



**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**ORGANOFOSFAT ZEHİRLENMESİNDE KARDİYAK
HASARLANMANIN BELİRLENMESİ VE BU
HASARLANMAYA BAZI İLAÇLARIN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Ataman KÖSE
ACİL TIP ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Nurullah GÜNAY
Doç. Dr. Cuma YILDIRIM**

Aralık-2007

T.C.
GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**ORGANOFOSFAT ZEHİRLENMESİNDE KARDİYAK
HASARLANMANIN BELİRLENMESİ VE BU
HASARLANMAYA BAZI İLAÇLARIN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ataman KÖSE
ACİL TIP ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Nurullah GÜNAY
Doç. Dr. Cuma YILDIRIM

Bu tez, TÜBİTAK tarafından SBAG-HD-112 (106S007) proje numarası ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Bu çalışmanın hazırlanmasında ve asistanlığım süresince en iyi şekilde yetişmemde büyük emeği geçen başta tez danışman hocalarım Doç. Dr. Nurullah GÜNAY ve Anabilim Dalı Başkanımız hocam Doç. Dr. Cuma YILDIRIM'a sonsuz saygı, minnet ve şükranlarımı sunar; bizleri yetiştirmek için büyük emek harcıyıp, sabır gösteren, meslek ahlakı eğitiminde gösterdikleri yakın ilgi ve desteklerinden dolayı ayrıca teşekkür ederim.

Gerek bu çalışmanın hazırlanmasında, deneyin yapılışında ve farmakoloji laboratuvarındaki katkısı gerekse fikir ve bilgileri ile çok önemli katkıları olan Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. A. Tuncay DEMİRYÜREK hocamıza sonsuz teşekkür ederim.

Ayrıca Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. İbrahim SARI ve patoloji asistanları ve teknik elemanlarına, Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU ve Arş. Gör. Nurdan ÖZ CEYLAN'a, hayatım boyunca verdiğim tüm kararlarımda bana güvenen, saygı duyan ve aynı bölümde yıllarca birlikte çalıştığım arkadaşım, dostum ve eşim Dr. Beril KÖSE'ye ve aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu proje TÜBİTAK tarafından SBAG-HD-112 (106S007) sayılı proje ile desteklenmiştir. Bu desteklerinden dolayı TÜBİTAK'a teşekkür ederiz.

Dr. Ataman KÖSE

Gaziantep, 2007

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	V
KISALTMALAR	VI
TABLO LİSTESİ.....	VIII
ŞEKİL LİSTESİ.....	IX
RESİM LİSTESİ.....	X
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Organofosfat Bileşikleri.....	3
2.1.1. Farmakoloji.....	3
2.1.2. Zehirlenme.....	6
2.1.2.1. Etki-Klinik Tablo.....	6
2.1.2.2. Tanı.....	8
2.1.2.3. Tedavi.....	11
2.1.2.4. Diğer Klinik Etkiler.....	14
2.2. Diklorvos.....	16
2.2.1. Farmakoloji, Deneysel Çalışmalar.....	16
2.2.2. Diklorvos Zehirlenmesi.....	17
2.3. Kardiyak Etkilenmenin Belirlenmesi.....	18
2.3.1. Kardiyovasküler Etkilenme.....	18
2.3.2. Kardiyak Belirteçler.....	20
2.3.3. Oksidan-Antioksidan Sistem, Nitrik Oksit.....	22
2.3.4. Histopatolojik Değerlendirme.....	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
3.1. Deney Grupları.....	29
3.2. İlaçlar ve Kimyasal maddeler.....	31

3.3. Biyokimyasal Çalışmalar.....	32
3.3.1.Serumdaki ölçümleri.....	32
3.3.2.Dokudaki ölçümleri.....	34
3.4. Histopatolojik Değerlendirme.....	35
3.5. İstatistiksel Çalışmalar.....	37
4. BULGULAR.....	38
5. TARTIŞMA.....	48
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	58
7. KAYNAKLAR.....	60

ÖZET

ORGANOFOSFAT ZEHİRLENMESİNDE KARDİYAK HASARLANMANIN BELİRLENMESİ VE BU HASARLANMAYA BAZI İLAÇLARIN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Ataman KÖSE

Uzmanlık Tezi, Acil Tıp Anabilim Dalı

Tez Danışmanları: Doç. Dr. Nurullah GÜNAY ve Doç. Dr. Cuma YILDIRIM

Aralık 2007, 73 sayfa

Mevcut çalışmanın amacı, sıçanlarda diklorvosa bağlı zehirlenmede kardiyak oksidatif stres parametreleri ve mortaliteyi araştırmaktır. Kontrol grubu (n=8) mısır yağı verilen grup, diklorvos grubu (n=15) diklorvos (30 mg/kg) verilen grup, magnezyum grubu (Mg, n=10) diklorvostan önce MgSO₄ (200 mg/kg) verilen grup, atropin grubu (A, n=10) diklorvostan önce atropin (10 mg/kg) verilen grup, pralidoksim grubu (PAM, n=10) diklorvostan önce pralidoksim (40 mg/kg) verilen grup ve A-PAM grubu (n=10) diklorvostan önce atropin (10 mg/kg) ve pralidoksim (40 mg/kg) verilen gruptan oluştu. Bütün ilaçlar ve araçlar intraperitoneal olarak verildi ve enjeksiyondan 6 saat sonra venöz kan numuneleri, tiyopental anestezisinin altında direkt kalpten alındı. Daha sonra kalple ilgili doku numuneleri elde edildi. Biyokimyasal analiz, kolinesteraz, kreatin kinaz, kreatin kinaz-MB, kardiyak troponin I, miyoglobin, NT-proBNP ve NO serum düzeylerini ölçmek ve malondialdehid, glutatyon ve NO'in doku düzeylerini belirlemek için yapıldı, Histopatolojik olarak, immunohistokimyasal analizleri, kardiyak dokuda indüklenebilir NO sentaz ve apoptosis için boyama yapıldı. Diklorvos grubunda serum kolinesteraz düzeyi, kontrol grubundan daha düşük olmasına rağmen atropin ve pralidoksim veya bu iki ilacın kombinasyonunun verilmesi serum kolinesteraz düzeylerini değiştirmede. Yine de, serum kolinesteraz düzeyleri Mg tedavisi ile daha fazla baskılandı. Diklorvos ve Mg gruplarında serum NO düzeylerini kontrol grubundan daha düşük göstermemize rağmen kardiyak dokuda NO düzeyleri Mg grubunda diğer iki gruptan daha yüksektir. Grupların arasında bütün diğer parametreler, istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. İndüklenebilir NO sentaz ve apoptosis boyamasında herhangi bir değişiklik gözlenmedi. Mortalite oranı, diklorvos grubunda %47 ve bu oran Mg grubunda %20 ve tüm diğer gruplar için %0 olarak tespit edildi (p<0.05). Serum kolinesteraz düzeyleri diklorvos ile azaldı ve bu azalmalar atropin, pralidoksim ve atropin-pralidoksim tedavileri ile ortadan kalktı. Malondialdehid ve glutatyon düzeyleri değişmeden kaldığı için diklorvosa bağlı artmış oksidatif stres için hiçbir kanıt yoktu. Bizim sonuçlarımız, organofosfat zehirlenmesi ile lipid peroksidasyonun artmış olduğunu düşündürmemektedir. Sonuç olarak, diklorvosa bağlı zehirlenmede kardiyak hasarı belirlemek için, geleneksel kardiyak belirteçler, oksidatif stres ve NT-proBNP belirgin katkı sağlamamış ve tartışmalı olan Mg tedavisinin akut organofosfat zehirlenmesinin yönetiminde bariz olumlu katkılar sağlamamıştır diyebiliriz.

Anahtar kelimeler: Organofosfatlar, Kardiyak hasar, Antioksidan enzimler, Apoptozis, Nitrik oksit

ABSTRACT

DETERMINATION OF THE CARDIAC DAMAGE IN ORGANOPHOSPHATE POISONING AND INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF SOME DRUGS ON THIS DAMAGE

Dr. Ataman KÖSE

Residency Thesis, Department of Emergency Medicine

Supervisors: Doç. Dr. Nurullah GÜNAY and Doç. Dr. Cuma YILDIRIM

December 2007, 73 pages

The aim of the present study is to investigate the cardiac oxidative stress parameters and mortality in dichlorvos-induced poisoning in rats. Control group (n=8) received corn oil, dichlorvos group (n=15) received 30 mg/kg of dichlorvos, Mg group (n=10) received 200 mg/kg of MgSO₄ prior to dichlorvos, atropine group (A, n=10) received 10 mg/kg atropine prior to dichlorvos, pralidoxime group (PAM, n=10) received 40 mg/kg pralidoxime prior to dichlorvos, and A-PAM group (n=10) received 10 mg/kg atropine and 40 mg/kg of pralidoxime prior to dichlorvos. All drugs and vehicle were administered by intraperitoneally and after 6h of injection, venous blood samples were collected by direct heart puncture under thiopental anesthesia. Then cardiac tissue samples were obtained. Biochemical analysis were performed to measure serum levels of cholinesterase, creatine kinase, creatine kinase-MB, cardiac troponin I, myoglobin, NT-proBNP, and NO, and to determine the tissue levels of malondialdehyde, glutathione, and NO. Histopathologically, immunohistochemical analyses were performed for apoptosis and inducible NO synthase staining in cardiac tissue. Although the serum cholinesterase level in dichlorvos group was lower than that of the control group, atropine and PAM, or combination of these pretreatments did not modify serum cholinesterase levels. However, serum cholinesterase levels were further suppressed with Mg pretreatment. Although we have demonstrated that serum NO levels in dichlorvos and Mg groups were lower than the control group, cardiac tissue NO levels in Mg group was higher than the other two groups. All the other parameters between groups were not found to be statistically significant. No marked changes in inducible NO synthase or apoptosis staining were observed. Mortality observed in dichlorvos group was 47%, and this incidence was 20% in Mg group and 0% for all the other groups (p<0.05). Serum cholinesterase levels were decreased with dichlorvos and these reductions were inhibited with atropine, pralidoxime or atropine-pralidoxime pretreatments. There was no evidence for increased oxidative stress due to dichlorvos, since malondialdehyde and glutathione levels remained unchanged. Our results do not suggest that lipid peroxidation was increased with organophosphate poisoning. In conclusion, our results implied that traditional cardiac markers, oxidative stress and NT-proBNP do not play a marked role in dichlorvos-induced poisoning and Mg therapy is not beneficial in the management of acute organophosphate poisoning.

Keywords: Organophosphates, Cardiac damage, Antioxidant enzymes, Apoptosis, Nitric oxide

KISALTMALAR

ACh	: Asetilkolin
AChE	: Asetilkolinesteraz
ANP	: Atriyal Natriüretik Peptid
BHT	: Butile hidroksitoluen kristali
BNP	: Beyin Natriüretik Peptidi
ChE	: Kolinesteraz
CNP	: C-tipi natriüretik peptid
cT-I	: Kardiyak troponin-I
DAB	: 3,3'-Diaminobenzidin
DNP	: Dendroaspis Natriüretik Peptid
DTNB	: Ditiyo-bis (2-nitrobenzoik asid)
EChE	: Eritrosit kolinesterazı
EKG	: Elektrokardiyografi
EKO	: Ekokardiyografi
GİS	: Gastrointestinal sistem
HRP	: Horse radish peroksidaz
iNOS	: İndüklenebilen NOS
KKY	: Konjestif kalp yetmezliği
KVS	: Kardiyovasküler sistem
LPO	: Lipid peroksidasyonu
MDA	: Malondialdehit
MSS	: Merkezi sinir sistemi
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
NTE	: Neuropathy Target Esterase
NT-ProBNP	: N-terminal proBNP
OB	: Organofosfat Bileşikleri

PAM	: Pralidoksim
PBS	: Fosfat tamponlu salin
PChE	: Pseudokolinesteraz
PON	: Paraoksonaz
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
TBA	: Tiyobarbiturik asid
TCA	: Triklorasetik asid
TdT	: Terminal deoksinükleotidil transferaz
TMB	: Tetrametilbenzidin
Tris HCl	: Trizma hidroklorür reajanı
TUNEL	: Terminal deoksinükleotidil transferaz (TdT)-mediated dUTP in situ nick and labeling

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Türkiye’de tarımsal alanda kullanılan organofosfat bileşikleri.....	5
Tablo 2. iNOS skorlanması.....	36
Tablo 3. Apoptosis skorlanması.....	36
Tablo 4. Serum parametreleri.....	39
Tablo 5. Doku parametreleri.....	43
Tablo 6. iNOS skorları.....	45
Tablo 7. Çalışma gruplarında mortalite ve survival oranları.....	46

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. OB'nin genel kimyasal yapıları.....	3
Şekil 2. SF, MY, D25 ve D30 gruplarındaki serum ChE değerleri.....	38
Şekil 3. D30, Mg, A, PAM ve A+PAM gruplarındaki ChE değerleri.....	39
Şekil 4. Gruplardaki CK değerleri.....	40
Şekil 5. Gruplardaki CK-MB değerleri.....	40
Şekil 6. Gruplardaki troponin-I değerleri.....	41
Şekil 7. Gruplardaki myoglobin değerleri.....	41
Şekil 8. Gruplardaki NT-proBNP değerleri.....	42
Şekil 9. Gruplardaki serum NO değerleri.....	42
Şekil 10. Gruplardaki doku MDA değerleri.....	43
Şekil 11. Gruplardaki doku glutatyon değerleri.....	44
Şekil 12. Gruplardaki doku NO değerleri.....	44
Şekil 13. Gruplardaki mortalite/survival oranları.....	47

RESİM LİSTESİ

Resim 1. Sıçan kalbinde iNOS immunohistokimyasal boyaması (skor 0).....	45
Resim 2. Sıçan kalbinde iNOS immunohistokimyasal boyaması (skor 1).....	45
Resim 3. Sıçan kalbinde iNOS immunohistokimyasal boyaması (skor 2).....	46
Resim 4. Sıçan kalbinde iNOS immunohistokimyasal boyaması (skor 3).....	46
Resim 5. Sıçan kalbinde TUNEL yöntemi ile apoptoz için yapılan boyama..... (skor 0).....	46

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Organofosfat bileşikleri (OB) insektisit grup ilaçlardan olup, zirai alanda insektlerin öldürülmesinde kullanılır. Zehirlenmesi, tüm dünyada pestisitlere bağlı en sık görülen zehirlenme nedenlerin başında gelir. OB, hem insanlarda hem de hayvanlardaki etkilerini, merkezi sinir sistemi (MSS), kardiyovasküler sistem (KVS) ve nöromusküler kavşakta bulunan kolinesteraz (ChE) enzimini geri dönüşümsüz olarak inhibe ederek göstermektedirler (1). Zehirlenme; yanlışlıkla tarım alanlarında, endüstride, hayvancılıkta yada besinlerin kontamine olması yolu ile olabilirken, öz kıyım amaçlı da gerçekleşebilmektedir. Söz konusu bileşiklerin vücuda alınmaları, sıklıkla ağızdan alıma bağlı mukozal ve intestinal emilim ile olurken, ciltten, gözlerden ve solunum yollarıyla da sistemik dolaşıma girebilirler (2). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre, her yıl bir milyon insan yanlışlıkla ve iki milyon insan intihar amaçlı olarak insektisidlerle zehirlenmektedir. Büyük çoğunluğu tarımın ağırlıklı olduğu, kolayca ulaşılabilen, satışın denetlenmediği, gelişmekte olan ülkelerde gerçekleşen bu zehirlenmelerin, 200.000'i ölümlle sonuçlanmaktadır (3,4).

İnsektisitlerin bir alt grubu olan organofosfatlara bağlı zehirlenmelerde serum ve/veya eritrosit kolinesteraz (EChE) aktivitesinin tayini tanıda önemlidir. Tedavide kullanılan temel ilaçlardan birisi olan atropin, nonkompetitif muskarinik reseptör blokörü olarak zehirlenmenin etkilerini antagonize eder. Antidot olarak kullanılan pralidoksime (PAM) ise asetilkolinesteraz (AChE) enziminin reaktivatörü olup, zehirlenmede önemli bir yere sahiptir. Öte yandan organofosfat zehirlenmesinde oluşan kardiyak disritmilerin tedavisinde magnezyum sülfatın ($MgSO_4$) kullanılabileceği bildirilmiştir (5).

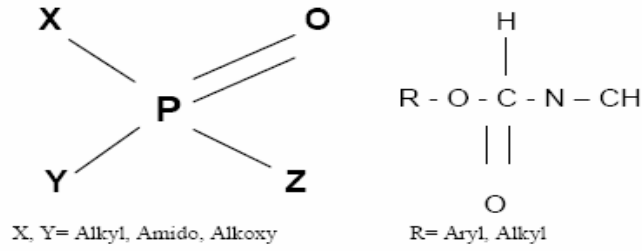
Tarım, hem ülkemiz hem de bulunduğumuz bölge için önemli bir geçim kaynağı olduğundan, OB ile zehirlenmeler halen ciddi bir sağlık problemidir. Zehirlenme, ciddi ve sıklıkla ölümcül olabilen kardiyak komplikasyonlar ile sonuçlanabilir. Bu komplikasyonlar erken tanımlanır ve uygun şekilde tedavi edilebilirlerse, önlenebilirler.

Organofosfat bileşikleri ile zehirlenmelerde ortaya çıkan kardiyak etkilerin fizyopatolojisi kesin olarak bilinmemektedir. Bu çalışma ile OB'ye bağlı gelişen zehirlenmelerin kalpte oluşturduğu toksisite ve bu toksisiteye bazı ilaçların etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ORGANOFOSFAT BİLEŞİKLERİ

Organofosfat bileşikleri genellikle fosforik asit ve fosfotiotik asid esterleri olup, genel kimyasal yapıları Şekil 1'de görülmektedir. Taşıdıkları yan gruplara göre sınıflandırılan OB'nin bu yan grupları, toksisitelerinin belirlenmesinde önemli bir role sahiptir (6).



Şekil 1: OB'nin genel kimyasal yapıları

2.1.1. Farmakoloji

Nörotransmitter olan asetilkolin (ACh), sempatik ve parasempatik ganglionlar, iskelet kası nöromusküler bileşkeleri, parasempatik sinirlerin postganglionik uçları, ter bezlerine giden postganglionik sempatik lifler ve MSS'deki birçok sinir ucunda bulunur. AChE ise ACh'i inaktif metabolitleri olan asetik asit ile koline yıkan ve aktif enzimi rejenere ederek tekrar kullanımını sağlayan bir enzim olup, sinir sistemi, iskelet kası ve eritrosit membranında bulunur (6). Söz konusu enzimin substratı için bağlayıcı iki bölgesi vardır. Asetilkolinesteraz enziminin geri dönüşümsüz inhibitörü olan OB, AChE enzimi dışında kimotripsin, plazma psödokolinesteraz (PChE), plazma ve hepatik karboksieraz ve diğer nonspesifik proteazlar gibi karboksilik ester hidrolazlarının tümünü güçlü şekilde inhibe ederler (7). OB zehirlenmesinde, AChE'nin aktif ucundaki serin aminoasitine fosfat radikallerinin kovalent bağ ile bağlanması sonucu inhibisyon gerçekleşir. Bu bileşikler enzimin aktif merkezi ile sadece esteratik noktada etkileşirler ve enzimin esteratik noktasına, doğal olan ACh yerine dialkylfosfat grubunu transfer

ederler. Fosfor ile hidroksil arasında oluşan kovalent bağ, su ile çok yavaş bir şekilde koparılır. Diğer bir ifade ile hidrolizi yavaştır. Aynı bağ hidroksilaminlerle (PAM gibi) çok daha çabuk kırılır ve enzim aktif hale geçer. Müdahale edilmeyen durumlarda sinaps ve kavşaklarda OB ile baskılanmış enzimin etkinliğinin yeniden başlaması, yeni sentez yolu ile olup, haftalar hatta aylarca süren zaman gerektirir. Transfer edilen dialkilfosfat grubundan bir alkil grubu ayrılarak geride monoalkilfosfat grubu bırakır ki eskime olarak adlandırılan bu durumda, kovalent bağ güçlenir, hidroksilamin bileşikleri ile dahi kopması zor hale gelir ve “aging” olarak da adlandırılır (6).

Bir kısmı uçucu olan OB'nin, fazla uçucu olmayan ve çabuk parçalanmayanları tarımda kullanılmaktadır. Malation ilginç olarak insan ve diğer memelilerde, böceklerde olduğundan çok daha hızlı biyotransformasyona uğrayarak inaktif metabolitlerine dönüşür. Ciltten absorpsiyonu düşük olan malationun letal dozu 1 g/kg gibi oldukça yüksek bir değerdir. Enzim inhibitör etkinliği düşük olan paration, molekülündeki kükürt yerine oksijen atomu getirilerek paraokson'a dönüştürülebilir ve belirgin etkinlik kazanır. En toksik olanları sinir gazları olarak da adlandırılan, uçuculuğu ve gravimetrik etki gücü en yüksek olan sıvı OB'dir. Ekotiofat suda çözünmesi ve sulu ortamda hidrolize dayanıklı olmasından dolayı diğerlerinden farklı olup, ilaç olarak kullanılmaktadır. Malation'un %1'lik preparatı da vücut bitine karşı kullanılabilen diğer bir organofosfat ilaçtır. Tarım alanında kullanılan diğer bazı bileşikler Tablo 1'de görülmektedir (8).

Tablo 1: Türkiye’de tarımsal alanda kullanılan organofosfat bileşikleri

Asefat (Orthene)	Klorfenvinfos (Birlane)
Azinfos-etil (Gusathion A)	Klorpirifos-etil (Kobran)
Azinfos-metil (Gusathion)	Klorpirifos-etil+sipermetrin (Nurelle D)
Bromofos (Bromo)	Klorpirifos-metil (Reldan)
Demeton-S-metil (Metacystox)	Kuinalfos (Ekalux)
Demeton-merkaptofos (Cystox)	Malation (Hekthion, Cythion)
Dialifos (Torak)	Metamidofos (Tamaron)
Diazinon (Basudin, Bazinon)	Metidation (Supracide)
Diklorvos (DDVP, Didifos)	Mevinfos (Phosdrin)
Dikrotofos (Bicron)	Mipafoks (Pestox)
Dimetoat (Poligor)	Monokrotofos (Nuvacron)
Dioksation (Delnav)	Naled (Naled)
Disulfoton (Disyston)	Ometoat (Folimat)
Etion (Rhodocide)	Oksdemeton-metil (Metasystox R)
Etoat-metil (Fltios)	Paration-metil (Folidol M)
Fenitrothion (Folithion, Komityon)	Piridafention (Ofunack)
Fention (Lebaycid)	Primifos-metil (Actellic)
Fentoat (Kordial)	Profenofos (Curacron)
Foksim (Valation)	Protiofos (Tokuthion)
Forat (Thimet)	Protoat (Tanazone)
Formotion (Anthio)	Tetraklorvinfos (Gardona)
Fosalon (Zolone)	Tiometon (Ekatin)
Fosfamidon (Fomidon)	Triklorfon (Dipterex)
Fosfolan (Cyolane)	Triazofos (Hostathion)
Fosmet (Imidan)	Vamidation (Kilval)
Heptenofos (Hostaquick)	

Vücuda giriş; alım yoluna bağlı olarak, ağızdan, inhalasyon, cilt, göz, saçlı deri, mukoza ve enjeksiyon yolu ile olabilmektedir. İnhalasyon yolu ile sistemik dolaşıma geçiş bilinen en hızlı yoldur (9). Cilt emilimi yavaştır, ancak maruziyet uzadığında, ciddi zehirlenme belirtileri görülebilir. Ağızdan alımlarda yağda çözünme özelliği, sistemik etki süresinin belirlenmesinde önemlidir ve yağda çözünmeyen OB’nde genellikle ilk oniki saat içerisinde etkiler görülmeye başlarken, fention gibi yağda

çözünen OB'nde ise bu süre içerisinde etkiler ortaya çıkmayabilir. Etkinin daha geç ortaya çıkmasının nedeni, fenitoin gibi yağda çözünen OB'nin etkisinin başlaması için, yağ dokusunda birikmesi ve daha sonra tekrar sistemik dolaşıma geçmesi gereğidir (10). OB alındıktan sonra vücutta hızla dağılıp yağ doku, karaciğer ve böbrekte birikir. İnsanlarda ağız yolu ile alımdan 6 saat sonra, serumda zirve değere ulaşabildikleri gösterilmiştir (9). Yarı ömürleri dakikalar ile saatler arasında değişmekle birlikte, dokulardaki yeniden dağılıma bağlı olarak 48 güne kadar uzayabilir (2).

Başlıca plazma ve karaciğer endoplazmik retikulumunda bulunan A-esterazlar veya paraoksonazlar tarafından hidroliz yolu ile etkisizleştirilen OB, bazı sitokrom p-450 enzimlerince de hidrolize uğrarlar. Ayrıca bu enzimler bileşikteki P-F ve P-CN bağlarını da kırabilirler (9). Paraoksonaz (PON) enzimi, insan serumunda ilk kez 1961'de Uriel tarafından high dansite lipoprotein (HDL) immünpresipitatlarının elektroferezini takiben saptanmıştır. İnsanda antioksidan sistemde rol oynayan ve HDL partilülü içinde bulunan enzim, aynı zamanda OB, aromatik karboksilik asit esterleri ve insektisitleri hidroliz etme yeteneğine de sahiptir. OB, etki alanına ulaşmadan önce PON enzimi ile hidrolize edilebilir. Bu etki dikkate alınırken PON genotipi polimorfizmi de göz önünde bulundurulmalıdır (11).

2.1.2. Zehirlenme

Organofosfor bileşikleri tüm dünyada yaygın olarak tarımda, evlerde, bahçelerde, kimyasal silah yapımında ve veterinerlikte kullanılmaktadır. Mortalitesi oldukça yüksek olan OB ile zehirlenmede, ölüm genellikle gecikmiş veya uygunsuz tedavinin sonucu olmaktadır (12,13).

