

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**AKUT METHİDATHİON TOKSİSİTESİNİN KARACİĞER,
KALP, PANKREAS, BÖBREK, BEYİN DOKULARINA OLAN
ETKİSİ VE TEDAVİDE PAM, ATROPİN VE
ANTİOKSİDANLARIN KORUYUCU ROLÜNÜN
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Süheyla ÇELİK

**UZMANLIK TEZİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Efkan UZ**

ISPARTA - 2012

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**AKUT METHİDATHİON TOKSİSİTESİNİN KARACİĞER,
KALP, PANKREAS, BÖBREK, BEYİN DOKULARINA OLAN
ETKİSİ VE TEDAVİDE PAM, ATROPİN VE
ANTİOKSİDANLARIN KORUYUCU ROLÜNÜN
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Süheyla ÇELİK

**UZMANLIK TEZİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Efan UZ**

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi tarafından 3032-TU-11 proje numarası ile
desteklenmiştir.**

ISPARTA - 2012

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasında bilgi ve önerileri ile katkıda bulunan tez danışmanım Doç. Dr. Efkân UZ'a ve Prof. Dr. İrfan ALTUNTAŞ'a eğitimim süresince bilgi ve deneyimleriyle bizlerin de önemli tecrübeler edinmesini sağlayan Prof. Dr. Fatih GÜLTEKİN'e, Prof. Dr. Hüseyin VURAL'a ve yetişmemde emeği geçen değerli hocalarım, Doç. Dr. Recep SÜTÇÜ, Doç. Dr. Mehmet AKDOĞAN, Yrd. Doç. Dr. Duygu KUMBUL DOĞUÇ'a, laboratuarda beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum değerli teknisyen arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunuyorum. Asistanlığım boyunca ve tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım Uzm. Dr. Ayşegül ÖZSEVEN'e, Dr. Firdevs AYLAK'a, Dr. Özlem YÜKSEL'e, Dr. Birsen DAĞDEVİREN'e ve Tutku Fatma ATIŞ'a ve başladığım ilk günlerden bu güne kadar her durumda ve şartta yanımda olan canım kardeşim, can dostum Uzm. Dr. Havva ve Ahmet KOÇAK'a sonsuz minnet ve saygılarımı sunuyorum. Her zaman sevgisi ve desteğiyle yanımda olan büyük özveride bulunduğu inandığım tecrübelerinden çokca faydalandığım sevgili eşim Opr. Dr. Mustafa ÇELİK'e en derin sevgi ve şükranlarımı sunuyorum.

Dr. Süheyla ÇELİK

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR	vi
TABLolar DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
GRAFİKLER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Dünyada ve Türkiye’de Tarım İlacı Kullanımı.....	3
2.2. Pestisitler	3
2.2.1. Methidathion	4
2.2.1.1. Tanıtım	4
2.2.1.2. Metabolizma.....	5
2.2.2. Pestisitlerin Genel Etkileri	5
2.2.2.1. Akut Toksik Etkiler.....	5
2.2.2.2. Kronik Toksik Etkiler	6
2.2.2.3. Tirotoksisite.....	6
2.2.2.4. Oksidatif Hasar.....	6
2.2.2.5. Histopatolojik Etkiler	7
2.2.2.6. Diğer Sistemlere Olan Etkiler	7
2.3. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri.....	7
2.4. Antioksidan Savunma Sistemleri	10
2.4.1. Antioksidanların Sınıflandırılması	11
2.4.1.1. Doğal (Endojen) Antioksidanlar	11
2.4.1.1.1. Enzimatik Antioksidanlar	11
2.4.1.1.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	15
3. MATERYAL ve METOD	19
3.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması ve Gruplandırılması.....	19
3.2. Deneylerde Kullanılan Malzeme ve Cihazlar	20
3.2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	21
3.2.2. Kullanılan Çözeltiler	22
3.3. Gerekli Materyallerin Alınması ve Doku Homojenizasyonu.....	22

3.4. SOD Aktivitesi Ölçümü	23
3.5. GSH-Px Aktivitesi Ölçümü.....	24
3.6. Katalaz (CAT) Aktivitesi Ölçümü	24
3.7. Lipid Peroksidasyonu (LPO) Tayini	25
3.8. Serum Örneklerinin Çalışılması.....	26
3.9. İstatistiksel Analiz.....	26
4. BULGULAR.....	28
4.1. Doku Örneklerinde TBARS Düzeyleri	28
4.1.1. Karaciğer Dokusu TBARS Düzeyleri.....	28
4.1.2. Böbrek Dokusu TBARS Değerleri.....	29
4.1.3. Beyin Dokusu TBARS Düzeyleri	31
4.1.4. Pankreas Dokusu TBARS Düzeyleri	32
4.1.5. Kalp Dokusu TBARS Düzeyleri.....	33
4.2. Hemolizat	34
4.2.1. Hemolizat Örneklerinde TBARS Düzeyleri	34
4.2.2. Hemolizat Örneklerinde SOD Aktiviteleri.....	35
4.2.3. Hemolizat Örneklerinde GSH-Px ve CAT Aktiviteleri	36
4.2.4. Hemolizat Örneklerinde CHE Aktiviteleri.....	38
4.3. Serum	39
4.3.1. Serum Örneklerinde Çalışılan TBARS Düzetleri	40
4.3.2. Serum Örneklerinde Çalışılan LDH Aktiviteleri	41
4.3.3. Serum Örneklerinde Çalışılan Üre ve BUN Değerleri.....	42
4.3.4. Serum Örneklerinde Çalışılan Kreatinin Düzeyleri	43
4.3.5. Serum Örneklerinde Çalışılan AST Aktiviteleri	44
4.3.6. Serum Örneklerinde Çalışılan ALT Aktiviteleri.....	45
4.3.7. Serum Örneklerinde Çalışılan ALP Aktiviteleri	46
4.3.8. Serum Örneklerinde Çalışılan GGT Aktiviteleri	47
4.3.9. Serum Örneklerinde Çalışılan CK Aktiviteleri	48
4.3.10. Serum Örneklerinde Çalışılan CK-MB Aktiviteleri	49
4.3.11. Serum Örneklerinde Çalışılan Troponin T ve Myoglobün Aktiviteleri. 50	
4.3.12. Serum Örneklerinde Çalışılan Lipaz Aktiviteleri	50
4.3.13. Serum Örneklerinde Çalışılan Amilaz Aktiviteleri.....	51
4.3.14. Serum Örneklerinde Çalışılan CHE Aktiviteleri.....	52

5. TARTIŞMA ve SONUÇ	55
5.1. Tbars Düzeyleri.....	55
5.2. Antioksidan Enzim Aktiviteleri	57
5.3. Asetilkolinesteraz Aktivitesi	58
5.4. Karaciğer Fonksiyon Testleri.....	59
5.5. Böbrek Fonksiyon Testleri.....	61
5.6. Pankreas Enzimleri.....	62
5.7. Kardiyak Enzimler	63
ÖZET.....	65
SUMMARY	66
KAYNAKLAR	67

KISALTMALAR

ACHE	: Asetilkolinesteraz
ALP	: Alkalen Fosfataz
ALT	: Alanin Transaminaz
AST	: Aspartat Transaminaz
CAT	: Katalaz
CHE	: Kolinesteraz
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EPA	: Environmental Protection Agency
G6PDH	: Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz
GD	: Glutamat Dehidrogenaz
GGT	: Gamma Glutamil Transferaz
GR	: Glutatyon Redüktaz
GSH	: Glutatyon
GSH-Px	: Glutatyon Peroksidaz
GSSG	: Okside Glutatyon
GST	: Glutatyon-S-Transferaz
Hb	: Hemoglobin
HDL	: Yüksek Dansiteli Lipoprotein
LDH	: Laktat Dehidrogenaz
LDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
LPO	: Lipid Peroksidasyonu
MD	: Methidathion
MDA	: Malondialdehid
NMDA	: N-metil-D-aspartat
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentaz
OPI	: Organofosfat insektisitler
PLGSHPX	: Fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBARS	: Tiobarbitürik asit reaktif substansları
8-OH-2DG	: 8-hidroksi-2-deoksiguanozin

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. Deney planı	20
Tablo 2. Karaciğer dokusunda TBARS düzeyleri ortalama ve standart sapmaları... 29	29
Tablo 3. Böbrek dokusu TBARS düzeyleri ortalama ve standart sapmaları..... 30	30
Tablo 4. Beyin dokusu TBARS düzeyleri ortalama ve standart sapmaları)..... 31	31
Tablo 5. Pankreas dokusu TBARS düzeyleri ortalama ve standart sapmaları..... 32	32
Tablo 6. Kalp doku örneklerinde çalışılan TBARS düzeyleri ortalama ve standart sapmaları	33
Tablo 7. Dokularda TBARS tablosu	34
Tablo 8. Hemolizat örneklerinde çalışılan TBARS düzeylerinin ortalama ve standart Sapmaları..... 35	35
Tablo 9. Hemolizat örneklerinde çalışılan SOD aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları.	36
Tablo 10. Hemolizat örneklerinde çalışılan GSH-Px ve CAT aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları..... 37	37
Tablo 11. Hemolizat örneklerinde çalışılan CHE aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları.	38
Tablo 12. Tüm hemolizat parametreleri	39
Tablo 13. Serum örneklerinde çalışılan TBARS düzeylerinin ortalama ve standart sapmaları.	40
Tablo 14. Serum örneklerinde çalışılan LDH aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları	41
Tablo 15. Serum örneklerinde çalışılan Üre ve BUN değerlerinin ortalama ve standart sapmaları.	42
Tablo 16. Serum örneklerinde çalışılan kreatinin değerlerinin ortalama ve standart sapmaları	43
Tablo 17. Serum örneklerinde çalışılan AST aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları	44
Tablo 18. Serum örneklerinde çalışılan ALT aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları	45
Tablo 19. Serum örneklerinde çalışılan ALP aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları	46
Tablo 20. Serum örneklerinde çalışılan GGT aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları	47
Tablo 21. Serum örneklerinde çalışılan CK aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları	48

Tablo 22. Serum örneklerinde çalışılan CK-MB aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları	49
Tablo 23. Serum örneklerinde çalışılan Lipaz aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları	51
Tablo 24. Serum örneklerinde çalışılan Amilaz aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları	52
Tablo 25. Serum örneklerinde çalışılan CHE aktivitelerinin ortalama ve standart Sapmaları	53
Tablo 26. Tüm serum parametreleri	54

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. MD'un kimyasal yapısı	4
Şekil 2. Fenton reaksiyonu.....	9
Şekil 3. Toksik azot oksitler.....	10
Şekil 4. Glutasyonun okside ve redükte formları arasındaki dönüşümü.....	12
Şekil 5. Hücresel antioksidan enzim sistemi ve lipid peroksidasyon zinciri.....	15
Şekil 6. SOD aktivitesi ölçümü.....	23
Şekil 7. GSH-Px aktivitesi ölçümü	24

