, bronkospazm, fasikülasyon, konvülzyon) ortaya çıkana kadar, yaklaşık 1 saat beklendi. Toksikite belirtileri görülen deneklerden toksisite sonrası plazma KE, eritrosit ve plazma MDA ölçümlerini değerlendirmek üzere EDTA'lı tüplere venöz kan örnekleri alındı.

Toksikite sonrası Sham grubundaki tavşanlara herhangi bir tedavi verilmedi. Bu gruptaki tavşanlardan toksisite sonrası 12. saatte plazma KE, eritrosit ve plazma MDA ölçümlerini değerlendirmek üzere EDTA'lı tüplere tekrar venöz kan örnekleri alındı.

PAM-atropin grubundaki deneklere 0.05 mg/kg gerektiğinde tekrarlayan dozda atropin ve 30 mg/kg IV bolus, ardından 15 mg/kg her 4 saatte PAM IV verildi. E vitamini grubundaki deneklere 250 mg/kg E vitamini tek doz intramüsküler uygulandı. Toksikite sonrası bu gruptaki deneklere ayrıca 0.05 mg/kg gerektiğinde tekrarlayan dozda atropin ve 30

mg/kg IV bolus, ardından 15 mg/kg her 4 saatte PAM IV verildi. PAM-atropin ve E vitamini gruplarındaki deneklerden pralidoksim-atropin tedavisi başlatıldıktan sonra 12. ve 24. saatlerde tekrar plazma KE, eritrosit ve plazma MDA ölçümlerini değerlendirmek üzere EDTA'lı tüplere tekrar venöz kan örnekleri alındı.

Sham grubundaki deneklerden 12. saatte diğer gruplardaki deneklerden 24. saatte laparotomi yapılarak dokuda KE, ve MDA ölçümlerini değerlendirmek üzere karaciğer dokusundan örnekler alındı. Çalışmanın sonunda denekler yüksek dozda intravenöz anestezi verilerak sakrifiye edildiler.

**Resim 1.** Santral Kulak Arteri Kateterizasyonu



## Resim 2. Orogastrik Feeding Tüp Takılması



### 3.2 Biyokimyasal Yöntem

#### 3.2.1 Plazmada ve KC Dokusunda Kolin Esteraz Analizi:

##### 3.2.1.1 Plazma KE aktivitesi ölçümü için elektrometrik metod

Tavşanlardan heparinize test tüplerine venöz kan örnekleri alındı. 15 dakika boyunca 3000 devir/dakikada santrifüj edilerek plazma eritrositlerden ayrıldı. Ölçüm için 3 ml distile su içeren 10 ml' lik deney tüpüne 0.2 ml plazma ve 3 ml pH'sı 8.1 olan barbitol fosfat tamponu konuldu. Karışımın pH'sı (pH1) pHmetre kullanılarak cam elektrodla ölçüldü. Sonra 37 °C' de 20 dakika boyunca inkübe edilen reaksiyon karışımına %7.5'lik asetilkolin iyodür solüsyonundan 0.1 ml eklendi. İnkübasyon periyodunun sonunda reaksiyon karışımının pH'sı ölçüldü (pH2). Enzim aktivitesi aşağıdaki gibi hesaplandı

$$\text{KE aktivitesi } (\Delta\text{pH}/20 \text{ dakika}) = (\text{pH1} - \text{pH2}) - \Delta \text{pH (çözelti)}$$

Çözelti plazma ya da eritrosit içermemekte, 1 litre distile suda pH'sı 8.1 olan 1.237 gram sodyum barbital (BDH), 0.63 gram potasyum dihidrojen fosfat ve 35.07 gram sodyum klorid karışımı ihtiva etmekteydi.

### **3.2.1.2 Karaciğer KE Aktivite Ölçümü**

Karaciğer kolinesteraz aktivite ölçümü için doku örneği pH'sı 8.1 olan barbital fosfat tamponunda yaş ağırlığı 3 ml/100 mg olacak şekilde homojenize edildi ve teflon homojenizerin maksimum hızının %25' i kullanıldı. Homojenizasyon buz banyosunda yapıldı ve karaciğer homojenatı kolinesteraz determinasyonundan önce buzda saklandı. Karaciğer Kolinesteraz aktivitesi için plazma KE tayini yöntemindeki plazma yerine 0,2 ml doku homojenatı kullanıldı. KE aktivitesi aynı formülle bulundu.

### **3.2.2 Plazma Karaciğer dokusu ve Eritrositte MDA Analizi**

#### **3.2.2.1 Plazma MDA ölçümü:**

Çalışmamızda spektrofotometrik yöntem kullanıldı. Bu yöntem Drapper ve Hadley yönteminin bir modifikasyonu olup, çift kaynatma esasına dayanmaktadır. Bu yöntemde birinci ısıtmada bağlı olan MDA proteinlerden serbestleştirilerek proteinler çöktürülür, ikinci ısıtmada ise total MDA, tiobarbitürik asit ile reaksiyona girer. TBA-MDA'nın oluşturduğu renkli kompleksin absorbansı 532 nm de ölçülerek MDA'nın molar absorpsiyon katsayısından yararlanılarak konsantrasyonu hesap edilir. Bu yöntemde de oluşabilecek hatalar ve etkileşimler en aza indirilmiştir.

#### **Deneyin yapılışı:**

Kontrol ve numune olmak üzere iki deney tüpü hazırlandı. Her iki tüpe 2.5 ml %10'luk Trikloroasetik asit (TCA) çözeltisi kondu. Numune tüpüne 0.5 ml plazma, kontrol tüpüne ise 0.5 ml distile su eklendi. Tüpün ağzı kapatılıp 90 °C deki su banyosunda 15 dk. bekletildi. Sonra çıkartılarak her iki tüp soğuk su altında soğutuldu ve 3000 devir/dk' da 10 dk santrifüj

edildi. Üstteki süpernatandan 2'şer ml başka bir tüpe aktarıldı ve üzerine %0.675 lik tiobarbitürik asit çözeltisinden 1 ml eklenerek ağızları sıkıca kapatıldıktan sonra 90 °C de su banyosuna konuldu ve 15 dk bekletildikten sonra soğuk su altında soğutuldu. Spektrofotometrede 532 nm'de köre karşı numunenin absorbansı ölçüldü. MDA-TBA kompleksinin 532 nm'deki ekstinksiyon katsayısından ( $1.56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ ) yararlanılarak nmol/ml cinsinden MDA değeri aşağıda belirtilen formülle hesaplanarak bulundu.

Dilüsyon faktörü = 9.09

$A = axbxc$  (A=absorbans, a=molar ekstinksiyon katsayısı. b=ışık yolu, c= konsantrasyon

$c = A / axb$

$c = [A / (1.56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1} \times 1 \text{ cm})] \times \text{dilüsyon faktörü}$

$c = (A / 1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}) \times 9.09$

$C \text{ (nmol/ml)} = A \times 58.27$

### 3.2.2.2 Doku MDA ölçümü:

Tavşandan alınan ve -80 °C de saklanan karaciğer parçaları çözündükten sonra 0.5 gr doku tartıldı, 150 mM soğuk KCL kullanıldı, %10'luk homojenat oluşacak şekilde homojenize edildi. Oluşan homojen karışım 10000 devir/dak'da 10 dakika santrifüj edildikten sonra üstteki çözeltiden mikroprotein çalışıldı. Aynı zamanda oluşan homojenattan tüpe 0.1 ml alınıp üzerine 0.2 ml %8.1 sodyum dodecylsülfat (SDS) solüsyonu, 1.5 ml %20 asetik asit solüsyonu ( pH > 3 olacak şekilde NaOH ilave edildi) ve 1.5 ml % 0.8 tiobarbitürik asit sıvı solüsyonu konup, vortekste karıştırıldı. Oluşan karışım distile su içinde 95 °Cde 60 dakika kaynatıldı. Daha sonra su altında soğutulup, 1 ml distile su ve 5ml n-butanol ve piridin (15:1,v/v) eklendi ve karışım çalkalandı. Oluşan karışım 4000 devir /dk'da 10 dk. çevrildi, üst tabakadaki karışımdan örnek alınarak 532 nm'de kör numune yerine homojenat ilave



edilmemiş karışımdan konularak köre karşı absorbanı ölçüldü. Sonuçta MDA konsantrasyonu şu formülle elde edildi:

$$C = \text{Ölçülen absorbanı} \times 320,5 \times \text{dilüsyon faktörü} / \text{homojenat mikroproteini} = \text{nmol/mg doku}$$

### 3.2.2.3 Eritrosit MDA Düzeyi Ölçümü:

Heparinize edilmiş tüplere alınan kan santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Serum fizyolojik ile 1 kez yıkandıktan sonra kalan eritrosit kütesinden 1.5 ml alınarak üzerine 1.5 ml Na azidli tampon ilave edildi. Bu hemolizattan 50 ml alınıp, üzerine 12.5 ml Drabkin solüsyonu ilave edilerek Hb tayini yapıldı. Bu karışımdan 5 ml alınıp üzerine 5 ml %35'lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilave edilerek tüplerin ağzı açık olarak 2 saat 37°C'de inkübe edildi. Soğuduktan sonra bu karışımdan 3 ml alındı ve üzerine 2 ml TCA-Arsenit solüsyonu ilave edilerek 2500 rpm'de santrifüj edildi. Bu supernatandan 3 ml alınarak üzerine 1 ml tiobarbitürik asit ilave edildi ve 15 dk kaynatıldı. Soğuduktan sonra 532 nm.de spektrofotometrede absorbanlar okundu ve sonuçlar g Hb başına hesaplandı.