2.1.2.1. Etkileri-Klinik Tablo

Etkinin başlama süresi ajana, maruziyet şekli ve miktarına göre değişir. Ağız yolu ile ciddi miktarlardaki alımları takiben, 5. dakikada belirtiler başlayabilir ve 15. dakikada ölüm gerçekleşebilirken, az miktardaki cilt maruziyeti hafif şikâyetlere yol açabilir. Genelde görülen ise çoğu ilk 8 saatte olmak üzere, ilk 24 saatte hemen hemen vakaların tamamının semptomatik hale gelmesidir (14). Klinik belirtilere bakarak zehirlenme derecesi konusunda fikir yürütmek, her zaman doğru sonuç vermeyebilir. Bununla beraber belirti ve bulgulara göre hafif, orta ve ağır olgular şeklinde sınıflama

yapılabilir. Zehirlenmede görülen akut belirtiler; muskarinik, nikotinik ve MSS reseptörlerinin artmış uyarılmalarına bağlı olup, “Akut Kolinerjik Faz” olarak adlandırılır (9). Etkisizleştirilemeyen ACh’in merkezi ve otonom sinir sistemindeki muskarinik ve nikotinik reseptörlerle iskelet kası nöromusküler bileşkesindeki nikotinik reseptörleri sürekli uyarmasına bağlı olarak, zehirlenme belirtileri ortaya çıkar (14).

Muskarinik (parasempatomimetik) kolinoseptörler aracılığı ile görülen etkiler özellikle; kardiyovasküler sistem, gastrointestinal düz kaslar, göz kasları, dış salgı bezleri ve mesane üzerindedir. Farklı bileşiklerin, etki dereceleri ve etkiledikleri yerler değişebilir. KVS’ye etkilerine baktığımızda, sempatik ganglionların ve adrenal medullanın uyarılmasından dolayı doza bağlı olarak kan basıncını yükseltirler. Ciddi alımlardaki terminal dönem hariç kan basıncını belirgin olarak düşürmezler. İndirekt muskarinik etki ve parasempatik ganglionları uyarma sonucu bradikardi oluştururlar (8). Gastrointestinal sistem (GİS) üzerinde, mide ve barsakların düz kaslarını kasarak etki gösterirler. Barsakta pasaj süresini kısaltırlar, yüksek dozlarda; barsak seslerinde artma, kusma, yellenme, defekasyon gibi motorik etkilere neden olurlar. Düşük dozlardaki sistemik alımlarda, göz üzerinde bariz etkileri görülmeyebilirken, yüksek doz ve göze lokal uygulamalarda göz etkileri ortaya çıkar. İrisin sirküler kasını kasarak miyozise neden olurlar (akomodasyon spazmı). Lokal uygulamalar konjonktiva kanallarında vazodilatasyon ile göz kızarmasına neden olur (11). Tükrük bezleri ve diğer gastrointestinal bezler üzerinde salgı artışına yol açarlar (hipersalivasyon). Burun ve solunum yolları mukozası üzerindeki etkileri sonucu rinore, bronkospazm ve hatta akciğer ödemeine neden olabilirler. Burun mukozası bezleri OB’ne oldukça duyarlı olup, ayrıca ter bezleri ve gözyaşı bezleri salgılarını da artırır (lakrimasyon). Mesanenin çeper kasını kasarken, trigon kası ve sfinkter tonusunu düşürürler. İstek dışı miksiyona neden olabilirler (15). Cilt damarlarında vazodilatasyon yapmaları nedeniyle cilt ısını artırarak sıcaklık hissine yol açarlar. Parasempatomimetik ajanların vazodilatatör etkileri; direkt damar düz kasına etkiden ziyade, damar endotel hücrelerinin membranındaki muskarinik reseptörlerin uyarılması sonucu olup, bu etkide nitrik oksit (NO) rol almaktadır. Endotel-kaynaklı gevşetici faktör olarak da adlandırılan NO, düz kaslarda guanilat siklazı aktive ederek düz kasta gevşemeye neden olur (8) ve SLUDGE (salivation, lacrimation, urinary incontinance, diarrhea, gastrointestinal distress, emesis) veya DUMBBELS

(defecation, urination, miosis, bradycardia, bronchospasm, emesis, lacrimation, salivation) bu belirtileri hatırlatıcı kısaltmalardır.

Nikotinik reseptörler ile görülen etkilerin başlıcaları; fasikülasyon, ilerleyici kas güçsüzlüğü ve paralizi olup, bazen solunum kasları ve diyafragma paralizi de gelişebilir. Sempatik ganglion etkilenmesi sonucu görülen solgunluk, taşikardi ve kan basıncı artışı da nikotinik etki sonucudur. Taşikardi ve bradikardi etkilerinin ayrı ayrı görülebilir olması, genellikle gözden kaçabilmektedir. OB ile oluşan zehirlenmelerde sadece bradikardik etki ön plana çıkarılarak, taşikardik etki gözardı edilebilmektedir. Nikotinik reseptörler aracılığı ile oluşan etkiler ise MATCH (muscle weakness and fasciculation, adrenal medulla activity increase, tachycardia, cramping of skeletal muscles, hypertension) olarak kısaltılabilir (15,16).

Organofosfat bileşiklerinin santral etkilerinin çoğu beyindeki muskarinik sinapsların uyarılması sonucudur. Kan beyin bariyerini aşabilen bu bileşikler, beyin sapını aktive ederek solunumu uyarırlar. Vazomotor merkezi uyarmaları sonucu da kan basıncının artmasına katkı sağlarlar (8). Deney hayvanlarında korteksin elektrik etkinliğini artırırken, insanda, baş dönmesi, gerginlik, anksiyete, huzursuzluk, emosyonel labilite, hayal kurma, uykusuzluk, kâbus, baş ağrısı, tremor, psikoz, dizartri, apati, depresyon, yoğunlaşma güçlüğü, konfüzyon, ataksi, genel güçsüzlük, reflekslerin kaybolduğu koma, Cheyne-Stokes solunumu ve konvülsiyon gibi birçok belirtiyeye yol açabilirler (4).

2.1.2.2. Tanı

Anamnez ile zehirlenmeden şüphelenmek ilk adım olmalıdır. Mesleki ve çevresel risk faktörlerinin varlığını içeren bölgesel özellik, öncelikle dikkate alınmalıdır. Ancak intihar amaçlı alımlarda bölgesel özelliğin öneminin azalabileceği de unutulmamalıdır. Yukarıda bahsedilen OB'nin ortaya çıkardığı klinik bulgu ve semptomların başlıcalarını içeren kısaltmaların akılda bulundurulması bu aşamada kolaylık sağlayacaktır. Santral etki yelpazesinin genişliği ise yanıltıcı olabilecektir (16). Laboratuvar testi olarak kullanılacak en güvenilir test, dokularda OB ve metabolitlerinin ölçülmesi olmakla birlikte, erken sonuç alınabilecek bir test özelliği taşımamaktadır. Ayrıca her laboratuvar da yapılamaması ve OB'nin birçoğunun toksik düzeylerinin bilinmemesi bu testin dezavantajlarıdır. Sinir dokusunda AChE enzim

seviyesinin ölçümü diğer bir test olup, MSS veya sinir doku biyopsisi gerektiren oldukça invazif ve pratik olmayan bir yöntemdir. Ayrıca kişinin bazal AChE seviyesinin bilinmesini de gerektirir (6).

Günlük pratikte ise, plazma ve eritrositlerdeki kolinesteraz enzim aktivitesinin ölçülmesi uygulanan tanı yöntemidir. Eritrosit kolinesterazı, gerçek kolinesteraz yani AChE olup, sinir dokusu ve iskelet kasında da bulunduğu için, periferik dokular, kas ve beyindeki AChE enzim aktivitesini de gösterir. Dolayısıyla EChE seviyesi, bir plazma kolinesterazı olan psödokolinesterazın serum düzeyinden daha geçerli bir parametredir. Karaciğer tarafından sentezlenen, plazma, kalp ve beyinde bulunan ve fonksiyonu tam olarak bilinmeyen plazma PChE, bütirikolinesteraz (BChE) veya benzoyilkolinesteraz olarak da adlandırılmaktadır (6). Ciddi alımlardan sonra, serum PChE aktivitesi hızla düşer ve ilk semptomların ortaya çıkması ile enzim seviyesinde ortalama %40-50'lik bir azalma olur. Belirgin nöromusküler etkilerin varlığında, enzimde %80'lik bir azalma söz konusu olabilmektedir (3). Bazı OB (diazinon), plazma PChE'yi, AChE'ından daha fazla inhibe ederken, parathion ve sinir gazları gibi OB ise AChE'ı daha fazla inhibe ederler (7). Enzim aktivitelerinin değerlendirilmesinde, tek bir değer ile karar verilmemelidir. Diğer bir ifade ile tanı, tedavi planı ve prognoz açısından seri AChE ölçümleri yapılmalıdır. Tekrarlayan maruziyet ya da yeniden dağılımın varlığı bu şekilde anlaşılabilir (17). Plazma PChE enzimi karaciğerde sentezlenen bir protein olduğundan, malnütrüsyon, ciddi yanık, miksödem, kollajen doku hastalıkları, hepatit, siroz, karaciğerin tümoral hadiseleri, hemodiyaliz ve gebelik gibi durumlarda aktivitesi azalabilecektir. Süksinilkolin, siklofosfamid, monoamin oksidaz inhibitörleri, lidokain, prostigmin, fizostigmin gibi alkaloidler (yapılarında kuarternar azot ve kolin içerirler), morfin, kinin, kinidin, tersiyer aminler, fenotiazin, pirofosfat, safra tuzları, sitrat, florid, borat gibi ilaçlar da benzer etki gösterebilirler. AChE düzeyi OB'nin etkisi ile baskılanırken, diğer taraftan dolaşımdaki eritrosit ömrünün kısaldığı, pernisiyöz anemi, orak hücre hastalığı, talasemi gibi hemoglobinoopatilerde de beklenenden daha düşük bir seviyede olabilir. Yine antimalaryal tedavide bir miktar enzim inhibisyonu gelişebilmektedir (9,16).

Asetilkolinesterazın aktivitesinin azaldığını görmek klinik olarak iki yönden önemli olup, birincisi alınan toksik maddenin antikolinesteraz etkili OB olduğunu doğrular, diğeri ise inhibisyonun derecesi hakkında fikir verir (11). Ancak vakaların

neredeyse tamamında kişinin bazal AChE düzeyini bilmek imkansız olduğundan, sadece referans kabul edilen değerden ne oranda saptığı, bize fikir verecektir. İnhibisyondan sonra plazma PChE seviyesinin 4-6 hafta içerisinde normal seviyesine çıkması beklenirken, AChE (EChE) ise 5-7 haftada normal düzeyine döner. Plazma PChE enziminin yeniden aktivitesini kazanması en erken 7-10 gün içinde gelişebilir (%25-30) ve tedavi verilmeyen etkilenmelerde AChE aktivitesi yaklaşık olarak günlük %1 artış gösterir (6).

Klinik olarak OB ile olan bir zehirlenmeden şüphelenilirse, tedaviden tanıya gitmek de mümkün olabilir. Verilen atropin ve/veya PAM yanıtın izlenmesinde, (eğer OB ile oluşmuş bir zehirlenme ise) dramatik bir cevap olabileceği gibi, kısmi bir semptomatik iyileşme de görülebilir. Yetişkin bir hastada test dozu olarak verilen 1-5 mg i.v. atropinin (çocuklarda 0.05 mg/kg atropinin) sistemik antikolinergik etki yapmaması (midriazis, taşikardi, kserostomi gibi), OB ile oluşmuş bir zehirlenmeyi düşündürürken, bu yanıtın düşük atropin dozlarında ortaya çıkması durumunda ise OB ile zehirlenme ihtimali azalmış demektir (9).

Zehirlenmenin OB ile oluştuğuna dair anamnez kesin olarak alınamıyorsa, klinik bulguların tek başına değerlendirilmesi ile tanı koymak güçleşecektir ve zehirlenmeler içerisinde ayırıcı tanı yapılması önem kazanacaktır. Örnek olarak myozisin eşlik ettiği koma tablosunda gelmiş bir hasta için hipoglisemi veya opiat zehirlenmesi (dekstroz ve naloksana cevabın olmamasıyla dışlanabilir) yanında meprobamat, fenotiyazinler ve klonidinin aşırı dozda alımı da düşünülmelidir. Muskarinik belirtiler içeren mantar zehirlenmeleri, nikotinik semptomların (özellikle kas fasikülasyonlarının) olmamasıyla ayrılabilir. Yine nikotin zehirlenmesi de (bulantı, kusma, ishal, karın ağrısı, tükürük artışı, fasikülasyon v.b.) kolinerjik krize neden olabilir, ancak bu zehirlenmeye hemen daima midriyazis eşlik edecektir. Diğer bir ifade ile, MSS semptomları (karbonmonoksit zehirlenmesi, miksödem koması, diabetik ketoasidoz, sepsis, menenjit, ensefalit, postiktal dönem, Reye sendromu, travma, inme, v.s.), muskarinik semptomlar (astım, KOAH alevlenmesi, akciğer ödemi, kardiyak bradikardiler, v.s.) ve nikotinik semptomların (çizgili kas hastalıkları, respiratuvar yetmezlik, semptomimetik etkili ajan alımı, v.s.) sadece OB ile zehirlenmede görülmeyebileceği akılda tutulmalıdır (1).

2.1.2.3. Tedavi

Acil servise başvuran her hastaya yapılması gerektiği gibi öncelikle, Temel Yaşam Desteği ile birlikte hastanın stabilizasyonu (destekleyici ve semptomatik yaklaşım) sağlanmalıdır. Klinik değerlendirme, toksik madde absorpsiyonunun engellenmesi, eliminasyonun artırılması, ve spesifik antidot tedavi hemen sonrasında uygulanmalıdır. Hastanın stabilize edilmesinde, ABC olarak bildiğimiz havayolu açılması, solunumun sağlanması ve dolaşımın idamesi öncelik taşımaktadır. Monitörizasyon, acil serviste mümkün olan tüm parametreleri ile sağlanmalıdır (15). Bu genel yaklaşımlardan sonra etken madde ile hasta birbirinden uzaklaştırılmalıdır. Maruziyet şekline göre bu işlem gerçekleştirilmelidir. Kontamine kıyafetlerin çıkarılarak, vücudun (bol sabunlu su ve daha sonra dilue etanol ile) yıkanması, gerekiyorsa saç, sakal gibi vücut kıllarının, tırnakların kesilmesi, uzaklaştırma yöntemlerine örnek uygulamalardır. OB vücuda girdikten sonra, tekrar cilt yolu ile dışarı salınarak tekrar tekrar emilebilirler. Bu nedenle ciddi zehirlenmelerde yıkama işlemi, cilt yolu ile temas olmasa dahi yapılmalıdır. Gastrik lavaj yapılarak aktif kömür (1 g/kg) verilmesi de uzaklaştırma işlemi gibi OB'nin absorpsiyonunu önlemeye yönelik tedavi yaklaşımlarıdır (1). Eliminasyonun artırılması, diürezin artırılması, diyaliz yöntemleri (hemodiyaliz, periton diyalizi) hemoperfüzyon ve plazmaferez ile sağlanabilirken, hemodiyaliz ve hemoperfüzyonun önerildiği az sayıda rapor bulunmaktadır (18).

Acil tedavi uygulanırken, paralizi oluşturmak gerekiyorsa, nondepolarizan ajanlar (panküronyum, veküronyum gibi) tercih edilmeli, kas-sinir kavşağında etkili depolarizan ajanlardan (süksinilkolin) kaçınılmalıdır. Yine antibiyoterapi uygulanmasında aminoglikozidler kullanılmamalıdır (1). MSS belirti ve bulgularını derinleştirerek solunumu baskılayacakları için, gelişen bir akciğer ödemi tedavisinde opioidlerden kaçınılması gerekir. Ayrıca fenotiazinler, antihistaminikler ve fizostigmin gibi parasempatomimetik ajanlar da antikolinesteraz aktiviteyi artırabilirken, kokain, tetrakain ve esmalol gibi bazı ilaçlar da OB ile oluşan zehirlenmelerde daha uzun süre etki gösterirler (19).

Tüm bu işlemler yapılırken unutulmaması gereken, hastayı tedavi eden sağlık personelinin de OB ile zehirlenebileceğidir. Literatürde çok sayıda (özellikle acil serviste) sağlık personelinin sekonder kontaminasyona maruz kaldığı, bu kişilerde ciddi

OB ile zehirlenme belirtilerinin olduğu ve uzun süre yatarak tedavi gördükleri bildirilmektedir (20).

Organofosfat bileşikleriyle zehirlenmelerde spesifik tedavide, ACh'in muskarinik reseptörlerdeki kompetitif antagonisti olan atropin akla gelen ilk ilaç olmalıdır ve muskarinik sinapslarda artmış ACh'e bağlı olarak ortaya çıkan kolinerjik semptomların geri çevrilmesinde oldukça etkilidir (3). Nikotinik reseptörler ve MSS kaynaklı semptomlar (kas zayıflığı, fasikülasyon, solunumun baskılanması, nöbet, v.s.) üzerinde ise etkisizdir (16). Atropinin OB ile zehirlenmede bir dozu olmamakla beraber, yetişkinlerde 2-3 dakikada bir 1-5 mg i.v. tekrarlanabilirken, çocuklarda 0.05 mg/kg şeklinde i.v. atropin verilmesi önerilir (14). Bu hastalara atropin verilirken cimri ve korkak davranılmamalıdır. "Kemik kadar kuru, yarasa kadar kör, pancar kadar kırmızı ve zır zır deli" şeklindeki benzetmede olduğu gibi, ACh'in muskarinik etkileri geri dönüncüye kadar atropin verilmelidir. Diğer bir ifade ile hasta atropin zehirlenmesine dahi sokulabilir. OB ile zehirlenmede taşikardi, atropin verilmesi için bir engel olmamalıdır. Semptomların geri çevrilmesi bazen binlerce miligram atropin gerektirebilir ve serum AChE seviyesi ile gerekli atropin miktarı veya mekanik ventilasyon ihtiyacı uyum göstermeyebilir. Lokal atropin tedavisi, izole inhaler zehirlenmelerde nebülize atropin veya ipratropiyum, oküler temas durumunda da topikal oftalmik olarak, i.v. atropin tedavisine eklenebilir (21).

Bu hastalarda atropinizasyonun infüzyon şeklinde sağlanması tavsiye edilir. Yetişkinlerde 0.5-1 mg/saat dozunda başlanan infüzyon dozu artırılabilir. Çocuklarda ise infüzyon dozu 0.025 mg/kg/saat olarak başlanabilir. Atropin tedavisi kesilirken, dozu azaltılarak kesilmelidir. Mesane ve mide kateterizasyonu, atropin tedavisi alan hastada mutlaka yapılmalıdır. Antimuskarinik MSS toksisitesi görülen durumlarda MSS'ne geçişi daha iyi olan, glycopyrolate (yetişkinde 1-2 mg tekrarlayan dozlarda, çocuklarda 0.025 mg/kg'dan yetişkin dozuna dek) ve skopolamin önerilmektedir (9).

Oksimler, tedavide kullanılan diğer önemli bir ilaç grubudur. AChE enzimini inaktif hale getiren fosfat grubunu, enzimin yapısından uzaklaştırarak etki gösterirler. Enzim reaktivasyonu denen bu olay, OB yaşlanma (aging) sürecine girmeden ilk 24-48 saat içerisinde yapılmalıdır. Erken dönem uygulama çok etkin olmasına rağmen, yağda çözünürlüğü yüksek olan OB ile zehirlenmeler (fention ve klorfention) için, geç uygulamalarda da etkili olduğu bilinmektedir (22). Oksimler atropinden farklı (üstün)

olarak nikotinic, muskarinic ve MSS üzerinde de etkili ilaçlardır. En sık kullanılan formları 2-PAM (yetişkin ve çocuktaki başlangıç dozu 30-50 mg/kg, 10-15 dakikada serum fizyolojik içinde bolus olarak) ve mesylate dir. Hedeflenen etkiyi oluşturacak minimal plazma konsantrasyonu 4 ug/ml'dir. Doz 4-8 saatte bir tekrarlanabileceği gibi, 250-500 mg/saat ya da 8 mg/kg/saat infüzyon şeklinde de verilebilir (1). Hızlı PAM infüzyonu, hafif kolinerjik etkilerden, nöromusküler blokaj ve santral nedenli solunum baskılanmasına dek değişen etkilere sebep olabilir. PAM; paration, diazinon, metil paration, dimetoat ve diklorvos zehirlenmelerinde oldukça etkili iken, malation ve metil demeton gibi dimetoksi bileşiklerine bağlı zehirlenmelerde etki daha azdır (9). Oksimlerin kalsiyum bağlayıcı etkisi göz önüne alınarak kas spazmlarına hazırlıklı olunmalı ve kalsiyum solüsyonları gerektiğinde kullanılmalıdır. Hipertansiyon, kardiyak disritmiler, hepatotoksite, baş ağrısı, görme bozukluğu ve baş dönmesi diğer yan etkilerdir (23).

Günlük rutin uygulamada yer almasa da, MgSO₄, klonidin, sodyum bikarbonat, sodyum florid ve taze donmuş plazma, OB ile zehirlenmelerde, rapor edilmiş diğer tedavi uygulamalarıdır (24,25).

Magnezyum (Mg) kardiyak hücrelerin elektriksel aktivitesinin transmembranöz ve interselüler temel modülatörü olup, Na-K ATPaz pompasını direkt olarak etkileyerek iskelet ve düz kas kontraktilesini, vazomotor tonusu ve nöronal transmisyonu artırır. İndirek olarak da kalsiyum kanalını bloke eder. Membran potansiyelini artırır, atrioventriküler iletimi ve mutlak refraktör periyodu uzatır. Ayrıca hipomagnezeminin, hayati tehlike yaratan disritmiler oluşturduğu bilinmekte olup, Mg'un i.v. verilmesi ile disritmilerin engellendiği ve akut myokard infarktüsü sonrası hayatta kalma üzerinde olumlu etkisi olduğu bilinmektedir (26). İntravenöz uygulamadan sonra, 30 dakika içerisinde etkisini gösterir. Dirençli ventriküler taşikardi, ventriküler fibrilasyon ve torsa depointes durumlarında magnezyum düzeylerine bakılmaksızın kullanım endikasyonları vardır. OB ile oluşan zehirlenmelerde prematür ventriküler kontraksiyonları kontrol ettiği rapor edilen Mg'un, intravenöz yükleme dozu 1-4 g (50 ml %5 dekstroz ile 20-60 dakika) dır. Ayrıca Mg'un, Na-K ATPaz üzerinden OB'nin direkt toksik inhibitör etkisini önlediği de ileri sürülmüştür. Asetilkolin salınımını baskılayan Mg'un (24), OB'nin nöroelektrofizyolojik etkilerini geri çevirdiği iddia edilmiştir. Magnezyumun başlıca etkisinin nöromusküler kavşakta (end-plate potansiyelinin amplitüdünü azalttığı)

olduğu ve bu etkinin, Mg ile motor sinir terminalinden asetilkolin salınımının inhibisyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir (27).

Sodyum bikarbonat ile tedavi, alkalizasyon sonucu OB'nin esteratik kısmının hidrolizinin artması mantığına dayanır. Bikarbonat'ın yararlı olabileceği ileri sürülmüştür ve randomize olmayan kontrolsüz çalışmalar vardır. Deneysel çalışmalarda ise bikarbonatın pH artırıcı etkisi ile mortalitenin azaldığı iddia edilmiştir (23). Ayrıca bikarbonatın, standart olarak uygulanan tedavilerin (atropin, oksim) etkisini arttırdığı rapor edilmiştir. Diklorvosa bağlı gelişen respiratuvar asidozisi düzeltilmede sadece atropin verilmesi yetersiz bulunmuşken, atropin ile birlikte verilen bikarbonatın asidozu düzelttiği bildirilmiştir (28).

Sodyum floridin antidotal etkisini, sempatik gangliyonlar ve nöromuskuler kavşaktaki nikotinik reseptörlere karşı duyarlılığı artırarak oluşturduğu ileri sürülmüştür (29). Sarin ve soman ile oluşturulmuş deneysel zehirlenme modellerinde sadece atropinin, atropin ve sodyum florid kombinasyonundan daha az etkili olduğu rapor edilmiştir (24). Ayrıca, florin bileşiklerinin paketlemesini yapan işçilerde, artmış AChE aktivitesi de bildirilmiştir (30).

Klonidin, kolinerjik nöronlardan ACh'in salınımını inhibe eder ve koruyucu etkileri muhtemelen bu inhibisyona bağlıdır (24). Klinik çalışma bulunmamakla birlikte, deneysel çalışmalarda klonidinin tedavi öncesinde kullanımı ile hayatta kalmanın arttığı bildirilmiştir (23).

Taze donmuş plazmanın ChE aktivitesini artırdığı ve özellikle oksim tedavisinin uygulanamadığı durumlarda verilebileceği iddia edilmiştir (25).

2.1.2.4. Diğer Klinik Etkiler

Organofosfat bileşikleri ile zehirlenme sonrası, tanımlanmış üç klinik faz (akut kolinerjik faz, intermediate sendrom ve gecikmiş polinöropati) olup, ayrıca MSS, metabolik-endokrin, gastrointestinal, kardiyovasküler, ürogenital ve nöromuskuler sistem üzerinde de tanımlanmış etkiler bulunmaktadır (2).

Intermediate sendrom, OB ile zehirlenmenin ardından (12–96 saat) ortaya çıkabilir. Erken kolinerjik sendromla geç periferik nöropati arasındaki evrede görülen bu tabloya, vakaların %20-68'inde rastlanmaktadır. Diazinon, monokromotofos, metilparation, metamidafos, dimetoat, fention ve etilparation gibi bileşiklerle

zehirlenme ile ilişkilendirilen bu durum, yağda çözünen bileşiklerin yeniden dağılımına bağlı nikotinik reseptörlerde ACh'in uzamış etkisi ile açıklandığı gibi yetersiz oksime tedavisine de bağlanmaktadır. Duyusal fonksiyonlarda bozulma olmadan, bilincin nadiren etkilendiği, reflekslerde azalma, proksimal ekstremitelerde, oküler, bulber, boyun ve solunum kaslarının güçsüzlüğü ile kendini gösteren bu tablo, eğer anoksik beyin hasarıyla komplike olmazsa 4-18 gün içinde düzelebilir. İntermediate sendromun yönetimini öncelikle destek tedavi (havayolu açıklığı ve ventilatör) oluşturmaktadır (4,6).

Gecikmiş polinöropati (OPIDN-Organophosphate Induced Delayed Polyneuropathy), triortocresilfosfat gibi zayıf etkili bileşiklerle olan zehirlenmeleri takiben, myelin kılıfta bulunan neuropathy target esterase (NTE) olarak isimlendirilen bir enzimin fosforilasyonu ile ilişkilendirilmektedir. Semptomlar (parestezi, baldır ağrısı, kas güçsüzlüğü, düşük ayak) maruziyetten 7-21 gün sonra ortaya çıkarak ciddi morbiditeye sebep olabilirler. Atropin ve PAM uygulanmasının bu sendromun ortaya çıkmasını engellemediği düşünülmektedir. Hafif vakaların prognozu iyi iken, ağır vakalarda pençe el, düşük ayak, kalıcı atrofi, spastisite ve ataksi sekel olarak kalabilir (4,22).