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1. Karaciğer dokusunda TBARS düzeylerinin grafiği.....	29
Grafik 2. Böbrek dokusunda TBARS düzeylerinin grafiği.....	30
Grafik 3. Beyin dokusunda TBARS düzeylerinin grafiği.....	31
Grafik 4. Pankreas dokusunda TBARS düzeylerinin grafiği.....	32
Grafik 5. Kalp dokusunda TBARS düzeylerinin grafiği.....	33
Grafik 6. Hemolizat örneklerinde TBARS düzeylerinin grafiği.....	35
Grafik 7. Hemolizat örneklerinde SOD aktivitelerinin grafiği	36
Grafik 8. Hemolizat örneklerinde GSH-Px aktivitelerinin grafiği.....	37
Grafik 9. Hemolizat örneklerinde CAT aktivitelerinin grafiği	38
Grafik 10. Hemolizat örneklerinde CHE aktivitelerinin grafiği	39
Grafik 11. Serum örneklerinde TBARS düzeylerinin grafiği.....	40
Grafik 12. Serum örneklerinde LDH aktivitelerinin grafiği	41
Grafik 13. Serum örneklerinde ÜRE düzeylerinin grafiği.....	42
Grafik 14. Serum örneklerinde BUN düzeylerinin grafiği	43
Grafik 15. Serum örneklerinde Kreatinin değerlerinin grafiği	44
Grafik 16. Serum örneklerinde AST aktivitelerinin grafiği.....	45
Grafik 17. Serum örneklerinde ALT aktivitelerinin grafiği.....	46
Grafik 18. Serum örneklerinde ALP aktivitelerinin grafiği.....	47
Grafik 19. Serum örneklerinde GGT aktivitelerinin grafiği.....	48
Grafik 20. Serum örneklerinde CK aktivitelerinin grafiği.....	49
Grafik 21. Serum örneklerinde CK-MB aktivitelerinin grafiği	50

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Methidathion [MD; 0,0 - dimethyl S – (2,3 – dihydro – 5 methoxy – 2 – oxo – 1,3,4 – thiadiazol – 3 – ylmethyl) phosphorodithioate] tarımda yaygın olarak kullanılan organofosfat insektisitler (OPİ)’den biri olduğundan insanlar için toksisitesi oldukça yüksektir (1,2). MD’un belli başlı metabolitleri; oksijen analogu, sulfon, sulfoksid, sulfid, sistein konjugat, desmonomethildir (3). Oksijen analogu dışında diğer metabolitlerin toksisitesi daha düşük bulunmuştur (3,4).

MD ve diğer OPİ tarafından oluşturulan toksisite mekanizması sinir kavşaklarında asetilkolinesteraz (ACHE) enzimi inhibisyonu şeklindedir (1,2,5).

In vivo ve *in vitro* deneysel çalışmalar, akut, subakut, subkronik ve kronik organofosfat toksisitesi şeklinde düzenlenmiştir. Bu çalışmaların sonucunda hepatotoksik, nörotoksik, genotoksik, embriyotoksik immünotoksik gibi etkilerin patogeneğinde artmış reaktif oksijen türleri (ROS)’nin etkisiyle oksidatif doku hasarına yol açtığı anlaşılmıştır. Bu çalışmalarda, karaciğer, beyin ve tiroid gibi çeşitli doku örneklerinde, serum ve eritrositlerde lipid peroksidasyonu (LPO)’nun bir göstergesi olan tiobarbitürik asit reaktif substansları (TBARS) seviyelerinde artış ve enzimatik antioksidan savunma elemanlarından süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PDH) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi enzim aktivitelerindeki değişikliklerin gösterilmesiyle OPİ’nin toksisitesinde oksidatif hasarın rol oynayabileceği gösterilmiştir (6-11).

Non-enzimatik anti-oksidanlardan olan E ve C vitaminleri total antioksidan sistemin birer parçası gibi hareket ederek serbest radikallerin peroksidatif hasarına karşı membranları korurlar (12-14).

Tüm dünyada OP lar çoğunlukla tarımsal insektisit olarak kullanılır.Halk sağlığı açısından problem olan önemli toksisitesi vardır.OPİ toksisitesinde klinikte kullanılan özgül antidotlar Atropin ve Pralidoksim (PAM)dır. Atropin özellikle salgıların artışı, bradikardi ve sindirim sistemi belirtileri gibi muskarinik belirtilerin tedavisinde etkindir. Nikotinik belirtileri düzeltmez. Atropinin etkisi 3-4 dakikada başlar, 12-16 dakikada en yüksek düzeye ulaşır. İnhibe edilmiş ACHE reaktivasyonu uygulanan tedavide önemli bir unsur olarak kabul edilmektedir. Pralidoksim ve

Obidoksim bu tip intoksikasyonda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bir oksim olan PAM etkisini ACHE enzimini yeniden etkinleştirerek gösterir. Ciddi nikotinik ve merkezi sinir sistemi belirtileri olan organofosfatlı böcek öldürücülerle zehirlenmelerde tedaviye PAM eklenir (15).

Daha önce laboratuvarımızda yapılan çalışmalarda MD'un çeşitli dokularda, serum ve eritrositlerde LPO, antioksidan enzimler ve karaciğere akut toksik etkileri araştırılmış ve net sonuçlar elde edilmiştir (2,16). Bizim çalışmamız da; tarımda yaygın kullanılan ve birçok toksisiteye neden olabilen MD'un akut kullanımının sıçan karaciğer, böbrek, pankreas, kalp ve beyin dokularına olası etkisini deneysel bir model üzerinde incelemek ve buna, E vitamini, C vitamini, PAM ve Atropin kombinasyonunun koruyucu rolünü araştırmak amacıyla planlanmıştır.

Planladığımız deneysel çalışmanın yoğun bakım ünitelerinde mortalite ve morbidite oranı yüksek olan bu intoksikasyonun tedavisinde klinik anlamda da ışık tutacağını düşünüyoruz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Dünyada ve Türkiye’de Tarım İlacı Kullanımı

Türkiye’de tarım ilaçları sektörünün en önemli bölümü olan insektisit satışlarının en büyük pazarı organik fosforlardır. Başlıca organik fosforlu aktif maddeler; methidathion, diazinon, chlorpyrifos, dichlorvos, malathion, methamidophos, dimethoate, monocrotophos ve parathionmethyl’dir (17).

2.2. Pestisitler

Pestisit, hayvanlardaki ve bitkilerdeki herhangi bir zararlıının kontrolünde ya da önlenmesinde kullanılması planlanan bir madde ya da maddelerin karışımıdır. Binden fazla aktif maddenin karışımı ile elde edilen 35.000 civarında pestisid preprati vardır. Pestisitleri etki ettikleri zararlılara göre şu şekilde sınıflandırmak mümkündür (18-20).

Insektisit	: Böcek öldürücü
Fungusit	: Mantar yok edici
Mollusit	: Yumuşakça öldürücü
Herbisit	: Yabancı ot öldürücü
Bakterisit	: Bakteri öldürücü
Rodentisit	: Fare ve sıçan öldürücü
Nematisit	: Nematod öldürücü

Pestisitler gaz, toz ve sıvı olarak çeşitli şekillerde uygulanmaktadır. Toz serpmeye, yakından püskürtme, dumanlama ve uçak ile havadan bitkilere püskürtme gibi. Havadan püskürtme ile ilaçlamada, pestisitlerin ancak %25’i hedefine ulaşabilmektedir. Geri kalan kısmı ise çevredeki bitki, hayvan ve insanlar için ciddi tehdit oluşturmaktadır. Amaçlanan hedefleri dışında pestisitler; çevreye yayılarak, çevre kirliliğine ve doğal hayatın bozulmasına, içilen suda, yenilen meyve ve sebzelerde kalıntılar oluşturarak, insan sağlığına zararlı etkiler göstermektedir (18, 21).

İnsanlara pestisitlerin zararlı etkileri iki şekilde olmaktadır. Birinci olarak, doğrudan pestisitlerin intihar amacıyla ya da yanlışlıkla vücuda alınması ile oluşur. Bu şekilde zehirlenmelere akut zehirlenmeler denir. İkinci olarak, pestisit üretiminde veya uygulama alanında çalışma ile veya çevreden gıdalardaki kalıntıların az oranlarda defalarca alımı ile meydana gelen kronik zehirlenmelerdir (21-23).

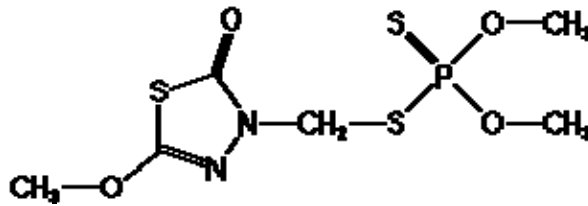
Gıdalardaki pestisit kalıntılarının uzun süre alınmasıyla uzun dönemde akciğer hastalıkları, beyinde ve periferik sinir sisteminde harabiyet, çeşitli kanserler, karaciğer, kalp, endokrin, üreme sistemi ve böbrek hastalıkları oluşmaktadır. Bunun yanında teratojenik, mutajenik, hematolojik, metabolik ve allerjik etkileri olan pestisitler de vardır (24,25).

2.2.1. Methidathion

2.2.1.1. Tanıtım

MD geniş-spektrumlu, oral yoldan ve temasla etkili olan bir organofosfat insektisit (OPİ) ve akarisitir. Bu bileşik, böcek ve kenelerin kontrolünde, meyve, sebze, tütün ve ayçiçeği gibi çeşitli ürünlerde ayrıca seracılıkta ve gül kültürlerinde kullanılır. Oda ısısında renksiz kristalli bir bileşik olarak görünen, kimyasal ismi O, O-dimethyl S-(2,3-dihydro-5-methoxy-2-oxo-1,3,4-thiadiazol -3-methyl) phosphorodithioate olan MD, EPA (Environmental Protection Agency) tarafından yüksek derecede toksisite sınıf I şeklinde sınıflandırılmıştır (26).

Kimyasal yapısı: Şekil 1’de görülmektedir.



Şekil 1. MD’un kimyasal yapısı

Molekül ağırlığı : 302.33

CAS Numarası : 950-37-8

Suda çözünürlüğü : 240 mg/L @ 20 °C

Diğer solventlerde çözünürlüğü: 53 g/kg (octanol), 260 g/kg (ethanol), 600 g/kg (xylene), 690 g/kg (acetone), 850 g/kg (cyclohexane)

Erime noktası: 39,5 °C

Buhar basıncı: 186 mPa @ 20 °C

Parçalanma katsayısı: 4.7243

Absorbsiyon katsayısı: 400

2.2.1.2. Metabolizma

Esser ve ark.(26)'na göre sıçanlarda P-S bağının ayrılması ile başlayan MD'un metabolizmasında, heterosiklik bileşikte thiol grubu metillenir ve daha sonra polar sulphoxide okside edilir. Zincir ayrılmasından sonra Sulphoxid'in büyük bir kısmı CO₂'e okside edilir ve doğrudan solunum yoluyla atılır ya da sulphona okside edilir, bu sulphon da CO₂'e okside edilebilir veya olduğu gibi atılabilir (26).

