

Deneyisel Akut Organik Fosfor Toksisitesi Tedavisine Eklenen E Vitaminin Olumlu Etkileri

The Favorable Effects of Vitamine E Added on Treatment of Experimental Acute Organic Phosphorus Toxicity

Ayşegül BAYIR,¹ Mesut YILDIZ,² Hasan KARA,³ Öznr KÖYLÜ,⁴ Rahim KOCABAŞ,⁵ Ahmet AK¹

¹Selçuk Üniversitesi Selçuklu Tıp Fakültesi, Acil Tıp Anabilim Dalı, Konya; ²Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Acil Birimi, Konya;

³Konya Numune Hastanesi, Acil Birimi, Konya; ⁴Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya Birimi, Konya;

⁵Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Konya

ÖZET

Amaç

Pestisit zehirlenmelerinde reaktif oksijen türevlerinin artmış üretimine bağlı olarak oksidatif stres geliştiği bildirilmiştir. Doku ROS seviyeleri doku hasarının en önemli göstergelerindedir. Bu çalışmada, akut organofosfat (OF) zehirlenmesinde ek olarak kullanılacak E vitamininin tedavisinin kandaki ve karaciğer dokusundaki kolin estera-raz (KE) ve malondialdehit (MDA) düzeyleri üzerine etkilerini araştırmak ve sadece antidot tedavisi verilen grup ile karşılaştırarak OF zehirlenmesi tedavisinde kullanılıp kullanılmayacağını belirlemektir.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada 20 Yeni Zelanda cinsi tavşan randomize olarak sham (n=8), pralidoksim (PAM)+atropin (n=6) ve E vitamini (n=6) olarak 3 gruba ayrıldı. Her denekten toksisite öncesi plazma KE, serum ve eritrosit MDA değerlerini ölçmek için kan örnekleri alındıktan sonra orogastrik yoldan 50 mg/kg 2,2-diklorovinil dimetil fosfat verildi. PAM+atropin grubundaki deneklere 30 mg/kg IV bolus, ardından 15 mg/kg PAM ve 0.05 mg/kg atropin her 4 saatte IV verildi. E vitamini grubundaki deneklere benzer atropin ve PAM tedavisine ila- veten 250 mg/kg E vitamini tek doz İM uygulandı. Deneklerden tedavi başlatıldıktan sonra 12. ve 24. saatlerde kan örnekleri alındı. Tüm deneklerden aynı parametreleri değerlendirmek üzere karaci- ğer dokusu örnekleri alındı. Denekler yüksek dozda İV anestezik ve- rilerek kurban edildi.

Bulgular

E vitamini grubunun eritrosit MDA'sı PAM+atropin grubundan an- lamlı düşük (p=0.003) tespit edildi. E vitamini grubunun karaciğer dokusundaki KE düzeyi PAM+atropin grubundan anlamlı olarak yük- sekti (p<0.001). E vitamini grubundaki tavşanların karaciğer doku MDA'sı PAM-atropin grubundan anlamlı olarak düştü (p<0.001).

Sonuç

Akut OF zehirlenmesinde antidot tedavisine eklenen E vitamini- nin hem eritrosit ve karaciğer dokusu lipid peroksidasyonu üzeri- ne hem de karaciğer dokusu KE aktivitesi üzerine iyileştirici etkisi vardır.

Anahtar sözcükler: E vitamini; kolinesteraz; malondialdehit; oksimler; or- ganofosfor.

SUMMARY

Objectives

Oxidative stress by increased production of reactive oxygen species has been implicated in the toxicity of many pesticides. The tissue levels of ROS are one of the most important indicator of tissue injury. The aim of this study was to examine the effects of vitamin E treatment in acute organophosphate poisoning (AOP) on choline esterase (CE) and Malondialdehit (MDA) levels in the liver tissue and blood and to compare with antidote treatment.

Methods

Twenty New Zealand type rabbits were divided into randomly three groups as sham (n=8), pralidoxime (PAM)+atropine (n=6), and vitamin E (n=6). blood samples were taken from each test subjects to measure plasma CE, serum and erythrocyte MDA values before toxicity. 50 mg/kg 2,2-dichlorovinyl dimethyl phosphate were given to all subjects orogastrically. The PAM-atropine group were given 30 mg/kg IV bolus, then 15 mg/kg PAM and 0.05 mg/kg atropine IV every 4 hours. The vitamin E group received 250 mg/kg vitamin E single dose IM in addition to same atropine and PAM treatment. Blood samples were obtained from the all subjects in the 12th and 24th hours followed by the initiation of treatment. The liver tissue samples were obtained to evaluate in order to evaluate same parameters. The test subjects were sacrificed by high dose IV anesthesia.