### 3.3 İstatistiksel Yöntem

Toplanan veriler önceden hazırlanan formlara kaydedildi. İstatistiksel analizler "SPSS for Windows 13.0" programı yardımıyla yapıldı. Gruplar arası karşılaştırma tekrarlı ölçümlerde varyans analizi (ANOVA) ile yapıldı. Anlamli çıkan değerlerde Post Hoc test olarak Bonferroni düzeltmeli tek yönlü varyans analizi ve takiben Tukey HSD testi uygulandı. P<0,05 değeri anlamli kabul edildi.

Grup içi tekrarlayan ölçümlerin karşılaştırmalarında ise bonferroni düzeltmeli student-t testi kullanıldı. Grupların ortalama değerleri hesaplandı, tablolar halinde verildi.

Doku KE ve doku MDA değerlerinin karşılaştırılmasında tek yönlü ANOVA ve takiben Tukey HSD testi yapıldı. p<0,05 değeri anlamli kabul edildi.

## **BULGULAR**

### **Serum Kolinesteraz Aktiviteleri**

Sham grubundaki deneklerden 4'ü 12. saate, 4'ü 24. saate ulaşmadan kaybedildiler.

Grupların 12. saatteki ortalama serum BKE değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı. Bu farkın PAM-atropin grubundan kaynaklandığı görüldü ( $p=0,001$ ). PAM-Atropin grubunun 24. saatteki ortalama serum BKE değeri E vitamini grubuna göre anlamlı düşük bulundu ( $p=0,003$ ).

Sham grubunun serum BKE ölçümlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0,05$ ).

PAM-Atropin grubunun 0. ve 24. saatlerdeki ortalama serum BKE değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ( $p=0,009$ ).

E vitamini grubunun ortalama serum BKE değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p>0,05$ ) (Tablo 5).

Tablo 5. Grupların ortalama serum BKE aktiviteleri (U/L)

Serum BKE (U/L)	0.saat Mean±SD	1.saat Mean±SD	12.saat Mean±SD	24.saat Mean±SD	Saatlere Göre
Sham	23767±3284	22917±756	22429±969		p>0,05
PAM-Atropin	22324±894	19757±2341	18956±1382	18132±1425	p=0,009
E-vitamini	27963±6124	23016±2869	21637±474	21813±431	p>0,05
Gruplara Göre	P=0,06	P=0,03	p=0,001	p=0,003	

### Serum MDA Değerleri

PAM-atropin grubunun 12. saat ortalama serum MDA değeri, diğer gruplardan daha düşüktü. PAM-atropin grubunun 24. saat ortalama serum MDA değerleri E vitamini grubundan istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ( $p<0,001$ ).

Sham grubunun 0. ve 1. saatlerdeki ortalama serum MDA ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ( $p=0,005$ ).

E vitamini grubunun 0. ve 12. saatteki ortalama serum MDA değerleri arasında anlamlı fark tespit edildi ( $p=0,004$ ).

PAM-atropin grubunda 0.-12.saat ve 12.-24. saatler arasındaki değerler dışında tüm ölçümlerde istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi (Tablo 6).

Tablo 6. Gruplar arası, saatlere göre serum MDA seviyeleri.

Serum MDA (nmol/ml)	0.saat Mean±SD	1.saat Mean±SD	12.saat Mean±SD	24.saat Mean±SD	Saatlere Göre
Sham	6,03±2,06	7,45±0,60	7,99±0,66		p=0,005
PAM-Atropin	6,50±0,31	7,98±0,31	4,79±1,53	3,76±0,36	p<0,001
E-vitamini	6,21±1,13	7,40±1,04	7,98±0,39	7,94±1,04	p=0,004
Gruplara Göre	P=0,84	P=0,32	P=0,00	p<0,001	

### Eritrosit MDA Değerleri

Grupların 12. saatteki ortalama eritrosit MDA değerleri arasında anlamlı fark tespit edildi ( $p<0,001$ ). Bu farkın Sham grubundan kaynaklandığı görüldü. Grupların 24. saatteki ortalama eritrosit MDA değerleri arasında anlamlı fark vardı ( $p=0,003$ ). PAM-atropin grubunun ortalama eritrosit MDA değerleri E vitamini grubuna göre anlamlı daha yüksekti.

Sham grubunun 0.-1.saat ile 0.-12.saat ortalama eritrosit MDA değerleri arasında anlamlı fark tespit edildi ( $p<0,001$ ).

E vitamini grubunun ortalama eritrosit MDA değerleri arasında tüm ölçümler birbirinden anlamlı farklı bulundu ( $p<0,001$ ).

PAM-atropin grubunun sadece 12. ve 24. saatlerdeki ortalama eritrosit MDA değerleri arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı (Tablo 7)

Tablo 7. Gruplar arası, saatlere göre Eritrosit MDA seviyeleri.

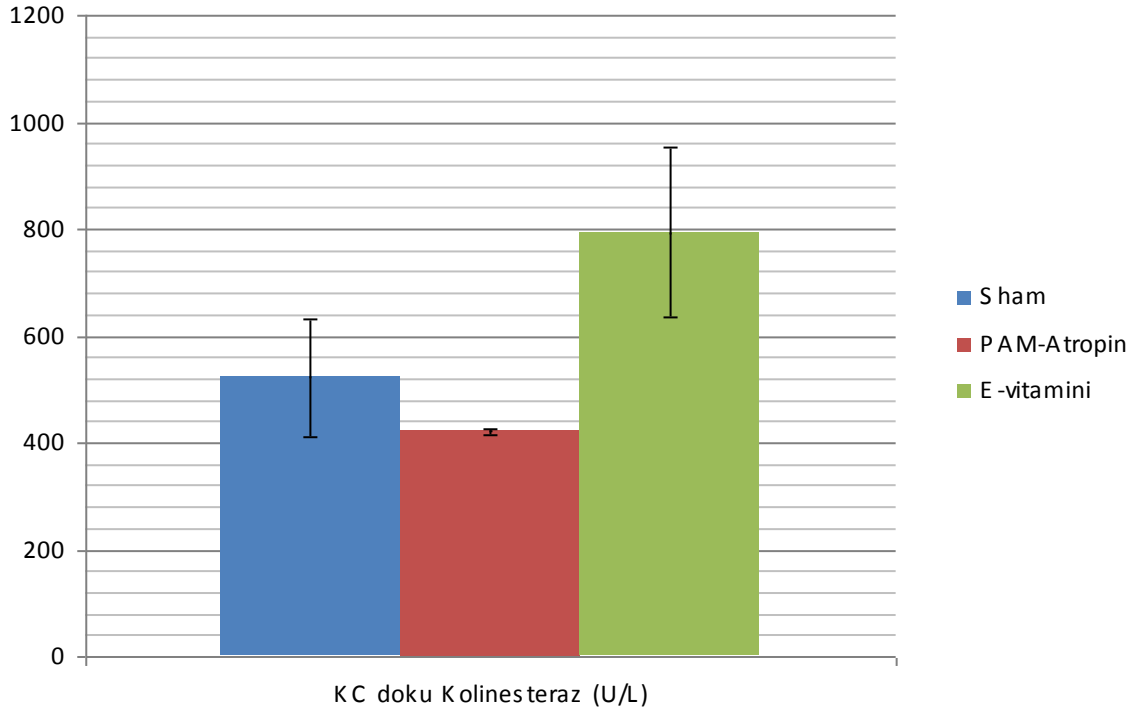
Eritrosit MDA (nmol/ml)	0.saat Mean±SD	1.saat Mean±SD	12.saat Mean±SD	24.saat Mean±SD	Saatlere Göre
Sham	5,40±0,45	9,05±0,66	9,48±0,76		p<0,001
PAM-Atropin	5,37±0,67	8,86±0,30	7,45±0,30	7,47±0,22	p<0,001
E-vitamini	5,33±0,74	8,77±0,38	7,11±0,03	7,15±0,05	p<0,001
Gruplara Göre	P=0,98	P=0,59	p<0,001	p=0,003	