2.2.2. Pestisitlerin Genel Etkileri

2.2.2.1. Akut Toksik Etkiler

Kolinerjik sinapslarda ve nöromuskuler kavşaklarda bulunan bir nörotransmitter olan asetilkolini hidrolize eden enzim ACHE'dır (27). Sinir kavşaklarında ACHE enziminin inhibisyonu MD'un temel toksisite mekanizmasıdır (28-31).

Kolinerjik mekanizmanın tetiklendiği hastalarda MD'un akut zehirlenme semptomları; bulantı, kusma, kramp, baş ağrısı diyare, hipersalivasyon, kas seğirmesi, baş dönmesi, zorlu solunum, görme bulanıklığı ve nefes darlığı gözlenebilmektedir. Yüksek doz akut maruziyeti sonucu solunum kaslarının paralizisini de içeren yoğun solunum problemleri ve ölüm meydana gelebilmektedir

(32). ACHE enzimini inhibe eden organofosfat ajanların intravenöz enjeksiyonundan birkaç saat sonra sıçanlarda iskelet kasında fibril nekrozisi olduğu bildirilmiştir(32).

2.2.2.2. Kronik Toksik Etkiler

Kronik maruziyette ise asemptomatik bulgular gözlenirken; diyare, kilo kaybı, dispne, kaslarda zaafiyet ve psikiyatrik semptomları kapsayan spesifik olmayan klinik belirtiler de oluşturabilmektedir (33). Organofosfatlara, maruz kalınmasından birkaç hafta sonra primer olarak ekstremiteleri etkileyen “gecikmiş periferik nöropati” meydana gelebilir. OPI zehirlenmesinde ayrıca kranial sinir etki alanlarında ve solunum kaslarında, boyun ve proksimal ekstremitelerde kaslarda zayıflık ve derin tendon reflekslerinde depresyonla karakterize “intermediate sendromu” tanımlanmıştır (34,35).

2.2.2.3. Tirotoksisite

Prasanta ve ark (36), farelerde OPI'den Dimethoate, Cythion ve Mirexin'in tiroid fonksiyonları üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, Dimethoate'ın T₄'ün T₃'e dönüşümünü kataliz eden tip-1 iodoironin 5'- monodeiodinaz enzimini inhibe ettiğini, Cythion'un tiroid iyodin alımını ve hormon sentezini geciktirdiğini ve Mirexin'in balıklarda tiroksin ve triiodotironinin serum konsantrasyonlarını düşürdüğünü bildirmişlerdir (36).

2.2.2.4. Oksidatif Hasar

Pekçok raporda pestisitlerin farklı sınıflarının ROS'un üretimini artırdığı ve bu artışın oksidatif doku hasarı oluşturduğu belirtilmiştir. Karsinojenik ksenobiyotiklerin, serbest radikalleri oluşturma mekanizmaları hücre içindeki sitokrom p-450, peroksizomlar ve mitokondriyondaki enzimatik sistemleri değiştirerek veya indükleyerek meydana gelmektedir. Buna ek olarak, serbest radikalleri toplayarak hücreyi koruyan enzimatik ya da enzimatik olmayan sistemleri tüketirler veya inhibe ederler. Hücrede bir oksidatif hasar oluşturarak, deoksiribonükleik asit (DNA) hasarına veya protein değişikliklerine sebep olurlar. Bunlar da azalmış gap junction aracılıklı haberleşme, transkripsiyon faktörlerinin

(AP-1, NF- κ B) aktive olması, hücre içi kalsiyum ve pH değişiklikleri veya hücre ölümü gibi hücre fonksiyon değişikliklerine sebep olabilirler (37,38).

Oksidatif hasarın markerı TBARS ve 8-OH-2-deoksiguanozin (8-OH-2DG) dir. Hidroksil radikali tarafından DNA'da deoksiguanozin artıklarının C- 8 pozisyonunda hidroksilasyonu ile 8-OH-2DG oluşur. 8-OH-2DG'nin hedef organda oluşumu karsinogenezis ile ilgilidir (37,39,40).

TBARS, ROS'un hücrel membranlarla etkileşiminden kaynaklanan membran LPO'nun bir belirteçidir. ROS, membran karakteristiklerinin değişimiyle hücrel homeostazis bozulmasına sebep olarak membran hasarına yol açabilir. Membran hasarı ve disfonksiyonu, intersellüler gap junction (neksus) haberleşmesi kaybı gibi kalsiyum ve diğer iyon transport sistemlerinin de kaybına yol açar (37,41).

2.2.2.5. Histopatolojik Etkiler

Öncü ve ark.(16), iki gün süre ile intragastrik yoldan 41 mg/kg dozda Klorpirifos-ethyl vererek yaptıkları bir çalışmada karaciğer dokusunda safra kanalında proliferasyon, bazı portal alanlarda bağ dokusu artışı, santral venlerin çevresinde mononükleer hücre infiltrasyonu ile birlikte sinüzoidal dilatasyon ve konjesyon olduğunu göstermişlerdir (16).

2.2.2.6. Diğer Sistemlere Olan Etkiler

Nükleik asitler üzerinde DNA sentezi inhibisyonu, fetüste mutajenik ve teratojenik etkilerinin olduğu bildirilmiştir. Ayrıca immün sistemi ve üreme sistemini de olumsuz etkilediği, ekolojik dengeyi bozduğu bildirilmiştir (42-46).

2.3. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri

Günümüzde, özellikle kardiyo-vasküler ve serebro-vasküler hastalıklarla bazı kanser türlerinin ortaya çıkmasında serbest radikallerin önemli rolleri olduğu düşünülmektedir. İki veya daha çok elementin kimyasal bağ yapmasıyla kimyasal bileşikler meydana gelir. Bu bağ negatif yüklü elektronlarla sarılmıştır. Bileşiğe kararlılık veren elektronların düzenidir. Kararlı bileşiklerin elektronları çiftleşmiş durumdadır. Eğer elektron çiftleşmemiş ise molekül daha reaktif duruma gelir ve

kararsızlaşır. Serbest Radikaller bir veya daha fazla çiftleşmemiş elektrona sahip element veya bileşiklerdir (47).

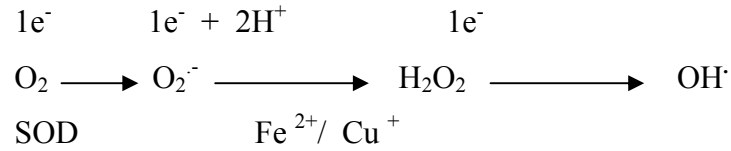
Serbest radikallerde bulunan çiftleşmemiş elektronlar kararlı duruma geçme eğiliminde oldukları için, kararlı halde bulunan bir bileşikten elektron alarak, bu bileşiği yeni bir serbest radikal haline dönüştürürler. Bu olay, bir zincir reaksiyon olarak ya da serbest radikal üzerindeki çiftleşmemiş elektronla bir başka molekül üzerinde bulunan çiftleşmemiş elektron birleşene kadar ya da antioksidanlar tarafından bu zincir reaksiyonu, kırılana kadar devam eder (47).

Serbest radikaller organizmada hem normal metabolizmanın yan ürünü olarak, hem de ilaçlar, iyonlaştırıcı radyasyon ve diğer zararlı kimyasal maddelerin etkisi ile meydana gelebilmektedir. Serbest radikallerin tamamı oksijenden köken almaz ama çoğunluğu öyledir. Oksijen içeren reaktif moleküller ki pek çoğu serbest radikal durumundadır, biyolojik sistemler için çok önemlidir. Bununla beraber, organizmada bulunan oksijenin küçük bir yüzdesi (%5 kadar) serbest radikallere çevrilir, bunların bir bölümü çok toksiktir. İlginç olarak, O_2 'nin kendisi bir radikal olduğu halde toksisitesi düşüktür. Çünkü O_2 'de iki çiftleşmemiş elektron olmasına rağmen, onlar aynı dönme yönüne sahip olduklarından dolayı molekülün oksidasyon potansiyeli düşüktür fakat yok sayılmaz (47).

ROS (süperoksit anyonu: O_2^- , hidroksil radikali: $OH^·$, hidrojen peroksit: H_2O_2) normal metabolizma süresince üretilmektedir. Ancak, iyonize radyasyon, oksitleyici özellik taşıyan ajanlar (bazı ilaçlar, örn; antineoplastikler, bazı antibiyotikler), hücreye yabancı olan maddeler (ksenobiyotikler), diyabet, hiperoksi, hava kirliliği, enflamasyon, yaşlanma ve kanser gibi durumlarda ROS üretimi artabilir ve hücrel hasara sebep olabilir. Oluşan hasardan temel olarak hücrelerin ve çeşitli organellerinin (lizozom, mitokondri, endoplazmik retikulum vs.) fosfolipid membranlarındaki doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu sorumludur. ROS, lizozom membranı üzerine direkt etki ile hücrel yapı bozukluğunu artıran proteolitik enzimlerden oluşan içeriklerin hücrel sitoplazma içine salınmasına neden olurlar (48).

O_2 'e enerji ilavesi, tekli (singlet) oksijen (1O_2) molekülünü meydana getirir. Süperoksit anyon radikali (O_2^-) ise O_2 'ye tek bir elektronun eklenmesi sonucu

oluşur. O_2^- radikali, katalitik olarak SOD enzimi tarafından hidrojen perokside (H_2O_2) indirgenir. Oluşan hidrojen peroksit düşük toksisiteye sahiptir ancak kolayca hücrel membranlara penetre olabilir. Özellikle geçiş-metal iyonlarının (demir, bakır) varlığında O_2^- ve H_2O_2 yüksek derecede reaktif OH^- oluşumu ile ilgilidir. Bu reaksiyon “Fenton Reaksiyonu” olarak bilinir (49).



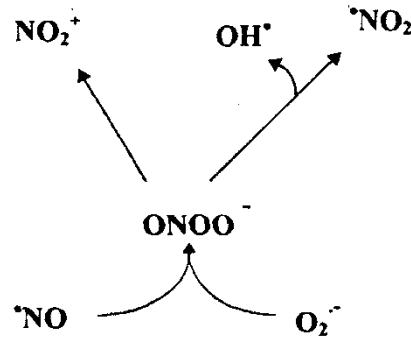
Şekil 2. Fenton reaksiyonu(49)

Süperoksit ve hidroksil radikalleri; hücre fosfolipidlerinin çoklu doymamış yağ asitleri DNA ve protein başta olmak üzere organik ve inorganik bileşiklerle reaksiyona girerler. Özellikle DNA’ya saldıran serbest radikaller çok ciddi zararlara neden olur. Bu zararlar, karsinojenik olan mutasyonlara sebep olabilirler. Serbest radikaller, proteinler üzerinde de zararlı etkiler oluştururlar. Proteinin aminoasiti üzerindeki aktif bölgenin kapanmasına, karboksil gruplarının oluşmasına ve sülfidril gruplarının kaybına neden olurlar. Bu zararlar neticesinde, özellikle sülfür içeren enzimlerin ve diğer protein yapıları enzimlerin aktiviteleri kaybolur. Karbonhidratlar üzerindeki etkileri ise, prostoglandin oluşumu gibi hücrel reseptör fonksiyonlarını değiştirmek şeklinde olur (47).