Results

The erythrocyte MDA of vitamin E group was significantly lower than PAM-atropine group (p=0.003). Liver tissue CE level of vitamin E group was considerably higher than PAM-atropine group (p<0.001). Liver tissue MDA of vitamin E group was significantly lower than PAM-atropine group (p<0.001).

Conclusions

Included in the treatment of acute AOP toxicity, vitamin E has a curative effect on both erythrocyte and liver tissue lipid peroxidation and tissue CE activity.

Key words: Vitamin E; cholinesterase; malondialdehyde; oxime; organophos- phorus.

Geliş tarihi (Submitted): 30.03.2011 **Kabul tarihi (Accepted):** 16.06.2011

İletişim (Correspondence): Dr. Ayşegül Bayır, Selçuk Üniversitesi Selçuklu Tıp Fakültesi, Acil Tıp Anabilim Dalı, Konya, Turkey

e-posta (e-mail): aysegulbayir@hotmail.com

Giriş

Pestisitlerin farklı sınıflarının reaktif oksijen türlerinin üretimini artırdığı ve oksidatif doku hasarına yol açtığı ve doku seviyesindeki oksidatif hasarın toksik etkilenmenin önemli bir belirtici olduğu çok sayıda yayında belirtilmiştir. Organofosfatlı (OF) insektisitlerin kemiricilerin karaciğer ve beyin dokularının hücresel komponentlerinde, insan fetal beyin ve karaciğer dokularında, insan eritrosit ve plazmasında, neden olduğu oksidatif hasar araştırılmıştır. Bu çalışmaların tümünde, membran lipid peroksidasyonunun bir belirtici olan malondialdehit'in (MDA) arttığı görülmüştür.^[1-3]

Araştırmacıların OF'li insektisitlerin dokularda serbest oksijen radikallerinin (SOR) üretimine yol açtığını ve SOR'nin doku hasarını arttırdığını tespit etmesinden sonra antioksidanların OF zehirlenmesindeki etkilerini inceleyen çalışmalar yapılmaya başlanmıştır.^[4-10]

Vitamin E (alfa tokoferol) antioksidan etkili bir bileşiktir. Vitamin E protein-lipid membranları stabilize eder, yağ asitlerinin peroksidasyonunu önler ve serbest radikalleri ortamdaki temizler.^[5]

Bu çalışmanın amacı, tavşanlarda akut organofosfat zehirlenmesinde pralidoksim (PAM) ve atropin'e ek olarak kullanılacak E vitamininin tedavisinin kandaki ve karaciğer dokusundaki kolinesteraz (KE) ve MDA düzeyleri üzerine etkilerini araştırmak ve sadece antidot tedavisi verilen grup ile karşılaştırarak OF zehirlenmesi tedavisinde kullanılıp kullanılmayacağını belirlemektir.

Gereç ve Yöntem

Deneysel Yöntem

Çalışma Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp ve Araştırma Merkezi Etik Kurulu'nun izni alınarak (22.03.2006 tarih ve 2006 / 12 numaralı proje), Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp ve Araştırma Merkezinde yapıldı. Çalışmada 20 tane (12 erkek, 8 dişi) Yeni Zelanda tipi tavşan kullanıldı. Deneklerin ağırlığı 2500 gr ile 4400 gr arasında değişiyordu. Denekler randomize olarak sham grubu (n=8), PAM+atropin grubu (n=6) ve vitamin E grubu (n=6) olarak 3 gruba ayrıldı. Tüm deneklere 50 mg/kg ketamin ve 15 mg/kg rompun (ksilazin HCL) intramusküler (İM) verilerek anestezi uygulandı. Yine tüm deneklerin santral kulak arteri ve marjinal kulak veni kateterize edildi. Her bir denekten toksisite öncesi plazma KE, plazma ve eritrosit MDA ölçümleri yapmak için EDTA'lı tüplere bazal venöz kan örnekleri alındı.

Bazal kan örnekleri alındıktan sonra deneklere orogastrik feeding tüp takılarak. 50 mg/kg (LD50=50 mg/kg) dozunda diklorvos (2.2 diklorvinil dimetil fosfat) verildi. Toksikite belirtileri (hipersalivasyon, bronkospazm, fasikülasyon, kon-

vülzyon) ortaya çıkana kadar, yaklaşık 1 saat beklendi. Toksikite belirtileri görüldükten sonra her bir denekten toksisite sonrası plazma KE, eritrosit ve plazma MDA ölçümlerini değerlendirmek üzere EDTA'lı tüplere venöz kan örnekleri alındı.