Kronik nöropsikiyatrik bozukluk (Chronic Organophosphate Induced Neuropsychiatric Disorder), kronik yorgunluk sendromu ile karıştırılabilen bir zehirlenme komplikasyonudur. Anksiyete, uyuşukluk, depresyon, bitkinlik, irritabilite, duygusal labilite, hafıza problemleri, konfüzyon, letarji ve psikoz görülebilir. Semptomların çoğu bir yıl içinde geriler (1,4).

Ekstrapiramidal etkiler, koreoatetoz, opistotonus, tortikollis, dişli çark rijiditesi, maske yüz, bradikinezi gibi semptomları içeren tipik bir parkinsonizm tablosunu içermektedir. Fention gibi bazal gangliyonlara etkili seçici bileşiklerle ortaya çıkabilen bu etkilerin, bazal gangliyonlar ve substantia nigra ACh ile dopamin arasındaki dengenin bozulmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (31).

Ayrıca, rabdomiyoliz ve akut böbrek yetmezliği bildirilmiştir. Akut dönemde ACTH, kortizol ve prolaktin seviyelerinin arttığı, FSH seviyesinin ise azaldığı rapor edilmiştir. Adrenal medullanın uyarılmasına bağlı olarak glikojenoliz, hiperglisemi ve ketozis oluşabilir. Ayrıca hiperamilazemi, pankreatit ve karaciğer enzim yükseklikleri de bildirilmiştir (2).

2.2. DİKLORVOS

Ticari olarak 1961'den beri pazarlanmaktadır. İsektisid ilaç amaçlı, tarımda ve diğer alanlarla tüm dünyada en yaygın kullanılan OB'den birisidir (32).

2.2.1. Farmakoloji ve Deneysel Çalışmalar

Molekül yapısı 2,2-diklorovinildimetilfosfat ve moleküller ağırlığı 221 dalton olan diklorvos (DDVP), fosforik asitin vinil triesteri olan bir organofosfat bileşimidir. Diklorvos, alkoller, nonpolar çözücüler ve aerosol gazlarla iyi çözünür. Suda dikloroetanol, dikloroasetaldehid, dikloroasetik asit, dimetilfosfat, dimetilfosforik asit adlı bileşiklerine ayrışır. Diklorvosun ayrışma oranı sıcaklık, nem ve pH gibi çevresel durumlara bağılı olarak değişir. Ayrışma, alkali solusyonlarda hızlı ve asit solusyonlarda yavaştır (33). Deneysel model oral alımlarda, hızla gastrointestinal sistemden emilir ve karaciğer tarafından metabolize edilir ve 10 mg/kg oral dozda verildikten bir saat sonra, bağırsak, böbrek, mide ve karaciğerde maksimum yoğunluğa ulaşır. İnhalasyon yolu ile de diklorvos emilimi hızlıdır (34). Karaciğerde metabolizasyonu başlıca iki yol ile olur. Glutatyona bağılı yol, öncelikle desmetildiklorvosu üretir. Ayrıca, S-metilglutasyon ve metilmerkaptürik aside ayrışarak idrarla atılır. Aril esteraz tarafından katalize edilen hidrolitik yol, diklorvos metabolizmasında üstün olan yoldur. Oksijen-vinil bağı, dimetil fosfat ve dikloroasetaldehidi üreten, glutatyondan bağımsız bir süreç ile ayrılır. Diklorvos kan, böbreküstü bezi, böbrek, akciğer ve dalakta, dimetil fosfat, desmetildiklorvos, monometilfosfat ve inorganik fosfata metabolize olur. Metabolizması çok hızlı olduğundan, yarı ömrünü tanımlamak çok zordur. Bir çalışmada, böbrekteki yarılanma ömrünün 13.5 dakika olduğu rapor edilmiştir. Diklorvosun metabolitlerinin hiçbirisi, kendisinden daha etkili değildir. Bileşimin fosfor içeren kısmı esas olarak idrarla, vinil içeren kısmı ise verilen hava ile atılır. Deneysel olarak idrarda (%60-70) ve dışkıda (%10) 7 gün boyunca tespit edildiği çalışmalar vardır (33). OB bölümünde bahsettiğimiz gibi, diklorvos ChE enzim aktivitesini geri dönüşümsüz baskılayarak, kolinerjik kavşaklarda ve sinapslarda ACh birikmesine neden olur ve klinik etkilerini ortaya çıkarır (35).

Sıçanlarda LD₅₀'nin oral alımlarda 80 mg/kg (erkek) ve 56 mg/kg (dişi) olduğu, cilt maruziyetinde bu değerlerin 107 mg/kg (erkek) ve 75 mg/kg (dişi)'a çıktığı bildirilmiş olup (36), intraperitoneal (i.p.) olarak kullanıldığında ise LD₅₀ 28-41 mg/kg

olduğu rapor edilmiştir (37). Deneysel çalışmalarda, sıçanlarda diklorvosu bağı gecikmiş nörotoksite ve motor defisit (38), inhalasyon sonrası nonenfeksiyöz toksik pnömonitis ve diafragma ile frenik sinirde nöropatik değişiklikler (13), beyinde laktat dehidrogenaz, fosfofruktokinaz ve heksokinaz aktivitesinde azalma bildirilmiştir (38). Ayrıca testis ağırlığında, plazma testesteron seviyelerinde, seminifer tübüllerin histopatolojisinde, sperm morfolojisinde ve miktarında değişiklik bulunmazken, sperm motilitesinin azalması (39) da şimdiye kadar bildirilen kalp dışı etkilerden bazılarıdır. Kardiyak etkilenmelere baktığımızda ise diklorvosun, elektrokardiyografik değişiklikler, kalp hızında azalma, kalp durması gibi patolojilere neden olmasının yanı sıra (40), sıçanlarda kalp kasında histopatolojik değişiklik, arteriol-venüller etrafında ve ventrikül kasında lenfosit infiltrasyonu, koyulaşmış nükleuslar ve bazofilik sitoplazma içeren kalp hücre odakları, kalp kasında (kardiyomiyositler arasında) küçük morfolojik ve yapısal değişiklikler, bildirilen diğer kardiyak etkilenmelerdir (36).

2.2.2. Diklorvos Zehirlenmesi

Akut ciddi diklorvos zehirlenmesi tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de yaygın olarak görülmekte ve yüksek mortaliteye neden olmaktadır (25). Diklorvosun maruziyeti en sık inhalasyon ile olmakla birlikte, intihar amaçlı oral alım veya ciltten temas şeklinde de zehirlenme olabilmektedir. Hatta bilinçli olarak intravenöz ve intramüsküler kullanımlar da bildirilmiştir (41,42). Diklorvos zehirlenmesinde görülen belirtiler, diğer OB ile zehirlenmeye benzer olarak ChE'in inhibisyonu sonucunda biriken ACh'in etkilerine bağlıdır (12). Oldukça toksik bir bileşik olan diklorvos ile zehirlenmenin, akut pankreatit (43) ürogenital sistemde histopatolojik değişiklikler (32,39) ve mutajen etkiler ile ilişkili olduğu (39) rapor edilmiştir. Diğer OB ile oluşan zehirlenmelerde olduğu gibi nörotoksite, kardiyotoksite (elektrokardiyografik (EKG) değişiklikler, iletim bozuklukları, bradikardi, taşikardi, kardiyak arrest), akciğer toksisitesi (solunum yetmezliği, apne, bronkore), gastrointestinal toksite (bulantı, kusma, karın ağrısı), teratojenite, diklorvos zehirlenmesi ile ilgili olarak bildirilmiş bulgulardır (13,43). Tedavisi diğer OB ile oluşan zehirlenmelerle benzer olup, bikarbonat tedavisinin özellikle etkili olduğu rapor edilmiştir (28).

2.3. KARDİYAK ETKİLENMENİN BELİRLENMESİ

2.3.1. Kardiyovasküler Etkilenme

Zehir etkisi gösteren maddeler sıklıkla KVS’de zararlı etkilere neden olabilirler ki bu etkilenme kendisini hipotansiyon, hipertansiyon, konjestif kalp yetmezliği (KKY), akciğer ödemi, disritmiler ile gösterebilir (44). Kardiyovasküler etkilenme, zehirli maddelerin vasküler, kalp ve sinir sistemine, direkt veya indirekt etkilerine bağlı olarak hemodinamik durumda oluşturdukları değişiklik olarak karşımıza çıkabileceği gibi, elektrolit bozuklukları, alkalemi, hipoksi veya asideminin gelişmesine sekonder olarak da hemodinamik değişikliklere yol açabilirler. Zehirli maddeler otonomik sinir sisteminde çeşitli etki mekanizmaları (nörotransmitterlerin sentez ve salınımı ile etkileşim, nörotransmitter ayrışımını bozma, postsinaptik reseptörlerde nörotransmitteri taklit etme, reseptörün kendini taklit etme) ile etki gösterirler (44). Örnek olarak nörotransmitter olarak ACh’i kullanan parasempatik sinir sisteminin herhangi bir zehirli madde ile uyarılması bazı muskarinik etkilere (arteriyol dilatasyonu, kalp hızı, kontraktilite ve iletim hızının azalması) neden olurken, diğer bir zehirli madde, nikotinik reseptörleri bloke veya stimüle edebilir (45). Diğer taraftan primer nörotransmitteri norepinefrin olan sempatik sinir sisteminin herhangi bir zehirli madde ile uyarılması sonucu, sempatik sistemin reseptörleri olan alfa ve beta adrenerjik tip reseptörler ile oluşan etkiler ortaya çıkacaktır. Farklı reseptör tipleri ile etkileşen zehirli maddeler farklı etkiler ortaya çıkaracaklardır. Kardiyovasküler etkilenme (hipotansiyon, disritmiler) aynı zamanda toksinin MSS etkisine bağlı olarak da görülebilir (46). Zehirlenmelerde kontraktilite bozukluğuna bağlı olarak akciğer ödemi, disritmiler, şok ve hatta ölüm bile görülebilir. Zehirlenmeye bağlı olarak ortaya çıkan geçici miyokard disfonksiyonun etyopatogenezi, direkt kardiyotoksite ile ilgili olabileceği gibi, aşırı katekolamin salınımı, artmış miyokardiyal oksijen ihtiyacı, miyokardiyal iskemi, miyokardiyal depresan maddelerin serbest kalması, asit-baz veya elektrolit bozuklukları gibi çeşitli multifaktöryel nedenlere de bağlı olabilir (47).

Organofosfat bileşikleriyle zehirlenmedeki kardiyak etkilenim de yukarıda bahsedilen mekanizmaların sonucu olarak görülecektir. ChE enziminin inhibisyonu sonucu parasempatik sinirlerde ACh birikir ve bradikardiden kalp bloğuna kadar değişen kardiyak etkilenmeler olabilir. İnsan kalp kasında ACh, sinus nodunda negatif kronotropik etki, atriyoventriküler nodu ile His-Purkinje liflerinde negatif kronotropik

etki, atriyal ve ventriküler kalp kası liflerinde negatif inotropik etkilere neden olur (48). Ayrıca kalbin elektriksel aktivitesini etkileyebilirler. Bu etkiler tam olarak tarif edilememiş olmakla beraber (49,50), üç fazda tanımlanmıştır. Faz I; artmış sempatik tonus (nikotinik etki) sonucunda hipertansiyon ve sinüs taşikardinin olduğu kısa dönem (sadece birkaç dakika sürer). Faz II; Zehirlenmeden sonra dakikalar içinde başlar ve parasempatik aşırı uyarılmaya bağlı hipotansiyon ve sinüs bradikardisi ile karakterizedir. Bu faz malign ventriküler disritmilere kadar kötüleşebilen ritm bozuklukları, çeşitli derecelerde atriyoventriküler iletim bozuklukları ile birlikte dir. Faz III; elektrokardiyografide QT mesafesinin uzaması, polimorfik ventriküler taşikardi (torsades de pointes), ventriküler fibrilasyon ve ani kardiyak ölüm ile karakterize olup, zehirlenmeden kısa süre sonra görülebileceği gibi, genelde bildirilen maruziyetten sonraki 1-15. günlerde de görülebilmektedir (50). Bu konuda bildirilmiş olan bir rapora göre, QT mesafesinin 580 milisaniyeden daha fazla olması ani kardiyak ölüm için yüksek risk oluşturmaktadır (51). Deneylerde EKG değişiklikler gözlenebilir ve ChE enziminin baskılanmasından önce meydana gelen bu değişiklikler doza bağımlıdır. Direkt miyokardiyal hasar, kolinerjik etkileşimden bağımsız bir şekilde de etkisini gösterebilir. Kalp, innervasyonunu, otonom sinir sisteminin sempatik ve parasempatik dalından alır. Hem sempatik hem de parasempatik aşırı aktivite miyokardiyal hasara neden olur. Zehirlenmenin her iki sisteme olan akut etkisi ile fonksiyonel dengenin bozulduğu öne sürülmektedir (5). Papiller kaslarda infarkt alanları ile kalp dokusunda benekleşme ve koyulaşma bildirilmiştir. Benzer olarak atropinin hayatta kalmayı arttırması yanında, myokard hasarını da önlediği rapor edilmiş (52) olup, bir başka çalışmada bildirilen “parasempatik aşırı uyarılma ile salınan ACh miyokardiyal hasara neden olur” hipotezi birbirlerini desteklemektedirler (53). Otonomik sistemin her iki dalının kardiyak hasarlanma patogenezinde rol oynadığına dair deliller vardır. Katekolamin ile oluşturulan sempatik aşırı aktivitenin miyokardiyal hasara neden olduğu bildirilmiştir ve bu durumun sempatik antagonistlerle önlendiğinin gösterildiği çalışmalar vardır (54). Sağlıklı yada aterosklerotik koroner arter hastalığı olan erişkinlerde, intrakoroner ACh injeksiyonunun koroner vazokonstriksiyona neden olduğu bildirilmiştir ve akut dönemdeki elektrokardiyografik ST-T değişiklikleri ile bağlantılı olabileceği ileri sürülmüştür (55). Histopatolojik olarak hücre morfolojisinin bozulması; kalsiyum iyonlarının ACh reseptörlerine yüksek oranda bağlanma özelliğine

bağlı olarak kalsiyum iyonunun serbest kalmasına ve bunun sonucunda sitoplazmaya aşırı kalsiyum girişinin meydana gelmesi ile izah edilmiştir (5).

Özetleyecek olursak, OB ile zehirlenmede direkt etki, indirekt (metabolik, elektrolit, v.s.) etki veya otonomik dengenin bozulması sonucu kardiyak etkilenme ortaya çıkmaktadır (54). Miyokardiyal hasarın varlığı ve miktarı; patolojik değerlendirme, kanda miyokardiyal hasar proteinlerinin ölçülmesi, elektrokardiyografik değişiklikler, ventrikülografi, elektrokardiyografi (EKO) ve miyokard perfüzyon çalışmaları gibi görsel modelleri kapsayan çok sayıda farklı tanı yöntemleri ile değerlendirilebilir (56).

2.3.2. Kardiyak Belirteçler

Kardiyak hasarlanma ile ilgili şimdiye kadar tanımlanmış bazı serum belirteçleri olan kreatin kinaz (CK), kreatin kinaz-MB (CK-MB), miyogloblin (Mb), kardiyak troponin-I (cT-I), NT-proBNP'nin serum düzeylerinin bu çalışmada araştırılması hedeflenmiştir.

ATP'den yüksek enerjili fosfat gruplarının kreatine transferinde rol oynayan intrasellüler bir enzim olan CK, birçok dokuda küçük miktarlarda bulunmasına rağmen, yoğun olarak yer aldığı organlar beyin, kalp ve iskelet kasıdır. Beyin (B) ve kas (M) olmak üzere iki alt üniteden oluşur ve CK-MM, CK-MB, CK-BB olmak üzere farklı üç izoenzimi vardır. CK-MM'nin büyük bir kısmı iskelet kasında oluşurken, CK-BB beyin dokusunda daha fazla oranda bulunur. Kardiyak izoenzim (CK-MB) total kardiyak kas enzim aktivitesinin %14-42'sini göstermekte olup, kalpte gerçekte baskın olan enzim CK-MM'dir (57). CK düzeyleri, miyokard hasarından sonra 4-8 saat içinde yükselip, 12-24 saat içinde pik yapar ve 3-4 günde normale seviyelerine döner. Diğer dokularda bulunan CK enziminden dolayı kardiyak hasarlanmada spesifitesi (%57-86), sensitivitesinden (%93-100) daha düşüktür. Total CK'a paralel olarak CK-MB, hasarlanmadan sonraki 4-8 saatte yükselir ve CK'dan biraz daha erken pik yaparak, daha hızlı düşer (48 saat) (58).

Miyogloblin iskelet ve kalp kası hücrelerinde bulunur ve bu hücrelerde oluşan hasarlanmada, seruma salınır. Miyokard hasarından sonra, serum miyogloblin düzeyleri 2 saat içerisinde yükselmeye başlar ve 6-8 saat sonra zirve değerine ulaşır. Böbrek fonksiyonu normal olanlarda 24 saat içerisinde başlangıç değerlerine döner (59).

Troponinler, kalp kası fibrillerinde bulunur ve kalsiyum aracılı aktin ve miyozin etkileşimini düzenlerler. T-I, 22 kDa ağırlığında bir protein olup, aktin tropomiyozin kompleksindeki miyozin köprülerinin oluşmasını engelleyerek çizgili kas kasılmasını önleyen troponin kompleksinin inhibitör parçasıdır. Plazmada, troponin-tropomiyozin kompleksine bağlı olarak bulunur, az bir kısmı (%2.5) sitoplazmada serbest halde saptanabilir. Özgüllüğü oldukça iyi olan T-I, kardiyak hasarlanmadan 4 ila 8 saat sonra yükselmeye başlar, 12-24 saatlerde zirve yapar ve dolaşımdaki bu düzeyini ortalama 5-7 gün devam ettirir (60). Miyokarddan troponin salınımı, geçici veya kalıcı miyokard hasarını gösterebilir. Bu hasar, iskemi, inflamasyon, infeksiyon, infiltrasyon, toksinler, artmış sol ventrikül duvar gerilimi, infiltratif hastalıklar gibi miyokarda olan her türlü etkiye bağlı olabilir ve çoğunlukla prognostik değer taşır (61).

Her biri prohormon olarak sentezlenen, Beyin Natriüretik Peptid (BNP), Atriyal Natriüretik Peptid (ANP), C-tipi natriüretik peptid (CNP) ve Dendroaspis Natriüretik Peptid (DNP), daha sonra matür hormon haline dönüşürler. Bunlardan ANP ve BNP sirkülasyona salınan kardiyak hormonlardır, CNP ise daha çok lokal hormon olarak görev yapar ve en çok santral sinir sistemi ile vasküler endotelde bulunur. Dendroaspis natriüretik peptid ise insan plazmasından ve atriyal miyokard dokusundan son yıllarda izole edilmiş olup, insanlardaki fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir. Beyin natriüretik peptid 108 aminoasitlik bir prohormon olarak sentezlenir ve daha sonra 32 aminoasitlik BNP ve 76 aminoasitlik NT-proBNP'ye parçalanır (62). Hem atriyum hem de ventriküllerden sentezlenen ANP'nin tersine, plazmaki BNP'nin temel kaynağı ventriküllerdir. Bu nedenle BNP'nin ventrikül hastalıklarında duyarlılığı ve özgüllüğü daha fazladır (63). Beyin natriüretik peptid'in sentezi genomik kontrol ile olur. Sentez için en önemli uyaran basınç ve hacim yükünün oluşturduğu miyosit gerilimidir (64). Uyarı geldiğinde hızlı dönüşümlü TATTTAT (nükleotidi) nükleik asit gen dizilimine sahip olan BNP, basınç ve hacim yükü ile orantılı olarak patlamalar şeklinde sentezlenir (65). Bu nedenle BNP'nin plazma düzeyinin artması için belli bir süre gerekmektedir. Ayrıca kalp hızı artışı, glukokortikoidler, tiroid hormonları, endotelin-I ve anjiyotensin-II BNP sentezini uyaran faktörlerdir. Nt-proBNP'nin, plazma yarı ömrü 120 dakikadır. Son yıllarda acil serviste hızlı ve doğru bir şekilde kalp yetmezliği tanısının konulabilmesi için BNP ve NT-proBNP kullanımı gittikçe artmaktadır (66). Ayrıca, pulmoner emboli, primer pulmoner hipertansiyon, kor pulmonale, konjenital kalp

hastalıkları ve akut koroner sendrom, aort darlığı, hipertrofik kardiyomiyopati, hipertansiyon, restriktif kardiyomiyopati gibi durumlarda arttığı rapor edilmiştir (67).

2.3.3. Oksidan - Antioksidan Sistem

Hücre seviyesinde serbest radikallerin oluşum hızı ile bu radikallerin ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde olup, bu dengenin bazı hastalıklarda bozulduğu bilinmektedir (68). Oksidatif dengenin bozulması serbest radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında azalma ile olabilir. Oksidatif stres olarak adlandırılan bu durum, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır (69). Serbest radikal ise bir kimyasal maddenin moleküler ya da atomik yörüngesinde bulunan ve genelde çok reaktif olan çiftleşmemiş elektron bulunduran bir kimyasal ürün olarak tanımlanabilir (70). Kovalent bağ taşıyan bir molekülün homolitik yıkımı, bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya heterolitik olarak bölünmesi ve bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi sonucunda serbest radikal ortaya çıkar (68). Pozitif yüklü, negatif yüklü ya da nötral olabilirler. Süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali (HO), NO peroksit radikali (ROO) ve radikal olmayan hidrojen peroksit (H_2O_2) oksidatif stresin en önemli parametrelerinden bazıları oluştururlar (71). Serbest radikal zincir reaksiyonları genellikle, moleküllerden hidrojen iyonunun uzaklaştırılmasıyla başlar. Sağlıklı kişilerde bu radikallerin zararlı etkileri antioksidan ajanlarla sınırlanırken (72), aksi durumda oksidatif stres düzeyindeki artış ile hücrelerin lipid, protein, DNA, karbohidratlar gibi tüm elemanları düzeyinde hasarlanma oluşabilmektedir (73). Serbest oksijen radikalleri (SOR) kalp kası fonksiyon bozukluğuna yol açarak, kardiyak fonksiyonlarda bozulmaya neden olabilir. Kalp yetersizliğinde bu radikallerin arttığı ve mortalite ile yakın ilişkili olduğu, iskemik sendromların (koroner arter hastalığı, aterosklerozis, akut koroner sendrom) fizyopatolojisinde, gelişiminde ve kardiyomiyopatilerde de SOR'un rolü tanımlanmıştır (74).

Lipid peroksidasyonu (LPO) tabiri, serbest radikallerin hücre membranında bulunan yağ asitlerini etkilemesi sonucu meydana gelen zincirleme bir reaksiyon anlamında kullanılmaktadır (70). Bu yağ asitlerinden bazılarının peroksidasyonu ile oluşan malonildialdehit (MDA), kimyasal olarak aktif bir moleküldür ve çevre hücre ve dokulara kolayca diffüze olarak özellikle proteinler üzerinde zararlı etki gösterir (75). Oksidatif strese neden olan MDA ile birçok patoloji (ateroskleroz, iskemi, kardiyomiyopati, radyasyon hasarı, sigara kullanımı, amfizem, diabetes mellitus,

romatoid artrit, otoimmün hastalıklar, Alzheimer, Parkinson, v.s.) arasında ilişki kurulmuştur (76,77). OB'nin toksitesinde serbest radikaller önemli rol oynar ve serbest radikal oluşumunun, antioksidan enzimlerde azalmanın ve serbest radikallerin indüklediği MDA'nın kalpte hasarlanmaya neden olduğu gösterilmiştir (78). Diklorvosun oksidatif strese (serumda artmış MDA üretimi ile) neden olduğu rapor edilmiştir. Organofosfat bileşiklerinin kalpte histopatolojik ve immünohistokimyasal değişikliklere lipid peroksidasyonu artışı ile neden olduğu tespit edilmiştir (32). Ayrıca, akut tübüler nekroz ve nöbet gelişiminde lipid peroksidasyonu ve SOR'nin bağlantılı olabileceği ileri sürülmüştür. Yine bir OB olan metidationun ve diazinonun akut verilmesi ile, sıçanların kalp dokusunda, antioksidan enzimlerin aktivitelerinde yaptığı değişiklikler sonucu kalpte hasara neden olduğu ve bu hasarın temelinde MDA artışının önemli rol oynadığı iddia edilmiştir (79).

Endojen ve eksojen kaynaklı olabilen antioksidanlar, hücrenin hem sıvı hem de membran kısmında bulunurlar (80). Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu ve verebilecekleri zararı önlemek için varolan moleküllerdir (81). Süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz, glutatyon transferaz, mitokondrial sitokrom oksidaz sistemi ve glutatyon redüktaz enzimatik antioksidanlardır. E-vitamini, β -karoten, askorbik asid, melatonin, ürik asit, bilirubin, glutatyon, seruloplazmin, albumin, transferin, ferritin ise diğer bazı antioksidan maddelerdir. Glutatyon, metabolizmada önemli rol oynayan ve glutamik asit, sistein ve glisin aminoasitlerinden oluşan bir tripeptittir. Sentezi ATP kullanılan iki basamaklı bir reaksiyonla gerçekleşir (70). En önemli işlevleri; hücre zarlarından aminoasitlerin hücre içine taşınması, koenzim olarak enzim yapısına katılmak, proteinlerdeki sülfidril gruplarını korumak, peroksit, serbest radikaller ve reaktif toksik ara maddelerin etkisizleştirilmesidir (82). Ayrıca ksenobiyotik ve karsinojenler gibi birçok endojen ve eksojen zararlı bileşikleri de etkisizleştirmede önemli rol oynayan anahtar antioksidanlardandır. Oksidatif hasarı önlemesi, glutatyonun serbest radikallerle direkt reaksiyona girme, disülfidleri direkt olarak indirgeme ve glutatyon peroksidaza kofaktör olabilmesi ile gerçekleşir (83). Serum glutatyon seviyelerinin, insan zehirlenme vakalarında OB'ne maruziyet sonrası azaldığı bildirilmiştir (84). Başka bir çalışmada balıkların kas, karaciğer ve serumunda diklorvosa bağlı olarak serum glutatyon düzeylerinin azaldığı öne sürülmüştür (85).