Stabil bir serbest radikal olan Nitrik oksit (NO); fizyolojik şartlar altında sinaptik plastisite, serebral kan akışı, hafıza oluşumu ve nöroendokrin sekresyon gibi birçok fonksiyonda rol oynar (50). Ancak, hücre içindeki konsantrasyonu aşırı arttığında, nöron ölümü ile sonuçlanan toksik olayları başlatır. Biyolojik sistemlerde NO; O_2 , O_2^- ve geçiş metalleriyle reaksiyona girer. Elektron transport zincirindeki demir içeren komplekslere saldıran NO, enerji metabolizmasının bozulmasına sebep olur. Merkezi sinir sistemindeki glutamat nörogeçisi esnasında, N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörünün aktive olması, büyük miktarlarda Ca^{2+} artışına neden olur. Bunu takiben de NO oluşumu artar. Artan NO ile aşırı uyarı, sinir hücresi tahribatına yol açar (51).

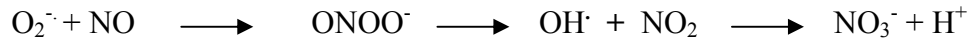
NO’nun yarı ömrü birkaç saniyedir. Hücre dışı süperoksit anyon radikali, hemoglobin (Hb) ve Fe^{2+} tarafından NO’nun biyolojik aktivitesi kısıtlanır. SOD ve

sitokrom c, $O_2^{\cdot-}$ 'ni temizler ve NO'nun stabilitesini artırır. NO, süperoksit anyonu ile reaksiyona girince biyolojik inaktif nitrite döner ve böylece NO süperoksit anyon radikalinin hücrelere olan toksik etkileri için kimyasal bariyer görevi görür. Ancak, NO ile süperoksit anyon radikalinin birleşmesi peroksinitrit anyonunun ($ONOO^-$) oluşumuna yol açabilir (şekil:1) (51).



Şekil 3. Toksik azot oksitler (51)

Peroksinitrit anyonu, protein, lipid ve DNA ile hızla reaksiyona girebilir. Peroksinitrit anyonunun OH veya $O_2^{\cdot-}$ 'nin aksine, çeşitli hücrelere difüzyonu kontrollü gerçekleşmektedir.



Peroksinitrit anyonu, basit bir moleküldür, ama reaktivitesi, OH^\cdot ve NO_2^\cdot ile hemen hemen aynıdır. Peroksinitrit anyonunun neden olduğu zararlı etki, amino asit kalıntılarının aromatik halkalarını direkt olarak nitrolaması ve hidrosillemesinden (52), lipid, protein ve DNA'nın yanı sıra çinko-tiyolat kalıntıları ve sülfidrillerle reaksiyona girmesinden meydana gelir. Bu özelliği peroksinitrit anyonunu, nöronal fizyoloji üzerinde yıkıcı etkisi olan bir molekül haline getirir (51,53).

2.4. Antioksidan Savunma Sistemleri

ROS ve bunların meydana getirdiği hasarı sınırlandırmak için vücut antioksidan savunma sistemlerini geliştirmiştir. Antioksidan etki tipleri, toplayıcı, bastırıcı, onarıcı ve zincir kırıcı etki'dir. ROS'ni etkileyerek onları tutma veya çok daha zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemine "toplayıcı etki" denir. ROS ile etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan veya inaktif şekle

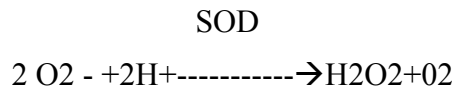
dönüştürme olayına “bastırıcı etki” denir. ROS’ni kendilerine bağlayarak (Hb gibi) zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye “zincir kırıcı etki” denir (54,55).

2.4.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

2.4.1.1. Doğal (Endojen) Antioksidanlar

2.4.1.1.1. Enzimatik Antioksidanlar

Süperoksit dismutaz (SOD): Süperoksitin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümü katalizler. Bu enzimin katalizlediği reaksiyon aşağıda gösterilmiştir.



Bu reaksiyon kendiliğinden oluşabilir. Fakat SOD tarafından katalizlendiği zaman hızı 4000 kat artar.

Bunlar Cu ve Zn içeren izomerler bulundurur (56,57). Bu enzim grubunun ökaryot canlılarda, bulunduğu bölgeye göre değişiklik gösteren üç farklı izoformu tespit edilmiştir.

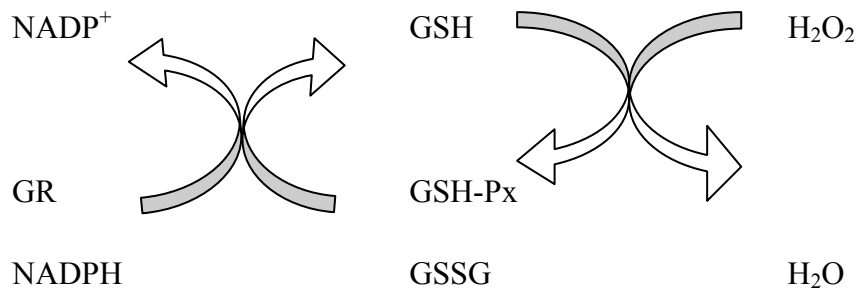
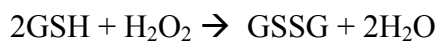
1. Cu-Zn SOD: Cu ve Zn içeren dimerik tip hücrede en fazla bulunan izomerdir. Sitozolda bulunur ve siyanidle inhibe olur.
2. Mn SOD: Mn içeren tetramerik tip olup mitokondride bulunur ve siyanidle inhibe olmaz.
3. Ekstrasellüler SOD: Hücre zarı kollajene bağlanarak nötrofil ve diğer hücrelerden salınan süperoksitleri kontrol eder. Ekstrasellüler SOD’un aktivitesi çok düşüktür.

Enzimin fizyolojik fonksiyonu, süperoksit serbest radikalinin zararlı etkilerine etkilerine karşı oksijeni katabolize eden hücreleri korumaktır. SOD, fagosite edilmiş bakterilerin hücre içi öldürülmesinde de etkilidir. Bu sebepten dolayı SOD granülositlerin fonksiyonu için çok önemlidir. Lenfositlerde granülositlerden daha fazla miktarda SOD bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda bazı hastalıklarda süperoksit üretiminde artma görülmüştür (romatoid artrit, diabet, Behçet gibi). SOD

aktivitesi, oksijen kullanımı yüksek olan dokularda özellikle eritrositlerde fazladır (56,57).

Glutasyon peroksidaz(GSH-Px): GSH-Px; membrana bağlı en önemli antioksidan olan E vitamini sınırlı olduğu zaman membranın peroksidasyona karşı korunmasını sağlar. GSH-Px, serbest radikal peroksidasyonu ile fagositik hücrelerin zarar görmelerini engeller. Hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumludur. Membran fosfolipit hidroperoksitlerini alkollere indirger (58). Tetramerik yapıda olup dört selenyum atomu içerir. Mitokondri ve sitozolde bulunabilir. Diyetle alınan selenyum enzimin aktivitesini artırır. Glutasyon peroksidaz aktivitesi, pentoz fosfat yolunda üretilen NADPH'a bağımlıdır. Az miktarlardaki H₂O₂, öncelikle glutasyon peroksidaz enzimi tarafından temizlenir. Bu enzim, redükte glutasyonun okside glutatyona çevrildiği reaksiyonda hidrojen peroksidi yüksek spesifite ile kullanarak onu detoksifiye etmektedir (9). Redükte glutasyon (GSH)'un, okside glutasyon (GSSG) haline dönüştüğü reaksiyonda, glutasyon peroksidaz enzimi, hidrojen peroksiti suya indirger. Daha sonra glutasyon redüktaz enziminin katalizlediği reaksiyon ile NADPH harcanarak okside glutasyon, tekrar redükte hale dönüştürülebilir (23,59).

Reaksiyon şu şekildedir;



Şekil 4. Glutasyonun okside ve redükte formları arasındaki dönüşümü

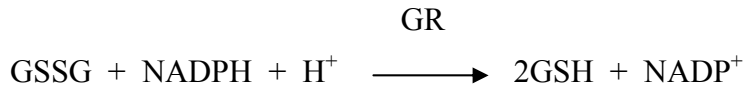
(GSH=Redükte glutasyon, GSSG=Okside glutasyon, GSH-Px=Glutasyon peroksidaz, GR=Glutasyon redüktaz, H₂O₂=Hidrojen peroksit) (23,59).

GSH-Px'in fagositik hücrelerde önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında meydana gelen serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmelerini engeller. Eritrositlerde de GSH-Px oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GSH-

Px aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına neden olur. Sonuçta bu da şiddetli hücre hasarına yol açar. Aynı zamanda bu enzim, lipid peroksidlerinin indirgenmesini de katalizlemektedir (23,59,60).

Glutasyon Redüktaz (GSH): Bir tripeptid olan GSH (γ -Glu-Cys-Gly; GSH), hem indirgenmiş (sülfidril) hem de yükseltgenmiş (disülfid) formda bulunabilir. Karaciğerde genetik bilgiye gereksinim olmadan sentezlenebilir. GR enzimi fonksiyonu nedeniyle *in vivoda* baskın olarak indirgenmiş formda bulunur.

Glutasyon Redüktaz: Okside haldeki glutasyonun, indirgenmiş glutatyona dönüşümünü katalizler. Böylece, redükte glutasyon kullanan antioksidan enzimlerin redükte glutasyon ihtiyacını karşılayarak, indirekt yolla antioksidan etki göstermektedir (62,23,59,60).



GSH; fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu, proteinlerdeki sülfür (-SH) gruplarını indirgenmiş formda tutarak engeller. Ayrıca, amino grup asitlerin membrandan transportunu ve yabancı bileşiklerin detoksifikasyonunu sağlar. Hemoglobinin methemoglobine dönüşmesini önlemede önemli rolü vardır. Lökositleri fagositozda kullanılan yükseltgen maddelerden, eritrosit zarını hidrojen peroksitten, lens proteinlerini de serbest radikal hasarından korur (62.23.59.60).

Glutasyon-S-transferaz: Ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda aktif rolleri vardır. Bu enzimler de aynen glutasyon peroksidaz enziminin yaptığı gibi lipid peroksidlerini redükte ederek antioksidan etkilerini gösterirler. GSH-Px selenyuma bağımlı olarak antioksidan etki gösterirken Glutasyon-S-transferaz selenyumdan bağımsızdır. Katalizlediği reaksiyon aşağıdaki gibidir:



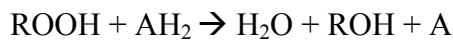
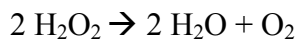
Glutasyon-S-transferazlar antioksidan etkileri yanısıra, karaciğerde sitokrom p-450 enzim sistemi ile detoksifikasyona katkıda bulunurlar. Bunun yanında hücre içi bağlayıcısı ve taşıyıcısı, prostoglandin izomeraz etkisi, lökotrien C₄ sentezi ve genotoksik ajanların detoksifikasyonu gibi işlevleri de vardır (61).

Katalaz: Glikoprotein yapıda bir hemoproteindir ve her biri ferriprotoporfirin grubu içeren dört alt üniteden meydana gelmiştir.