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

PAM+atropin grubundaki deneklere 0.05 mg/kg gereklikçe tekrarlayan dozda atropin ve 30 mg/kg intravenöz (İV) bolusun, ardından 15 mg/kg her 4 saatte bir PAM İV olarak verildi.^[11] E vitamini grubundaki deneklere benzer atropin ve PAM tedavisine ilaveten tek doz 250 mg/kg E vitamini İM olarak verildi. PAM+atropin ve E vitamini gruplarındaki deneklerden tedavi başlatıldıktan sonraki 12. ve 24. saatlerde plazma KE, eritrosit ve plazma MDA ölçümlerini değerlendirmek için EDTA'lı tüplere kan örnekleri alındı.

Sham grubundaki deneklere 12. saatte diğer gruplardaki deneklere ise 24. saatte laparotomi yapılarak dokuda KE ve MDA ölçümlerini değerlendirmek üzere karaciğer dokusu örnekleri alındı. Çalışmanın sonunda denekler yüksek dozda intravenöz anestezi verilerek sakrifiye edildiler.

Biyokimyasal Yöntem

Plazma Kolin Esteraz Aktivitesi Ölçümü: Tavşanlardan heparinize test tüplerine venöz kan örnekleri alındı. 15 dakika boyunca 3000 devir/dakikada santrifüj edilerek plazma eritrositlerden ayrıldı. Ölçüm için 3 ml distile su içeren 10 ml'lik deney tüpüne 0.2 ml plazma ve 3 ml pH'sı 8.1 olan barbital fosfat tamponu konuldu. Karışımın pH'sı (pH1) pHmetre kullanılarak cam elektrodla ölçüldü. Sonra 37 °C'de 20 dakika boyunca inkübe edilen reaksiyon karışımına %7.5'lik asetilkolin iyodür solüsyonundan 0.1 ml eklendi. İnkübasyon periyodunun sonunda reaksiyon karışımının pH'sı ölçüldü (pH2). Enzim aktivitesi aşağıdaki gibi hesaplandı.^[12]

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

Karaciğer Dokusunda Kolin Esteraz Aktivitesi Ölçümü: Karaciğer kolinesteraz aktivite ölçümü için doku örneği pH'sı 8.1 olan barbital fosfat tamponunda yaş ağırlığı 3 ml / 100 mg olacak şekilde homojenize edildi ve teflon homojenizelerin maksimum hızının %25'i kullanıldı. Homojenizasyon buz banyosunda yapıldı ve karaciğer homojenatı kolinesteraz determinasyonundan önce buzda saklandı. Karaciğer KE aktivitesi için plazma KE tayini yöntemindeki plazma yerine 0.2 ml doku homojenatı kullanıldı. KE aktivitesi aynı formülle bulundu.^[12]

Karaciğer Dokusu ve Eritrositte MDA Analizi

Karaciğer Dokusunda MDA Ölçümü: Tavşandan alınan ve -80 °C'de saklanan karaciğer parçaları çözündükten sonra 0.5 gr doku tartıldı, 150 mM soğuk KCL kullanıldı, %10'luk homojenat oluşacak şekilde homojenize edildi. Oluşan homojen karışım 10000 devir/dak'da 10 dakika santrifüj edildikten sonra üstteki çözeltiden mikroprotein çalışıldı. Aynı zamanda oluşan homojenattan tüpe 0.1 ml alınıp üzerine 0.2 ml %8.1 sodyum dodesil sülfat (SDS) solüsyonu, 1.5 ml %20 asetik asit solüsyonu (pH >3 olacak şekilde NaOH ilave edildi) ve 1.5 ml %0.8 tiyobarbitürik asit sıvı solüsyonu konup, vortekste karıştırıldı. Oluşan karışım distile su içinde 95 °C'de 60 dakika kaynatıldı. Daha sonra su altında soğutulup, 1 ml distile su, 5 ml n-butanol ve piridin (15:1, v/v) eklendi ve karışım çalkalandı. Oluşan karışım 4000 devir/dk'da 10 dk çevrildi, üst tabakadaki karışımdan örnek alınarak 532 nm'de kör numune yerine homojenat ilave edilmemiş karışımdan konularak köre karşı absorbanı ölçüldü.^[13] Sonuçta MDA konsantrasyonu şu formülle elde edildi:

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

Eritrosit MDA Düzeyi Ölçümü: Heparinize edilmiş tüplere alınan kan santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Serum fizyolojik ile 1 kez yıkandıktan sonra kalan eritrosit kütesinden 1.5 ml alınarak üzerine 1.5 ml sodyum azidli tampon ilave edildi. Bu hemolizattan 50 ml alınıp, üzerine 12.5 ml drabkin solüsyonu ilave edilerek Hb tayini yapıldı. Bu karışımdan 5 ml alınıp üzerine 5 ml %35'lik H₂O₂ ilave edilerek tüplerin ağzı açık olarak 2 saat 37 °C'de inkübe edildi. Soğuduktan sonra bu karışımdan 3 ml alındı ve üzerine 2 ml TCA-arsenit solüsyonu ilave edilerek 2500 rpm'de santrifüj edildi. Bu supernatandan 3 ml alınarak üzerine 1 ml tiyobarbitürik asit ilave edildi ve 15 dk kaynatıldı. Soğuduktan sonra 532 nm'de spektrofotometrede absorbanlar okundu ve sonuçlar g Hb başına hesaplandı.^[14]