Nitrik oksit, fiyolojik ve patolojik durumlarda homeostazın sürdürülmesinde önemli bir etken molekül olup, memelilerdeki varlığı ilk kez 1916 yılında gösterilmiştir. Daha sonra aktive olmuş makrofajların NO salgıladığı, sentezinde L-argininin öncü madde olduğu ve sentezinin inhibisyonu için L-arginin bazlı hem analoglarının kullanılabilceği gösterilmiştir. Endotel kaynaklı vazodilatör faktörün, NO olduğu anlaşılmış, birçok hücre ve organ sistemlerinde üretilerek etkili olduğu ileri sürülmüştür (86). Nitrik oksit, membranları kolayca geçebilen, lipofilik bir moleküldür ve Nitrik Oksit Sentaz (NOS) enziminin katalize ettiği bir dizi reaksiyon sonucunda oluşur. Bu reaksiyon için ortamda oksijen ve diğer bazı kofaktörlerin (nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) v.s.) bulunması gerekir (87). Nitrik oksit sentezleyen enzimin 3 farklı izoenzimi (eNOS ve nNOS) olup, bunlardan birisi de indüklenebilen NOS (iNOS)'dır (88). Solüsyon içerisinde yarılanma ömrü yaklaşık 30 saniye olan NO, suda ve yağda da çözünebilir ve nitrit ile nitrate okside olabilen renksiz ve stabil bir gazdır. Tiol grupları ile reaksiyona girer ve gerektiği zamanlarda kullanılmak üzere depolanır (86). Nitrik oksit, özellikle nöronlar ve damar düz kas hücre membranında bulunan guanilat siklazı aktive eder. Guanilat siklaz ise GTP'den bir ikincil haberci olan siklik GMP oluşumunu artırır. Bu madde kendine uyan (kas gevşemesi, sinapstan uyarı geçişi gibi) hücre içi işlemleri düzenler (89). Oluşan bu biyokimyasal olaylar düz kas kasılması, vasküler tonüs ve kan akışının düzenlenmesinde önemli rol oynar. Trombositler içindeki çözülebilir guanilat siklaz aktivitesini artıran NO, trombosit adhezyon ve agregasyonunu azaltır. Mikroorganizmaların mitokondrial proteinleri ile bağlı demir bileşikleriyle reaksiyona girerek, DNA sentezini bozar ve ölümlerine yol açar. Başka etkileri de bulunan NO'nun, serbest oksijen radikalleriyle etkileşimi ve antioksidan özellikleri ile ilgili araştırmalardan elde edilen bilgiler farklılıklar göstermektedir. Örneğin, aktive makrofajların mikrosidal aktivitelerini NO aracılığıyla gösterdikleri ileri sürülmekle birlikte, esas etkinin NO'den üretilen nitrojen dioksit isimli oksidan madde olabileceği de ileri sürülmüştür. Nitrojen dioksit ise dokular için oldukça toksiktir (90).

Taşıdığı çiftleşmemiş elektron nedeni ile NO, bir serbest radikal olarak tanımlanabilir ve serbest radikallerden farklı olarak, diğerleri her konsantrasyonda hücreler için zararlı iken, NO'nun aşırı sentezi hücreler için zararlıdır. Düşük konsantrasyonlarda ise çok önemli fiyolojik işlevlerde rol almaktadır. Ancak aşırı ve

kontROLSÜZ NO sentezi hücreler için zararlı olmaktadır. Bu özelliği ile NO, çok önemli fizyolojik haberci molekülü özelliği kazanmaktadır (91). Ayrıca organizmada peroksinitrit anyonu ve hidroksil radikali gibi çok etkin radikallerin üretilmesine neden olur. Bu radikaller dokulara zarar verebilir, kalpte kontraktıl fonksiyonu bozabilir, çeşitli iyon pompalarını etkisiz kılarak iletim bozukluklarına yol açabilir. Öte yandan NO'nun doğrudan doğruya mitokondriyal solunum zincirini inhibe ettiği de bilinmektedir. Kalpteki miyositlerin üçte birini mitokondriler oluşturur. Dolayısıyla, mitokondriyal solunum zincirindeki bozukluklar kontraktıl fonksiyonu bozar ve dokuda hasara neden olur (92).

Nitrik oksit, MSS'de hafıza oluşumu, denge, koku alma gibi birçok fonksiyonları destekleyen bir nöotransmitter olarak fonksiyon görmektedir. Periferik sinir sisteminde ise nonadrenerjik ve nonkolinerjik sinirleri etkileyerek vazodiltasyon, solunum, genitoüriner ve mide barsak fonksiyonlarının düzenlenmesine katkı sağlar (93). Dolaşım sisteminde, daha öne bahsedilen trombosit agregasyonunun ve adezyonun engellenmesi, kalp kasılmasının idamesi gibi olaylara katkıda bulunarak sistemik dolaşımın düzenlenmesinde rol oynar, ayrıca kalp, karaciğer ve beyinde lokal dolaşımı düzenler (94). Vazoregülan bir molekül olan NO, damarlarda yeterli miktarda sentezlenemezse, vazodilatasyon azalmakta, antioksidan vitamin düzeyleri düşmekte, ateroskleroz ve vaskülopatilerin gelişmesi kaçınılmaz olabilmektedir (90). Sonuç olarak sağlıklı endotelde denge, NO'ya bağlı vazodilatasyon yönündedir diyebiliriz. Endotel disfonksiyonu, sağlıklı endotelin antienflamatuvar, antikoagülan ve vazoaktif etkilerinin yetersizliği ile sonuçlanır. Endotel disfonksiyonu kardiyovasküler etkilenmelerin çoğu ile birlikte olup, hipertansiyon, hiperglisemi, kalp yetmezliği örnek olarak gösterilebilir (95). Ayrıca NO, miyokardiyumda pozitif inotropik, kronotropik ve lusinotropik etki göstermektedir. Paradoksal olarak mitokondriyal metabolizmayı inhibe ederek oksijen gereksinimini azaltır. Kardiyak NO salınımı değişkendir ve salınımı erken diyastolik dolum fazında artar. Ön yük arttığında, salınımı artan NO'nun, Frank-Starling mekanizmasında etkili olduğu bildirilmiştir (96).

2.3.4. Histopatolojik Değerlendirme

Organofosfat bileşiklerinin sıçanlarda pankreas, karaciğer, testis, beyin, vasküler duvar, böbrek ve kalpte histopatolojik değişikliklere neden olmaktadır. Bir çalışmada

metidation'a bağlı olarak kalp hücrelerinde miyositolizis şeklinde dejeneratif değişikliklerin oluştuğu (79), bir başka klinik çalışmada ise malation zehirlenmesinin miyokardiyal nekroz alanları oluşturduğu bildirilmiştir (97). Diklorvosun da sıçanlarda endometrial histopatolojik değişikliklere neden olduğu rapor edilmiştir (32).

İndüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS); kalp myositleri, karaciğer hücresi, nöronlar, mikroglial hücreler, nötrofiller, vasküler endotel ve kas hücrelerinde bulunur. Travma, stres, akut enflamasyon gibi durumlarda salınan iNOS, hem doku koruyucu hem de zarar verici bir etkiye sahiptir. Normalde hücrelerde olmayan iNOS, özgül sitokinlerin indüklemesi sonrasında fazla miktarda salgılanır. İnterferon-gama, IL-1, TNF-alfa, endotoksin veya egzotoksinlerce indüklenmesi sonucunda, NOS-I ve NOS-III'ten (ikisi birlikte, constitutive NOS-cNOS olarak adlandırılmaktadır) 1000 kat daha fazla NO sentezleyebilmektedir. Glukokortikosteroidler iNOS uyarılmasını ve NO sentezini inhibe ederler (88).

Kalp yetmezliğinde, kalp hücresinde iNOS aktivitesinin arttığı bilinmekte olup, iNOS'un dilate kardiyomiyopati, organ reddi ve miyokard infarktüsünde uyarıldığı rapor edilmiştir (98). Kalp yetmezlikli hastalarda iNOS ve nNOS'daki artış ile oksidatif stresteki artışın uyumlu olduğu bildirilmiştir (99). Kalpte iNOS'ın sentez artışına bağlı olarak, sentezi artan NO'in negatif inotrop, kronotrop ve beta adrenerjik uyarılmada azalma yönünde etkisi ortaya çıkmaktadır. İndüklenebilir NOS inhibitörleri verilmesi ile iskemiye bağlı kalp yetmezliği olan hastalarda myositte hipertrofi, infarkt büyüklüğü ve mortalitede önemli azalmalar olduğu rapor edilmiştir (100).

Soman zehirlenmesinde, arginin (NOS substratı) ve iNOS inhibitörü olan NG-nitro-L-arginin methyl ester (NAME)'in etkisi araştırılmış ve arginin ile artmış mortalite görülürken, NAME ile mortalitenin azaldığı rapor edilmiştir (101). Ayrıca OB ile oluşturulan zehirlenmelerde, nöbetleri önlemek için NOS inhibitörlerinin etkin olduğu ve bu nöbetlerin NO ile ilişkili olabileceği ifade edilmiştir (102).

Apoptosis (programlı hücre ölümü), çok hücreli organizmaların genetik şifrelerinde bulunan "hücre intiharı" programlarının gelişimsel ve/veya çevresel uyarımlarla etkinleşmesi sonucu ortaya çıkan, gelişim ve farklılaşma sırasında organ yapısı ve işlevlerinin aktif değişimini sağlayan fizyolojik hücre ölümü olarak tanımlanmaktadır (103). Bir başka deyişle, bazı hücrelerin, geri kalanın iyiliği için herediter olarak kendilerinde varolan intihar programını devreye sokarak hayatlarını

sonlandırmalarıdır. Literatürde ilk kez “mitozun karşıt anlamı” olarak kullanılan apoptosis, “ağaçların yapraklarını dökmesi” anlamına gelir (104). Apoptosis, nekrozdan oldukça farklıdır. Nekrozda akut hücre hasarını takiben hücre ve organellerinin şişip lizise uğradığı pasif ve patolojik bir hücre ölümü söz konusudur. Dış etki ile koruyucu mekanizmaların devreye girmesine fırsat vermeyecek şekilde gelişen nekrozda, zarar gören esas hedef organel, hücrenin enerji kaynağı olan mitokondridir. Apoptosis ise aktif işlev gerektiren genetik kontrollü bir süreç olup, hücre büzülür ve bir saatten kısa bir sürede hacminin %30’nu kaybeder. Mitokondri morfolojik olarak sağlamdır, ancak burada esas hasarlanan hedef organel, hücre çekirdeğidir. Apoptosis, embriyogenezis, immünolojik reaksiyonlar gibi birçok fizyolojik olayda yer almakla birlikte (103), farklı çevresel uyarılar da apoptozisi başlatabilir. İnflamatuvar sitokinler, immuno regülatuvar sitokinler, oksidatif stres, mekanik stres apoptozisi başlatabilmektedir (105). Reaktif oksijen radikalleri veya antioksidan enzimlerin azalması ile de uyarılabilir (104).

Apoptotik hücredeki morfolojik değişiklikleri saptamak için ışık mikroskobu ve elektron mikroskobu kullanılmaktadır. Bu morfolojik değişikliklerin saptanması sitoplazmik farklılıklar (kaspaz aktivitesi, hücreye kalsiyum akışı, mitokondri disfonksiyonu), membran değişikliklerinin belirlenmesi (membran geçirgenliği), apoptoz sürecindeki görevli çeşitli proteinlerin serum veya dokuda ölçülmesi (Bcl2/Bax), DNA parçalanmasının çeşitli özel immünohistokimyasal boyalarla gösterilmeleri ile yapılmaktadır. En sık kullanılan yöntemler *DNA agarose gel electrophoresis* ve *TUNEL* (terminal deoxytransferase mediated bio-dUTP nick end labeling) boyası ile formalinde fikse edilmiş materyalin mikroskopik incelenmesidir (106).

Apoptosis sıklıkla, hücre siklusunda progresyon gösteren hücrelerde olur. Bu nedenle kardiyak hücrelerde oluşmayacağı düşünülmüştür. Ancak miyokarda da apoptosisin görülebileceği bildirilmiş olup, farklı kardiyak ve vasküler hastalıklarda apoptosis mekanizmalarında bozukluklar gösterilmiştir (104). Örnek olarak fokal apoptotik bir odağın, nekrotik hücrelerde olduğu gibi ileti sistemini etkileyerek disritmi veya bloklara yol açabildiği rapor edilmiştir. Yine hafif iskemi, miyositlerde apoptosise yol açarken, ağır iskemi nekrozla sonuçlanmaktadır. Miyokard infarktüsünde ise infarktüs bölgesinde her iki hücre ölüm tipi de bir arada görülmekte olup, apoptosis en yoğun olarak infarktüsü sınırlayan bölgede izlenmektedir. Kalp yetersizliğinde

apoptosis en yoğun araştırılan konulardan biri olup, hem post-mortem hem de biyopsi çalışmalarında gösterilmiştir (107).

Sıçanlarda parakson ve malation'un sırası ile lenfosit ve fibroblastlarda kaspaz-3 aktiviteni baskılayarak apoptosise neden olduğu (108), sarinin ise serebellum purkinje hücreleri, hipokampus ve serebral korteks nöronlarında apoptotik hücre ölümüne yol açtığı rapor edilmiştir (106). Ayrıca diklorvos ile sıçanlarda endometrial apoptotik değişiklikler bildirilmiştir (32).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul'undan (Etik kurul onay tarihi: 06.06.2005 ve karar No: 2005-06-9) onay alındıktan sonra, aynı üniversitenin Acil Tıp, Farmakoloji, Biyokimya ve Patoloji Anabilim Dallarının işbirliği ile gerçekleştirildi. Farmakoloji laboratuvarında yapılan deneylerde, 200-400 gram ağırlığındaki erkek Wistar Albino cinsi sıçanlar kullanıldı.

3.1. Deney Grupları

Sıçanlar Gaziantep Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edildi. Çalışma gününe kadar deney hayvanları laboratuvarında, 22°C' de, normal yem ve su ile beslenerek 12 saat gündüz 12 saat gece olacak şekilde barındırıldı. Deneyden hemen önce sıçanlar tartılarak ağırlıkları kaydedildi. Ağırlıklarına göre ilaç dozları hesaplanarak not edildi. Sakrifikasyon işlemine kadar yukarıda belirtilen ortamda 6 saat tutuldular. Bu süre içerisinde ölenler kaydedildi, 6 saatten önce ölenlerden kan ve doku örnekleri alınmadı.

Serum fizyolojik kontrol grubu (SF grubu)

Dokuz sıçandan oluşan bu gruba, ortalama verilmesi öngörülen 25 mg/kg diklorvos dozu için hesaplanan hacimde (0.091 ml/100 g) serum fizyolojik intraperitoneal (i.p.) olarak verildi. Altı saat sonra i.p. olarak verilen tiyopental sodyum (120 mg/kg) ile anestezi sağlandı. Kan örnekleri alınarak sakrifiye edildi, daha sonra kalp doku örneği alındı.

Diklorvos 25 mg/kg grubu (D25 grubu)

On sıçana diklorvos mısır yağında 1:20 oranında çözdürülerek 25 mg/kg (109) dozunda i.p. yolla verildi. Altı saat sonra i.p. olarak verilen tiyopental sodyum (120 mg/kg) ile

anestezi sağlandı. Kan örnekleri alınarak sakrifiye edildi, daha sonra kalp doku örneği alındı.

Diklorvos 30 mg/kg grubu (D30 grubu)

Toplam 15 sıçana, diklorvos mısır yağında 1:20 oranında çözülürerek, 30 mg/kg dozunda i.p. olarak verildi. Hayatta kalan sıçanlara, 6 saat sonra i.p. olarak verilen tiyopental sodyum (120 mg/kg) ile anestezi sağlandı. Kan örnekleri alınarak sakrifiye edildi, daha sonra kalp doku örneği alındı.

Mısır Yağı Kontrol Grubu (MY grubu)

Kilograma 30 mg olarak verilmesi planlanan diklorvos için hesaplanan hacimde mısır yağı i.p. olarak toplam 8 sıçana verildi. Altı saat sonra i.p. olarak verilen tiyopental sodyum (120 mg/kg) ile anestezi sağlandı. Kan örnekleri alınarak sakrifiye edildi, daha sonra kalp doku örneği alındı.

Magnezyum Sülfat Grubu (Mg grubu)

On sıçana magnezyum sülfat 200 mg/kg (110) dozunda i.p. olarak uygulandıktan beş dakika sonra, diklorvos (30 mg/kg) i.p. olarak verildi. Altı saat sonra i.p. olarak verilen tiyopental sodyum (120 mg/kg) ile anestezi sağlandı. Kan örnekleri alınarak sakrifiye edildi, daha sonra kalp doku örneği alındı.

Atropin Grubu (A grubu)

On sıçana 10 mg/kg (28) dozunda atropin i.p. verildikten beş dakika sonra diklorvos (30 mg/kg) i.p. olarak verildi. Altı saat sonra i.p. olarak verilen tiyopental sodyum (120 mg/kg) ile anestezi sağlandı. Kan örnekleri alınarak sakrifiye edildi, daha sonra kalp doku örneği alındı.

Pralidoksim Grubu (PAM grubu)

On sıçan kullanılan bu grupta 40 mg/kg dozunda (111) PAM i.p. uygulandıktan beş dakika sonra, diklorvos (30 mg/kg) i.p. olarak verildi. Altı saat sonra i.p. olarak verilen tiyopental sodyum (120 mg/kg) ile anestezi sağlandı. Kan örnekleri alınarak sakrifiye edildi, daha sonra kalp doku örneği alındı.

Atropin ve Pralidoksim Grubu (A+PAM grubu)

On sıçana atropin ve PAM yukarıda verildiği dozlarda peş peşe i.p. olarak verildikten beş dakika sonra, diklorvos (30 mg/kg) i.p. olarak verildi. Altı saat sonra i.p. olarak verilen tiyopental sodyum (120 mg/kg) ile anestezi sağlandı. Kan örnekleri alınarak sakrifiye edildi, daha sonra kalp doku örneği alındı.

Gruplardan (D25 ve D30) hangisinin çalışma grubu olacağı, mortalite ve serum kolinesteraz seviyeleri göz önüne alınarak saptandı. Literatürde bildirilen 70 mg/kg (112) ve 50 mg/kg (40) dozlarında diklorvosun, üçer adet sıçana i.p. olarak verildikten sonra, bütün sıçanların 1-2 dakika içerisinde öldüğü görüldü. Daha sonra 30 mg/kg diklorvos (113) i.p. olarak verildi ve bir sıçanda ölüm gerçekleşti. Sıçan sayısı 15'e tamamlanarak (D30 grubu), diklorvos'un diğer bütün gruplarda 30 mg/kg dozunda i.p. olarak uygulanmasına karar verildi.

Serum ve doku örneklerinin elde edilmesi; Anestezi verildikten sonra, sol parasternal torakotomi yapıldı ve kalp çevre dokularından ayrıldı. Sağ ventrikülden kan alınmasını takiben, ölmek üzere olan sıçanların, kalpleri özenle çıkarıldı. Alınan kanlar 4500 devirde (rpm) 4°C'de 15 dakika santrifüj edildi (Eppendorf, Centrifuge 5810R, Almanya) ve ependorf tüplerine alındı. Tüm serumlar soğutucuda -20 °C'de muhafaza edildi. Çıkarılan kalpler serum fizyolojik içerisinde horizontal şekilde ikiye ayrıldı ve ventrikül tarafı homojenizasyon işlemi için boş tüplere konarken (çalışma gününe kadar -20°C'de saklandı), kalan kısım histopatolojik çalışma için %10'luk formaldehid içeren tüplere kondu.

3.2. İlaçlar ve Kimyasal Maddeler

Diklorvos'un mililitresinde 550 mg etken madde içeren piyasada bulunan preparatı (DDVP insektisit, İMPA Tarım-Veteriner İlaç Sanayi Ltd. Şti. İstanbul) kullanıldı. Bu maddenin 1 ml'si 19 ml mısır yağında (Aymar, Aymar Yağ ve Gıda San. Tic. A.Ş., Tekirdağ) çözdürüldü (114). Elde edilen karışım 27,5 mg/ml diklorvos içermekteydi.

Bir flakon tiyopental sodyum (Pental Sodyum enjektabl flakon 0.5 g, İ.E. Ulagay İlaç Sanayi Türk A.Ş., İstanbul) 10 ml serum fizyolojik çözdürülerek hazırlandı. Çözelti 50 mg/ml etken madde içermekteydi.

Saf toz halindeki atropinin (Sigma Chemical Co. St. Louis, MO, ABD) 200 mg'ı, 1 ml saf etil alkol ile çözüldürülerek depo solüsyon hazırlandı. Depo solüsyondan günlük kullanılacak atropin, serum fizyolojik ile sulandırılarak mililitrede 5 mg olacak şekilde hazırlandı.

Magnezyum sülfat (magnezyum sülfat, %15, 10 ml i.m.-i.v., Biofarma İlaç San. ve Tiç. A.Ş., İstanbul) ve pralidoksimin (Contrathion %2 flakon, pralidoksim metilsülfat, Laboratories SERB, Paris, Fransa) hazır preparatları kullanıldı.

Deneylerde kullanılan triklorasetik asit (TCA), 2-tiyobarbitürik asit (2-TBA), butile hidroksitoluen kristal (BHT), sodyum hidroksit (NaOH) anhidroz, 5,5'-ditiyo-bis (2-nitrobenzoik asit) (DTNB), sodyum sitrat, trizma hidroklorür (tris HCl), sodyum klorür (NaCl), potasyum klorür (KCl), potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄), disodyum EDTA ve vanadyum (III) klorür Sigma-Aldrich Chemical Co (St Louis, MO, ABD) firmasından, disodyum hidrojen fosfat (Na₂HPO₄), AppliChem firmasından (Biochemica, Darmstadt, Almanya) ve saf etanol, Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından sağlanmıştır.

3.3. Biyokimyasal Çalışmalar

3.3.1. Serumdaki Ölçümler

Serum Kolinesteraz Ölçümü; R1 şişesi fosfat tamponu (pH 7.7 = 50 mmol/L), 5,5-DTNB 0.25 mmol/L; R2 şişesi butiriltiyokolün (7 mmol/ L) ayıracını içermektedir. Ayıraçlar hazırlanarak, birinci ayıracın çözülmesi için 50 ml serum fizyolojik (WR1), ikinci ayıraç için ise 3 ml soğuk steril distile su ile eklendi (WR2). Şişelerin kapakları kapatılarak çözülen içerik yavaşça karıştırıldı ve serum örnekleri ½ oranında serum fizyolojikle dilüe edildi. Hem ayıraçlar hem de serum örneği karıştırıldı ve 30 dakika bekletildi. 37°C'de 405 nm dalga boyunda otoanalizatör sistemde (Prestige 24i, Tokyo Boeki Medical System, Japonya) kolinesteraz-CHE-Bi Kit (Spinreact, S.A., İspanya) kullanılarak kolorometrik-enzimatik yöntem ile ölçüldü (115). Normal cut-off değeri olarak 5599 (4599-6599) alındı.

Serum CK ve CK-MB ölçümü; Klinik Kimya Otoanalizatörü'nde (Prestige 24i, Tokyo Boeki Medical System, Japonya) CK, CK-MB kiti (Prestige 24 i LQ CK, CK-MB Diagnostic Kit) kullanılarak kolorometrik-enzimatik yöntem ile ölçüldü. CK için

referans değerleri (25-200 U/L), CK-MB için referans değerleri (0-24 U/L) olarak kabul edildi.

Serum miyoglobin lümü; Miyoglobinin tayini için solid faz enzim bağlı immunosorbent analiz tekniği olan ELİZA yöntemi (DRG International, Inc., ABD) kullanıldı. Önceden santrifuj edilip hazırlanmış serum örneklerinde analiz gerçekleştirildi. Örneklerdeki miyoglobin konsantrasyonu direkt olarak oluşan renk yoğunluğu ile doğru orantılıydı. Absorbans spektrofotometrik olarak 450 nm’de ölçüldü (EL_X 800 Universal Microplate Reader. Bio-Tek Instruments Inc., Vermont, ABD). Söz konusu örneklerdeki miyoglobin konsantrasyonu standart eğriden elde edilen faktörle hesaplandı.

Serum Troponin I lümü; Troponin I’nın tayini için ELİZA kiti (DRG International, Inc., ABD) kullanıldı. Santrifuj edilerek hazırlanmış serum örneklerinde analiz gerçekleştirildi. Örneklerdeki T-I konsantrasyonu direkt olarak oluşan renk yoğunluğu ile doğru orantılıydı. Absorbans spektrofotometrik olarak 450 nm’de ölçüldü (EL_X 800 Universal Microplate Reader. Bio-Tek Instruments Inc., Vermont, ABD). Örneklerdeki T-I konsantrasyonu standart eğriden elde edilen faktörle hesaplandı.

Serum NT-proBNP aktivitesi tayini için ELİZA kiti (Diagnostic automation Inc., Calabasas, ABD) kullanıldı. Bu yöntem immünoreaktif NT-proBNP ölçmek için yarışmalı enzim immünassay analiz tekniği olup, örneklerdeki NT-proBNP konsantrasyonu oluşan renk yoğunluğu ile ters orantılıydı. Absorbans spektrofotometrik olarak 450 nm’de ölçüldü (EL_X 800 Universal Microplate Reader. Bio-Tek Instruments Inc., Vermont, ABD). Örneklerdeki NT-proBNP konsantrasyonu standart eğriden elde edilen faktörle hesaplandı.

Serum NO lümü; Serum örneklerini deproteinize etmek için, 1:2 v/v oranında soğutulmuş (0°C) absolu etanol eklenerek serum vortekslendi. Örnekler 30 dakika 0°C’de inkübe edildikten sonra 10000 rpm’de 5 dakika santrifuj edildi. Elde edilen süpernatant, 95°C’deki vanadyum (III)-HCl içine enjekte edildi ve nitrat, nitrit ve S-nitroso bileşiklerinin NO’e indirgenmesi sonucu oluşan NO’in lümü, NO/ozon kemiluminesans tekniği ile NOA 280i (Sievers Instruments, Boulder, CO, ABD) NO analizörü kullanarak yapıldı. Bütün rnekler iki kez çalışıldı. Standart eğri NaNO₃’n dilüsyonları (0.1–100 µM) kullanarak gerçekleştirildi. Örneklerdeki NO konsantrasyonu standart eğri ile belirlendi ve serum rnekleri µM olarak hesaplandı.

Ölçümlerde ve analizde NO Analysis™ (version 3.21, Sievers, Boulder, CO, ABD) programı kullanıldı (116).