Özellikle hidrojen peroksinin yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu durumlarda etkili olan Katalaz hemen hemen bütün memeli hücrelerinde bulunur. Katalaz aktivitesinin % 98'inden fazlasını sağlayan eritrositler yüksek oranda katalaz içerirler (64).

Katalaz enzim aktiviteleri dokularda oldukça büyük farklılıklar gösterebilmektedir. Aktivitenin en yüksek olduğu dokular karaciğer ve böbrek dokularıdır. Aktivitenin en düşük seviyede görüldüğü dokular ise destek dokularıdır. Dokularda başlıca mitokondri ve peroksizom partiküllerine bağlı olarak bulunur. Endoplazmik retikulumda ve sitoplazmada da aktivite göstermektedir. Ortamda oluşan hidrojen peroksiti okside edici enzimlerin etkisiyle direkt olarak suya dönüştürür. Katalaz aktivitesi, ortamdaki hidrojen peroksit miktarının çok fazla arttığı durumlarda belirgin olarak artmaktadır. Ortamdaki H₂O₂ miktarının düşük olduğu durumlarda ise hidrojen peroksiti substrat olarak kullanan diğer antioksidan enzimler (glutasyon peroksidaz gibi) devreye girerek hidrojen peroksiti ortamdan uzaklaştırırlar. Katalaz ve glutasyon peroksidaz enzimleri aynı etkileri göstermelerine rağmen, hücre içindeki yerleşim ve etki yerleri bakımından farklılık göstermektedirler. GSH-Px enzimi başlıca sitozol ve mitokondride daha etkin iken, katalaz enzimi peroksizomlarda daha etkindir (65).

Katalaz enziminin katalizlediği reaksiyon şu şekildedir;

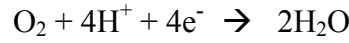


(ROOH: Formik asit, etanol, metanol, fenoller gibi bir elektron vericisidir.)

Katalazın indirgeyici aktivitesi küçük moleküllere karşıdır(hidrojen peroksit ve metil, etil, hidroperoksitleri gibi). Büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerine ise etki etmez (61,62).

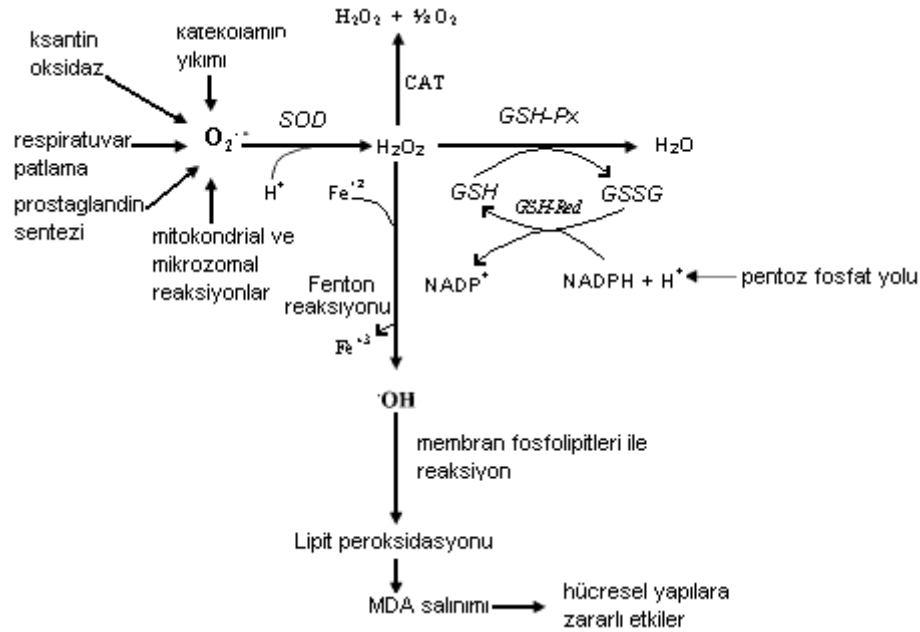
Mitokondrial Sitokrom Oksidaz: Süperoksit radikali *in vivo* olarak başlıca mikrozomal ve mitokondrial elektron taşıma sistemlerinde oluşturulmaktadır.

Mitokondrial elektron transport sisteminde bir O_2 molekülüne 4 elektron aktarılarak 2 molekül su oluşturulur:



Sitokrom oksidaz, bu elektronlanmış oksijen moleküllerini kendi aktif merkezinde sıkıca tutarak elektronların ortama sızmasını sağlar. Elektron sızıntısını önleyip ortamdaki diğer moleküllerin oksidasyona uğramasına engel olduğu için antioksidan etki gösterdiği bildirilmiştir (61).

Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz (G6PD): Dolaylı yolla antioksidan aktivite gösteren bir enzimdir. Eksikliğinde oksidan ajanların detoksifiye edilememesi nedeniyle hemolitik anemi meydana gelir. Azalmış G6PD aktivitesi sonucunda, hücre içinde oluşan serbest radikallerin ve peroksitlerin detoksifikasyonları için gerekli olan NADPH oluşumu bozulur (66).



Şekil 5. Hücresel antioksidan enzim sistemi ve lipid peroksidasyon zinciri (67).

2.4.1.1.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

C Vitamini (Askorbik asit): Suda çözünen ve vücut sıvılarının çoğunda askorbat şeklinde bulunan bir vitamindir, vücutta sentez edilmez. Organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonlarında C vitamini indirgeyici ajan olarak görev yapar. Kollagen sentezinde prolin ve lizinin hidroksilasyonu için gereklidir.

Tirozinden epinefrin sentezinde dopamin β -hidroksilaz basamağında, tirozin yıkımında p-hidroksi -fenil piruvatın homogentisata oksidasyonunda ve safra asitlerinin oluşumunda α -hidroksilaz başlangıç basamağında C vitamini gereklidir. Demirin emiliminde indirgeyici rol oynar. Ferri demirin ferro demire indirgenip midede emiliminde görev alır. Yara iyileşmesinde ve immünite de gereklidir (47)

Güçlü bir antioksidan olan C vitamini, süperoksit ve hidroksil radikali ile kolayca reaksiyona girer. Süperoksit radikali dışında ferri demiri ferro demire indirgeyen, tek hücreli ajan olduğu düşünülmektedir. Askorbat, proteine bağlı ferri demiri uzaklaştırıp Fenton reaksiyonunda hidrojen peroksit ile etkileşmeye uygun olan ferro demire dönüştürdüğü için serbest radikal reaksiyonlarının önemli bir katalizörüdür (63).



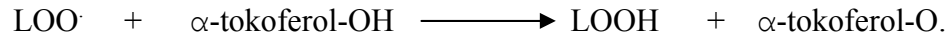
C vitamini eksikliği olan hayvanların lökositlerinde, kemotaksis ile bakterisidal aktivitenin baskılandığı gösterilmiştir. C vitamini verilmesi sağlıklı kişilerde kemotaktik cevabı artırır (63).

Oksidatif patlama sırasında, reaktif moleküllerin çevreye yayılması mutasyonlara, inflamasyona, hücre hasarına, koruyucu enzimlerin inaktive olmasına ve lenfosit proliferasyonunun inhibe olmasına neden olur. C vitamininin reaktif bakterisidal moleküllerin hücre içi miktarlarında azalmaya sebep olmaksızın oksidatif parçalanma sonucunda meydana gelen ürünlerin zarar verici etkilerini engellediği gösterilmiştir (63). Paolini ve ark. diyetel olarak yüksek dozda (500 mg/gün) 6 hafta C vitamini verilmesinin antioksidan etki kadar prooksidan olduğunu da bildirmişlerdir (68).

E vitamini: Vücutta sentez edilmez. Tokoferol yapısındadır. En geniş doğal dağılımı ve en büyük biyolojik aktiviteyi gösteren D- α -tokoferol'dür. En yüksek E vitamini konsantrasyonları, mikrozoimler ve mitokondri gibi membrandan zengin hücre organelleridir. Sitozol ve peroksizomda ise daha az bulunur (47,63).

E vitamini çok önemli bir antioksidandır. LPO'nun erken dönemlerinde membranlardaki serbest radikal toplayıcı etkisi sonucu hücrenin membran fosfolipidlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikallerin

etkisinden koruyarak, LPO'na karşı ilk savunma hattını sağlar. E vitamini, süperoksit, tekli (singlet) oksijen, hidroksil ve lipit peroksil radikallerini ve diğer radikalleri indirger. Zincir kırıcı bir antioksidan olarak bilinir. Çünkü fonksiyonları, lipid peroksil radikallerini (LOO[·]) ortadan kaldırmak ve böylece lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını sonlandırmaktır.



Sonuçta, oluşan tokoferoksil radikali LPO'nu kendi başına başlatmak için yeterince reaktif değildir ve nispeten stabildir. Oksidasyon sonucu oluşan bu ürün, glukuronik asit ile konjugasyona uğrayarak safra yolu ile atılır. Tokoferolün antioksidan etkisi, yüksek oksijen konsantrasyonlarında etkilidir. En yüksek oksijen kısmi basıncına maruz kalan lipid yapılarında, örneğin eritrosit membranları ve solunum sistemi membranlarında yoğunlaşma eğilimindedir (63).

Melatonin: Melatonin (N-Asetil- 5- Metositriptamin) pineal bezden, özellikle karanlık fotoperiyotta sentezlenen hormondur. Güçlü bir antioksidan maddedir. En zararlı serbest radikal olan hidroksil radikali (OH) ile reaksiyona girip onu indolil katyonuna dönüştürerek ortadan kaldırır. Çok lipofilik olduğundan hücre membranını kolayca geçebilen melatonin, stoplazma ve hücre çekirdeği içine kolayca taşınabilir. Çekirdeğe bağlanarak DNA'yı yerinde koruyucu etki gösterir (69).

Glutasyon: Genetik bilgiye gerek olmadan karaciğerde sistein, glisin ve glutamattan sentezlenir. Tripeptid yapıdadır. Glutasyon, peroksitlerle ve serbest radikallerle reaksiyona girerek onları zararsız ürünlere çevirir. Böylece, hücreleri serbest radikallerin neden olabileceği oksidatif hasara karşı korumaktadır. Ayrıca, proteinlerdeki -SH gruplarını da indirgenmiş halde tutarak, fonksiyonel proteinler ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. Yabancı bileşiklerin detoksifikasyonunda ve aminoasitlerin membrandan transportunda görevlidir. Glutasyon eritrositleri, lökositleri ve göz lenslerini oksidatif strese karşı korur. Eritrosit zarını hidrojen peroksitten, lökositleri fagositozdaki oksidan ajanlardan korur. Glutasyon non-katalitik olarak da serbest radikallerle direkt reaksiyona girebilir (70).

Karatenoidler: β -karoten A vitaminin metabolik öncüsüdür. β -karotenin tekli oksijeni bastırabildiği, süperoksit radikalini temizliyebildiği ve peroksit

radikalleri ile direkt olarak etkileşerek antioksidan görev gördüğü bilinmektedir. TBARS oluşumunu, lipid peroksidasyonunu inhibe eder (70-72).