#### **Doku Kolinesteraz ve Doku MDA Değerleri**

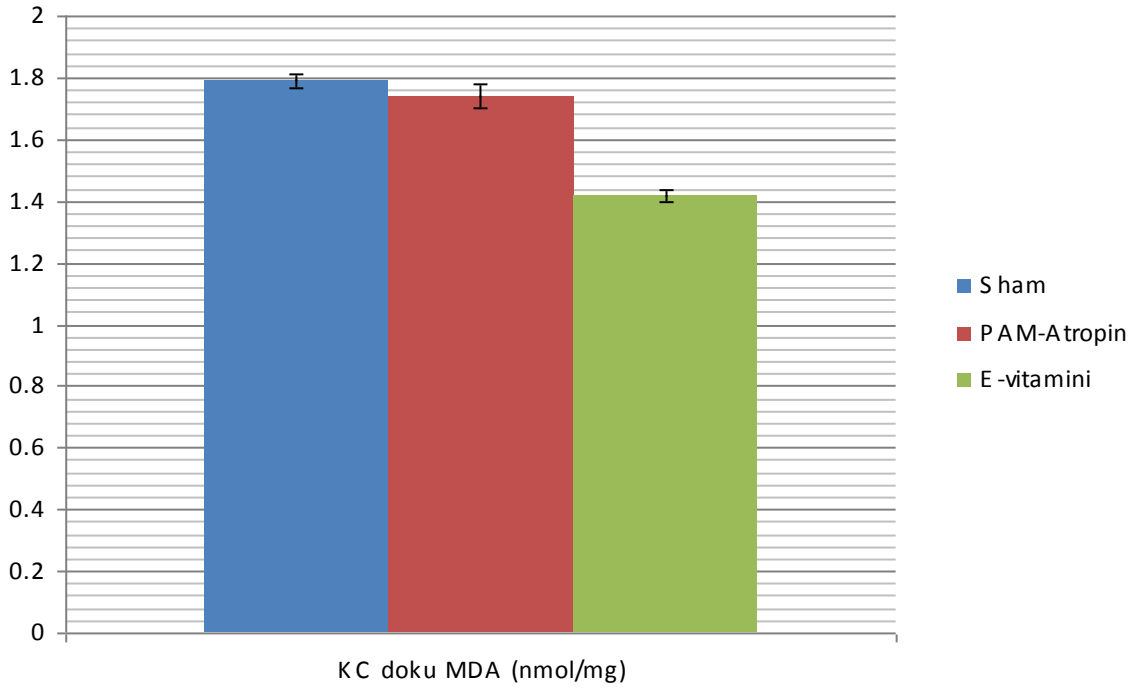
Doku ortalama BKE ve doku ortalama MDA değerlerinin karşılaştırılmasında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (p<0,001).

Ortalama karaciğer doku BKE değerleri arasındaki anlamlı farkın E vitamini grubundan kaynaklandığı görüldü. E vitamini grubunun ortalama karaciğer doku BKE değeri hem Sham grubundan hemde PAM-atropin grubundan anlamlı yüksekti.

Ortalama karaciğer doku MDA değerleri için her 3 grup arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (p<0,001) (Grafik 4 ve 5).



Grafik 4: KC doku BKE aktiviteleri(p<0,001)



Grafik 5: KC doku MDA düzeyleri (p<0,001)

## TARTIŞMA

Ülkemizde tarımsal faaliyetlerin yaygın olduğu bölgelerde acil servise başvuran zehirlenme vakaları içinde OF'larla olan zehirlenmeler önemli bir bölümü oluştururlar. Dünyada 100'ün üzerinde pestisid yaygın olarak kullanılmakta ve bu bileşiklere bağlı ciddi zehirlenmeler görülmektedir (32). OF'lara bağlı akut ağır zehirlenme vakalarının tedavisi uzun yoğun bakım takip süreci gerektirmektedir. Ayrıca bu zehirlenme vakalarında kalıcı nörolojik hasar ve sekeller de gelişebilmektedir. Kronik ve subkronik zehirlenmeler bu kimyasalların üretim alanında çalışanlarda veya bu kimyasalların üretim alanlarına yakın kirlenmiş çevrede yaşayanlarda önemli bir sağlık problemidir (33, 34). Bu nedenler araştırmacıları yeni tedavi yöntemleri ve yeni ilaçlar geliştirmeye yöneltmiştir (34-36) . Bu vakalarda uygulanacak farklı tedavi yöntemleri ile hastaların yoğun bakımda kalış süreleri kısaltılabilir ve sekeller azaltılabilir.

Diklorvos pestisitler içerisinde yaygın olarak kullanılan bir organofosfat bileşiğidir (32). OF'ların asetilkolin esterez inhibisyonu ile etki etmelerinin yanı sıra, bazı OF insektisitlerin reaktif oksijen ürünlerini arttırdığı ve böylece oksidatif doku hasarına neden olduğu bilimsel çalışmalarda gösterilmiştir (15, 37- 39, 40, 41).

Bazı organofosfat insektisitlerin kemirici karaciğer ve beyin dokularının hücresel komponentlerinde, fetal insan beyin ve karaciğer dokularında, insan eritrosit ve plazmasında, çeşitli balık türlerinin doku homojenatlarında neden olduğu oksidatif hasar araştırılmıştır. Bu çalışmaların tümünde, reaktif oksijen türlerinin hücresel membranlarla etkileşiminden kaynaklanan membran lipid peroksidasyonunun bir belirteci olan malondialdehitin arttığı görülmüştür (15, 42, 43).

Araştırmacıların OF'lı bileşiklerin dokularda serbest oksijen radikallerinin üretimine yol açtığını ve serbest oksi-radikallerin zehirlenmeye bağlı olarak gelişen doku hasarını

arttırdığını tespit etmesinden sonra antioksidan etkili bazı maddelerin doku seviyesindeki etkilerini inceleyen çalışmalar yapılmaya başlanmıştır (18, 20, 35, 44-47).

OF'lı kimyasal maddeler tüm canlı dokulara zarar verirler. Fakat en fazla zarar verdikleri dokuların başında karaciğer ve böbrek gelmektedir. Çünkü biyotransformasyona uğradıkları yer karaciğer, genel olarak atıldıkları yer ise böbreklerdir (5).

Kalender ve arkadaşları, OF'lı bir insektisit olan diazinonun ratlardaki hepatotoksik etkisini araştırmışlar. Bu araştırma sonucunda karaciğer enzimlerinin bozulduğunu, bununla beraber verilen doza ve süreye bağlı olarak sitoplazmik bütünlüğün kaybolduğunu ifade etmişlerdir (48). Çalışmamızda hiçbir tedavi uygulamadığımız Sham grubunun karaciğer dokusundaki KE düzeyi PAM-atropin ve E vitamini gruplarından anlamlı düşüktü. Ayrıca Sham grubunun karaciğer MDA düzeyi PAM-atropin grubuna göre anlamlı fark göstermezken, E vitamini verilen gruba göre anlamlı yüksekti. Bu sonuçlar Sham grubunda karaciğer hasarının ağır olduğunu göstermektedir.

OF'lı bileşikler ile yapılan akut ve subkronik çalışmalar bu maddelerin memeli dokuları üzerine çok toksik etkileri olduğunu göstermiştir. Diklorvosun oral LD<sub>50</sub> dozu ratlarda 50 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda da deneklere 50 mg/kg diklorvos verildi. Sham grubunda deneye 8 tavşanla başlamamıza rağmen 12. saatte 4 tavşan hayatta kaldı. Diklorvos zehirlenmesi sonucu diğer OF'lı insektisitlerde görülen terleme, salgılarda artış, bradikardi, diyare, istek dışı kasılma ve koma gibi klinik bulgular bizim çalışmamızda da gözlemlenmiştir. Bu durum deneklerde akut ağır toksisiteyi istediğimiz seviyede gerçekleştirdiğimizin en önemli göstergesidir.