İstatistiksel Yöntem: İstatistiksel analizler "SPSS for Windows 13.0" programı yardımıyla yapıldı. Gruplar arası karşılaştırma tekrarlı ölçümlerde varyans analizi (ANOVA) ile yapıldı. Anlamli çıkan değerler için Post hoc test olarak Bonferroni dü-

zeltmeli tek yönlü varyans analizi ve takiben Tukey HSD testi uygulandı. p<0.05 değeri anlamlı kabul edildi. Grup içi tek-rarlayan ölçümlerin karşılaştırmalarında ise bonferroni dü-zeltmeli Student-t testi kullanıldı. Grupların ortalama değ-erleri hesaplandı, tablolar halinde verildi.

Doku KE ve doku MDA değerlerinin karşılaştırılmasında tek yönlü ANOVA ve takiben Tukey HSD testi yapıldı. p<0.05 değeri anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Serum Kolinesteraz Aktiviteleri: Tedavi vermediğimiz sham grubundaki deneklerden 4'ü 12. saate, kalan 4'ü de 24. saate ulaşmadan kaybedildiler. PAM+atropin tedavisi verdiğimiz ve tedaviye E vitamini eklediğimiz gruplardaki deneklerden sakrifiye edilene kadar ölen olmadı.

Toksosite sonrası tüm gruplarda serum KE düzeylerinde düşüş görülmüştür. Ancak akut toksosite sonrası serum KE seviyesindeki düşme sadece PAM+atropin grubunda anlamlı bulundu. E vitamini ve sham gruplarında toksosite sonrası serum KE aktivitelerinde düşme gözlenirse de istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p>0.05).

Grupların 12. saatteki ortalama serum KE değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (p=0.001). PAM+atropin grubunun 24. saatteki ortalama serum KE değeri E vitamini grubuna göre anlamlı düşük bulundu (p=0.003) (Tablo 1).

Serum MDA Değerleri: PAM+atropin grubunun 12. saat ortalama serum MDA değeri, diğer gruplardan daha düşüktü. PAM+atropin grubunun 24. saat ortalama serum MDA değerleri E vitamini grubundan istatistiksel anlamlı düşük bulundu (p<0.001) (Tablo 2).

Eritrosit MDA Değerleri: Grupların 12. ve 24. saatteki ortalama eritrosit MDA değerleri arasında anlamlı fark tespit edildi (sıra ile p<0.001, p=0.003). PAM+atropin grubunun ortalama eritrosit MDA değerleri E vitamini grubuna göre anlamlı daha yüksekti (Tablo 3).

Doku Kolinesteraz ve Doku MDA Değerleri: E vitamini gru-

Tablo 1. Grupların ortalama serum KE aktiviteleri (U/L)

Serum KE (U/L)	0. saat	1. saat	12. saat	24. saat	Saatlere göre
	Ortalama±SS	Ortalama±SS	Ortalama±SS	Ortalama±SS	
Sham (n=8)	23767±3284	22917±756	22429±969		p>0.05
PAM+Atropin (n=6)	22324±894	19757±2341	18956±1382	18132±1425	p=0.009
E vitamini (n=6)	27963±6124	23016±2869	21637±474	21813±431	p>0.05
Gruplar arası	p=0.06	p=0.03	p=0.001	p=0.003	

Tablo 2. Grupların saatlere göre ortalama serum MDA seviyeleri

Serum MDA (nmol/ml)	0. saat Ortalama±SS	1. saat Ortalama±SS	12. saat Ortalama±SS	24. saat Ortalama±SS	Saatlere göre
Sham (n=8)	6.03±2.06	7.45±0.60	7.99±0.66		p=0.005
PAM+Atropin (n=6)	6.50±0.31	7.98±0.31	4.79±1.53	3.76±0.36	p<0.001
E vitamini (n=6)	6.21±1.13	7.40±1.04	7.98±0.39	7.94±1.04	p=0.004
Gruplara göre	p=0.84	p=0.32	p=0.00	p<0.001	