Ürat: C vitamininin oksidasyonunu engelleyici etkisi de bulunan ürat; normal plazma konsantrasyonunda süperoksit, hidroksil, peroksil radikallerini ve tekli oksijeni temizlemektedir (71,72).

Sistein: Hidroksil radikalleri ve Süperoksit ve toplayıcısıdır (63).

Albumin: Lipid hidroperoksit (LOOH) ve hipoklorit (HOCl) toplayıcısıdır Geçiş metallerini bağlama özelliği vardır (63).

Bilirubin: Zincir kırıcı bir antioksidan olarak görev yapabildiği gibi yüksek düzeyleri dokular için toksikdir. Hemoprotein katabolizma ürünüdür. Süperoksit ve hidroksil radikallerinin toplayıcısıdır. β -karotenlerin aktivitesini bazı dokularda artırır (63).

Seruloplazmin: +2 değerli demirin +3 değerli demire yükseltgenmesini sağlayarak Fenton reaksiyonunu inhibe edip, serbest radikal oluşmasını engeller. SOD enziminin benzeri bir etki gösterdiği düşünülmektedir (63).

Transferrin ve laktoferrin: serbest haldeki demiri bağlayarak antioksidan etki gösterir (63).

Ferritin: Dokulardaki demiri bağlar (63).

Piruvat: H_2O_2 bağlayıcı özelliği vardır (63).

Taurin: Ksenobiotiklere bağlanma yeteneği vardır. Hipoklorit ile de reaksiyona girerek etkisini azaltır (63).

Sistein: Süperoksit, hipoklorit ve hidroksil radikali toplayıcısıdır. (63)

Hemoglobin oksidanları: Haptoglobin hemoglobini, hemopeksin de serbest haldeki hemi, bağlayarak antioksidan özellik gösterir (63).

Sitokrom P-450: Peroksidaz aktivitesiyle H_2O_2 veya peroksitleri temizler (36).

Koenzim Q (Ubiquinon): Mitokondri iç membranında yerleşik, ATP sentezini sağlayan önemli bir proton ve elektron taşıyıcısıdır. Uygun şartlarda tutulduğu ve kontrol edilebildiği sürece koruma fonksiyonunu yerine getirir, fakat kontrolsüz şartlarda radikal üretimini arttırabilir (60,73).

3. MATERYAL ve METOD

Bu çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi (SDÜ) Tıp Fakültesi Hayvan Üretimi ve Deneysel Araştırma Merkezi ve Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmamız için SDÜ Tıp Fakültesi Hayvan Etik Kurulundan 01.03.2011 tarih ve 02 sayılı etik kurul onayı alınmıştır.

3.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması ve Gruplandırılması

Çalışmada ağırlıkları 250 ± 50 gr olan 3-4 aylık 50 adet dişi Wistar Albino sıçan kullanılmıştır. Bir haftalık adaptasyon sürecinden sonra deney hayvanları, her grupta 10 hayvan bulunacak şekilde 5 gruba ayrılmıştır. Gruplar aşağıdaki şekilde oluşturulmuştur.

Kontrol: Bu gruba nazogastrik sonda aracılığı ile oral olarak 250 gr sıçan için 2 ml olacak şekilde serum fizyolojik (SF) verildi. PAM yerine 0,5 ml SF intraperitoneal, her saat başı Atropin yerine 2,5 ml intraperitoneal SF, vit E yerine 0,250 ml intramuskuler SF, vit C yerine 0,5 ml intraperitoneal SF yapıldı.

MD: Bu gruba nazogastrik sonda aracılığı ile SF içinde çözülmüş tek doz 10 mg/kg (LD50'nin %25'i) MD verildi. PAM yerine 0,5ml SF intraperitoneal, her saat başı Atropin yerine 2,5ml intraperitoneal SF, vit E yerine 0,250 ml intramuskuler SF, vit C yerine 0,5 ml intraperitoneal SF yapıldı.

MDPA: Bu gruba nazogastrik sonda aracılığı ile oral olarak SF içinde çözülmüş tek doz 10 mg/kg (LD50'nin %25 i) MD, PAM 40 mg/kg intraperitoneal, ardından her saat başı 10 mg intraperitoneal Atropin yapıldı. Diğer gruplara verilecek olan vit E yerine 0,250 ml intramuskuler SF, vit C yerine 0,5 ml intraperitoneal SF yapıldı.

MDEC: Bu gruba nazogastrik sonda aracılığı ile oral olarak SF içinde çözülmüş tek doz 10 mg/kg (LD50'nin %25'i) MD verilerek, 30 dakika sonra vit E 150 mg/kg intramuskuler ve vit C 200 mg/kg intraperitoneal uygulandı. PAM yerine 0,5 ml SF intraperitoneal, her saat başı Atropin yerine 2,5 ml intraperitoneal SF yapıldı.

MDPAEC: Bu gruba nazogastrik sonda aracılığı ile oral olarak SF içinde çözülmüş tek doz 10 mg/kg (LD₅₀'nin %25'i) MD ve PAM 40 mg/kg intraperitoneal verilerek, ardından Atropin her saat başı 10 mg intraperitoneal yapıldı. MD verilmesinden 30 dakika sonra vit E 150 mg/kg intramuskuler, vit C 200 mg/kg intraperitoneal uygulandı.

Uygulamadan 1 gün sonra anestezi altında sıçanların başı gövdesinden ayrılarak karaciger, kalp, pankreas, böbrek ve beyin dokuları ve kanları alınmıştır.

Tablo 1. Deney planı

Deney Grupları	Hayvan Sayısı	Tedavi	Doz
Kontrol	10	Kontrol	-
MD	10	MD	10 mg/kg i.g.
MDPA	10	MD + PAM + Atropin	10 mg/kg i.g. 40 mg/kg i.p. 10 mg/kg/h i.p.
MDEC	10	MD + vit E + Vit C	10 mg/kg i.g. 150 mg/kg i.m. 200 mg/kg i.p.
MDPAEC	10	MD + PAM + Atropin + vit E + Vit C	10 mg/kg i.g. 40 mg/kg i.p. 10 mg/kg/h i.p. 150 mg/kg i.m. 200 mg/kg i.p.

* NOT: MD için LD₅₀= 32 mg/kg'dır.

3.2. Deneylerde Kullanılan Malzeme ve Cihazlar

1-Soğutmalı santrifüj	Eppendorf MR5415 (Almanya)
2-Santrifüj	Nüve-NF 815 (Türkiye)
3-Derin dondurucu	Scientific Snijders (Hollanda)
4-Hassas terazi	Scaltec (İsviçre)
5-Vorteks	Nüve NM 100 (Türkiye)

6-Otomatik pipetler	Eppendorf (Almanya), Gilson (Fransa)
7-Spektrofotometre	Shimadzu UV 1201 ve 1600 (Japonya)
8- Hemogram Cihazı	Coulter Max M (İngiltere)
9- Homojenizatör	Janke & Kunkel Ultra Turrax T25 (Almanya)
10- Sonikatör	UW-2070 Bandeun Electronic (Almanya)
11- pH metre	Hanna Instruments (Portekiz)
12- Manyetik karıştırıcı	Nüve (Türkiye)
13-Biyokimya analizörü	Olympus AU2700 (Japonya)
14-Hormon analizörü	Elecsys 2010 (Japonya)

3.2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- CAT Tayini İçin Kullanılanlar:

Potasyum dihidrojen fosfat, Merck (Almanya)

Disodyum hidrojen fosfat dihidrat, Merck (Almanya)

Hidrojen Peroksid, Merck (Almanya)

- Lipid Peroksidasyonu İçin Kullanılanlar

Trikloroasetik asit (TCA), Merck (Almanya)

Tiyobarbitürik asit (TBA), Merck (Almanya)

- SOD Tayini İçin Kullanılanlar:

Radox, Ransod ticari kiti (Kingdom)

- GSH-Px Tayini İçin Kullanılanlar:

Radox, Ransel ticari kiti (Kingdom)

- Methidathion

Suprathion 40 EC (Hektaş/Türkiye)

Molekül ağırlığı: 302.33

CAS Numarası: 950-37-8

- E Vitamin Evigen ampul (Aksu Farma/Türkiye)
- C Vitamini Redoksan ampul (Bayer/Almanya)
- PAM(Pralidoksim metil sülfat)Contrathion (Fransa)
- Atropin Sülfat Biofarma (Türkiye)

3.2.2. Kullanılan Çözeltiler

Hemolizatta hemoglobin tayini için Drabkin solüsyonu kullanıldı.

Drabkin Solüsyonu (Double Drabkin): 50 mg potasyum siyanür, 1 g sodyum bikarbonat, 200 mg potasyum ferri siyanür tartılıp bir miktar distile suda çözüldü ve son hacim 500 ml ye tamamlandı.

LPO tayini için kullanılanlar:

- TCA çözeltisi (%10): 10 g TCA tartılıp, bir miktar distile suda eritildi ve son hacim 100 mililitreye tamamlandı.
- TBA çözeltisi (%0,67): 0,67 g TBA tartılıp, bir miktar distile suda eritildi ve son hacim 100 mililitreye tamamlandı.

CAT tayini için kullanılanlar:

- 50 mM fosfat tamponu: 2,7218 g KH_2PO_4 ve 5,3397 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartılarak 500 ml suya tamamlandı.
- 30 mM hidrojen peroksit için: 0,34 ml % 30 luk hidrojen peroksit 100 ml fosfat tamponu ile dilüe edildi.

3.3. Gerekli Materyallerin Alınması ve Doku Homojenizasyonu

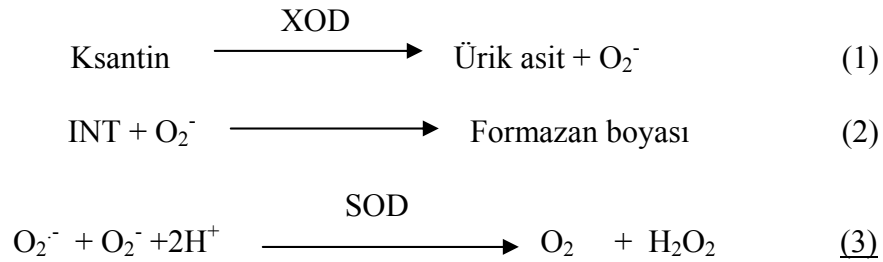
Çalışma bitiminde anestezi ile başı gövdesinden ayrılaran sıçanların torokotomi ile kalplerinden EDTA'lı tüplere 1,5-2 cc ve jelli biyokimya tüplerine 3-4 cc kan örnekleri alındı. EDTA'lı tüplerdeki kan örneklerinden plazma ayrıldıktan sonra hemolizat hazırlandı.

(Eritrositler 3 ml % 0,9 NaCl ile 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek 3 defa yıkandı. Yıkamış eritrositler 2 ml soğuk distile suyla hemoliz edildi.)