OF zehirlenmesinin klinik etkileri muskarinik (SLUDGE sendromu; salivasyon, lakrimasyon, üriner inkontinans, diare, gastrik emezis), nikotinik (kaşıntı, fasikülasyon, güçsüzlük ve ciddi vakalarda paralizi) ve santral (tremor, konfüzyon, konvülsiyon, solunum depresyonu ve koma) etkilerine bağlıdır. Bizim çalışmamızda da miyozis, artmış bronşiyal



sekresyon, salivasyon, dispne gibi OF zehirlenmesine bağlı muskarinik etkiler deneklerin hepsinde görülmüştür. Yine solunum yetmezliği, takipne gibi nikotinic semptomlar ile tremor ve konvülsiyon gibi MSS semptomları da muskarinik semptomlara eşlik etmiştir. Bunlar da yine deneklerin hepsinde akut ağır toksisite gelişiminin önemli göstergelerindedir.

Diklorvosa akut veya kronik maruziyeti takiben ortaya çıkan toksik etkinin en önemlisi kolinerjik ileti için can alıcı bir enzim olan AKE inhibisyonudur. Diklorvos karaciğer, beyin ve kas gibi dokularda, eritrositlerde ve plazmada KE aktivitesinde azalmaya sebep olmaktadır (49,50). OF'lar ile zehirlenmenin tanısı ve hastaların takibi klinik belirtiler, KE düzeyleri, atropin ve oksim tedavisine cevaba göre yapılmaktadır (51).

Daha önce diklorvos ve methidation ile yapılan bazı çalışmalarda toksisite sonrası serum ve değişik dokulardaki KE aktivitesinde anlamlı düşüş saptanmıştır. Fakat bu çalışmalarda bizim çalışmamızdan farklı olarak akut toksisite modeli kullanılmamıştır. Bu çalışmalarda deneklere 4 hafta boyunca haftada 5 gün gavaj ile OF verilerek subkronik toksisite geliştirilmiştir (47-52) Toksik maddenin tekrarlanmış dozlarına maruz kalma subakut, subkronik veya kronik tipte olabilir. Kısa sürede sık ara ile (1 ay veya daha az) maruz kalmada toksik miktarda kimyasal maddenin organizmaya girmesi ile subakut zehirlenme görülür. Subkronik maruz kalma süresi (1-3 ay arası) subakut ile kronik süre arasındadır. Uzun süre (3 aydan fazla) akut toksik dozun altında maruz kalma sonucu oluşan zehirlenmeye ise kronik zehirlenme denir. Bizim yaptığımız çalışmada ise tavşanlara LD<sub>50</sub> dozunda diklorvos verilerek akut toksisite geliştirilmiştir. Toksisite sonrası tüm gruplarda serum ve karaciğer dokusu KE düzeylerinde düşüş görülmüştür. Ancak toksisite sonrası serum KE seviyesindeki düşme sadece PAM-atropin grubunda anlamlı idi. E vitamini ve sham gruplarında toksisite sonrası serum KE aktivitelerinde düşme gözlenmişse de istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ). Ayrıca sham grubundaki bazı

deneklerde toksisite sonrası KE düzeyleri diğer deneklere göre oldukça yüksek düzeyde olduğu için bu değerler ortalama serum KE düzeylerinin yüksek bulunmasına neden olmuştur.

Aygun ve ark.'nın hastaneye OF zehirlenmesi ile başvuran hastalar ile yaptıkları bir çalışmada ise, hastaların başvurudan itibaren seri KE düzeyleri değerlendirilmiş ve düşük serum BKE seviyesinin akut organik fosfor zehirlenmesinin tanısını desteklediği, fakat klinik şiddeti ile ilişkili olmadığı bildirmiştir (53).

OF zehirlenmelerinde tedavisinde kullanılan atropin sülfat muskarinik reseptörlerde asetilkolinin yarışmalı antagonistidir. Artmış salgı, miyozis, bronkospazm, kusma, ishal, terleme ve idrar kaçırmayı geri çevirir. Atropin sadece postsinaptik muskarinik reseptörde etkili, nikotinik reseptörlerde etkili değildir. Kas güçsüzlüğü, felç durumu ve KE'in yenilenmesi üzerine etkisi yoktur.

PAM OF ile oluşan zehirlenmelerin tedavisinde antidot olarak kullanılır. PAM, defosforilasyon ve aktif bölgenin yeniden oluşumu ile AKE'ı tekrar etkin duruma getirirler. Oksimler, AKE-OF kompleks haline geldiğinde etkisizdir, yaşlanma oluşmadan zehirlenmeden sonraki ilk 24-36 saat içinde verilmelidir.

Duval ve ark.'nın hastanede OF zehirlenmesi nedeniyle takip edilen hastalarda yaptıkları bir çalışmada tedavide PAM verilen grup ile PAM tedavisi verilmeyen grup kan BKE düzeyleri arasında istatistiksel fark bulunmamıştır (54). Yine Gülalp ve ark.'nın ratlarda yaptıkları bir başka çalışmada OF toksisitesi sonrası PAM-atropin verilen grup ile PAM-atropin verilmeyen grupların kan AKE ve BKE seviyeleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

Cherian ve ark. organik fosfor zehirlenmesi olan 21 hastada yaptıkları çalışmada PAM tedavisi verilen grup ile plasebo verilen grubun serum BKE seviyeleri arasında anlamlı fark bulunmamışlardır. Yine aynı çalışmada orta ve ağır OF toksisitesi tanısı ile takip edilen

hastalarda tedavide PAM verilen ve plasebo verilen gruplar arasında komplikasyon bakımından da anlamlı fark bulunmamıştır (55).

OF zehirlenmesinde atropin ile PAM'ın KE düzeyi üzerine etkilerini karşılaştıran, 30 hasta ile yapılmış bir çalışmada (Chung ve ark.), yalnız atropin tedavisi verilen grup ile PAM-atropin tedavisi verilen grubun kan BKE düzeyleri arasında istatistiksel bir fark bulunmamışlardır. Yine bu çalışmada bütirikolinesteraz düzeyi ile zehirlenmenin şiddeti arasında uyumluluk saptanmamıştır (56).

Bizim çalışmamızda da tüm gruplarda toksisite sonrası BKE düzeylerinde düşme görüldü. Bu düşme sadece PAM-atropin grubunda istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p=0,001$ ). Serum BKE seviyesindeki düşme istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ve diğer gruplarınkine göre daha az seviyede olduğu halde, sham grubundan 4 denek 12. saate ulaşmadan, kalan 4 denek de 24. saate ulaşmadan kaybedildi. Bu da bize yine OF toksisitesinde zehirlenmenin klinik şiddeti ile KE düzeyleri arasında ilişki olmadığını göstermektedir. Ayrıca tedavide PAM-atropin verilen grubun BKE düzeyi hem 12. hem de 24. saatte diğer grupların serum BKE düzeylerinden anlamlı düşüktü. Yani PAM ve atropin tedavisi serum BKE seviyeleri üzerine anlamlı bir etki göstermemiştir. Çalışmamızdan elde edilen bu sonuçlar yukarıda sonuçları tartışılan önceki çalışmalarını desteklemektedir (53, 56).

Tedavideki yeni gelişmelere (hemoperfüzyon, magnezyum sülfat, insan albümin, alkalinizasyon) ve yoğun bakım takiplerindeki ilerlemelere rağmen ağır OF zehirlenmelerinde ölüm oranı hala yüksektir (57-59). OF zehirlenmesinin patofizyolojisinde lipid peroksidasyonunun önemli bir faktör olduğu gösterildikten sonra antioksidan tedavinin etkisini araştıran bazı çalışmalar yapılmıştır (18, 20, 35, 44-47).

Vitamin E süperoksit, hidroksil radikalleri, lipit peroksil radikalleri ve diğer radikalleri indirger. Vitamin E lipit peroksidasyonunun erken aşamalarında biyomembrandaki serbest radikal toplayıcı aktivitesi ile hücre membran fosfolipitlerinde bulunan çoklu doymamış yağ

asitlerini serbest radikal etkisinden koruyarak, lipit peroksidasyonuna karşı ilk savunma hattını oluşturur. Diğer bir deyişle Vitamin E protein-lipid membranları stabilize eder, yağ asitlerinin peroksidasyonlarını önler ve serbest radikalleri ortamdan temizler.

Vitamin E'nin organoklorlu insektisit olan endosülfan ve organofosfatlı insektisit olan diazinon toksisitesinde bazı biyokimyasal parametreler üzerinde ve hücre yapısında koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir (44).