Tablo 3. Grupların saatlere göre ortalama eritrosit MDA seviyeleri

Eritrosit MDA (nmol/ml)	0. saat Ortalama±SS	1. saat Ortalama±SS	12. saat Ortalama±SS	24. saat Ortalama±SS	Saatlere göre
Sham (n=8)	5.40±0.45	9.05±0.66	9.48±0.76		p<0.001
PAM+Atropin (n=6)	5.37±0.67	8.86±0.30	7.45±0.30	7.47±0.22	p<0.001
E vitamini (n=6)	5.33±0.74	8.77±0.38	7.11±0.03	7.15±0.05	p<0.001
Gruplar arası	p=0.98	p=0.59	p<0.001	p=0.003	

bunun ortalama karaciğer doku KE değeri hem sham grubundan hemde PAM+atropin grubundan anlamlı yüksekti. Ortalama karaciğer doku MDA değeri için her 3 grup arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.001$) (Şekil 1 ve 2).

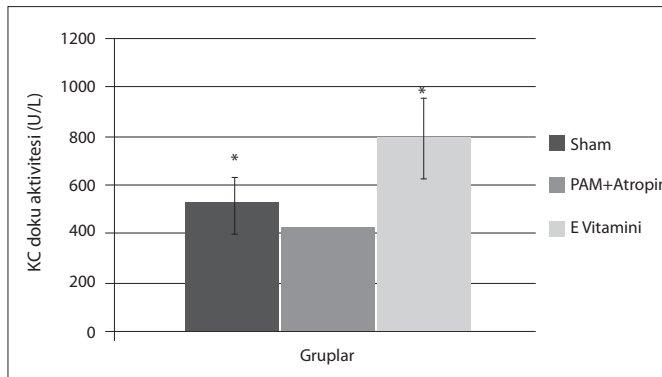
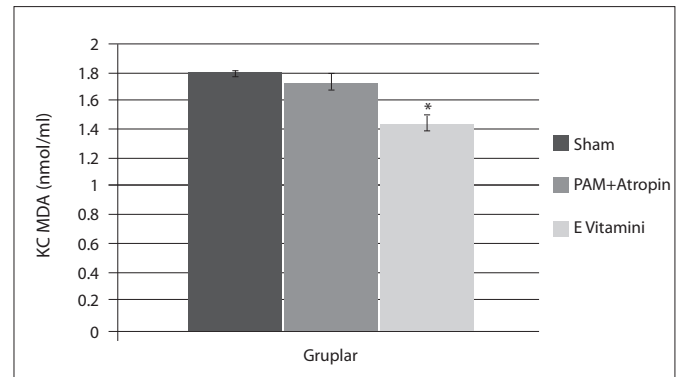
Tartışma

OF'li kimyasal maddeler tüm canlı dokulara zarar verirler. Fakat en fazla zarar verdikleri dokuların başında karaciğer ve böbrek gelmektedir. Çünkü biyotransformasyona uğradıkları yer karaciğer, genel olarak atıldıkları yer ise böbreklerdir.^[15]

Diklorvos'a akut veya kronik maruziyeti takiben ortaya çıkan toksik etkinin en önemlisi kolinerjik ileti için can alıcı bir enzim olan asetilkolinesteraz (AKE) inhibisyonudur. Diklor-

vos karaciğer, beyin ve kas gibi dokularda, eritrositlerde ve plazmada KE aktivitesinde azalmaya sebep olmaktadır.^[16,17] OF'lar ile zehirlenmenin tanısı ve hastaların takibi klinik belirtiler, KE düzeyleri, atropin ve oksim tedavisine cevaba göre yapılmaktadır.^[18]

Daha önce diklorvos ve methidation ile yapılan bazı çalışmalarda uzun dönem maruziyete bağlı toksisite sonrası serum ve değişik dokulardaki KE aktivitesinde anlamlı düşüşün görüldüğü bildirilmiştir.^[19,20] Biz ise çalışmamızda bu çalışmalardan farklı olarak akut toksisite modelini kullandık ve tavşanlara LD50 dozunda diklorvos vererek akut toksisite geliştirdik. Toksikite sonrası tüm gruplarda serum ve karaciğer dokusu KE düzeylerinde değişik oranlarda düşüş olduğunu gördük. Ancak akut toksisite sonrası serum KE seviyesindeki düşme PAM+atropin grubunda anlamlı idi. Ayrıca sham gru-

**Şekil 1.** Karaciğer doku KE aktiviteleri (*= p<0.001).**Şekil 2.** Karaciğer doku MDA düzeyleri (*= p<0.001).

bundaki bazı deneklerde toksisite sonrası KE düzeyleri diğer deneklere göre oldukça yüksek düzeyde olduğu için bu değerler ortalama serum KE düzeylerinin yüksek bulunmasına neden olmuştur. Hiç PAM+atropin tedavisi almadığı halde sham grubunun serum KE düzeyinin yüksek olması ve buna karşılık KE aktivitesinde en belirgin düşmenin PAM+atropin tedavisi verilen grupta görülmesi toksisite derecesini değerlendirmede klinik bulguların serum KE aktivitesi aktivitesine göre daha anlamlı olduğunu düşündürmektedir.