3.3.2. Dokudaki Ölçümler

Saklanan kalp dokuları çalışma günü tartıldı ve makasla kıyılarak küçük parçalara ayrıldı. Parçalanan dokulara soğutulmuş 4 hacim TRIS HCl tamponu (50 µM, pH=7.4) eklenerek buz içinde ultrasonik homojenizatör (Branson sonifier 150, Dnabury, CT, ABD) ile doku homojenizasyonu sağlandı. Homojenize edilen tüm dokular 4500 rpm'de 30 dakikada santrifüj (Eppendorf, Centrifuge 5810R, Almanya) edilerek elde edilen süpernatantlar doku analizi (NO, MDA, glutasyon ölçümleri) için 4 farklı ependorf tüpüne alındı. Hem serum hem de dokuların hazırlanma aşamasındaki tüm işlemler (serum ayırma, dokuların homojenize edilmesi gibi) +4 °C'de yapıldı (117).

Doku nitrik oksit ölçümü; Kalp doku homojenizasyonundan elde edilen süpernatanta, serumda NO'yu ölçmek için kullanılan yöntemin aynısı uygulandı. Örneklerdeki NO miktarı µmol/g yaş doku olarak hesaplandı.

Doku MDA ölçülmesi; Lipid peroksidasyonu tiyobarbitürik asit reaksiyonu kullanılarak tayin edildi. On ml'lik bir deney tüpüne % 20'lik asetik asit çözeltisinden (pH=3.5) 1.5 ml, %8.1'lik sodyum dodesil sülfat çözeltisinden 200 µl, %0.8'lik tiyobarbitürik asit çözeltisinden (pH, NaOH ile ayarlanır) 1.5 ml, hazırlanmış butile hidroksitoluen çözeltisinden (10 ml saf etanol içinde çözülür) 100 µl, 100 µl doku homojenatı (doku için 600 µl distile su konur) eklendi. Bu reaksiyon karışımı aerobik şartlarda, 95°C'da 60 dakika inkübe edildi. Tüpler soğutulduktan sonra her tüpe 1 ml distile su ilave edildi. Daha sonra butanol-piridin çözeltisinden (butanol/piridin 14/1) 5 ml konuldu ve kuvvetle karıştırıldı. Numuneler, 3000 g'de (4000 rpm'de) 10 dakika santrifüj edildi ve tüpün üst kısmında bulunan süpernatant spektrofotometrik (ELX 800 Universal Microplate Reader. Bio-Tek Instruments Inc., Vermont, ABD) olarak 532 nm'de ölçüldü. Sonuçlar nmol/g yaş doku olarak ifade edildi (118).

Doku glutasyon ölçümü; Modifiye Ellman metodu kalp dokusundan glutasyon analizi için kullanıldı. Homojenize edilen doku örneğinden elde edilen 1500 µl süpernatant, 18-20°C'de 3000 devirde 8 dakika santrifüj edildi. Bir ependorf tüpüne 1000 µl 0.3 M Na₂HPO₄ 2H₂O (0.3M Na₂HPO₄; 2H₂O 10.6549 g madde 200 ml'de, anhidraz ise 8.5176 g madde 200 ml distile suda çözünür), 125µl DTNB (40 mg DTNB

(ditiyo-bis(2-nitrobenzoik asit) %1'lik 100 ml Na-sitratta çözülür), 250 µl süpernatant eklendi. Oda sıcaklığında 5-10 dakika beklendi. Oluşan numuneler spektrofotometrede 412 nm'de ölçüldü. Glutatyon düzeyleri 13600/M/cm katsayısı ile hesaplandı. Sonuçlar, numunenin optik dansitesi (absorbans) x 4.23/gramda doku ağırlığı ile hesaplanarak µmol/g olarak ifade edildi (119).

3.4. Histopatolojik Değerlendirme

Alınan kalp örneklerine aşağıdaki işlemler uygulanarak mikroskopik incelemeye hazır hale getirildi. Formalin (%10) içerisindeki doku örneklerinden, ince kesitler alınarak doku takip sepetlerine kondu ve doku takip cihazında saklandı. Doku takip cihazında otomatik sistemle bloklama işlemi (fiksasyon, dehidratasyon, şeffaflandırma ve sertleştirme işlemleri için sırasıyla %10 formolaldehid, %96 etil alkol, ksilol ve parafin kullanılarak) yapıldı. Mikrotomda (Leica RM 2145 mikrotom, Almanya) 4 µm kalınlığındaki parafinli kesitler dört farklı lama alındı. Lamlar 70 °C'de yarım saat deparafinizasyon işlemine tabi tutuldu, daha sonra ksilol içerisinde lamin üzerindeki parafinin temizlenmesi sağlandı. Hazırlanan preparatlar, hematoksilin-eozin, apoptosis ve iNOS için farklı metodlar kullanılarak değerlendirildi.

Birinci preparata hematoksilin-eozin boyaması yapıldı ve ışık mikroskobu ile 10x40 ve 10x10 büyütmede incelendi.

İkinci preparat kardiyak hücrelerde iNOS aktivitesini değerlendirmek için kullanıldı. Parafin bloklara gömülmüş olan doku kesitleri ImmunoCruz™ Staining System (Santa Cruz Biotechnology, Inc, California, ABD) kullanılarak değerlendirildi. ImmunoCruz™ Staining System; serum blok, peroksidaz blok, biotinli ikincil antikor, HRP-Streptavidin ayırıcı, 50x peroksidaz substrat, 50x DAB (coloring substrat) kromojen ve 10x substrat tampon içermekte olup, bu ayıraçların her biri dilüe edildi ve üretici firmanın prosedürü doğrultusunda immünohistokimyasal boyamalar yapıldı (www.scbt.com, 2007). Hücre sitoplazmasının iNOS ile boyanma yoğunluğuna göre 4 tür skorlama tariflendi (Tablo 2).

Tablo 2: iNOS skorlaması

Skor	iNOS boyanma yoğunluğu
0	Boyama yok
1	Az miktarda boyanma
2	Orta derecede boyanma
3	Fazla miktarda boyanma

Üçüncü ve son preparat ise kardiyak hücrelerde apoptozisin değerlendirilmesi için kullanıldı. Parafine gömülmüş doku kesitleri, TUNEL metodu kullanılarak in situ apoptosis ölçüm kiti (Takara Bio Inc., Otsu, Shiga, Japonya) ile değerlendirildi. Doku kesitleri deparafinize edilip rehidratasyona (distile su ile yıkanarak) tabi tutuldu ve oda sıcaklığında 15 dakika 10-20 µg/ml proteinaz K (Takara Bio Inc., Otsu, Shiga, Japonya) ile inkübe edildi. Endojen peroksidaz aktivitesinden arındırmak için, %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) oda sıcaklığında 10 dakika uygulandı. Sonrasında terminal deoksinükleotidil transferaz (TdT) ve Labeling Safe Buffer ile 37 °C'de 1 saat nemlendirmeye tabi tutuldu ve oda sıcaklığında 30 dakika Anti-FITC HRP konjugat ile antikor reaksiyonu sağlandı. İşlem sonunda yıkama tamponu (PBS) ile doku örnekleri yıkandı. Devamında oda sıcaklığında 10-15 dakika DAB ile renk geliştikten sonra saf su ile arındırıldı. Daha sonra preparat, hematoksilin ile boyandı. Doku örnekleri %100 butanol ile dehidrate edildikten sonra ksilen ve Entellan (Merck Scientific Corporation, Fairlacon, N.J., ABD) uygulanarak ışık mikroskobu ile 10x40 ve 10x10 büyütme ile incelendi (www.takara-bio.com, 2007). Her bir preparatta TUNEL pozitif hücre nükleuslarının boyanma miktarlarına göre 4 tür skorlama tariflendi (Tablo 3).

Tablo 3: Apoptosis skorlaması

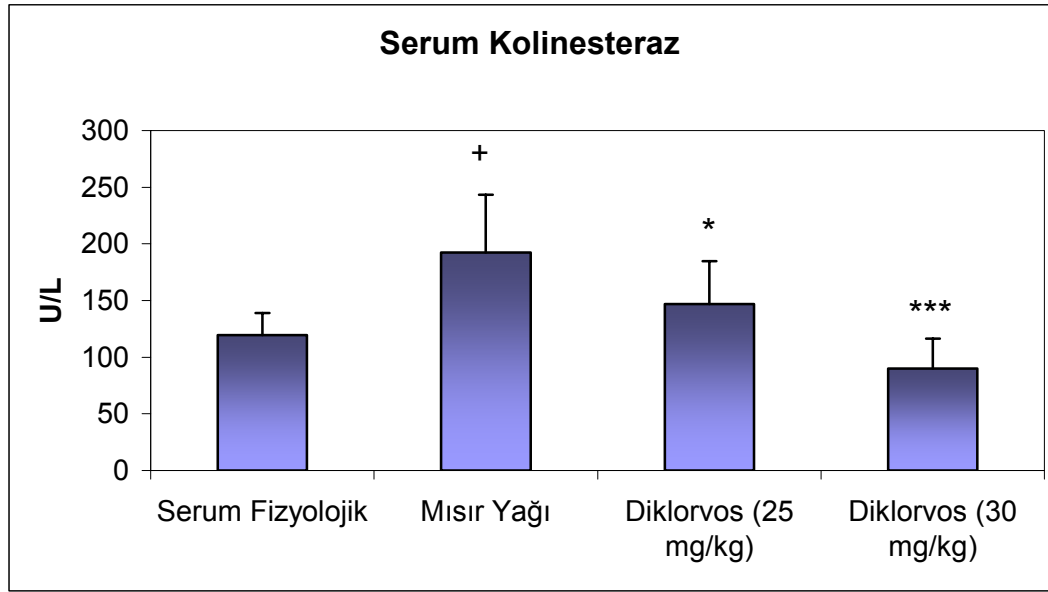
Skor	Apoptosis derecesi	Boyanma miktarı
0	Apoptosis yok	Boyanma yok
1	Hafif derecede apoptosis	Az miktarda boyanma (1-3)
2	Orta derecede apoptosis	Orta derecede boyanma (4-8)
3	Şiddetli apoptosis	Fazla miktarda boyanma (9+)

3.5. İstatistiksel Çalışmalar

Sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak verildi. İstatistiksel analiz GraphPad InStat (version 3.05) kullanılarak yapıldı. İki'den fazla gruplar arasındaki karşılaştırmalarda tek yönlü varyans analiz testi (ANOVA) kullanıldı, anlamlılık tespit edildiğinde analize (post-hock test) Student–Newman–Keuls testi ile devam edildi. Skorların istatistiksel analizinde Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Gruplar arasındaki mortalite ve %95 güven aralıkları Fisher'in kesin Ki-kare testi ile değerlendirildi. Tüm karşılaştırmalar için 0.05'den küçük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Deneyler, 82 adet, 200–400 g ağırlığında, erkek Wistar albino cinsi sıçanlar ile yapıldı. Serum fizyolojik, mısır yağı (MY, kontrol), D25, D30, A, Mg, PAM ve A+PAM olmak üzere toplam 8 grup oluşturuldu.

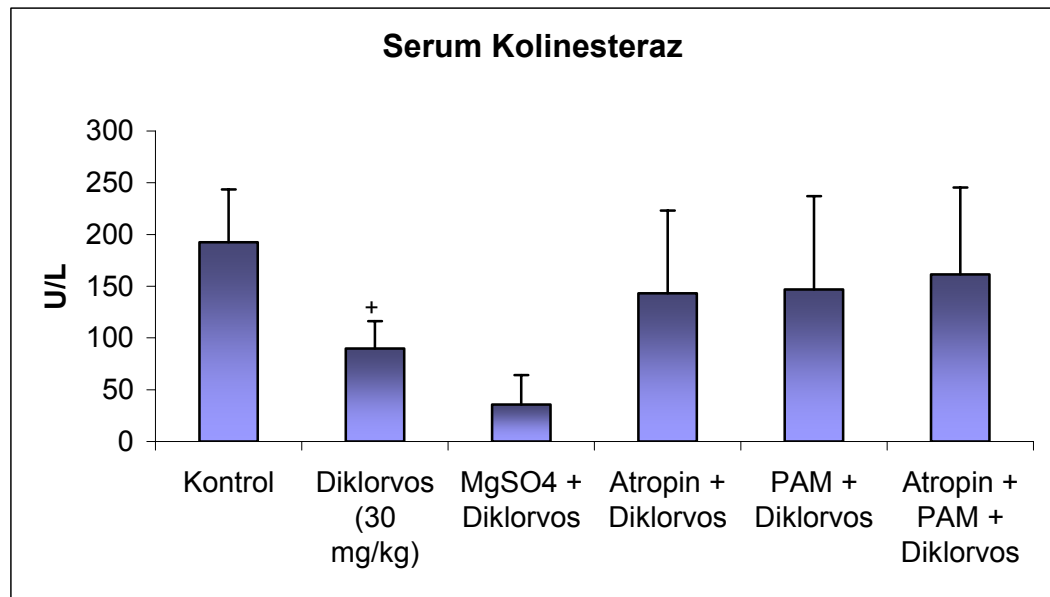


Şekil 2. SF, MY, D25 ve D30 gruplarındaki serum ChE değerleri (* $p < 0.05$ MY grubuna, + $p < 0.001$ SF grubuna, *** $p < 0.001$ MY grubuna göre)

Serum ChE seviyesinin SF grubunda MY (kontrol) grubuna göre düşük olduğu ($p < 0.05$) görülürken, yine MY grubuna göre, D25 grubunda serum ChE'nin anlamlı ($p < 0.05$) şekilde daha düşük olduğu, D30 grubunda ise bu inhibisyonun daha da belirgin olduğu ($p < 0.001$) izlenmektedir (Şekil 2). Yine MY grubuna göre, D30 ve Mg gruplarındaki ChE değerleri istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) düşüklük gösterirken, ChE değerleri; A, PAM ve A+PAM gruplarında hafif inhibisyon eğiliminde olmakla birlikte, istatistiksel olarak anlamlı olan bir farklılık ($p > 0.05$) izlenmedi (Şekil 3, tablo 4).

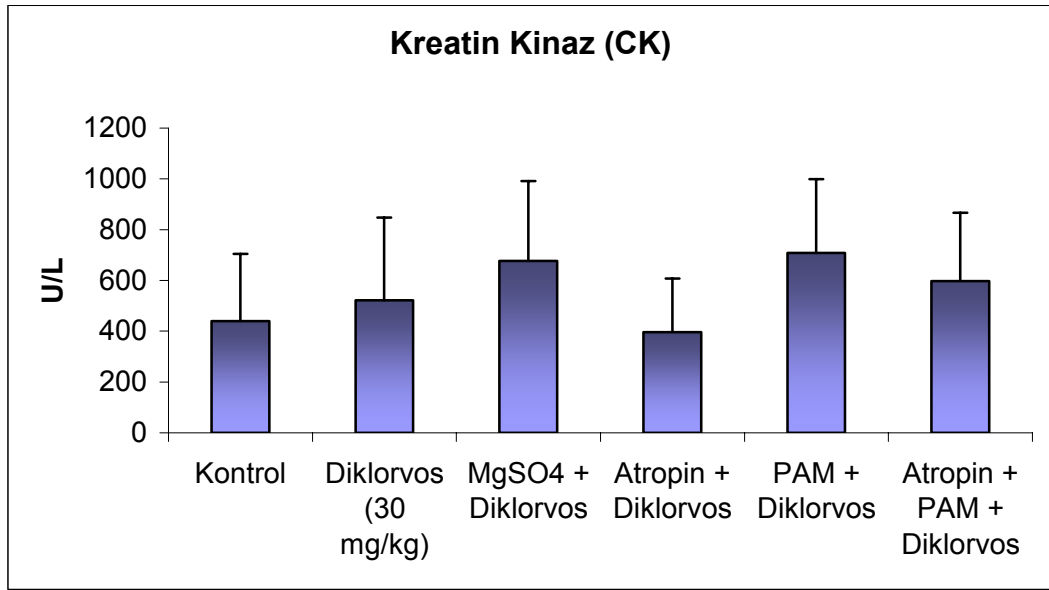
Tablo 4. Serum Parametreleri (Ortalama±SD)

Gruplar	ChE (U/L)	CK (U/L)	CK-MB (U/L)	Mb (ng/ml)	Tn-I (ng/ml)	NT-proBNP (fmol/ml)	NO (uM)
Mısır Yağı (n=8)	192.5±51	439.8±265.2	449.8±303.3	19±11.9	0.5±0.4	191.4±21.3	102.3±53
Diklorvos 30 (n=15)	89.9±26.4	522.1±325.9	487.5±282.5	16.1±10.1	1.1±0.8	238.5±54.2	63.6±11.7
Atropin (n=10)	143.2±79.9	396.4±211.3	391.9±196.1	13±7.8	0.8±0.3	200±62.3	66.1±33.2
Mağnezyum (n=10)	35.6±28.7	677±315	640.5±349.8	15.8±11.5	0.9±0.4	217.7±59.7	56.8±8.4
Pralidoksim (n=10)	146.8±90.4	708.8±289.8	729.7±297.3	16.6±10.6	0.9±0.4	146.8±90.4	98.8±22,6
Atropin-PAM (n=10)	161.4±84.1	597.6±268.3	587.3±247.4	8.5±5.7	1±0.4	197.4±59.6	41.1±16,3

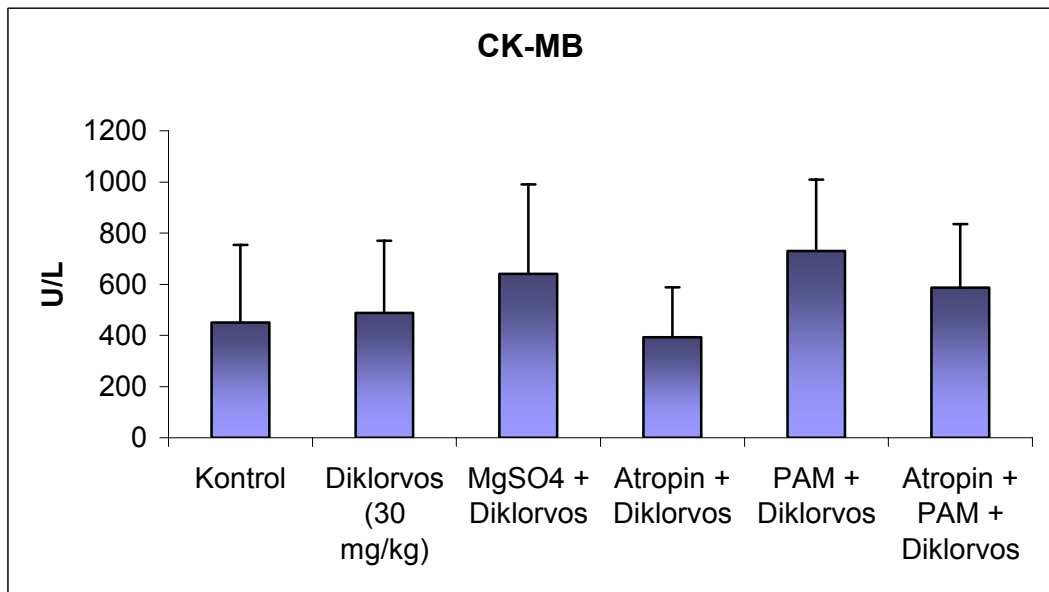
**Şekil 3.** D30, Mg, A, PAM ve A+PAM gruplarındaki ChE değerleri (+p<0.05 MY'na göre)

Serum fizyolojik ve D25 gruplarındaki sıçanlardan elde edilen doku ve serum örnekleri (serum ChE dışındaki) hem biyokimyasal hem de histopatolojik açıdan değerlendirmeye alınmamıştır.

Kreatin kinaz, CK-MB değerleri D30, Mg, PAM ve A+PAM gruplarında yükselme, A grubunda ise düşme eğilimi göstermekle birlikte, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı olan bir farklılık (p>0.05) görülmemiştir (Şekil 4-5, Tablo 4).

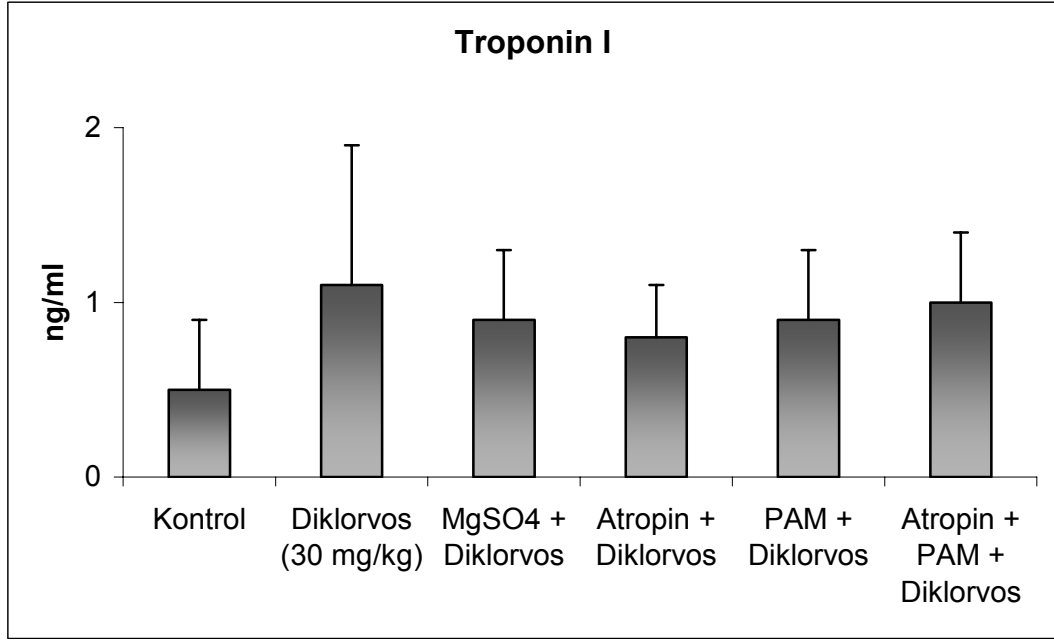


Şekil 4. Gruplardaki CK değerleri



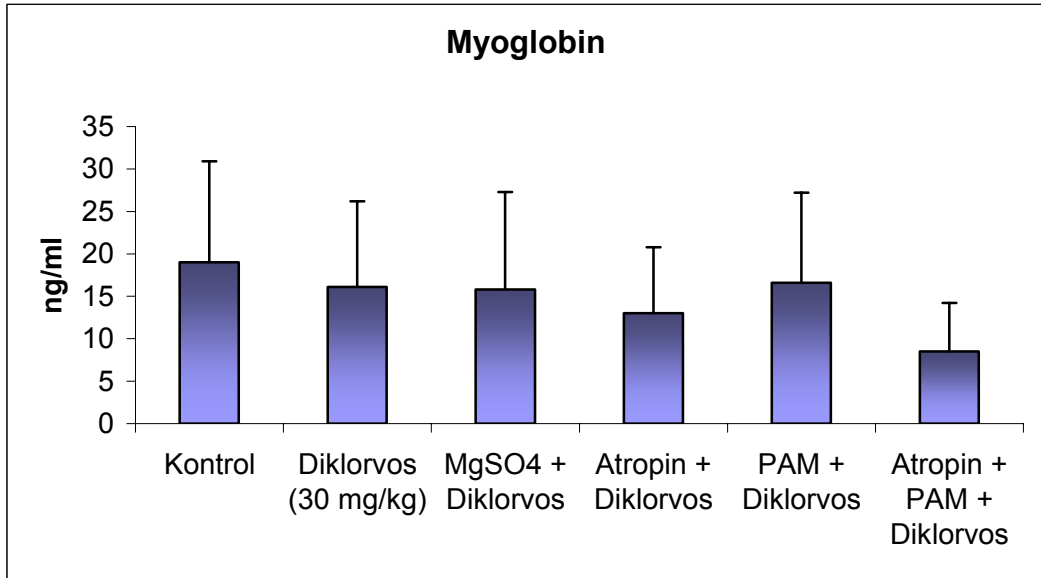
Şekil 5. Gruplardaki CK-MB değerleri

Troponin I, D30, Mg, A, PAM, A+PAM gruplarında kontrol grubuna göre daha yüksek izlenimi vermekle birlikte, istatistiksel olarak anlamlı olan bir farklılık ($p>0.05$) elde edilmedi (Şekil 6, Tablo 4).



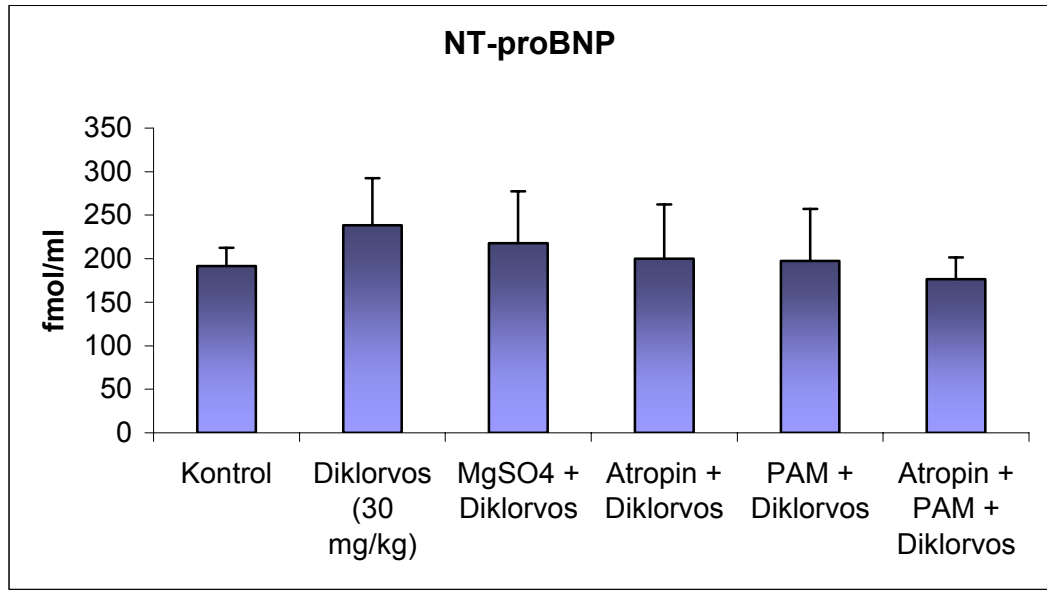
Şekil 6. Gruplardaki troponin-I değerleri

Myoglobin değerleri kontrol grubuna (MY) göre, diğer gruplarda yükselmiş gibi görünmekle birlikte, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı olan bir farklılık ($p>0.05$) göstermedi (Şekil 7, Tablo 4).