Sulak ve ark. ratlarda bir organofosfatlı bileşik olan akut methidation toksisitesi sonucu inhibe olan KE aktivitesinin, vitamin E ve C kombinasyonu verilerek kısmen tamir edildiğini bildirmişlerdir (45). Yine methidation ile ratlarda yapılan bir başka çalışmada (Sütçü ve ark.), subkronik toksisitenin karaciğer üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada tedavide antioksidan olarak vitamin C ve vitamin E kombinasyonu verilerek, bu kombinasyonun koruyucu rolü incelenmiştir. Deneklere 4 hafta süre ile haftada 5 gün methidation uygulaması sonucunda serum KE aktivitesinin azaldığını ve karaciğer hasarı ile ilgili olarak serumda ALP, AST, GGT ve LDH enzimlerinin de arttığını tespit etmişlerdir (60). Matkovics ve ark. tarafından OF'lı bileşiklerle yapılan bir başka toksisite çalışmasında, OF'ların KE'ı inhibe edici etkisinin en iyi E vitamini tarafından düzeltildiği bildirilmiştir (46).

Güney ve ark.'nın yaptıkları çalışmada subkronik methidation toksisitesi geliştirilen ratlara tedavide vitamin E ve C verilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda vitamin E ve C kombinasyonu verilen grubun kan KE aktivitesi vitamin E ve C kombinasyonu verilmeyen gruba göre anlamlı yüksek bulunmuştur (47).

Çalışmamızda istatistiksel anlamlı fark göstermese de E vitamini verilen grubun toksisite sonrası ölçülen serum BKE aktivitesi düşme göstermiştir. Bu grubun tedaviden sonra serum BKE seviyesinde yine istatistiksel anlamlı olmasa da hafif bir yükselme tespit edilmiştir. Ayrıca E vitamini verilen grubun tedavi sonrası 12. saatteki ve 24. saatteki KE

düzeyleri diğer gruplardan anlamlı yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar yapılan diğer çalışmalardaki sonuçlar ile uyumludur.

Karaciğer doku KE aktivitesi ise sham grubunda PAM-atropin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek tespit edilmiştir ( $p<0,001$ ). E vitamini verilen grubun karaciğer dokusu BKE düzeyleri ise hem sham grubundan, hem de PAM-atropin grubundan anlamlı yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda bulunan bu sonuçlar OF toksistesinde tedaviye E vitamini eklenmesinin standart tedaviye göre kolinesteraz aktivitesini daha fazla reaktif ettiğini göstermektedir.

Lipid peroksidasyonun en önemli ürünü malondialdehid (MDA) dir. Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda MDA meydana gelir. Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar. MDA, iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. MDA bu özelliği nedeniyle, DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girebilir ve bundan dolayı mutajenik, hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojeniktir (20, 31, 61, 62). OF zehirlenmelerinde lipid peroksidasyonunun önemli rolü olduğu tespit edildikten sonra bu reaktifle ilgili çalışmalar yapılmıştır.

Gökalp ve ark.'nın bir organik fosfor bileşiği olan Klorpirifos etil'in rat pankreası üzerine etkisini araştırdıkları çalışmada, Klorpirifos etil'in kolinesteraz aktivitesini azalttığı, serum MDA'sını arttırdığı bulunmuştur (63). Bu konu ile ilgili olarak yapılan bir başka çalışmada, OF'lı insektisit olan malathionun in vitro şartlarda insan fetuslarından elde edilen karaciğer ve beyin doku homojenatlarında Süperoksit dismutaz (SOD) ve Katalaz (CAT) aktivitelerinde önemli derecede inhibisyona, MDA oluşumunda artışa neden olduğu saptanmıştır (42). Malathion ile yapılan buna benzer bir çalışmada malathion'un in vitro şartlarda insan fetuslarından elde edilen karaciğer ve beyin doku homojenatlarına etkileri araştırılmış; her iki

dokuda SOD ve CAT aktivitelerinde azalma, MDA oluşumunda artış olduğu saptanmıştır (42).

Canacankatan ve ark.'nın asetilkolinesteraz inhibitörü bir karbamat bileşiği olan karbosulfan ile deney hayvanları üzerinde yaptıkları bir çalışmada karbosulfana maruz bırakılan sıçanların plazma ve karaciğer doku MDA'sını kontrol grubundan anlamlı yüksek bulmuşlardır (64). Karbamatlar ile yapılan başka çalışmalarda da lipid peroksidasyonunun arttığı bildirilmiştir (65,66).

Öncü ve arkadaşlarının organofosfat bileşiği olan Klorpirifos etil ile deney hayvanlarında yaptıkları çalışmada karaciğer dokusunda kontrol grubuna göre MDA düzeyinin artmış olduğunu tespit etmişlerdir. Trichlorfon, dichlorvos ve phosphamidon gibi organofosfatların da GSH-Px ve SOD aktivitelerini inhibe ederek ve MDA üretimini artırarak hepatositlerde oksidatif hasarı teşvik ettiği rapor edilmiştir (67, 68, 69).

Bu konuda yapılan araştırmaların çoğu subkronik zehirlenme çalışmalarıdır. Subkronik methidation toksisitesinde (Sütçü ve ark.) karaciğerde lipit peroksidasyonun bir göstergesi olan MDA konsantrasyonunun arttığı bildirilmiştir (60). Kalender ve arkadaşları diazinon tedavi grubunda hepatositlerde mitokondrial şişme ve mitokondrial kristalarda kırılma bulmuşlardır. Vitamin E eklenen grupta ise patolojik bulgunun olmadığını göstermişlerdir (48).

Güney ve ark.'nın ratlarda diklorvosun oluşturduğu fallopiyan tüp zedelenmelerine karşı E ve C vitamini kombinasyonunun koruyucu etkilerini araştırdıkları çalışmada DDVP grubunun tuba dokusundaki MDA seviyeleri E ve C vitamini verilen gruba göre anlamlı yüksek bulunmuştur. Çalışmada ayrıca E ve C vitamini kombinasyonu verilmeyen gruptaki ratların tuba epitelyumunda ağır dejeneratif değişiklikler görülmüştür. Mikrovilluslu ve kinosialı hücrelerin apikal yüzey değişiklikleri tamamen kaybolmuştur. Ayrıca tüm hücrelerde spesifik vakuoller, mitokondrial kristalleşme ve şişme ve kromatin kaybı

görülmüştür. Organik fosfor intoksikasyonu olan hayvanlarda mitokondrial değişiklikler toksik etkileri yenmek için hücrenin enerji gereksiniminin artmış olduğunu düşündürmektedir. Buna karşılık vitamin E ve C kombinasyonu verilen grupta DDVP'ye bağlı histo-patolojik değişiklikler düzelmiş, ancak bu değişiklikler tamamen normale dönmemiştir. Yani E ve C vitamini kombinasyonunun tedavide kullanılması DDVP'ye bağlı doku hasarını kısmen önlemiştir (47).

Kılınç ve ark.'nın bir organofosfor bileşiği olan Klorpirifos etil ile ratlarda yaptığı çalışmada, antioksidan etkili bir pineal hormon olan melatonin ile vitamin E ve C kombinasyonunun plazma seviyesinde lipid peroksidasyonu üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada C ve E vitamini kombinasyonunun uygulanması serum MDA'sını kontrol ve sham gruplarına göre anlamlı düşürmüştür. Ayrıca C ve E vitamini verilen grubun serum MDA düzeyleri melatonin verilen gruptan da anlamlı düşük bulunmuştur. Buna göre vitamin E ve vitamin C'nin Klorpirifos etil'in toksik etkilerini anlamlı olarak azaltabileceği kanaatine varılmıştır (35).

Datta ve arkadaşları ise, insan eritrosit ve plazma antioksidan savunma komponentleri üzerine bir organofosfat bileşiği olan fosfamidon'un etkisini araştırmışlardır. Eritrositte GSH-Px, SOD ve CAT aktiviteleri stimüle olurken plazma fraksiyonunda GSH-Px ve SOD aktivitelerinin önemli derecede deprese olduğunu, öte yandan MDA düzeyinin ve CAT aktivitesinin arttığını göstermişlerdir (43).

OF zehirlenmesinde uygulanan antidot tedavisi ile antioksidan tedavinin doku seviyesinde lipid peroksidasyonu üzerine etkilerini karşılaştıran bir çalışma şimdiye kadar yapılmamıştır.