Aygun ve ark.'nın^[21] hastaneye OF zehirlenmesi ile başvuran hastalar ile yaptıkları bir çalışmada, hastaların başvuru- dan itibaren seri KE düzeyleri değerlendirilmiş ve düşük serum KE seviyesinin akut organik fosfor zehirlenmesinin tanısını desteklediği, fakat klinik şiddeti ile ilişkili olmadığı bildirilmiştir.

Duval ve ark.'nın^[22] hastanede OF zehirlenmesi nedeniyle takip edilen hastalarda yaptıkları bir çalışmada tedavide PAM verilen grup ile PAM tedavisi verilmeyen grubun kan KE düzeyleri arasında istatistiksel fark bulunmadığını bildirmişlerdir. Cherian ve ark.^[23] da OF zehirlenmesi olan 21 hastada yaptıkları çalışmada PAM tedavisi verilen grup ile plasebo verilen grubun serum KE seviyeleri arasında anlamlı fark bulmamışlardır.

OF zehirlenmesinde atropin ile PAM'nin KE düzeyi üzerine etkilerini karşılaştıran, 30 hasta ile yapılmış klinik bir çalışmada, yalnız atropin tedavisi verilen grup ile PAM+atropin tedavisi verilen grubun kan KE düzeyleri arasında istatistiksel bir fark bulmamışlardır. Yine bu çalışmada KE düzeyi ile zehirlenmenin şiddeti arasında uyumluluk saptanmamıştır.^[24]

Bizim çalışmamızda da tüm gruplarda toksisite sonrası KE düzeylerinde düşme görüldü. Bu düşme sadece PAM+atropin grubunda istatistiksel olarak anlamlı idi. Serum KE seviyesindeki düşme istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ve diğer gruplarınkine göre daha az seviyede olduğu halde, sham grubundan 4 denek 12. saate ulaşmadan, kalan 4 denek de 24. saate ulaşmadan kaybedildi. Bu sonuç OF toksisitesinde zehirlenmenin klinik şiddeti ile KE düzeyleri arasında ilişki olmadığını bildiren çalışmalarla uyumludur. Ayrıca tedavide PAM+atropin verilen grubun KE düzeyi hem 12. hem de 24. saatte diğer grupların serum KE düzeylerinden anlamlı düşüktü. Yani PAM ve atropin tedavisi serum KE seviyeleri üzerine anlamlı bir etki göstermemiştir.

Vitamin E süperoksit, hidroksil radikalleri, lipid peroksil radikalleri ve diğer radikalleri indirgeyen bir antioksidandır. Vitamin E'nin organoklorlu insektisit olan endosülfan ve OF'li insektisit olan diazinon toksisitesinde bazı biyokimyasal parametreler üzerinde ve hücre yapısında koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir.^[4-6]

Sulak ve ark.^[8] bir OF'li bileşik olan methidathion ile sıçanlarda yaptıkları çalışmada akut toksisite sonrası inhibe olan KE aktivitesinin, vitamin E ve C kombinasyonu verilerek kısmen restore edildiğini rapor etmişlerdir. Yine methidathion ile sıçanlarda yapılan bir başka çalışmada subkronik toksisite sonrası antioksidan olarak vitamin C ve E kombinasyonunun koruyucu rolü incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda C ve E vitamini kombinasyonunun karaciğeri koruyucu etkileri olduğu bulunmuştur.^[25] Matkovic ve ark.^[9] tarafından OF'li bileşiklerle yapılan bir başka toksisite çalışmasında, OF'lerin KE'yi inhibe edici etkisinin en iyi E vitamini tarafından düzeltildiği bildirilmiştir. Güney ve ark.'nın^[10] yaptıkları çalışmada da subkronik methidathion toksisitesi geliştirilen ratlara tedavide vitamin E ve C verilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda vitamin E ve C kombinasyonu verilen grubun kan KE aktivitesi vitamin E ve C kombinasyonu verilmeyen gruba göre anlamlı yüksek bulunmuştur.

Çalışmamızda E vitamini verilen grubun tedaviden sonra serum KE seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı olmasa da bir yükselme tespit edilmiştir. Ayrıca E vitamini verilen grubun tedavi sonrası 12. saatteki ve 24. saatteki KE düzeyleri diğer gruplardan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar yapılan diğer çalışmalardaki sonuçlar ile uyumludur.