Jelli biyokimya tüplerine alınan kan örnekleri 5000 rpm'de 4 dk. santrifüj edilerek serumlar ayrıldı ve -80°C 'de saklandı. Sıçanların böbrek, karaciğer, beyin, pankreas ve kalp dokuları ph 7,4 olan fosfat tamponu ile dolu cam tüplere konuldu. Herbir sıçanın çalışmada kullanılan tüm dokuları tartılarak fosfat tamponu (pH 7,4) ile 10 kat dilue edildi. Janke & Kunkel Ultraturax T-25 (Almanya) marka doku parçalayıcı ile ve daha sonra UW-2070 Bandeun Electronic (Almanya) markalı sonikatör ile sonike edilerek homojenizasyonu tamamlandı. Doku örnekleri, Eppendorf 5415-R (Almanya) marka soğutmalı santrifüj ile 4000 devir/dk, 15 dk. santrifüj edildi ve süpernatanı alınarak eppendorf tüplere aktarıldı. Homogenatın protein miktarı Olympus AU-2700 (Japonya) marka otoanalizör ile ölçüldü ve sonuçlar gram protein (gprt) cinsinden verildi (74). Daha sonra doku homojenatları yedeklenerek -80°C 'de saklandı. Herbir parametre öncesi bir örnek çıkarılarak çözdürüldü.

3.4. SOD Aktivitesi Ölçümü

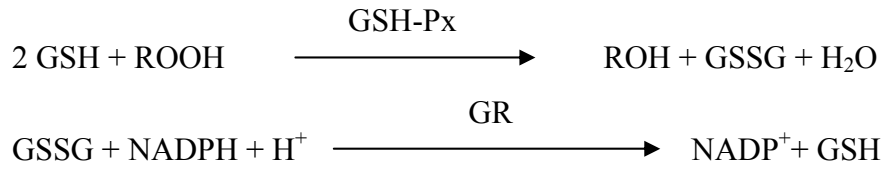
SOD aktivitesi, Woolliams ve arkadaşlarının (75) metodunun esas alındığı RANSOD ticari kiti ile spektrofotometrik olarak ölçüldü. Kitin prensibi; ksantin oksidazın katalizlediği reaksiyon ile ksantinden ürik asit ve süperoksit radikali oluşur (reaksiyon 1). Oluşan süperoksit radikali kırmızı renkli formazon bileşiği oluşturmak üzere INT (2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5 phenil tetrazolium chloride ile reaksiyona girer (reaksiyon 2). Çalıştığımız numune içindeki SOD aktivitesi ile bu reaksiyon inhibe olur ve % inhibisyon derecesi ile aktivite ölçülür (reaksiyon 3). SOD aktivitesi dokularda U/mgprt, hemolizat numunelerinde U/gHb şeklinde verilir. Homogenatın protein miktarı Olympus AU-2700 (Japonya) marka otoanalizör ile ölçüldü ve sonuçlar U/gprt cinsinden verildi.



Şekil 6. SOD aktivitesi ölçümü (kaynak 75)

3.5. GSH-Px Aktivitesi Ölçümü

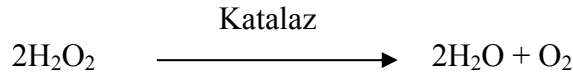
GSH-Px aktivitesi Paglia ve Valentina'nın yöntemine göre ölçüldü (76). GSH-Px kümen hidroperoksit varlığında glutatyonun oksidasyonunu katalizler. Ortamda glutatyon redüktaz ve NADPH varlığında ise okside glutatyon redükte glutatyona dönüştürülürken NADPH'da NADP'ya dönüşür. NADPH'ın 340 nm'deki absorbans düşüklüğü spektrofotometrik olarak ölçülür. GSH-Px aktivitesi U/gprt cinsinden ifade edildi. Homogenatın protein miktarı Olympus AU-2700 (Japonya) marka otoanalizör ile ölçüldü ve sonuçlar U/gprt cinsinden verildi.



Şekil 7. GSH-Px aktivitesi ölçümü (76)

3.6. Katalaz (CAT) Aktivitesi Ölçümü

Katalaz aktivitesi, Aebi yöntemine(77) göre çalışıldı. Katalaz, hidrojen peroksidin (H_2O_2) su ve moleküler oksijen vermek üzere bozunmasını katalizler. Çalışmada CAT aktivitesi, H_2O_2 konsantrasyonunda birim zamandaki azalmanın 240 nm'de spektrofotometrik olarak izlenmesiyle tayin edilmiştir.



CAT tayini İçin kullanılanlar:

- 50 mM fosfat tamponu: 2,7218 g KH_2PO_4 ve 5,3397 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartılarak 500 ml suya tamamlandı.
- 30 mM hidrojen peroksit için: 0,34 ml % 30 luk hidrojen peroksit 100 ml fosfat tamponu ile dilüe edildi.

Hazırlanan hemolizat fosfat tamponuyla 100 kat dilüe edildi. 2 ml hemolizat üzerine taze hazırlanan ve 30 mM H_2O_2 içeren fosfat tampon çözeltisinden 1 ml eklendi. 240 nm'de absorbansın azalması 15 sn aralıklarla, 3 dk boyunca okunup ve

lineer regresyonlara göre her bir analiz için en uygun absorbanlar bulunarak, k değeri aşağıdaki şekilde hesaplandı.

$$k = 2,3 / \Delta t \times (\log A_1/A_2) = 0,076 (\log A_1 / A_2) (\text{sn}^{-1})$$

$$k / \text{ml} = k.a$$

$$k / \text{g protein} = k / \text{ml} (1000 / b) = (2,3 / 30) (a / b) (\log A_1 / A_2) (\text{sn}^{-1})$$

A₁: 240 nm deki başlangıç absorbanı (t₁=0)

A₂: 240 nm deki 30. sndeki absorbanı (t₂=30)

a: dilüsyon faktörü

b: dokunun protein miktarı

CAT aktivitesi, hemolizat örneklerinde kU/gHb olarak verildi (77).

3.7. Lipid Peroksidasyonu (LPO) Tayini

LPO ürünlerinden olan malondialdehit (MDA); Draper ve Hadley'in çift ısıtma yöntemi kullanıldı (78).

LPO tayini için kullanılan kimyasallar:

- Trikloroasetik asit (TCA) çözeltisi (% 10): 10 g TCA tartılıp, bir miktar distile suda eritildi ve son hacim 100 mililitreye tamamlandı.
- Tiyobarbitürik asit (TBA) çözeltisi (% 0,67): 0,67 g TBA tartılıp, bir miktar distile suda eritildi ve son hacim 100 mililitreye tamamlandı.

Deneyin prensibi: Yağ asidi peroksidasyonunun son ürünü olan MDA, TBA ile reaksiyona girerek, 532 nm'de maksimum absorban veren renkli bir kompleks oluşturur.

Deneyin yapılışı: 0,5 ml örnek üzerine 2,5 ml % 10'luk TCA eklenerek karıştırıldı. 15 dakika kaynatılıp soğutuldu. 5000 devir/dk'da 10 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonunda tüplerden 2 ml süpernatant alınıp, üzerine 1 ml % 0,67 lik TBA eklendi. Tüpler karıştırıldıktan sonra 15 dk kaynatıldı ve hemen soğutuldu. 532 nm de absorbanları, numune yerine distile konularak hazırlanan köre karşı okundu.

MDA-TBA kompleksinin 532 nm'deki ekstinsiyon katsayısından yararlanılarak ($1,56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1}\text{M}^{-1}$) nanomol/ml cinsinden TBARS değerleri bulundu.

Sonuçlar aşağıdaki şekilde hesaplandı.

$$A = a \times b \times c$$

$$c = A / a \times b$$

$$c = \frac{A \text{ mol cm} \times 1 \times 10^9 \text{ nmol} \times L}{1,56 \times 10^5 \text{ L cm mol } 10^3 \text{ ml}}$$

$$c \text{ (nmol/ml)} = A \times 57,69$$

A=absorbans

a=ekstinsiyon katsayısı

b=ışık yolu

c=konsantrasyon

Doku örnekleri ise hazırlanan homojenatlardan yukarıdaki prosedüre uygun olarak çalışılıp, nanomol/mg protein olarak hesaplandı.

3.8. Serum Örneklerinin Çalışılması

Jelli biyokimya tüplerine alınan sıçan kanlarından 4000 rpm.'de 5 dk. santrifüj edilerek hazırlanan serum örneklerinde BUN, Üre, Kreatinin, CK, CK-MB, Amilaz, Lipaz, ACHE, ALP, ALT, AST, GGT, LDH enzimlerinin, ayrıca hemolizatlarda ACHE enziminin tayini OLYMPUS AU 2700 (Japonya) marka otoanalizör ile yapılmıştır. Troponin T ve Myoglobin düzeyleri ise ELECSYS 2010 (Japonya) cihazı ile çalışılmıştır.

3.9. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmeler, "SPSS® 17,0 for Windows" istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Verilerin normal dağılıma uygun olduğu görüldü. Aynı zamanda verilerin varyanslarının homojenliği Leven testi ile incelendiğinde varyanslar homojen bulundu. Bu nedenle özelliklerin gruplara göre farklılığı varyans

analizine (One Way Anova) göre test edilerek yorumlandı. F testinde önemli bulunan 2'li grupların farklılığının belirlenmesinde Duncan ve tesleri kullanıldı. $P < 0,05$ anlamlı kabul edildi. Sonuçlar aritmetik ortalama \pm SD olarak verildi.

4. BULGULAR

Deneye randomize olarak seçilen sıçanlardan her grupta 10 adet olacak şekilde başlandı. Deney esnasında ölen sıçan olmadı. Ancak MD verilen tüm gruplarda MD verilmesinden üç dakika sonra istemsiz kasılmalar ve titremeler başladı. Yalnızca MD verilen grupta istemsiz kasılmalar ve titreme hali deney sonlanana kadar devam ederken; E ve C vitamini eklenen grupta bu istemsiz kasılmalar ve titreme hali E+C vitamini verildikten bir saat sonra giderek azalmaya başladı. Dördüncü saatte kayboldu. Kombine tedavi (MDPAEC) verilen grupta ise yaklaşık beş dakika sonra azalmaya başlayan semptomlar onuncu dakikada tamamen kayboldu. Kontrol grubu dışındaki tüm grupların deney süresince verilen besinleri yemedikleri ve hafif uyku halinde oldukları gözlemlendi.

4.1. Doku Örneklerinde TBARS Düzeyleri

Çalışmamızda karaciğer, böbrek, beyin, pankreas ve kalp dokularındaki TBARS düzeyleri test edilerek, her bir gruptaki denek sayısının ortalama değerleri ve standart sapmaları tespit edilmiştir.

4.1.1. Karaciğer Dokusu TBARS Düzeyleri

Karaciğer dokusu TBARS düzeyleri ortalama ve standart sapmaları Tablo 2'de gösterilmiştir.

Kontrol ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, MD ($p<0,001$), MDPA ($p<0,05$) ve MDEC ($p<0,05$) gruplarının anlamlı olarak yükseldiğini, MDPAEC grubunda da yükselmenin gözlemlendiği ama bu yükselmenin anlamlı olmadığı tespit edilmiştir.

Tablo 2. Karaciğer dokusunda TBARS düzeyleri ortalama ve standart sapmaları (gruplar arasındaki anlamlılıklar farklı harflerle gösterilmiştir).