Çalışmamızda sham grubunda toksisite sonrası serum MDA ölçümlerinde artış bulunmuştur. Bu artış 0. ve 1. saatler arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0,005$ ). Sham grubunun 1. ve 12. saatlerdeki serum MDA düzeyleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Buna karşılık sham grubunun eritrosit MDA ölçümlerinde toksisiteden sonra

istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir ( $p<0,001$ ). Ayrıca sham grubunun 12. saatteki ortalama doku MDA değerleri diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek çıkmıştır ( $p<0,001$ ). On ikinci saatte ölçülen eritrosit MDA değerleri hem PAM-atropin grubunda, hem de E vitamini grubunda sham grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük bulunmuştur. E vitamini grubunun 24. saatteki ortalama eritrosit MDA değerleri PAM-atropin grubunun 24. saatteki ortalama eritrosit MDA değerlerinden anlamlı düşük tespit edilmiştir. Bu bulgular OF'ların eritrositlerde meydana getirdiği lipid peroksidasyonunun azaltılmasında antidot tedavisinin etkili olduğunu, fakat antidot tedavisi ile birlikte E vitamini verilmesinin, tek başına antidot tedavisine göre çok daha etkili olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda PAM-atropin grubunun karaciğer dokusu ortalama MDA değerleri sham grubundan istatistiksel olarak anlamlı düşük tespit edilmiştir. E vitamini grubunun karaciğer dokusu ortalama MDA değerleri ise hem sham grubundan, hem de PAM-atropin grubundan istatistiksel anlamlı düşük bulunmuştur. Orta ve ağır derecedeki OF zehirlenmelerinin tedavisinde vazgeçilmez ilaçlar olan PAM ve atropin'in karaciğerde oluşan lipid peroksidasyonunu azaltıcı etkileri vardır. Fakat PAM ve atropinle birlikte kullanılan E vitamininin dokuyu toksik hasardan koruyucu bu etkiyi bir hayli arttırdığı görülmektedir.

Tedaviye E vitamini eklenen gruptaki kadar olmasa da PAM-atropin verilen grupta da tedaviden sonra eritrosit MDA düzeylerinin gittikçe azalması ve karaciğer dokusu MDA düzeylerinin sham grubundan anlamlı düşük bulunması, PAM ve atropinin antioksidan etkileri olabileceğini düşündürmektedir. Bu etkinin atropinden mi yoksa PAM'dan mı kaynaklandığını bilmiyoruz. Bu konuyu açıklayabilmek için OF zehirlenmelerinde oksimlerin ve atropinin ayrı ayrı gruplarda kullanılarak, serbest oksiradikallerin değerlendirileceği bazı çalışmalar planlanabilir.



## SONUÇ

Tavşanlarda oluşturulan akut OF zehirlenmesinde serum KE seviyeleri zehirlenmenin klinik derecesi ile bağlantılı değildir. Bunun en önemli göstergesi sham grubunun ortalama serum KE seviyesi tedavi gruplarından daha yüksek olduğu halde bu gruptaki deneklerin yarısının 12., yarısının da 24. saati tamamlamadan kaybedilmesidir. Tedavide kullanılan PAM-atropin ve E vitamininin serum KE seviyeleri üzerine olumlu bir etkisi görülmemiştir.

Akut OF zehirlenmesinde standart antidot tedavisine E vitamini eklenmesinin serum lipid peroksidasyonun üzerine olumlu bir etkisi yoktur. Akut ağır ve orta dereceli OF zehirlenmelerinin tedavisinde kullanılan PAM ve atropinin eritrositlerdeki lipid peroksidasyonunu azaltıcı etkisi vardır. Ancak PAM ve atropin tedavisine eklenen E vitamini OF'ların eritrositlerde meydana getirdiği lipid peroksidasyonunu klasik antidot tedavisine göre önemli ölçüde azaltmakta ve eritrosit MDA seviyelerini düşürmektedir.

PAM-atropin tedavisinin doku KE üzerine olumlu bir etkisi bulunmamıştır. Buna karşılık PAM-atropin tedavisine eklenen E vitamini karaciğer dokusundaki KE aktivitesi üzerine olumlu etki göstermiştir.

PAM ve atropin tedavisi doku MDA seviyelerini azaltmıştır. Doku MDA değerleri eritrosit MDA değerlerine benzer olarak E vitamini verilen grupta diğer gruplara göre oldukça düşük seviyede ölçülmüştür.

Küçük bir grupta deneysel olarak gerçekleştirdiğimiz çalışmamızda E vitamini eklenen grupta lipid peroksidasyonu doku seviyesinde en düşük seviyelerdeydi. Fakat PAM-atropin tedavisinin de doku seviyesinde lipid peroksidasyonu üzerine olumlu etkileri olduğunu gördük. Bu sonuç bu konuyu araştırarak yeni çalışmaların planlanması bakımından önemlidir.

Ayrıca OF zehirlenmelerinin tedavisinde antidot tedavisi ile birlikte E vitamininin kullanılması hastaların prognozu olumlu yönde etkileyebilir ve yoğun bakımda kalış sürelerini

kısaltabilir. Büyük hasta grupları ile yapılacak klinik çalışmalar konuya açıklık kazandıracaktır.

## ÖZET

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı tavşanlarda geliştirilen akut organofosfat zehirlenmesinde antidot tedavisi ile birlikte kullanılan E vitamininin kandaki ve karaciğer dokusundaki lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan Malondialdehit (MDA) düzeyleri ve kolin esteraaz (KE) aktivitesi üzerine etkilerini araştırmak ve antidot tedavisi ile karşılaştırmaktır.

**Materyal ve metod:** Çalışmada 20 tavşan kullanıldı. Denekler sham (n=8), PAM-atropin (n=6) ve E vitamini grubu (n=6) olarak 3'e ayrıldılar. Her denekten toksisite öncesi plazma KE, serum ve eritrosit MDA değerlerini ölçmek için kan örnekleri alındıktan sonra orogastrik yoldan 50 mg/kg DDVP verildi. Toksikite belirtileri ortaya çıkana kadar 1 saat beklendi. Toksikite sonrası plazma KE, eritrosit ve serum MDA ölçümleri için kan örnekleri alındı. Sham grubundaki tavşanlara tedavi verilmedi. Bu gruptaki tavşanlardan 12. saatte plazma KE ve MDA ölçümleri için kan örnekleri alındı. PAM-atropin grubundaki deneklere 0.05 mg/kg gerektiğinde tekrarlayan dozda atropin ve 30 mg/kg IV bolus, ardından 15 mg/kg her 4 saatte PAM IV verildi. E vitamini grubundaki deneklere 250 mg/kg E vitamini tek doz İM uygulandı. Toksikite sonrası bu gruptaki deneklere ayrıca 0.05 mg/kg gerektiğinde atropin ve 30 mg/kg İV bolus, ardından 15 mg/kg her 4 saatte PAM İV verildi. PAM-atropin ve E vitamini gruplarındaki deneklerden PAM-atropin tedavisi başlatıldıktan sonra 12. ve 24. saatlerde tekrar plazma KE, eritrosit ve serum MDA ölçümlerini değerlendirmek üzere venöz kan örnekleri alındı. Sham grubundaki deneklerden 12. saatte diğer gruplardaki deneklerden 24. saatte laparotomi yapılarak dokuda KE, ve MDA ölçümlerini değerlendirmek üzere karaciğer dokusundan örnekler alındı. Çalışmanın sonunda denekler yüksek dozda İV anestezi verilerak kurkifiye edildiler. Serum ve doku BKE tayini elektrometrik yöntemle yapıldı. Serum MDA'sı Drapper ve Hadley Yöntemi ile tayin edildi. Sonuçlar SPSS for

windows 13 programında değerlendirildi. Gruplar arası karşılaştırma ANOVA Varyans analizi ile, grup içi tekrarlayan ölçümler bon ferroni düzeltmeli student-t testi ile yapıldı.

**Bulgular ve Sonuç:** E vitamini grubunun serum KE düzeyleri PAM-atropin grubundan anlamlı yüksek bulundu ( $p=0.003$ ). PAM-atropin grubunun serum MDA'sı E vitamini grubundan anlamlı düşük ( $p<0.001$ ) , E vitamini grubunun da eritrosit MDA'sı PAM-atropin grubundan anlamlı düşük ( $p=0.003$ ) tespit edildi. E vitamini grubunun karaciğer doku KE sham ve PAM-atropin gruplarından anlamlı yüksekti ( $p<0.001$ ). E vitamini grubunun karaciğer doku MDA'sı sham ve PAM-atropin gruplarından anlamlı düşüktü ( $p<0.001$ ).