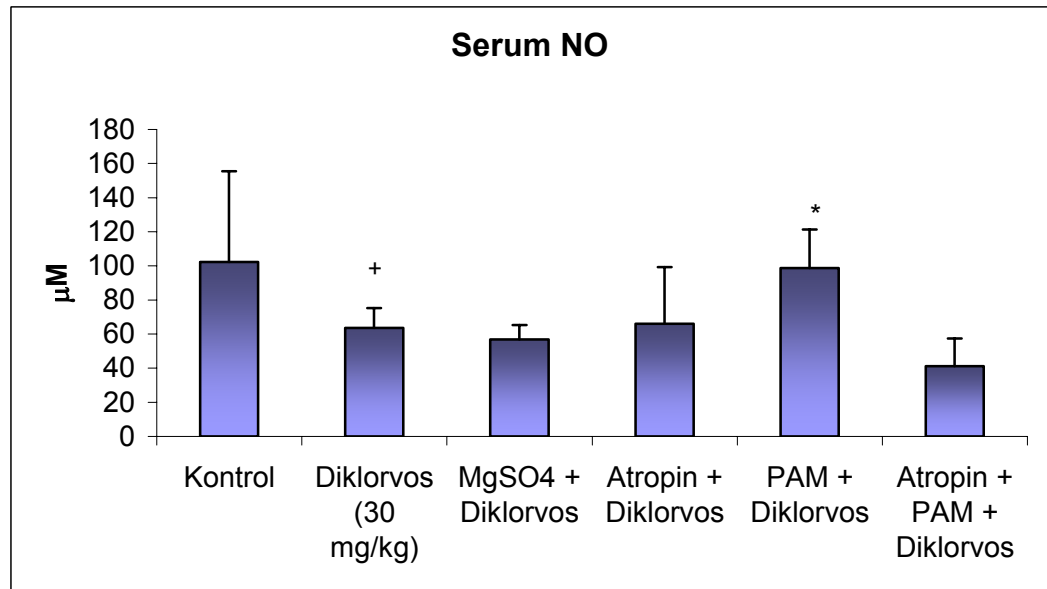
Şekil 7. Gruplardaki myoglobin değerleri

NT-proBNP, D30 grubunda kontrol grubuna göre yükselme eğilimi taşımakla birlikte, bu diğer gruplar arasındaki farklılık izlenimi istatistiksel olarak anlamlı ($p>0.05$) değildi (Şekil 8, Tablo 4).



Şekil 8. Gruplardaki NT-proBNP değerleri

Serum NO düzeyleri, D30 grubunda kontrol (MY) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olan düşüklük gösterdi ($p < 0.05$). Pralidoksim verilen grupta MY grubuna göre farklılık bulunmazken, DC30 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olan farklılık ($p < 0.05$) vardı. Nitrik oksit düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı olan başka bir farklılık gözlenmedi (Şekil 9, Tablo 4).

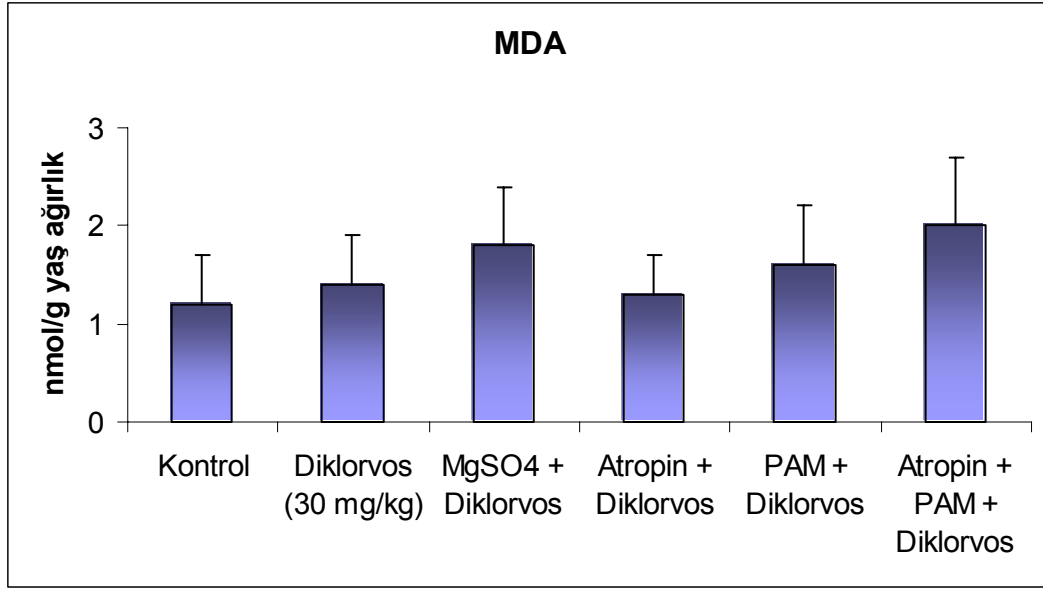


Şekil 9. Gruplardaki serum NO değerleri. * $p < 0.05$ diklorvos grubuna göre, + $p < 0.05$ kontrol grubuna göre

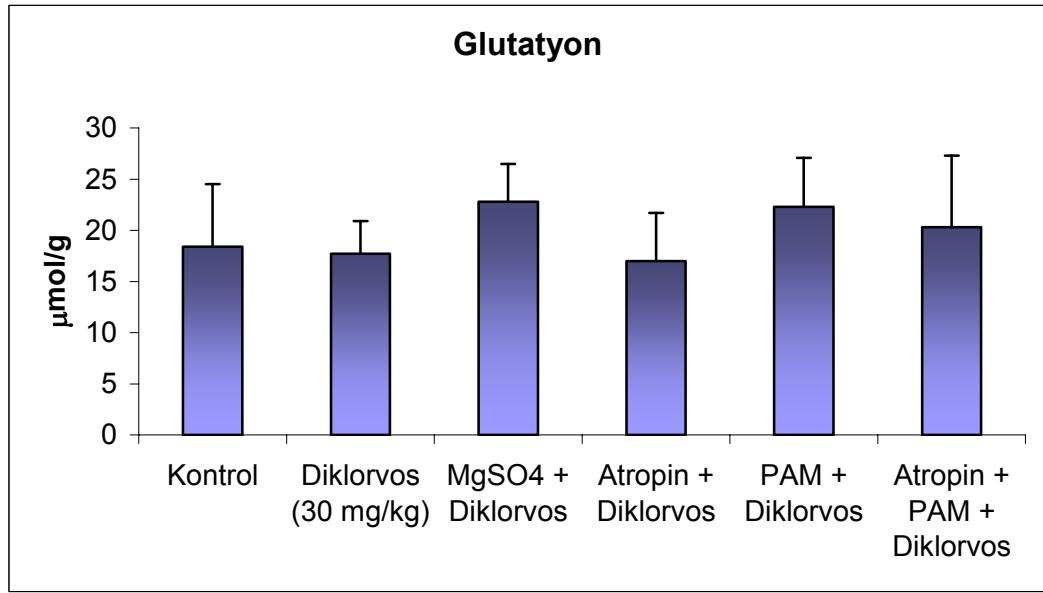
Tablo 5. Doku parametreleri

Gruplar	MDA (nmol/g doku)	Glutasyon (umol/g doku)	NO (umol/g doku)
Mısır Yağı (n=8)	1.2±0.5	18.4±6.1	19.7±4.7
Diklorvos 30 (n=15)	1.4±0.5	17.7±3.2	22.9±6.6
Atropin (n=10)	1.3±0.4	17.0±4.7	22.6±11.5
Mağnezyum (n=10)	1.8±0.6	22.8±3.7	93.5±31.0
Pralidoksim (n=10)	1.6±0.6	22.3±4.8	45.8±33.6
Atropin+PAM (n=10)	2.0±0.7	20.3±7.0	108.6±44.5

Doku MDA değerleri, kontrol grubuna göre yükselme eğiliminde olmakla birlikte, istatistiksel olarak anlamlı olan bir farklılık ($p>0.05$) bulunmadı (Şekil 10, Tablo 5).

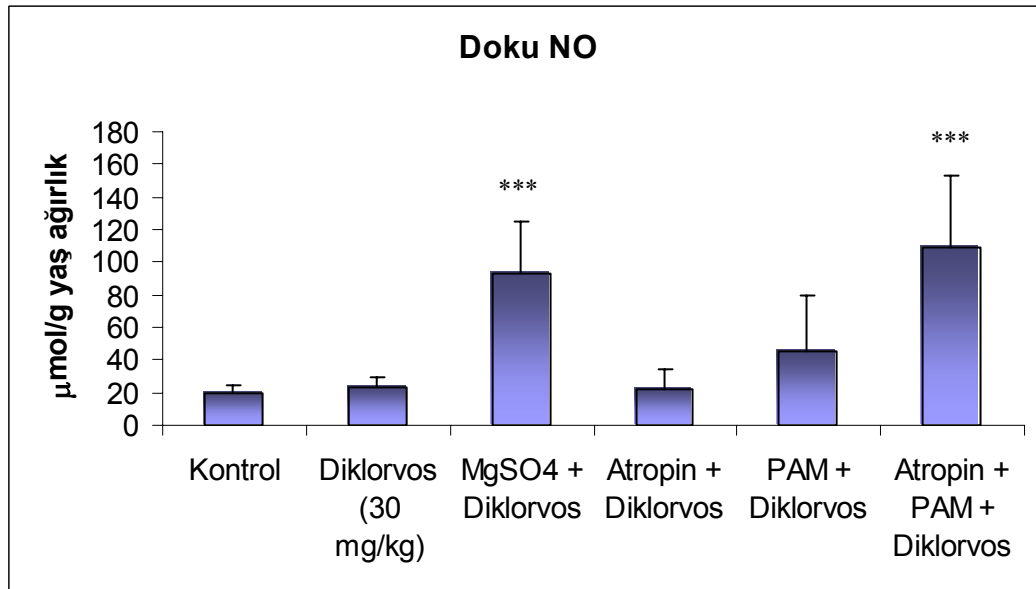
**Şekil 10.** Gruplardaki doku MDA değerleri

Glutasyon değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark ($p>0.05$) bulunmadı (Şekil 11, Tablo 5).



Şekil 11. Gruplardaki doku glutasyon değerleri.

Doku NO değeri Mg ve A+PAM gruplarında DC30 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.001$). Diğer gruplar arasında doku NO açısından farklılık yoktu (Şekil 12, Tablo 5).



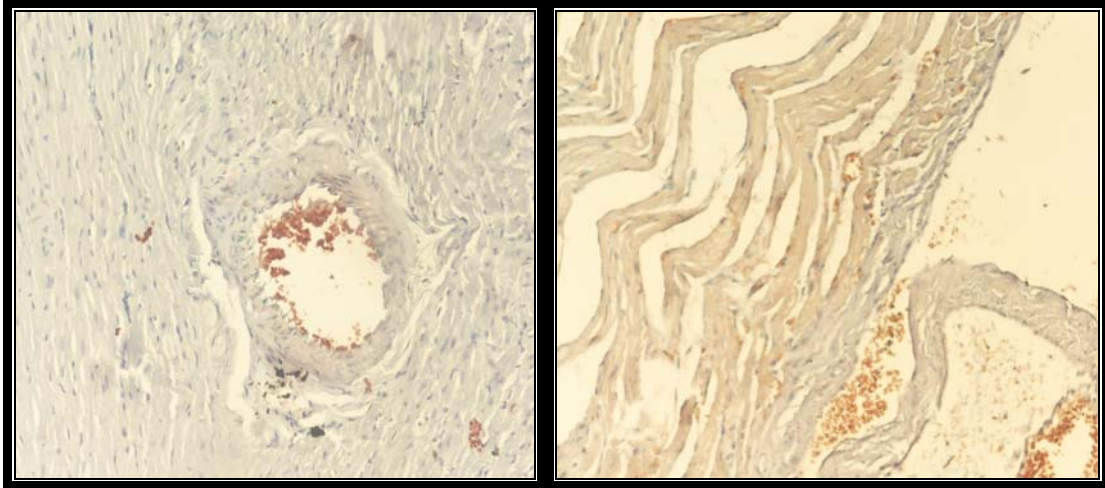
Şekil 12. Gruplardaki doku NO değerleri. *** DC30 grubuna göre $p < 0.001$

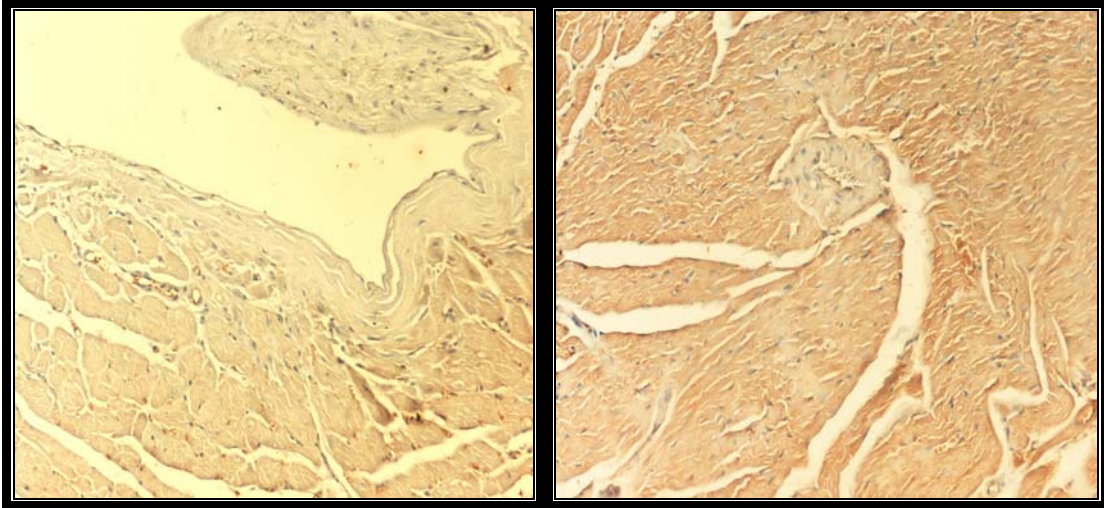
Tablo 6. iNOS skorları

	MY (n=8)	DC30 (n=15)	Mg (n=8)	A (n=10)	PAM (n=10)	A+PAM (n=10)
mean	1	1.6	0.8	1.6	0.8	1.1
stdev	1.1	0.7	0.5	1,2	0.6	1.1
median	1	1.5	1	1.5	1	1
min	0	1	0	0	0	0
maks	3	3	1	3	2	3

Kruskal-Wallis median ($p>0.05$)

İndüklenebilir NOS skoru, D30 ve A gruplarında yüksek olmakla birlikte, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$). Gruplarda 0'dan 3'e kadar olan skorlar görüldü (Tablo 6). Sıçan kalbinde iNOS immunohistokimyasal boyaması (skor 0, 1, 2, 3) ile değerlendirilmiştir (Resim 1–4).

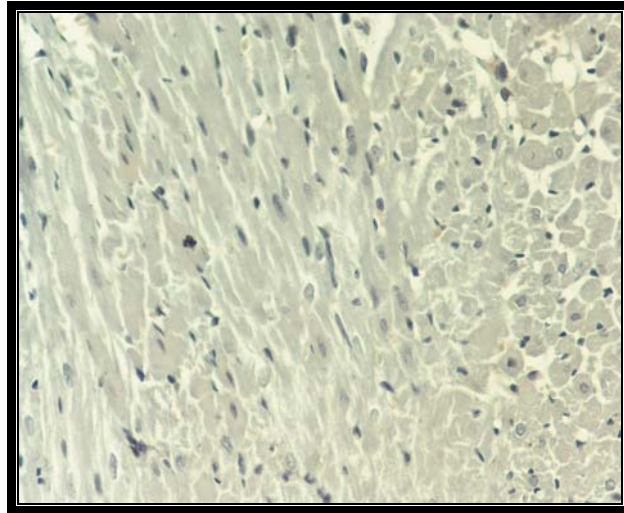
**Resim 1:** iNOS skor 0 (x 40)**Resim 2:** iNOS skor 1 (x 40)



Resim 3: iNOS skor 2 (x 40)

Resim 4: iNOS skor 3 (x 40)

Grupların hiçbirisinde apoptotik değişiklik izlenmedi, diğer bir ifade ile grupların hepsinde apoptosis skoru 0 olarak bulundu (Resim 5).



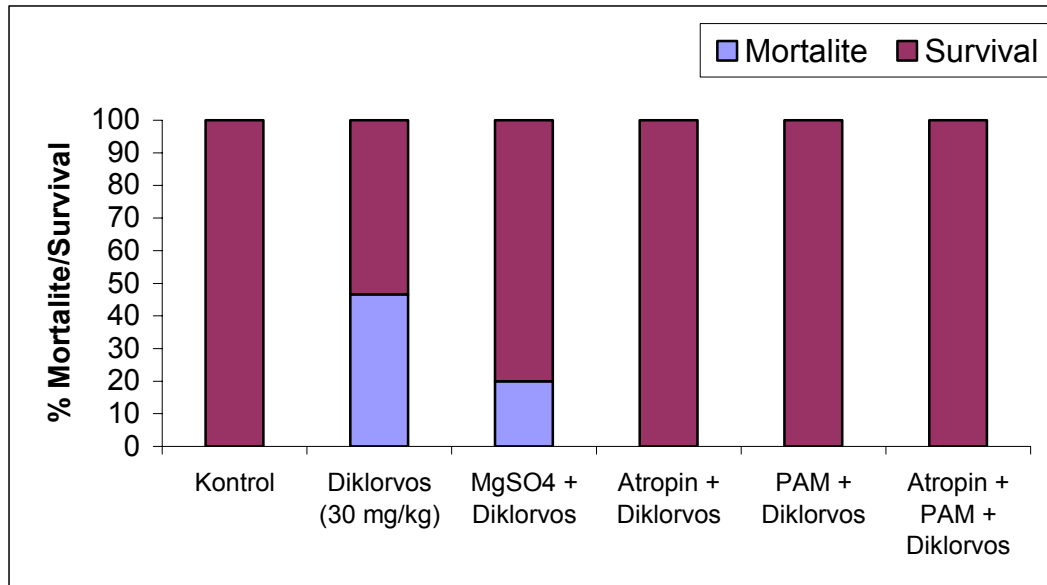
Resim 5: Sıçan kalbinde TUNEL yöntemi ile apoptosis için yapılan boyama (skor 0)
(x 40)

Tablo 7. Çalışma gruplarında mortalite ve survival oranları

Gruplar	MY	DC30	Mg	A	PAM	A+PAM
Mortalite/Survival	0/8	7/15	2/10	0/10	0/10	0/10
Mortalite (%)	0	46.6	20	0	0	0
Survival (%)	100	53.4	80	100	100	100

Çalışma gruplarında organofosfat etkilerine baktığımızda SF, MY, A, PAM, A+PAM gruplarında hiçbir sıçanda kolinerjik semptom görülmedi. DC25 grubunda 10 sıçandan bir tanesinde çok hafif kolinerjik semptom (titreme, hareketsizlik) gözlenirken hiçbir sıçanda ölüm gerçekleşmedi. DC30 grubundaki sıçanların hepsinde kolinerjik semptomlar (güçsüzlük, tremor, konvülsiyon, siyanoz, aşırı sekresyon, solunum yetmezliği ve arrest) ve sıçanlardan 7 tanesinde ölüm gözlemlendi. Mg grubunda sıçanlardan 4 tanesinde kolinerjik semptomlar (siyanoz, tremor, güçsüzlük, konvülsiyon) ve 2 tanesinde ölüm görüldü.

Mısır yağı (kontrol), A, PAM, A+PAM gruplarında mortalitenin olmadığı görülürken, DC30 grubunda 15 sıçandan 7 (%46,6), Mg grubunda ise 10 sıçandan 2 (%20) sıçanda ölüm görüldü ($p<0.05$). Diklorvos ile istatistiksel olarak anlamlı olan mortalite görülürken, A, PAM, A-PAM gruplarında bu mortalitenin yine istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı tesbit edildi ($p<0.05$). Buna karşın Mg grubundaki mortalite oranının istatistiksel olarak anlamlı olan bir azalma göstermediği bulundu ($p=0.2290$) (Şekil 13, Tablo 7).



Şekil 13. Gruplardaki mortalite/survival oranları

5. TARTIŞMA

Zehirlenmeler önemli sağlık problemi ve acil servislere başvuruların sık nedenlerindedir. Zehirlenme insidansı coğrafik ve kùltürel özelliklere bağlı olarak değişebilir. Gelişmekte olan ÷lkelerde kazayla veya kasıtlı olarak meydana gelen zehirlenmelerin yıllık insidansı her 1000 kiři başına 0.2–9.3'dir ve bu oran giderek artmaktadır (120). Türkiye'de Sağlık Bakanlığı 2002 raporlarına göre zehirlenme vakaları acil merkezlerine başvuruların %4.2'sini oluşturmuştur. ÷lkemizdeki epidemiyolojik çalışma sonuçlarına göre acile başvuran zehirlenme sıklığı %0.7-5 olarak bildirilmiştir (121). Hastanemizde 2000-2001 yıllarında yapılan çalışmada ise acil servise başvuran tüm zehirlenme vakalarının oranı %0.7 olarak saptanmıştır (122). ÷lkemizdeki zehirlenme sonucu ölüm oranları çeşitli çalışmalara göre %2.6, %2.8 olarak bildirilmiştir (121,122). ÷lkemizde OB ile zehirlenme sıklığı önceki çalışmalarda %5.6 ve %15.1 olarak rapor edilmiştir (121,123).

Dünyada 100'ün üzerinde pestisid yaygın olarak kullanılmakta ve bu bileşiklere bağlı ciddi zehirlenmeler gör÷lmektedir. Diklorvos pestisitler içerisinde yaygın olarak kullanılan bir organofosfat bileşiğidir (124). Diğer OB ve diklorvos, AChE ve butirilkolinesterazı da içeren karboksilik ester hidrolazların güçlü inhibitörlerindedir. Bu inhibisyona bağlı gelişen ACh birikimi sonucu zehirlenme belirtileri ortaya çıkmaktadır (5). OB ile zehirlenmenin tanısı, alım veya maruziyet sonrasındaki klinik belirtiler ve ChE düzeylerinin (PChE ve AChE) düşüklüğü ve atropin ve oksimlere cevabı ile yapılmaktadır (125). Ölümün; solunum baskılanması, kardiyak toksisite ve santral etkilenmeden kaynaklandığı bu zehirlenmeler, gelişmemiş ÷lkelerde halen önemli bir halk sağlığı sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır (125). Tüm dünyada çalışmalar OB ile zehirlenmenin mortalite oranlarını %3-30 rapor eder. Ventilasyon gerektirecek zehirlenmiş hastalar için mortalite oranı %50 kadar yüksek olabilmektedir (126). Türkiye'de Sungur ve Güven (124) 2001'de yaptıkları çalışmada OB ile zehirlenmeye bağlı ölüm oranı %27.6 bildirmesine rağmen mekanik ventilasyon

gerektiren hastalarda ölüm oranını %50 olarak tespit etmişlerdir. Ülkemizdeki diğer bir çalışmada mortalite oranını %4.7 olarak bildirmiştir (123).

Tedavisinde atropin ve oksim grubu ilaçlar önemli yer tutmasına rağmen, yeni tedavi seçenekleri her zaman araştırılmaktadır. Bu seçeneklerden bir tanesi de i.v. MgSO₄ tedavisidir (127). Diklorvosun serum fizyolojikle çözündürülerek kullanılması, literatürde kısıtlı sayıda bildirilmiş olmakla birlikte (109), deney sırasındaki gözlemlerimiz diklorvosun serum fizyolojikte yeterince çözünmediği ve bulanık bir çözelti oluşturduğu şeklinde olmuştur. Ancak oluşturmak istediğimiz kardiyak toksisitenin kısa sürede ve en etkili biçimde görülebilmesi amaçlandığından, genelde bildirilen ve etken maddenin daha iyi çözündüğü mısır yağı çözücü olarak kullanılmıştır. Mısır yağında çözündürülerek oluşturulan (25 mg/kg, i.p.) diklorvos zehirlenmesinde, serum ChE düzeylerinin baskılandığı görülmüştür. Mortalitenin oluşmadığı 25 mg/kg doz yerine, %47 ölümün görüldüğü ve ChE inhibisyonunun daha belirgin olduğu 30 mg/kg'lık diklorvos dozu, deneyde oluşturulan çalışma grubu olarak tercih edilmiştir.

Organofosfat zehirlenmesinin klinik etkileri muskarinik (SLUDGE sendromu; terleme, salivasyon, lakrimasyon, ürinasyon, daire, bulantı, artmış bronşiyal sekresyon, bronkokonstriksiyon, miyozis), nikotinik (kaşıntı, fasikülasyon, güçsüzlük ve ciddi vakalarda paralizisi) ve santral (tremor, konfüzyon, konvülsiyon, solunum depresyonu ve koma) etkilerine bağlıdır (3, 50). Bizim çalışmamızda miyozis, artmış bronşiyal sekresyon, salivasyon, dispne OB'in muskarinik etkileri olarak görülmüştür. Solunum yetmezliği, takipne gibi nikotinik semptomlar ve tremor ve konvülsiyon MSS semptomları da görülmüştür. Çalışma gruplarında organofosfat etkilerine baktığımızda ise mısır yağı ile yapılan kontrol grubunda ve A, PAM, A+PAM gruplarında hiçbir sıçanda kolinerjik semptom görülmedi. Magnezyum sülfat grubunda sıçanlardan 4 tanesinde kolinerjik semptomlar (siyanoz, tremor, güçsüzlük, konvülsiyon) ve 2 tanesinde ölüm görüldü. Diklorvos (30 mg/kg) grubundaki sıçanların hepsinde kolinerjik semptomlar (güçsüzlük, tremor, konvülsiyon, siyanoz, aşırı sekresyon, solunum yetmezliği ve arrest) ve sıçanlardan 7 tanesinde ölüm gözlemlendi. Bu sonuçlar 30 mg/kg diklorvos dozu ile sıçanlarda toksik etkilerin ortaya çıktığını göstermiştir.