Karaciğer doku KE aktivitesi ise sham grubunda PAM+atropin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek tespit edilmiştir. E vitamini verilen grubun karaciğer dokusu KE düzeyleri ise hem sham grubundan, hem de PAM+atropin grubundan anlamlı yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda bulunan bu sonuçlar OF toksisitesinde tedaviye E vitamini eklenmesinin standart tedaviye göre kolinesteraz aktivitesini daha fazla aktive ettiğini göstermektedir.

Lipid peroksidasyonun en önemli ürünü MDA'dır. Gökalp ve ark.^[26] bir OF bileşiği olan klorprifos etil'in sıçan pankreası üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında, klorprifos etil'in kolinesteraz aktivitesini azalttığını, serum MDA'sını ise arttırdığını raporlamışlardır.

Bu konuda yapılan araştırmaların çoğu subkronik zehirlenme çalışmalarıdır. Subkronik methidathion toksisitesinde karaciğerde lipid peroksidasyonun bir göstergesi olan MDA konsantrasyonunun arttığı bildirilmiştir.^[25] Güney ve ark.'nın^[10] sıçanlarda diklorvosun oluşturduğu fallopiyan tüp zedelenmelerine karşı E ve C vitamini kombinasyonunun koruyucu etkilerini araştırdıkları çalışmada DDVP grubunun tuba dokusundaki MDA seviyeleri E ve C vitamini verilen gruba göre anlamlı yüksek bulunmuştur.

Kılınç ve ark.^[6] bir OF bileşiği olan klorprifos etil ile sıçanlarda yaptığı çalışmada, antioksidan etkili bir pineal hormon olan melatonin ile vitamin E ve C kombinasyonunun plazma seviyesinde lipid peroksidasyonu üzerine etkilerini araş-

tırmışlardır. Bu çalışmada C ve E vitamini kombinasyonu serum MDA'sını kontrol ve sham gruplarına göre anlamlı olarak düşürmüştür. Ayrıca C ve E vitamini verilen grubun serum MDA düzeylerinin melatonin verilen gruptan da anlamlı olarak düşük bulunduğu bildirilmiştir. Bu sonuçlara göre Kılınç ve ark. vitamin E ve vitamin C'nin klorprifos etil'in toksik etkilerini anlamlı olarak azaltabileceğini rapor etmişlerdir.

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

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

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

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

Çalışmamızdaki kısıtlılıklar gruplardaki denek sayısının az olması ve dokuda histopatolojik değerlendirme yapılmaması olmasaydı. Etik kurul daha fazla sayıda denek kullanılması için izin vermedi. Eğer histopatolojik inceleme yapılabilsen

biyokimyasal sonuçlarımızı destekleyici bulgular elde edebilirdik.

Sonuç olarak, tavşanlarda oluşturulan akut OF zehirlenmesinde serum KE seviyeleri zehirlenmenin klinik derecesi ile bağlantılı değildir. Tedavide kullanılan PAM-atropin ve E vitamini serum KE seviyeleri üzerine olumlu bir etkisi yoktur. Akut OF zehirlenmelerinin tedavisinde kullanılan PAM ve atropinin eritrositlerdeki lipid peroksidasyonunu azaltıcı etkisi vardır. PAM ve atropin tedavisine eklenen E vitamini klasik antidot tedavisine göre eritrositlerdeki ve karaciğer dokusundaki lipid peroksidasyonunu önemli ölçüde azaltıcı, karaciğer dokusu KE aktivitesini ise artırıcı etki göstermiştir.

Ayrıca OF zehirlenmelerinin tedavisinde antidot tedavisi ile birlikte E vitamini kullanılması hastaların prognozu olumlu yönde etkileyebilir ve yoğun bakımda kalış sürelerini kısaltabilir. Büyük hasta grupları ile yapılacak klinik çalışmalar konuya açıklık kazandıracaktır.

Çıkar Çatışması

Yazar(lar) çıkar çatışması olmadığını bildirmiş(lerdir)tir.