**Sonuç:** Akut OF toksisitesinde antidot tedavisine eklenen E vitamininin hem eritrosit ve karaciğer dokusu lipid peroksidasyonu üzerine hem de karaciğer dokusu KE aktivitesi üzerine iyileřtirici etkisi vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Organofosfor, E vitamini, Malondialdehit, Kolinesteraz, Oksime

## ABSTRACT

**Purpose:** The aim of this study is to show the effects of Vitamin E, which is used with antidote therapy in organophosphate toxication, compared to cholin esterase activity and malondialdehyde (MDA) levels, which is a marker of lipid peroxidation in liver cells and to compare with antidote therapy

**Materials and Method:** We used 20 rabbits in the study. We separated the rabbits into three groups: Sham (n=8) PAM-atropine (n=6) and Vitamin E (n=6). We took blood samples of plasma KE, serum and erythrocyte MDA levels before the toxication and we applied 50mg/kg DDVP from orogastric way. We waited for an hour to see the toxic effects. We took blood samples of plasma KE, serum and erythrocyte MDA levels after the toxication. Sham group left without treatment. We took blood samples from this group in the 12th hour for KE and MDA levels. We applied PAM-atropine group 0.05 mg/kg and if needed, recurrent doses of atropine and 30 mg/kg i.v bolus and then 15 mg/kg PAM (i.v) per 4 hour. In Vitamin E group, we applied 250 mg/kg Vitamin E (i.m) We also applied 0.05 mg/kg atropine if needed and 30 mg/kg i.v bolus and then 15 mg/kg PAM (i.v) per 4 hour. Blood samples taken from PAM-atropine and Vitamin E groups on the 12th and 24th hours of PAM-atropine therapy for plasma KE, erythrocyte and serum MDA levels. On the 12th hour in Sham group and on the 24th hour in other groups, liver tissue samples were taken by laparotomy for KE and MDA levels. In the end, we gave high-dose anesthetics and sacrificed the rabbits. Serum and tissue BKE levels measured by electrometric methods. Serum MDA levels designated by Draper and Hadley Method. We estimated the results with SPSS for Windows 13 program. We made group comparisons by ANOVA Variance and in group measurements by bonferroni Student-t test.

**Findings and Results:** Vitamin E group serum KE levels were meaningfully high against PAM-atropine group. ( $p=0.003$ ). PAM-atropine group serum MDA levels were meaningfully low against Vitamin E group ( $p<0.001$ ), erythrocyte MDA levels on Vitamin E group were meaningfully low against PAM-atropine group ( $p=0.003$ ) . Liver tissue KE levels were meaningfully high on Vitamin E group against Sham and PAM-atropine groups. ( $p<0.001$ ) but liver tissue MDA levels were meaningfully low on Vitamin E group against Sham and PAM-atropine groups ( $p<0.001$ )

**Result:** Additive Vitamin E therapy in acute OF toxicity, rehabilitates both erythrocyte and liver tissue lipid peroxidation and liver tissue KE activity.

**Key words:** Organophosphorus, Alpha Tocopherol, Malondialdehyde, Cholinesterase, Oxime

## KAYNAKLAR

1. Robey CW, Meggs WJ, Tintinalli JE., et all. Emergency Medicine 6th New York: McGraw-Hill CO 2004:1134-43
2. Joshi S, Biswas B, Malla G. Management Of Organophosphorus Poisoning. Update in Anaesthesia 2005; Issue 19 Article 13: 1-2
3. Organophosphorus Insecticide Poisoning. The Journal of The International Federation of Clinical Chemistry (JIFCC), 1999;11: 2
4. Choi P T-L, Quinonez LG, Cook DJ. Acute Organophosphate insecticide poisoning. Clin Intensive Care 1995; 6: 5
5. Goldfrank LR., Flomenbaum NE. , Lewin NA., et all. Goldfrank's Toxicologic Emergencies 7th Edition, Newyork: McGraw-Hill co, 2002;1346-60
6. Matsumiya N, Tanaka M, Iwai M, et all. Elevated amylase is related to the development of respiratory failure in organophosphate poisoning. Hum Exp Toxicol., 1996; Mar;15(3):250-3.
7. Güven M, Bayram F, Ünlühizarci K et all. Endocrine changes in patients with acute organophosphate poisoning Hum Exp Toxicol,1999; 18: 598-601
8. Edmiston S, Maddy KT. Summary of illnesses and injuries reported in California by physicians in 1986 as potentially related to pesticides. Vet Hum Toxicol 1987; Oct;29(5):391-7.
9. Midtling JE, Barnett PG, Coye MJ, et all. Clinical management of field worker organophosphate poisoning. West J Med, 1985; 142:514-8.
10. Goldfrank LR, Flomenbaum NE, Lewin NA., Goldfrank's Toxicologic Emergencies. 6th ed Stamford Connecticut: Appleton-Lange. 2000:1429-49.
11. Sivangnanam S. Potential therapeutic agents in the management of organophosphate poisoning. Crit Care. 2002;6:260-1.
12. Guven M, Sungur M, Eser B. The effect of plasmapheresis on plasma cholinesterase levels in a patient with organophosphate poisoning. Hum Exp Toxicol. 2004;23: 365- 8.
13. Kehrer JP, Free radical as mediator of tissue injury and disease. Crit. Rew. Toxicol., 1993;23: 21-48.
14. Bachowski S, Kolaja KL, Xu Y et all. Role of oxidative stress in the mechanism of dieldrin's hepatotoxicity. Ann. Clin. Lab. Sci., 1997;27: 196-209.
15. Bagchi D, Bagchi M, Hassoun EA, et all. In vitro and in vivo generation of reactive oxygen species, DNA damage and lactate dehydrogenase leakage by selected pesticides. Toxicology 1995; 104(1-3): 129-40.
16. Gültekin F, Öztürk M, Akdoğan M, The effect of organophosphate insecticide chlorpyrifos-ethyl on lipid peroxidation and antioxidant enzymes (in vitro). Arch. Toxicol. ,2000;74: 533-8.
17. Zhou JF, Zhou W, Zhang SM, et all. Oxidative stress and free radical damage in patients with acute dipterex poisoning. Biomed. Environ. Sci. ,2004;17: 223-33.
18. Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, et all. Pesticides and oxidative stress: a review. Med. Sci. Monit, 2004;10: 141-7.

19. Altuntas İ, Delibas N, Doguca DK, et all Role of reactive oxygen species in organophosphate insecticide phosalone toxicity in erythrocytes in vitro. *Toxicology In Vitro*, 2003;17: 153-7.
20. Kalender S, Kalender Y, Ögütçü A, et all Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats : the protective effect of vitamin E. *Toxicology*, 2002;202: 227-35.
21. Kayaalp, O: *Tıbbi Farmakoloji*; 2002;91:1484-9.
22. Champe, PC., Harvey., RA. ; *Biyokimya*; Nobel tıp kitabevleri ltd. sti; 1997; 2: 340.
23. El-Demerdash FM, Yousef MI, Kedwany FS, et all: Cadmium- Induced Changes In Lipid Peroxidation, Blood Hematology, Biochemical Parameters And Semen Quality Of Male Rats: Protective Role Of Vitamin E And  $\beta$ -Carotene. *Food and Chem Toxicol.*2004; 42: 1563-71.
24. Kozampassi, K, Paramythiotis, D, Tsiakitzis, D, et all: The Impact Of  $\alpha$ -Tocopherol On Radiation-Induced Liver Injury. *Nutrition Research.*2003; 23: 103-109. 54
25. Harrison, SA, Torgerson, S, Hayashi, P, et all: Vitamin E And Vitamin C Treatment Improves Fibrosis In Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis. *Am J Gastroenterology.* 2003: 98: 11
26. Frank, J.:Beyond Vitamin E Supplementation: An Alternative Strategy To Improve Vitamin E Status. *J Plant Physiol* 2005; 162: 834-43.
27. Sokol, RJ: The Coming Of Age Of Vitamin E. *Hepatology.* 1989; 9: 649- 53.
28. Halliwell, B, Gutteridge, WMC, "Free Radicals in Biology and Medicine", Oxford Medicine Press, 1999; 246-351
29. Akgül, E, İlhan, M, Halifeoğlu, İ., "Tip 2 diabetes melitusta lipit peroksidasyonu ve eritrosit antioksidan enzim aktiviteleri", *Biyokimya Dergisi*, 1999, 24(3):28-33.
30. Füsün Ü, Tahan V, Akaya A, ve ark. Primer Akciğer kanserinde lipit peroksidasyonu ve eritrosit antioksidan enzim aktivitesi, *Tüberküloz ve Toraks Dergisi*, 1999;47:31-5.
31. Porter N.A. , Chemistry of lipit peroxidation. *Methods Enzymol.*, 1984; 105: 273-83.
32. Sungur M, Guven M. Intensive care management of organophosphate insecticide poisoning. *Crit Care* 2001;5(4):211-5.
33. Ranjbar A, Pasalar P, Abdollahi M. Induction of Oxidative Stress and Acetylchlinesterase Inhibition in Organophosphorus Pesticide Manufacturing Workers. *Hum Exp Toxicol.* 2002;21: 179-82.
34. Koner B C, Banerjee B D, Ray A. Organochlorine Pesticide-Induced Oxidative Stress and Immun Supression in Rats. *Indian J Exp Biol.*1998;36 :395-8.
35. Kılınç İ, Altuntaş İ, Kaptanağası M, et all. Chlorpyriphos-ethyl'in rat plazmasında in vivo lipoperoksidatif etkisi ile melatonin ve vitamin C +vitamin E'nin koruyucu etkilerinin araştırılması. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2003;10( 2):1-28
36. Cankayali L, Demirag K, Eris O. The effects of N-acetylcysteine on oxidative stress in organophosphate poisoning model. *Adv in Ther* 2005;22(2):107-16.
37. Agrawal D, Sultana P, Gupta G.S.D. Oxidative damage and changes in the glutathione redox system in erythrocytes from rats treated with hexachlorocyclohexane *Food Chem Toxicol* 1991; 29(7): 459-62.