Serum ChE baskılanması beklendiği şekilde, hem 25 mg/kg uygulanan diklorvos ile hem de 30 mg/kg uygulanan diklorvos ile elde edilmiştir. Atropin ve PAM ile bu inhibisyon kalkarken, i.v. MgSO₄ ile ChE süpresyonu daha da bariz hale gelmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı olmayan bu bulgu, ChE düzeyleri bakımından çarpıcı bir eğilim olarak karşımıza çıkmaktadır. OB ile zehirlenmelerin tedavisinde halen araştırmalara konu olan MgSO₄ kullanımı açısından ChE enziminin inhibisyonu dezavantaj olarak görülmektedir. Enzim, OB ve i.v. MgSO₄ ilişkileri bakımından, enzim inhibisyonu şeklinde direkt bir bulgu bildirilmemekle birlikte, benzer bir inhibisyon istatistiksel açıdan anlamlılık göstermese de Pajamound ve ark. (127) tarafından yapılan klinik çalışmada da görülmektedir. Pajoumand ve ark. (127) makalelerinde bu bulguyu tartışmadıklarını görmekteyiz. Bunun nedeni istatistiksel açıdan anlamlılık oluşmaması olabilir. Magnezyum sülfatın ChE seviyelerini baskılamasının nedeni bilinmemektedir. OB ile zehirlenmelerde MgSO₄ kullanımı açısından olumsuz bir yön olarak karşımıza çıkan bu durum, farklı bir araştırma konusu olabilir. Atropin ve PAM ile ilgili araştırmalar halen devam etmekle birlikte, OB ile zehirlenmede etkinliği kabul edilmiş olan bu ilaçlar hem tek başlarına hem de birlikte kullanıldıklarında, diklorvos ile ortaya çıkan serum ChE inhibisyonunu ortadan kaldırmışlardır. Mortalite/survival değerlendirmesi yapıldığında; 10 mg/kg atropinin, oluşturulan çalışma grubundaki mortaliteyi etkili bir şekilde önlediği (%47'den %0'a) görülmektedir. Benzer şekilde PAM'ın 40 mg/kg verilmesi de mortaliteyi aynı şekilde sıfırlamaktadır. Mortalite/survival açısından bahsedilen dozlarda kullanılan atropin ve PAM'ın birlikte kullanılmasının, tek başlarına kullanılmalarına bir üstünlük sağlamadığı görülmüştür. Magnezyum sülfat kullanımı mortaliteyi azaltmış (%47'den %20'ye) ancak bu etki istatistiksel açıdan anlamlılık kazanmamıştır. Yüksek sayılabilecek bir dozda (200 mg/kg) MgSO₄'ın mortalite üzerindeki etkisi yetersiz kalmıştır diyebiliriz. Ayrıca MgSO₄'ın hayatta kalmayı yeterince sağlayamamasının, OB ile zehirlenmede anahtar rol oynayan ChE enzim düzeylerini baskılanmış olması ile ilişkili olabileceği ileri sürülebilir.

Organofosfat bileşikleri ile zehirlenmelerde, kardiyak toksisite çeşitli şekillerde tanımlanmış ve zehirlenmeye bağlı ölümlerin bir kısmından sorumlu tutulmuştur (5). Ancak bu raporlardaki kardiyak etkilenim çoğunlukla disritmiler (taşikardi, bradikardi, ventriküler fibrilasyon, torsades de pointes, atrioventriküler iletim defektleri,

idioventriküler ritm, ventriküler ektojik atım, non spesifik ST-T değişiklikleri ve QT uzaması) olarak bildirilmiş vaka çalışmalarından (50, 128) ibarettir ve OB ile zehirlenmelerde erken dönem kardiyak dokudaki toksisiteyi değerlendiren çalışmalar sınırlı sayıdadır (49). Myokardial nekroz, bu sınırlı sayıdaki çalışmalarda belirtilen kardiyak etkilenimlerden birisidir (97). OB ile zehirlenmelerde kardiyak komplikasyon oranı Karki ve ark. (49) tarafından %62 olarak bildirilmiştir. Finkelstein ve ark. (129) ise OB ile zehirlenmede kardiyak disritmi oranını %41 olarak belirtmişlerdir. Kardiyak iskeminin ön planda olmadığı düşünöldüğü için, OB ile oluşun zehirlenmelerde kalpteki hasar durumu geleneksel kardiyak belirteçler (CK, CK-MB) ile değerlendirilmemiş olabilir. Saadeh ve ark. (54) organofosfat ve karbamat zehirlenmesine maruz kalan bazı hastalarda (5/46) serum CK değerlerinin yükseldiğini bildirmişlerdir. Ayrıca kardiyak komplikasyonların ilk saatlerde ortaya çıktığı belirtilen bu çalışmada OB ile zehirlenmelerde kardiyotoksitenin belirlenmesinde serum CK yükselmesinin bir belirteç olabileceği konusunda yorum yapılmamıştır (54). Bu CK artışlarından bazıları EKG'deki ST segment yükselmeleri ile birlikte anılmışken (54), bazı OB zehirlenmelerinde sadece ST yükselmesinden bahsedilmiş, enzim çalışması hakkında bilgi verilmemiştir (49). Çalışmamızda diklorvos ile oluşturulan akut zehirlenmede serum CK ve CK-MB düzeyleri anlamlı olarak etkilenmemiştir ve atropin, PAM ve atropin-PAM kombinasyonu ilaç uygulamasının söz konusu belirteçler üzerinde etkisi görölmemiştir. Bu bulgulardan, akut diklorvos zehirlenmesinde kardiyak etkilenmenin değerlendirilmesi amacı ile serum CK ve CK-MB düzeylerinin ölçölmesinin belirleyici olamayacağı sonucuna varılmıştır.

Bilgilerimize göre OB ile zehirlenme ve cT-I ilişkisinin araştırıldığı bir çalışma bulunmamaktadır. Kardiyak T-I özellikle iskemik nedenlere bağlı gelişen myokardial etkilenmelerde çok önemli bir belirteç olarak günümüzde kullanılmaktadır. Serum cT-I değerlerinin, diklorvos uygulaması ile yükselme eğilimi gösterdiği, ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlılık kazanmadığı görölmüştür. Dolayısıyla cT-I'nın, OB ile zehirlenmede kardiyak etkilenmenin değerlendirilmesi için bir belirteç olarak kullanılamayacağı söylenebilir. Ayrıca atropin, PAM, atropin-PAM ve MgSO₄ uygulamalarının da cT-I üzerinde etkisi olmamıştır. Myoglobin değerlerine baktığımızda gruplar arasında fark görölmemektedir. Akut myokard infarktüsünün

tanısında önemli yeri olan Mb'in, diklorvos zehirlenmesinin ilk saatlerinde bir belirteç olamayacağı ve kullanılan ilaçlar ile etkileşmediği sonucu çıkarılabilir.

Endojen kardiyak hormon olan NT-proBNP, myokardial stres sonucu salınmakta olup, sol ventrikül yetmezliğinin popüler belirteci olarak görülmektedir (67). Bazı araştırmalar ise zehirlenmelerde erken dönemde kardiyak etkilenmenin tespiti için BNP'nin bir belirteç olabileceğini ileri sürmekte birlikte Nt- proBNP ile ilgili henüz bir çalışma bulunmamaktadır (130). Davutoğlu ve ark., (131) karbonmonoksit zehirlenmesinde erken dönemde, bu ilişkiyi göstermişlerdir. Biz de çalışmamızda böyle bir ilişkinin (zehirlenme-erken dönem NT-proBNP yüksekliği) var olabileceğini düşündük. Ancak, diklorvos uygulanması ile NT-proBNP düzeylerinde yükselme eğilimi olmakla birlikte, bu artışın istatistiksel anlamlılık kazanmadığını görülmüştür. Bu anlamlılığın oluşmamasında deney süremizi 6 saat ile sınırlandırmış olmamız rol oynamış olabilir.

Nitrik oksit potansiyel bir antioksidan molekül olarak görev alabilir ve lipid peroksidasyon reaksiyonlarını sonlandırabilir. Bazı araştırmalarda NO'nun lipid peroksidasyonuna bağlı serbest radikal molekülde etkili zincir kıran bir antioksidan madde olduğu iddia edilmiştir (90). Bulgularımıza göre diklorvos ile serum NO seviyeleri anlamlı olarak azalmıştır. Yukarıda bahsedilen NO'nun koruyucu etkisine bağlı olarak, diklorvos uygulaması ile oluşan oksidan stres sırasında NO kullanılmış olabilir. İlaç uygulamalarımıza baktığımızda; PAM verilmesi ile serum NO seviyelerinin arttığını görmekteyiz. Bu artışın mekanizması belirli değildir ve diğer tedavi seçenekleri olan MgSO₄, atropin ve atropin-PAM uygulamalarında görülmemiştir. Literatürde PAM ve atropinin NO veya NO oluşumu üzerindeki etkisini araştıran herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Sadece bir çalışmada oksim deriverlerinin guanilat siklaz aktivatörü olabileceği ve bu etkiye bağlı olarak NO üretimi üzerinde stimülatör etkiye neden olduğu gösterilmiştir (132). Klinik deneyimlerimiz ile uyumlu olarak OB ile zehirlenmiş bir hastanın tedavisinde, atropin verilmeden PAM uygulamasının genelde yapılan bir tedavi şekli olmadığı, PAM verilmesi gereken her hastaya mutlaka atropinin de verilmiş olması gerektiği genel kanaatine de vurgu yapılabilir.

Kardiyak dokuda çalıştığımız NO, MDA ve glutatyon düzeyleri açısından elde ettiğimiz sonuçlara baktığımızda; doku NO seviyeleri, serum düzeylerinin aksine

çalışma ve kontrol grupları arasında farklılık oluşturmamıştır. Tedavide uygulanan $MgSO_4$ ve atropin-PAM'ın kardiyak NO seviyelerini artırdığı saptanmıştır. Bu bulgu bu tedavi seçeneklerinde, kardiyak etkinin NO üzerinden olduğu düşünülebileceği gibi, $MgSO_4$ ve atropin-PAM uygulamalarında NO aşırı düzeyde artmış ise olumsuz etkisinden de söz edilebilir. Zira serbest radikal oluşumuna neden olan NO'nin bazı antioksidan enzimleri azaltarak doku hasarına neden olduğu bilinmektedir (106). Bu deney içeriğine dayanarak doku NO'nin tedavide oluşturduğu olumlu veya olumsuz etki konusunda yorum yapmamız mümkün gözükmemektedir. Yorum yapabileceğimiz konu; NO düzeylerindeki bu değişimin kaynağı olacaktır. Muhtemelen NO düzeylerinden iNOS sorumlu değildir, çünkü iNOS'un immünohistokimyasal olarak değerlendirilmesinde bir değişiklik gözlenmemiştir. Bu ilişki eNOS, nNOS veya her ikisi ile ilişkili olabilir. NO'nun sitoprotektif etkisi yanında (133) NO'dan oluşan peroksinitritin de kardiyak koruyucu etki oluşturduğu bilinmektedir (134).

OB; SOR ile savaşan enzimler veya antioksidanlarda değişiklikler ve serbest radikallerin üretimi sonucu olan oksitadif strese neden olabileceği bildirilmiştir. Bu yüzden, OB hücrel membran ve SOR birbirini direk olarak etkileyerek lipid peroksidasyonunu arttırabilir. Yapılan birkaç çalışmada OB'in neden olduğu toksitede moleküler mekanizmaların birinin LPO olduğunu göstermiştir (32,79). Diklorvosun serum MDA'sında artışa neden olduğu önceki araştırmalar ile rapor edilmiştir (32). Deneyden elde ettiğimiz sonuçlar kardiyak MDA'nın diklorvos ile yükselme eğilimine girdiğini, ancak bu eğilimin istatistiksel anlamlılık kazanmadığını göstermiştir. Altı saatlik süre ile kısıtlı olan deney süresinin kalpte MDA yükselmesi için yeterli olmayabilir. Daha önceki çalışmalarda bildirilen OB ile oluşturulan zehirlenmelerdeki MDA artışları; genellikle kronik OB ile oluşan en azından 6 saatten daha uzun süreleri kapsayan zehirlenmelerdeki etkileri araştıran çalışmalardır. İlaçların kalp MDA'sı üzerindeki etkilerine baktığımızda istatistiksel anlamlılığı olmayan değişimlere neden olmuştur. Çalışmamızdaki bu sonuçlar, akut diklorvos zehirlenmesinde kardiyak lipid peroksidasyonunun önemli katkısının olmadığını göstermektedir.

Antioksidan olan glutatyon seviyesinde, diklorvos zehirlenmesi sonucu hemen hemen hiç bir değişiklik gözlenmemiştir. Bu durum oksidatif hasarlanma belirteci olan MDA yükselmemesi ile paralel olmuştur. Diğer bir ifade ile diklorvos ilk 6 saatte

antioksidan glutasyon seviyesini yükseltecek kadar hasar oluşturmamış diyebiliriz. Verilen tedaviler ile de glutasyon seviyeleri etkilenmemiştir.

Son zamanlarda endotel disfonksiyonundaki ilerlemenin NOS ve süperoksit aşırı üretimi ve bunun sonucu olarak da peroksinitrit oluşumunda bir artışla bağlantılı olduğu ileri sürülmüştür (78). iNOS tarafından oluşturulan NO ve daha sonra oluşturulan peroksinitrit in vivo sitokinlerin oluşturduğu miyokardiyal disfonksiyonun patogenezinde önemli bir rol oynar (78,92). Kardiyak iNOS ekspresyonu ve dağılımı diklorvos verilmesi ile istatistiksel anlamlılık kazanacak bir değişikliğe yol açmamıştır. Daha önce yorumladığımız NO değişikliklerinin iNOS ile ilişkisiz olduğu sonucu çıkarılabilir. Diklorvos zehirlenmesinin ilk 6 saatini içeren akut dönemde immunohistokimyasal metotla değerlendirilen iNOS'da değişiklik gözlenmemiştir. Ayrıca ilaç uygulamalarının da iNOS üzerinde etkisi olmamıştır. Kronik veya 6 saatten daha uzun süredeki etkilerin araştırılması ile farklı sonuçlar elde edilebilir.

Kalp doku hücrelerindeki histopatolojik değerlendirmemizde apoptoz incelendi. Diklorvos zehirlenmesi sonucu %47'lik mortalite olmasına rağmen, kalp hücresinde, programlı hücre ölümü olarak da adlandırılan apoptotik değişime rastlanmadı. Buradan çıkarabileceğimiz en önemli sonuçlardan bir tanesi; şimdiye kadar literatürde bildirilen raporlar ile paralellik göstermesi olmuştur diyebiliriz. Şöyle ki; OB ile zehirlenmelerin kalp üzerindeki bildirilen etkileri genellikle ritm bozuklukları ile ilişkili olup, histopatolojik çalışmalar yok denecek kadar yetersiz kalmıştır (49,79). Çalışmadaki gayelerimizden birisi olan kalp hücresinin histopatolojik değerlendirilmesi sonucunda; diklorvos ile zehirlenmenin ilk saatlerinde mortalitenin önemli nedenlerinden olan kardiyak etkilenmede hücre ölümü görülmemektedir diyebiliriz. Elde ettiğimiz bu bulgu ile bundan sonra, OB ile zehirlenmeye bağlı gelişen ölümün kalpten kaynaklanan kısmında ritm bozukluğunun ön planda olduğunu daha emin bir dille ifade etmemiz mümkün olabilecektir. İlaç uygulamalarının apoptoz üzerinde herhangi bir etkisi de olmamıştır.

Organofosfat bileşikleri ile zehirlenmede kullanılan temel ilaçlardan olan atropin ve PAM'ın etkinliği günümüzde kabul edilmektedir. Diğer bazı tedavi seçenekleri ise halen tartışmalı olup rutin uygulamalarda yer almamaktadır. Atropin, sinaptik kavşaklardaki artmış olan ACh'e bağlı muskarinik semptomları geri çevirerek gösterdiği etkisi ile belirtilerin düzelmesi anlamında en önemli farmakolojik ajandır (1).

Bu çalışmada da olumlu etkilerini görmekteyiz. Kolinesteraz enzimi üzerindeki geri döndürücü etkisi bunlardan birisi olup, 10 mg/kg dozda atropin verilmesi ile enzim üzerinde olumlu katkı sağlamıştır diyebiliriz. Ayrıca atropin verilmesi sonucu CK, CK-MB, cT-I, Mb ve NT-proBNP düzeylerinde farklılık oluşmamıştır. Serum ve doku NO'su, doku MDA ve glutasyonu da atropin uygulamasından etkilenmemiştir. Her ne kadar bu belirteçlerin bir marker olarak kullanılma olanağı olmasa da, A verilmesi ile seviyeleri değişime uğramamıştır. Ayrıca, atropin uygulanması sonucunda enzim düzeylerindeki iyileşmeye paralel olarak mortalitede de düzelme sağlanmıştır.

Diklorvos zehirlenmesinde PAM'ın etkileri atropine benzemekle birlikte, önemli bir farklılık gözlenmiştir. Bu farklılık serum NO seviyeleri olup, PAM verilmesi sonucu artmıştır. Serum NO düzeyindeki artış, PAM ile oluşan koruyucu etkide NO'nun rolü olabileceğini düşündürmektedir. Nitrik oksit, membranları kolayca geçebilen lipofilik bir moleküldür ve NOS enziminin katalize ettiği bir dizi reaksiyon sonucunda oluşur (87). Pralidoksim uygulaması ile ortaya çıkan NO düzeylerindeki bu artıştan muhtemelen iNOS sorumlu gözükmemektedir.

Atropin ve PAM'ın birlikte verilmesi sonucu kalp dokusu NO seviyelerinin arttığını saptanmıştır. Pralidoksim ve atropinin tek başlarına verilmeleri ile görülmeyen bu bulgu, ilaçların birlikte verilmesi ile görülmüştür. Birlikte oluşan bu etkinin nedeni bilinmemektedir. Klinik uygulamalarda önemli yeri olan atropin-PAM tedavi kombinasyonunun bilinmeyen yönlerinden birisi olabilir. Benzer etkinin MgSO₄ verilmesi ile de ortaya çıktığı görülmüştür. Atropin-PAM ve MgSO₄ aynı veya farklı nedenlerle söz konusu etkiyi ortaya çıkarmış olabilir. Bu nedenle araştırılması gereken noktalardan birisi olduğunu düşünmekteyiz.

Organofosfat bileşikleriyle zehirlenmelerde atropin ve oksimler ile iyi sonuçlar alınmakla birlikte, yeni tedavi seçenekleri her zaman aranmaktadır. OB ile zehirlenmelerde görülebilen disritmilerin (50,125) sorun oluşturduğu hatta ölümcül olabileceği göz önüne alındığında, atropin ve oksimler dışında başka tedavi seçeneklerinin de aranma ihtiyacı her zaman olmuştur. Bu tedavi seçeneklerinden birisi olan i.v. MgSO₄ uygulanması ile ilgili bildirilmiş birçok rapor vardır. Yapılan çalışmalar çoğunlukla MgSO₄'ın, kalpte elektriksel iletim mekanizmasına yaptığı olumlu katkılar ile ilgilidir (135). Yapılan bu araştırma ile ise MgSO₄'ın, kalbin iletim sistemi dışında, alternatif denebilecek biyokimyasal, histopatolojik ve immunohistokimyasal

parametreler üzerindeki etkisini incelenmiştir. Magnezyum sülfatın diklorvos ile zehirlenmiş sıçanlardaki etkilerine baktığımızda; birincisi istatistiksel olarak anlamlı olmasa da serum ChE düzeylerinin biraz daha baskılanma eğiliminde olması, ikincisi mortalite üzerinde anlamlı olan bir düzelme sağlamamış olması, son ve istatistiksel olarak anlamlı olan etkisi ise kalp dokusu NO seviyelerini artırmış olmasıdır. Bahsedilen ilk etki yukarıda tartışılmış olup, $MgSO_4$ -ChE ilişkisi açısından daha kapsamlı araştırmaların yapılması gerektiği kanaatindeyiz. Zira, ChE enzimi OB ile zehirlenmelerde önemli bir yere sahiptir ve tedavi için verilen bir ajanın bu enzim üzerinde azaltıcı etkisi olmamalıdır görüşündeyiz. Magnezyum sülfatın mortalite üzerindeki etkisi (%47'den %20'ye) de sınırlı olmuştur ve istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır. Diğer bir ifade ile $MgSO_4$, diklorvos zehirlenmesinde ölümden yeterince koruyamamıştır. Zehirlenmenin tedavisinde en önemli amaçlardan birisi olan sağ kalımı yeterince sağlayamayan $MgSO_4$ 'ın, ChE enzimi üzerindeki azaltıcı eğilim göstermesi şeklindeki etkisi ile birlikte tedavideki değerinin azaldığı görüşü ileri sürülebilir. Magnezyumun, insan umbilikal ven endotel hücrelerinde eNOS aracılığı ile NO sentezini artırdığı bilinmektedir (136). Endotelial NOS ve nöronal NOS kalsiyum bağımlı enzimler olduğundan, $MgSO_4$, kalsiyum kanallarını bloke ederek (137) NO sentezini bu enzimler ile azaltmış olması da beklenir. Bu çalışmadaki iNOS değerleri $MgSO_4$ ile değişmediğinden, $MgSO_4$ 'ın NO'yi artırması durumunun iNOS ile ilgili olmadığı şeklinde yorumlamak mümkündür.

Daha önceki çalışmalarda organofosfat zehirlenmesine bağlı gerek histopatolojik gerekse apoptotik değişiklikler lipid peroksidasyonun göstergesi olan MDA ve glutatyon düzeyindeki değişikliğe bağlı olarak oluşmaktadır. Ancak bizim çalışmamızda MDA ve glutatyon düzeylerinde herhangi bir değişiklik olmamıştır. Bunun sonucunda da grupların hiçbirisinde Diklorvosa bağlı zehirlenmede ilk 6 saatte kalpte apoptotik değişiklik izlenmedi. Apoptoz diklorvosa bağlı olarak kalp dokusunda ilk 6 saatte ortaya çıkmamıştır. Genel bilgiler kısmında da belirttiğimiz gibi bazı OB'ye bağlı apoptozisin görüldüğü bildirilmiştir (32). Altı saatin çok üzerinde oluşturulan kronik zehirlenmeler sonucu oluşan bu etki bizim 6 saat ile sınırlı tuttuğumuz deneyde görülmemiştir.

Sonuç olarak diklorvos zehirlenmesinde, ilk 6 saatte, bahsedilen kardiyak belirteçlerin hiçbirisi kardiyak etkilenim hakkında bilgi vermemektedir ve ilaçların

(atropin, PAM ve MgSO₄) bu belirteçler üzerinde etkisi bulunmamıştır. Erken dönemde kalp hücresinde apoptoz, iNOS ve oksidan–antioksidan dengede (MDA, glutasyon, NO) değişim gözlenmemiştir. Bizim çalışmamızda akut diklorvosa bağlı zehirlenmede (ilk 6 saatte) kardiyak hasarlanma oluşmadığını göstermiştir. Kronik veya 6 saatten daha uzun süredeki etkilerin araştırılması ile farklı sonuçlar elde edilebilir. Böylece bu çalışma atropin ve PAM'ın OB zehirlenmesinde ana ilaç olduğunu tekrar kanıtlanmıştır. Magnezyum sülfat tedavisi akut organofosfat zehirlenmesinde faydasızdır sonucuna varılabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. OB ile zehirlenmeye bağlı kardiyak etkiler daha çok iletim ve ritim bozuklukları şeklinde olup miyokardiyal hasar nadiren bildirilmiştir. Bizim çalışmamız da akut diklorvosa bağlı zehirlenmede kardiyak hasarlanma oluşmadığını göstermiştir.
2. Serum ChE düzeyleri diklorvos ile azaldı ve bu azalmalar atropin, PAM ve atropin-PAM tedavileri ile ortadan kalktı. Böylece bu çalışma atropin ve PAM'ın OB zehirlenmesinde ana ilaç olduğunu tekrar göstermiştir. Ancak serum ChE düzeyleri Mg tedavisi ile daha fazla baskılandı.
3. Organofosfat etkilerine baktığımızda SF, MY, atropin, PAM, atropin-PAM gruplarında hiçbir sıçanda kolinerjik semptom görülmedi. DC30 grubundaki sıçanların hepsinde kolinerjik semptomlar (güçsüzlük, tremor, konvülsiyon, siyanoz, aşırı sekresyon, solunum yetmezliği ve arrest) ve sıçanlardan 7 tanesinde ölüm gözlemlendi. Mg grubunda sıçanlardan 4 tanesinde kolinerjik semptomlar (siyanoz, tremor, güçsüzlük, konvülsiyon) ve 2 tanesinde ölüm görüldü.
4. Mısır yağı (kontrol), atropin, PAM, atropin-PAM gruplarında mortalitenin olmadığı görülürken, DC30 grubunda 15 sıçandan 7 (%46,6) ölüm olduğu görüldü. Atropin, PAM, atropin-PAM gruplarında survival oranları DC30 grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı görüldü. Magnezyum sülfat kullanımı mortaliteyi azaltmış (%47'den %20'ye) ancak bu etki istatistiksel açıdan anlamlılık kazanmamıştır.
5. CK, CK-MB, cT-I, Mb, değerleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı olan bir farklılık görülmemiştir. Bu bulgulardan, akut diklorvos zehirlenmesinde (ilk 6 saat) ve kardiyak etkilenmenin değerlendirilmesi amacı ile serum CK, CK-MB cT-I, Mb Nt-proBNP düzeylerinin ölçülmesinin belirleyici olamayacağı sonucuna varılmıştır.
6. MDA ve glutatyon düzeyleri değişmeden kaldığı için diklorvosa bağlı artmış oksidatif stres için hiçbir kanıt yoktu. Altı saatlik süre ile kısıtlı olan deney süresinin kalpte MDA ve glutatyon yükselmesi için yeterli olmayabilir. Bu sonuçlar

organofosfat zehirlenmesi ile lipid peroksidasyonun artmış olduğunu düşündürmemektedir.

7. İlaçların atropin, PAM ve MgSO₄'ın CK, CK-MB, cT-I, Mb, Nt-proBNP, MDA ve glutatyon üzerine herhangi bir etkisi olmamıştır.
8. Diklorvos ve Mg gruplarında serum NO düzeylerini kontrol grubundan daha düşük göstermemize rağmen kardiyak dokuda NO düzeyleri Mg ve atropin-PAM grubunda diğer iki gruptan daha yüksektir. Muhtemelen NO düzeylerinden iNOS sorumlu değildir, çünkü iNOS'un değerlendirilmesinde bir değişiklik gözlenmemiştir. Bu ilişki eNOS, nNOS veya her ikisi ile ilişkili olabilir.
9. Akut organofosfat zehirlenmesinde (ilk 6 saat) sıçanlarda apoptotik değişiklik tespit edilmemiştir. Kronik veya 6 saatten daha uzun süredeki etkilerin araştırılması ile farklı sonuçlar elde edilebilir.
10. Sonuç olarak. diklorvosa bağlı zehirlenmede kardiyak hasarı belirlemek için, geleneksel kardiyak belirteçler, oksidatif stres ve Nt-proBNP belirgin katkı sağlamamış ve tartışmalı olan Mg tedavisinin akut organofosfat zehirlenmesinin yönetiminde bariz olumlu etkileri olmamıştır diyebiliriz.
11. Bizim çalışmamız da akut diklorvosa bağlı zehirlenmede kardiyak hasarlanma oluşmadığını göstermiştir.