Kaynaklar

1. Bagchi D, Bagchi M, Hassoun EA, Stohs SJ. In vitro and in vivo generation of reactive oxygen species, DNA damage and lactate dehydrogenase leakage by selected pesticides. *Toxicology* 1995;104:129-40.
2. Gupta J, Datta C. Effect of malathion on antioxidant defence system in human fetus-An in vitro study. *Ind J Exp Biol* 1992;352-4.
3. Datta C, Gupta J, Sarkar A, Sengupta D. Effects of organophosphorus insecticide phosphomidon on antioxidant defence components of human erythrocyte and plasma. *Ind J Exp Biol* 1992;30:65-7.
4. Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaie A. Pesticides and oxidative stress: a review. *Med Sci Monit* 2004;10:141-7.
5. Kalender S, Kalender Y, Ögütçü A, Uzunhisarcıklı M, Durak D, Açıkgöz F. Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats: the protective effect of vitamin E. *Toxicology* 2002;202:227-35.
6. Kılınç İ, Altuntaş İ, Kaptanağası M, Kumbul Doğuç D, Mollaoğlu H, Kaleli S. Chlorpyrifos-ethyl'in rat plazmasında in vivo lipoperoksidatif etkisi ile melatonin ve vitamin C +vitamin E'nin koruyucu etkilerinin araştırılması. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2003;10:1-28.
7. Kalender S, Kalender Y, Oğutcu A. Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats: The protective effect of vitamin E. *Toxicology* 2004;3:227-35.
8. Sulak O, Altuntaş I, Karahan N. Nephrotoxicity in rats induced by organophosphate insecticide methidathion and ameliorating effects of vitamins E and C. *Pesticide Biochem and Physiol* 2005;83:21-8.

9. Matkovic B, Szabó L, Iván J, Gaál I. Some further data on the effects of two organophosphate pesticides on the oxidative metabolism in the liver. *Gen Pharmacol* 1983;14:689-91.
10. Güney M, Demirin H, Oral B. Ratlarda diklorvosun oluşturduğu fallopiyan tüp zedelenmelerine karşı E ve C vitaminlerinin koruyucu etkileri *Journal of Turkish Obst and Gyn Soc* 2007;4:259-66.
11. Eddleston M, Buckley NA, Eyer P, Dawson AH. Management of acute organophosphorus pesticide poisoning. *Lancet* 2008;371:597-607.
12. Worek F, Thiermann H, Szinicz L, Eyer P. Kinetic analysis of interactions between human acetylcholinesterase, structurally different organophosphorus compounds and oximes. *Biochem Pharmacol* 2004;68:2237-48.
13. Ohkawa H, Ohishi N, Tagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Chem* 1979;51:351-62.
14. Stocks J, Dormandy TL. The autoxidation of human red cell lipids induced by hydrogen peroxide. *Br J Haematol* 1971;20:95-111.
15. Goldfrank LR, Flomenbaum NE, Lewin NA. *Goldfrank's toxicologic emergencies*. 7th ed., New York: McGraw-Hill Co; 2002. p. 1346-60.
16. Yamane S, Kino A, Teshima S. Histochemical demonstration of cholinesterase activity in tissues of the carp and effect of DDVP on its activity in situ. *Acta Histochem Cytochem* 1974;7:167-74.
17. Okamura A, Kamijima M, Shibata E. A comprehensive evaluation of the testicular toxicity of diklorvos in Wistar rat. *Toxicology* 2005;213: 129-37.
18. Brill DM, Maisel AS, Prabhu R. Polymorphic ventricular tachycardia and other complex arrhythmias in organophosphate insecticide poisoning. *J Electrocardiol* 1984;17:97-102.
19. Kalender S, Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Açıkgoz F, Durak D, Ulusoy Y, et al. Diazinon-induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes. *Toxicology* 2005;211:197-206.
20. Yavuz T, Altuntas I, Delibas N, Yildirim B, Candir O, Corâ A, et al. Cardiotoxicity in rats induced by methidathion and ameliorating effect of vitamins E and C. *Hum Exp Toxicol* 2004;23:323-9.
21. Aygun D, Doğanay Z, Altıntop L. Serum acetylcholinesterase and prognosis of acute organophosphate poisoning. *J Toxicol Clin Toxicol* 2002;40:903-10.
22. Duval G, Rakuer JM, Tilland D. Acute poisoning by insecticides with anticholinesterase activity. Evaluation of the efficacy of a cholinesterase reactivator, pralidoksime. *J Toxicol Clin Toxicol* 1991;11:51-8.
23. Cherian MA, Roshini C, Visalakshi J. Biochemical and clinical profile after organophosphorus poisoning-A placebo-controlled trial using pralidoxime. *J Assoc Physicians India* 2005;53:422-4.
24. Chung SN, Aggarwal N, Dabla S. Comparative evaluation of "Atropine Alone" and "atropine with pralidoxime (PAM) in the management of organophosphorus poisoning. *J IACM* 2005;6:33-7.
25. Sütçü R, Altuntaş I, Yildırım B. The effects of subchronic methidathion toxicity on rat liver: Role of antioksidant vitamin C and E, *Cell Biol and Toxicol* 2006;22:221-7.
26. Gökalp O, Karakoyun I, Kaleli S, Özer MK, Gültekin F. Chlorpyrifos ethyl'in rat pankreası üzerine etkisi. *S. D. Ü. Tıp Fak Derg* 2005;12:51-22.