38. Stephen B, Kyle L, Yong X, et al. Role of oxidative stress in the mechanism of dieldrin's hepatotoxicity. *Ann Clin Lab Sci* 1997; 27(3): 196-208.
39. Klaunig JE, Xu Y, Isenberg JS, et al. The role of oxidative stress in chemical carcinogenesis. *Environ Health Perspect* 1998; 1: 289 -95.
40. Steevens JA, Benson WH. Toxicological interactions of chlorpyrifos and methyl mercury in the amphipod, *Hyalella azteca*. *Toxicol Sci* 1999; 52(2): 168-77.
41. Lodowici M, Aioli S, Monserrat C, et al. Effect of a mixture of 15 commonly used pesticides on DNA levels of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine and xenobiotic metabolizing enzymes in rat liver. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 1994; 13(3): 163-8.
42. Jayati Gupta, Chhabi Datta. Effect of malathion on antioxidant defence system in human fetus-An in vitro study. *Ind J Exp Biol* 1992; 35:2-4.
43. Datta C, Gupta J, Sarkar A, et al. Effects of organophosphorus insecticide phosphomidon on antioxidant defence components of human erythrocyte and plasma. *Ind J Exp Biol* 1992; 30: 65-7.
44. Kalender S, Kalender Y, Ogutcu A. Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats: The protective effect of vitamin E, *Toxicology*, 2004;3: 227-35.
45. Sulak O, Altuntaş I, Karahan N. Nephrotoxicity in rats induced by organophosphate insecticide methidathion and ameliorating effects of vitamins E and C, *Pesticide Biochem and Physiol*, 2005;83: 21-8.
46. Matkovics B, Szabo L, Ivan J et al. Some further data on the effects of two organophosphate pesticides on the oxidative metabolism in the liver. *Gen Pharmacol* 1983; 14: 689- 91.
47. Güney M, Demirin H, Oral B. Ratlarda diklorvosun oluşturduğu fallopiyan tüp zedelenmelerine karşı E ve C vitaminlerinin koruyucu etkileri *J. of Turkish Obst and Gyn Soc* 2007; 4: 259-66
48. Kalender S, Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, et al. Diazinon-induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes, *Toxicology* 2005; 211: 197-206.
49. Yamane S, Kino A, Teshima S, Histochemical demonstration of cholinesterase activity in tissues of the carp and effect of DDVP on its activity in situ, *Acta. Histochem Cytochem.*, 1974;7 (2): 167-74.
50. Okamura A, Kamijima M, Shibata E. A comprehensive evaluation of the testicular toxicity of diklorvos in Wistar rat, *Toxicology* 2005;213: 129-37.
51. Brill O, Maisel A, Prabhu R. Polymorphic ventricular tachycardia and other complex arrhythmias in organophospho insecticide poisoning. *J Electrocardiol.* 1984;17: 97-102.
52. Yavuz T, Altuntas I, Delibas N. Cardiotoxicity in rats induced by methidathion and ameliorating effect of vitamins E and C. *Hum. Exp. Toxicol.* 2004a 23: 323- 9.
53. Aygun D, Doğanay Z, Altıntop L. Serum Acetylcholinesterase and Prognosis of Acute Organophosphate Poisoning. *J Toxicol Clin Toxicol*, 2002; VoL.40, No 7 903- 10
54. Duval G, Rakuer JM, Tilland D. Acute poisoning by insecticides with anticholinesterase activity. Evaluation of the efficacy of a cholinesterase reactivator, pralidoksime. *J Toxicol Clin Toxicol.* 1991;11(1):51-8.
55. Cherian MA, Roshini C, Visalakshi J. Biochemical and clinical profile after organophosphorus poisoning-A plasebo-controlled trial using pralidoxime. *J Assoc Physicians India.*, 2005;53:422-4

56. Chung SN, Aggarwal N, Dabla S. Comparative Evaluation of “Atropine Alone” and “ Atropine with Pralidoxime (PAM) in the Management of Organophosphorus Poisoning JIACM 2005; 6(1):33-7
57. Dharmani C. Revista Panam de Salud Pub 2003;14:3
58. Altıntop L, Aygun D, Şahin H, İn Acute Organophosphate Poisoning, the Efficacy of hemoperfusion on Clinical Status and Mortality. J İntensive Care Med. 2005;20:346-50
59. Balali-Mood M, Ayatı M. Effect of High Doses of Sodium Bicarbonate in Acute Organophosphorus Pesticide Poisoning. J Toxicol.Clin. Toxicol. 2003;41:383
60. Sütçü R, Altuntaş I, Yıldırım B. The effects of subchronic methidathion toxicity on rat liver: Role of antioksidant vitamin C and E, Cell Biol and Toxicol, 2006;22 (3): 221-7.
61. Niki E. Antioxidant in relation to lipid peroxidation. Chem. Phy. Lipids, 1987;44: 227-53.
62. Placer CA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation (Malondy Dialdehyde) in biochemical systems. Anal. Biochem, 1990;16: 259-64.
63. Gökalp O, Karakoyun I, Kaleli S, et all. Chlorpyrifos ethyl'in rat pankreası üzerine etkisi. S.D.Ü. Tıp pak. Derg. 2005;12(4)/ 51-22
64. Canacankatan N, Karataşlı M, Attila G, Hastürk S. Karbosulfan İnhalasyonunun Lipit Peroksidasyonu ve Antioksidan Sistem Üzerine Etkisi. Akademik Acil Tıp Dergisi 2008;7(4): 20-3
65. Yarsan F, Tanyüksel M, Celik S, et all. Effect of aldicarb and malathion on lipid peroxidation, Bull. Environ. Contam. Toxicol, 1999; 63: 575.
66. Seth V, Banerjee BD, Chakravorty AK. Lipid peroxidation, free radical scavenging enzymes, and glutathione redox system in blood of rats exposed to propoxur. Pesticide Biochem and physiol 2001; 71: 133-9.
67. Naqvi SM, Hasan M. Acetylhomocysteine thiolactone protection against phosphamidon-induced alteration of regional superoxide dismutase activity in central nervous system and its correlation with altered lipid peroxidation. Ind J Exp Biol 1992; 30: 850-2.
68. Yamano T, Morita S. Hepatotoxicity of trichlorfon and dichlorvos in isolated rat hepatocytes. Toxicology 1992; 76: 69-77.
69. Öncü M, Gültekin F, Karaöz E, Altuntaş İ, Delibaş N. Klorpirifos Etil Tarafından Oluşturulan Oksidatif Hasarın Sıçan Karaciğerine Etkileri. T Klin J Med Sci 2002; 22: 50-55

## TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, başta ana bilim dalı başkanımız **Doç. Dr. Başar CANDER** olmak üzere tüm hocalarıma, eğitimimde bana yol gösteren, önderlik eden tez hocam **Yrd. Doç. Dr. Ayşegül BAYIR'a**, ayrıca tez çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen **Uzm. Dr. Hasan KARA'ya**, Halk Sağlığı Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi **Prof. Dr. Tahir Kemal ŞAHİN** ve **Dr. Mehmet UYAR'a**, Biyokimya Uzmanı **Dr. Öznur KÖYLÜ** ve **Uzm. Rahim KOCABAŞ'a**, Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinden **Uzm. Salim EKER'e**, birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarıma ve tüm acil servis personeline sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

**Dr. Mesut YILDIZ**

24.02.2009