7. KAYNAKLAR

1. Robey WC, Meggs WJ. Insecticides, herbicides, rodenticides. Tintinalli JE, Kalen GD, Stapczynski ÜS. Emergency Medicine. 6th ed. New York; McGraw-Hill Companies. 2004:1134-1143.
2. Karalliedde L. Organophosphorus poisoning and anaesthesia. Anaesthesia. 1999;54:1073–1088.
3. Tafuri J, Roberts J. Organophosphate poisoning. Ann Emerg Med. 1987;16:193-202.
4. Singh S, Sharma N. Neurological syndromes following organophosphate poisoning. Neurol India. 2000;48(4):308-13.
5. Roth A, Zellinger I, Arad M, Atsmon J. Organophosphates and the heart. Chest. 1993;103:576-82.
6. Kwong TC. Organophosphate pesticides: biochemistry and clinical toxicology. Ther Drug Monit. 2002;24(1):144-9.
7. Minton NA, Murray VSG. A review of organophosphate poisoning. Med Toxicol. 1988;3:350-75.
8. Kayaalp S.O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti. 11. Baskı. Cilt 2. 2005: 945-960.
9. Aaron CK, Howland MA. Insecticides: Organophosphates and carbamates. Goldfrank LR, Flomenbaum NE, Lewin NA,. Goldfrank's Toxicologic Emergencies. 6th ed Stamford Connecticut: Appleton-Lange. 2000:1429-1449.
10. Willems JL, De Bisschop HC, Verstraete AG, Declerck C, Christiaens Y, Vanscheeuwyck P, et al. Cholinesterase reactivation in organophosphorus poisoned patients depends on the plasma concentrations of the oxime pralidoxime methylsulphate and of the organophosphate. Arch Toxicol. 1993;67(2):79-84.

11. Saydam CK, Sozmen B, Aslan SL. Organofosfor zehirlenmelerine yaklaşımlar. Türkiye Klin J Med Sci. 2006;26(1):73-77.
12. Peng A, Meng FQ, Sun LF, Ji ZS, Li YH. Therapeutic efficacy of charcoal hemoperfusion in patients with acute severe dichlorvos poisoning. Acta Pharmacol Sin. 2004;25(1):15-21.
13. Atis S, Comelekoglu U, Coskun B, Ozge A, Ersoz G, Talas D. Electrophysiological and histopathological evaluation of respiratory tract, diaphragm and phrenic nerve after dichlorvos inhalation in rats. Inhal Toxicol. 2002;14(2):199-215.
14. Kara İH, Güloğlu C, Karabulut A. Sociodemographic, clinical, and laboratory features of cases of organic phosphorus intoxication who attended the emergency department in the Southeast Anatolian Region of Turkey. Environ Res Section A. 2002;88(2):82-8.
15. Weinbroum AA. Pathophysiological and clinical aspects of combat anticholinesterase poisoning. Br Med Bull. 2005;72:119-133.
16. Alpay NR, Satar S, Sebe A. Organofosfat zehirlenmeleri. Çukurova Üniversitesi Arşiv Dergisi. 2004;13:469-479.
17. Bosse GM, Matyunas NJ. Delayed toxidromes. J Emerg Med. 1999;17:679-690.
18. Şahinoğlu AH. Yoğun Bakım Sorunları ve Tedavileri. İstanbul: Türkiye Klinikleri. 2003:798-802.
19. Murphy MR, Blick DW, Dunn MA, Fanton JW, Hartgraves SL. Diazepam as a treatment for nerve agent poisoning in primates. Aviat Space Environ Med. 1993;64(2):110-5.
20. Stacey R, Morfey D, Payne S. Secondary contamination in organophosphate poisoning: analysis of an incident. Q J Med. 2004; 97:75-80.
21. Eddleston M, Szinicz L, Eyer P, Buckley N. Oximes in acute organophosphorus pesticide poisoning: a systematic review of clinical trials. Q J Med. 2002;95(5):275-83.

22. Debleecker JL. The intermediate syndrome in organophosphate poisoning: An overview of experimental and clinical observation. *J Toxicol Clin Toxicol.* 1995; 33(6):683-6.
23. Singh S. Organophosphate poisoning: An evidence based approach. *MJAFL.* 2004; 60:2-4.
24. Sivangnanam S. Potential therapeutic agents in the management of organophosphate poisoning. *Critical Care.* 2002;6:260-261.
25. 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: 365-368.
26. Parikka H, Toivonen T, Naukkarinen V, Tierala I, Pohjola-Sintonen S, Heikkila J, et al. Decreases by magnesium of QT dispersion and ventricular arrhythmias in patients with acute myocardial infarction. *Eur Heart J.* 1999;20:111–120.
27. Singh G, Avasthi G, Khurana D, Whig J, Mahajan R. Neurophysiological monitoring of pharmacological manipulation in acute organophosphate poisoning: the effects of pralidoxime, magnesium sulphate and pancuronium. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1998;107: 140-148.
28. Stefanovic D, Antonijevic B, Bokonjic D, Stojiljkovic MP, Milovanovic ZA, Nedeljkovic M. Effect of sodium bicarbonate in rats acutely poisoned with dichlorvos. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2006;98(2):173-80.
29. Dehlawi MS, Eldefrawi AT, Eldefrawi ME, Anis NA, Valdes JJ. Choline derivatives and sodium fluoride protect acetylcholinesterase against irreversible inhibition and ageing by DFP and paraoxon. *J Biochem Toxicol.* 1994;9:261-268.
30. Xu B, Zhang J, Mao G, Yang G, Chen A, Aoyama K, et al. Elevated cholinesterase activity and increased urinary excretion of organic fluorides in the workers producing fluorine containing plastic (polytetrafluoroethylene). *Bull Environ Contam Toxicol.* 1992;49:44-50.

31. Yılmazlar A, Özyurt G. Brain involvement in organophosphate poisoning. *Environ Res.* 1997;74:104.
32. Oral B, Guney M, Demirin H, Ozguner M, Giray SG, Take G, et al. Endometrial damage and apoptosis in rats induced by dichlorvos and ameliorating effect of antioxidant vitamins E and C. *Reprod Toxicol.* 2006; 22(4): 783-90.
33. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR): Toxicological Profile for Dichlorvos, Atlanta, GA, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, 1997. [http:// www. atsdr.cdc. gov/ toxprofiles/tp88.html](http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp88.html) (Erişim Tarihi: 15.07.2007).
34. National Toxicology Program (NTP) (1989). Toxicology and carcinogenesis studies of dichlorvos in F344/N rats and B6C3F1 mice. U.S Dept. of HHS, PHS, NIH, NTP Technical Report No. 334. <http://ntp.niehs.nih.gov>. (Erişim Tarihi: 05.04.2007).
35. Kocak A, Senol E, Kok HO, Aktas EÖ. Organofosfat (taron) zehirlenmesi sonrasında gelişen nöropati. *Turkiye Klin J Foren Med.* 2005;2(3):109-11.
36. Luty S, Latuszynska J, Halliop J, Tochman A, Obuchowska D, Przylepa E, et al. Toxicity of dermally absorbed dichlorvos in rats. *Ann Agric Environ Med.* 1998;5:57-64.
37. Evaluation of the toxicity of pesticide residues in food. Dichlorvos: www.inchem.org/documents/jmpr. (Erişim Tarihi: 15.04.2007).
38. Sarin S, Gill KD. Dichlorvos induced alterations in glucose homeostasis: Possible implications on the state of neuronal function in rats. *Mol Cell Biochem.* 1999;199: 87–92.
39. Okamura A, Kamijima M, Shibata E, Ohtani K, Takagi K, Ueyama J, et al. A comprehensive evaluation of the testicular toxicity of dichlorvos in Wistar rats. *Toxicology.* 2005;213(1-2):129–137.
40. Naidu KA, Viswanatha S, Krishnakumari MK. Cardiotoxic effects of dichlorvos (DDVP) in albino rats. *Indian J Physiol Pharmacol.* 1987;31(1):19-24.

41. Guloglu C, Aldemir M, Orak M, Kara IH. Dichlorvos poisoning after intramuscular injection. *Am J Emerg Med.* 2004;22(4):328-30.
42. Guven M, Ata A. Intravenous organophosphate intoxication. *Am J Emerg Med.* 2000;18(5): 640-1.
43. Brahmi N, Blel Y, Kouraichi N, Abidi N, Thabet H, Amamou M. Acute Pancreatitis Subsequent to Voluntary Methomyl and Dichlorvos Intoxication. *Pancreas.* 2005;31: 424–427.
44. Hessler R. Cardiovascular Principles. Goldfrank FR, Flomenbaum NE, Levin NA, eds. *Goldfrank's Toxicologic Emergencies.* 6th ed. Stamford Connecticut: Appleton-Lange 2000; 21:353-378.
45. Jacob LS. Periferik nörohumoral iletimi etkileyen ilaçlar. *NMS Farmakoloji.* 4. baskı. Nobel Tıp Kitabevleri. 1998;19-38.
46. Guyton AC, Hall JE. Otonom sinir sistemi. *Guyton & Hall Tibbi Fizyoloji.* 9. Baskı. Yüce Yayınları. Nobel Tıp Kitap Evleri Ltd. Şti. 1996; 770-778.
47. Bailen MR. Reversible myocardial dysfunction in critically ill, noncardiac patients: *Crit Care Med.* 2002;30:1280-1290.
48. Chemnitius JM, Sadowski R, Winkel H, Zech R. Organophosphate inhibition of human heart muscle cholinesterase isoenzymes. *Chem Biol Interact.* 1999;14:183–192.
49. Karki P, Ansari JA, Bhandary S, Koirala S. Cardiac and electrocardiographical manifestations of acute organophosphate poisoning. *Singapore Med J.* 2004;45(8): 385-9.
50. Rubinshtein R, Bar-Meir E, Grubstein A, Bitterman H. Early onset of ventricular tachyarrhythmias in organophosphate intoxication. *Isr Med Assoc J.* 2002;4(1): 63-4.
51. Ludomirsky A, Klein HO, Sarelli P, Becker B, Hoffman S, Taitelman U, et al. Q-T prolongation and polymorphous ("torsade de pointes") ventricular arrhythmias associated with organophosphorus insecticide poisoning. *Am J Cardiol.* 1982;49(7): 1654-8.

52. Manning GW, Hall GE, Banting FG. Vagus stimulation and the production of myocardial damage. *Can Med Assoc J.* 1937;37:314-8.
53. Hall GE, Ettinger GH, Banting FG. An experimental production of coronary thrombosis and myocardial failure. *Can Med Assoc J.* 1936;34:9–15.
54. Saadeh AM, Farsakh NA, al-Ali MK. Cardiac manifestations of acute carbamate and organophosphate poisoning. *Heart.* 1997;77:461-4.
55. Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, Wayne RR, Mudge GH, Alexander RW, et al. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med.* 1986;315(17):1046-51.
56. Alpert JS, Thygesen K, Antman E, Bassand JP. Myocardial infarction redefined--a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2000;36(3):959-69.
57. Green GB, Hill PM. Approach to chest pain and possible myocardial ischemia. Tintinalli JE, Kelen GD, Sapczynski JS. *Emergency Medicine Textbook*, 6th. Chapter 49, 2004:333-347.
58. Puleo PR, Meyer D, Wathen C, Tawa CB, Wheeler S, Hamburg RJ, et al. Use of a rapid assay of subforms of creatine kinase-MB to diagnose or rule out acute myocardial infarction. *N Engl J Med.* 1994;331(9):561-6.
59. Green GB, Skarbek-Borosky GW, Chan DW, Kelen GD. Myoglobin for early risk stratification of ED patients with possible myocardial ischemia. *Acad Emerg Med.* 2000;7(6):625-36.
60. Habif S. Kardiyak Troponinler. *T Klin Tıp Bilimleri.* 2003, 23(1):74-80.
61. Hamm CW, Giannitsis E, Katus HA. Cardiac troponin elevations in patients without acute coronary syndrome. *Circulation.* 2002;106(23):2871-2

62. Stein BC, Levin RI. Natriuretic peptides: physiology therapeutic potential and risk stratification in ischemic heart disease. *Am Heart J.* 1998;135: 914-23.
63. Dickstein K. Natriuretic peptides in detection of heart failure. *Lancet.* 1997;351:3-4.
64. Maisel AS, Krishnaswamy P, Nowak RM, McCord J, Hollander JE, Duc P, et al; Breathing Not Properly Multinational Study Investigators. Rapid measurement of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure. *N Engl J Med.* 2002; 347(3):161-7.
65. Yoshimura M, Yasue H, Okumura K, Ogawa H, Jougasaki M, Mukoyama M, et al. Different secretion pattern of atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide in patients with congestive heart failure. *Circulation.* 1993;87(2): 464-9.
66. Akpınar O, Kanadasi M, Ilgenli TF. Cut-off values of BNP and NT-BNP for diagnosis of heart failure in emergency service. *Anadolu Kardiyol Dergisi.* 2006;6(4):395-6.
67. Duygu H, Turk U, Zoghi M, Nalbantgil S. Plazma B-tipi natriüretik peptid düzeylerinin kardiyovasküler hastalıklardaki yeri ve önemi. *Anadolu Kardiyoloji Dergisi.* 2005; 5(4):305-11.
68. Atlan N, Dincel AS, Koca C. Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres. *Turk J Biochem.* 2006; 31(2); 51–56.
69. Serafini M, Del Rio D. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool?. *Redox Report.* 2004; 9(3):145-152.
70. Akkuş I. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Mimoza yayınları, Konya,* 1995:75-87.
71. Babior BM. Phagocytes and oxidative stress. *Am J Med.* 2000;109(1):33-44.
72. Woo J, Leung SS, Lam CW, Ho SC, Lam TH, Janus ED. Plasma total antioksidant capacity in an adult Hong Kong Chinese population. *Clin Biochem.* 1997;30;553-7.

73. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and B-cell dysfunction. *Diabetes*. 2003;52:1-8.
74. Giordano FJ. Oxygen, oxidative stress, hypoxia and heart failure. *J Clin Invest*. 2005;115(3):500-8.
75. Cochrane CG. Cellular injury by oxidants. *Am J Med*. 1991;91 (suppl 3C):323–30.
76. Martnez M; Oxygen Free Radicals and Human Disease. *Biochimie*. 1995;77:147-61.
77. Kehrer JP, Smith CV; Free Radicals in Biology: Sources, Reactivities and Roles in the etiology of human disease. In: FREI B. Editor. *Natural Antioksidants in Human Health and Disease*. San Diego: Academic Press. 1994:25-62.
78. Bkaily G, D'orleans-Juste P. Cytokine–induced free radicals and their roles in myocardial disfunctions. *Cardiovasc Res*. 1999; 42(3):576-7.
79. Yavuz T, Altuntas I, Delibas N, Yıldırım B, Candır O, Cora A, et al. Cardiotoxicity in rats induced by methidathion and ameliorating effect of Vitamins E and C. *Hum Exp Toxicol*. 2004;23(7): 323–9.
80. Southorn PA. Free Radicals in Medicine I. Chemical Nature and Biological Reactions. *Mayo Clin Proc*. 1998;63:381-389.
81. Halliwell B. Antioxidant characterization. Methodology and mechanism. *Biochem Pharmacol*. 1995;49(10):1341-8.
82. Meister A. Glutathione, ascorbate, and cellular protection. *Cancer Res*. 1994;54:1969-1975.
83. Angel MF, Ramasastry SS, Swartz WM, Basford RE, Futrell JW. Free Radicals; Basic Concepts Concerning Their Chemistry, Patophysiology and Relevance to Plastic Surgery. *Plast Reconstr Surg*. 1987;79:990-997.

84. Banerjee BD, Seth V, Bhattacharya A, Pasha ST, Chakraborty AK. Biochemical effects of some pesticides on lipid peroxidation and free-radical scavengers. *Toxicol Lett.* 1999;107:33-47.
85. Pena-Llopis S, Ferrando MD, Pena JB. Fish tolerance to organophosphate-induced oxidative stress is dependent on the glutathione metabolism and enhanced by N-acetylcysteine. *Aquat Toxicol.* 2003; 65(4):337–60.
86. Davies MG, Fulton GJ, Hagen PO. Clinical biology of nitric oxide. *Br J Surg.* 1995; 82:1598-610.
87. Schulz R, Kelm M, Heusch G. Nitric oxide in myocardial ischemia/ reperfusion injury. *Cardiovasc Res.* 2004;61(3):402-13
88. Llorens S, Jordan J, Nava E. The nitric oxide pathway in the cardiovascular system. *J. Physiol. Biochem.* 2002;58 (3):179-188.
89. Snyder SH. Nitric oxide: First in a new class of neurotransmitters. *Science.* 1992;257: 494-6.
90. Kuyumcu A, Duzgun AP, Ozmen MM, Besler HT. The role of nitric oxide in trauma and infection. *Ulus Travma Dergisi.* 2004;10(3):149-59.
91. Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide: A physiologic messenger. *Ann Intern Med.* 1994;120: 227-37.
92. Gaballa MA. Effects of endothelial and inducible nitric oxide synthases inhibition on circulatory function in rats after myocardial infarction. *Cardiovas Res.* 1999;42:627-635.
93. Turkoz Y, Ozerol E. Nitrik oksit'in etkileri ve patolojik rolleri. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi.* 1997;4(4):453-461.
94. Loscalzo J, Welch G. Nitric oxide and its role in the cardiovascular system. *Prog Cardiovasc Dis.* 1995;38(2):87-104.

95. Malinski T. Understanding nitric oxide physiology in the heart: A nanomedical approach. *Am J Cardiol.* 2005;96:13–24.
96. Damy T, Ratajczak P, Shah AM, Camons E, Marty I, Hasenfuss G, et al. Increased neuronal nitric oxide synthase-derived NO production in the failing human heart. *Lancet.* 2004;363:1365-7.
97. Pova R, Cardoso SH, Luna Filho B, Ferreira Filho C, Ferreira M, Ferreira C. Organophosphate poisoning and myocardial necrosis. *Arq Bras Cardiol* 1997;68:377-80
98. Wildhirt SM, Suzuki H, Horstman D, Weismuller S, Dudek RR, Akiyama K, et al. Selective modulation of inducible nitric oxide synthase isozyme in myocardial infarction. *Circulation.* 1997;96(5):1616-23.
99. Paulus WJ, Bronzwaer JG. Myocardial contractile effects of nitric oxide. *Heart Fail Rev.* 2002;7:371-83.
100. Gealekman O, Abbasi Z, Rubinstein I, Winaver J, Binah O. Role of myocardial inducible nitric oxide synthase in contractile dysfunction and beta-adrenergic hyporesponsiveness in rats with experimental volume-overload heart failure. *Circulation.* 2002; 105: 236-43.
101. Wang YX, Sun MJ. Nitric oxide and soman poisoning. *Zhongguo Yao Li Xue Bao.* 1998;19(5):470-2.
102. Abou-Donia MB. Organophosphorus ester-induced chronic neurotoxicity. *Arch Environ Health.* 2003;58(8):484-97
103. Alles A, Alley K, Barrett JC, Buttyan R, Columbano A, Cope FO, et al. Apoptosis: a general comment. *FASEB J.* 1991;5:2127-8.
104. Kultursay H, Kayikcioglu M. Apoptosis and cardiovascular disease. *Anadolu Kardiyololoji Dergisi.* 2002;2(4):323-9 .
105. Saikumar P, Dong Z, Mikhailov V, Denton M, Weinberg JM, Venkatachalam MA: Apoptosis: definition, mechanisms, and relevance to disease. *Am J Med.* 1999;107: 489-506.

106. Kumar D, Lou H, Singal PK. Oxidative stress and apoptosis in heart dysfunction. *Herz*. 2002;27(7):662-8.
107. James T.N. Apoptosis in cardiac disease. *Am J Med*. 1999;107:606-20.
108. Saleh AM, Vijayasarathy C, Masoud L, Kumar L, Shahin A, Kambal A. Paraoxon induces apoptosis in EL4 cells via activation of mitochondrial pathways. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2003;190:47-57.
109. Zhou Z, Dai X, Gu X, Sun Y, Zheng G, Zheng J. Memantine alleviates toxicity induced by dichlorvos in rats. *J Occup Health*. 2005;47(2):96-101.
110. Mochizuki M, Akagi K, Inoue K, Shimamura K. A single dose toxicity study of magnesium sulfate in rats and dogs. *J Toxicol Sci*. 1998;23(1):31-5.
111. Satar S, Satar D, Kirim S, Leventerler H. Effects of acute organophosphate poisoning on thyroid hormones in rats. *Am J Ther*. 2005;12(3):238-42.
112. Demirag K, Cankayali I, Eris O, Moral AR, Pehlivan M. The comparison of therapeutic effects of atropine and pralidoxime on cardiac signs in rats with experimental organophosphate poisoning. *Adv Ther*. 2005;22(2):79-86.
113. Purshottam T, Srivastava RK. Effect of high-fat and high-protein diets on toxicity of parathion and dichlorvos. *Arch Environ Health*. 1984;39(6):425-30.
114. Choudhary S, Verma SK, Raheja G, Kaur P, Joshi K, Gill KD. The L-type calcium channel blocker nimodipine mitigates cytoskeletal proteins phosphorylation in dichlorvos-induced delayed neurotoxicity in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2006;98(5):447-55.
115. Whittaker M, Britten JJ, Dawson PJ. Comparison of a commercially available assay system with two reference methods for the determination of plasma cholinesterase variants. *Clin Chem*. 1983;29(10):1746-51.

116. Alasehirli B, Demiryurek S, Arica E, Gursoy S, Demiryurek AT. No evidence for an association between the Glu298Asp polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene and fibromyalgia syndrome. *Rheumatol Int.* 2007;27:275–280.
117. Yildirim Z, Sogut S, Odaci E, Iraz M, Ozyurt H, Kotuk M, Akyol O. Oral erdosteine administration cisplatin-induced renal tubular damage in rats. *Pharmacol Res.* 2003;47:149-156.
118. Kruidenier L, Kuiper I, Lamers CB, Verspaget HW. Intestinal oxidative damage in inflammatory bowel disease: semi-quantification, localization, and association with mucosal antioxidants. *J Pathol.* 2003;201(1):28-36.
119. Tuncayengin A, Biri H, Onaran M, Sen I, Tuncayengin O, Polat F, et al. Cavernosal tissue nitrite, nitrate, malondialdehyde and glutathione levels in diabetic and non-diabetic erectile dysfunction. *Int J Androl.* 2003;26(4):250-4.
120. Hanssens Y, Deleu D, Taqi A. Etiologic and demographic characteristics of poisoning: a prospective hospital-based study in Oman. *J Toxicol Clin Toxicol* 2001; 39:371-80.
121. Mert E, Bilgin NG. Demographical, aetiological and clinical characteristics of poisonings in Mersin, Turkey. *Hum Exp Toxicol.* 2006;25(4):217-23.
122. Goksu S, Yildirim C, Kocaglu H, Tutak A, Oner U. Characteristics of acute adult poisoning in Gaziantep, Turkey. *J Toxicol Clin Toxicol.* 2002;40 (7):833–37.
123. Sahin HA, Sahin I, Arabaci F. Sociodemographic factors in organophosphate poisonings; a prospective study. *Hum Exp Toxicol.* 2003;22:349-353.
124. Sungur M, Guven M. Intensive care management of organophosphate insecticide poisoning. *Crit Care* 2001;5(4):211-215.
125. Brill O, Maisel A, Prabhu R. Polymorphic ventricular tachycardia and other complex arrhythmias in organophosphalo insecticide poisoning. *J Electrocardiol.* 1984;17:97-102.
126. Grmec S, Mally S, Klemen P. Glasgow Coma Scale score and QTc interval in the prognosis of organophosphate poisoning. *Acad Emerg Med.* 2004;11(9):925-30.

127. Pajoumand A, Shadnia S, Rezaie A, Abdi M, Abdollahi M. Benefits of magnesium sulfate in the management of acute human poisoning by organophosphorus insecticides. *Hum Exp Toxicol.* 2004;23(12):565-9.
128. Wang MH, Tseng CD, Bair SY. Q-T interval prolongation and pleomorphic ventricular tachyarrhythmia ('Torsade de pointes') in organophosphate poisoning: report of a case. *Hum Exp Toxicol.* 1998;17:587-90.
129. Finkelstein Y, Kushnir A, Raikhlin-Eisenkraft B, Taitelman U. Antidotal therapy of severe acute organophosphate poisoning: A multihospital study. *Neurotoxicol Teratol.* 1989;11:593-6.
130. Pach D, Gawlikowski T, Targosz D, Groszek B, Wilimowska J. B-type natriuretic peptide plasma concentration in acutely poisoned patients. *Przegl Lek.* 2005;62(6):465-7.
131. Davutoglu V, Gunay N, Kocoglu H, Gunay NE, Yildirim C, Cavdar M, et al. Serum levels of NT-ProBNP as an early cardiac marker of carbon monoxide poisoning. *Inhal Toxicol.* 2006;18(2):155-8.
132. Pyatakova NV, Grigoryev NB, Severina IS. Role of soluble guanylate cyclase in reactivation of choline esterase inhibited by phosphoorganic compounds. *Biochemistry (Mosc).* 1999;64(1):91-4.
133. Wink DA, Mitchell JB. Chemical biology of nitric oxide: Insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. *Free Radic Biol Med.* 1998;25(4-5):434-56.
134. Altug S, Demiryurek AT, Ak D, Tungel M, Kanzik I. Contribution of peroxynitrite to the beneficial effects of preconditioning on ischaemia-induced arrhythmias in rat isolated hearts. *Eur J Pharmacol.* 2001;415(2-3):239-46.
135. Fazekas T, Scherlag BJ, Vos M, Wellens HJ, Lazzara R. Magnesium and the heart: antiarrhythmic therapy with magnesium. *Clin Cardiol.* 1993;16:768-774.

- 136.** Maier JA, Bernardini D, Rayssiguier Y, Mazur A. High concentrations of magnesium modulate vascular endothelial cell behaviour in vitro. *Biochim Biophys Acta.* 2004;1689:6-12.

- 137.** Sontia B, Touyz RM. Role of magnesium in hypertension. *Arch. Biochem. Biophys.* 2007;458:33-39.