Gruplar	Kontrol	MD	MDPA	MDEC	MDPAEC
TBARS (nmol/mg prt)	2,871±0,84 ^c	4,873±1,24 ^{a,x}	3,879±0,99 ^b	4,000±0,94 ^b	3,491±0,73 ^c

MD: metidathion, MDPA: MD + PAM + Atropin; MDEC: MD + E Vitamini + C Vitamini; MDPAEC: MD + PAM + Atropin + E Vitamini + C Vitamini

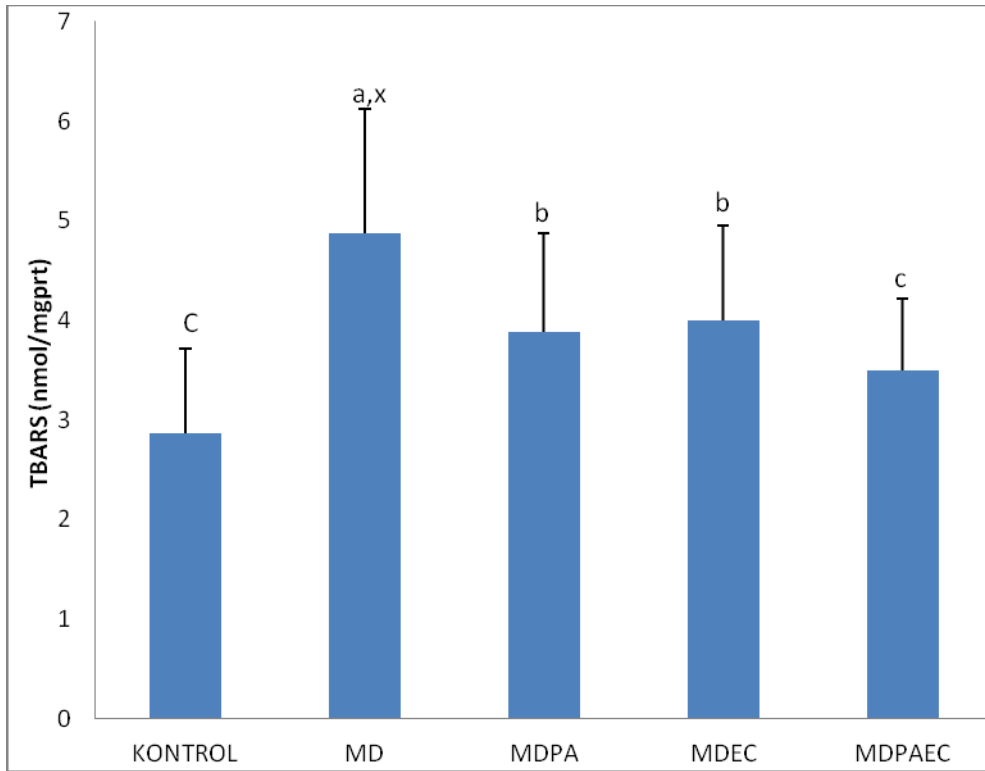
a,b,c,x;One way anova testi

^a MD ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $p<0.05$ olarak anlamlılık düzeyleri,

^b MDPA ve MDEC verilen gruplarla, diğer gruplar karşılaştırıldığında $p<0.05$ olarak anlamlılık düzeyleri,

^c Kontrol grubu ve kombine (MDPAEC) tedavi gruplarının, diğer gruplarla karşılaştırıldığında $p<0.05$ olarak anlamlılık düzeyleri,

^x MD verilen grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında $P<0,001$ olarak anlamlılık düzeyi.



Grafik 1. Karaciğer dokusunda TBARS düzeylerinin grafiği.

4.1.2. Böbrek Dokusu TBARS Değerleri

Böbrek dokusu TBARS düzeyleri ortalama ve standart sapmaları Tablo 3'de gösterilmiştir.

Kontrol ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, MD ($p<0,001$), MDPA ($p<0,05$) ve MDEC ($p<0,05$) gruplarının anlamlı olarak yükseldiğini, MDPAEC grubunda da yükselmenin gözlemlendiği ama bu yükselmenin anlamlı olmadığı tespit edilmiştir.

Tablo 3. Böbrek dokusu TBARS düzeyleri ortalama ve standart sapmaları (gruplar arasındaki anlamlılıklar farklı harflerle gösterilmiştir).

Gruplar	Kontrol	MD	MDPA	MDEC	MDPAEC
TBARS (nmol/mg prt)	0,899±0,20 ^b	1,744±0,54 ^{a,x}	1,432±0,49 ^a	1,503±0,36 ^a	1,056±0,26 ^b

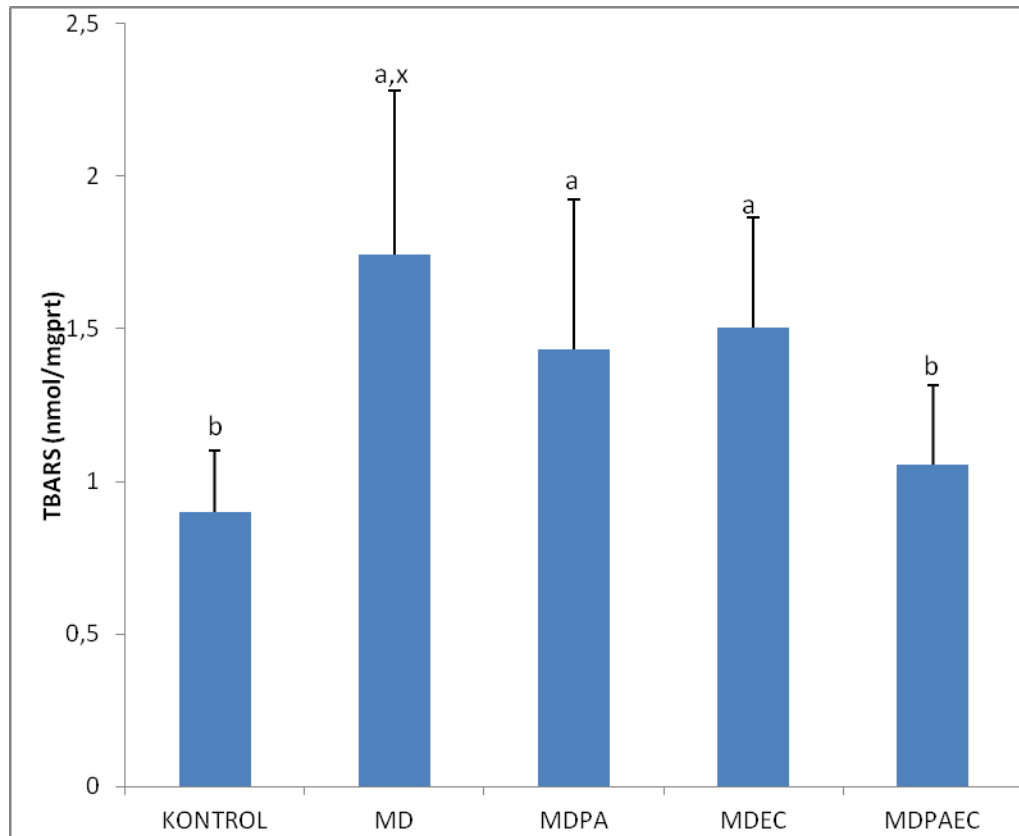
MD: metidathion, MDPA: MD + PAM + Atropin; MDEC: MD + E Vitamini + C Vitamini; MDPAEC: MD + PAM + Atropin + E Vitamini + C Vitamini

a,b,c;One way anova testi

a MD, MDPA ve MDEC grupları kontrol ve MDPAEC grupları ile karşılaştırıldığında $p<0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri,

bKontrol grubu ve kombine (MDPAEC) tedavi gruplarının, diğer gruplarla karşılaştırıldığında $p<0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri,

x MD verilen grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında $P<0,001$ olarak anlamlılık düzeyleri.



Grafik 2. Böbrek dokusunda TBARS düzeylerinin grafiği

4.1.3. Beyin Dokusu TBARS Düzeyleri

Böbrek dokusu TBARS düzeyleri ortalama ve standart sapmaları Tablo 4’de gösterilmiştir.

Kontrol ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, MD ($p<0,05$), MDEC ($p<0,05$) gruplarının anlamlı olarak yükseldiğini, MDPA ve MDPAEC grubunda da yükselmenin gözlemlendiği ama bu yükselmenin anlamlı olmadığı tespit edilmiştir.

Tablo 4. Beyin dokusu TBARS düzeyleri ortalama ve standart sapmaları (gruplar arasındaki anlamlılıklar farklı harflerle gösterilmiştir).

Gruplar	Kontrol	MD	MDPA	MDEC	MDPAEC
TBARS (nmol/mg prt)	4,779±1,09 ^c	7,162±1,36 ^a	5,643±0,83 ^c	6,224±1,17 ^b	5,166±0,91 ^c

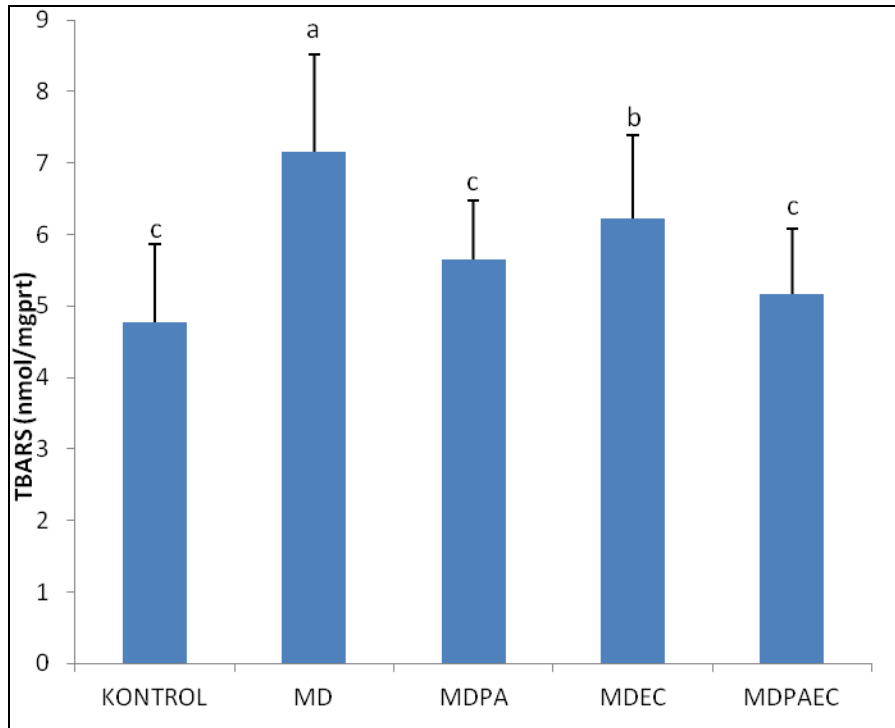
MD: metidathion, MDPA: MD + PAM + Atropin; MDEC: MD + E Vitamini + C Vitamini; MDPAEC: MD + PAM + Atropin + E Vitamini + C Vitamini

a,b,c;One way anova testi

a MD ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $p<0.05$ olarak anlamlılık düzeyleri,

b MDEC ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $p<0.05$ olarak anlamlılık düzeyleri,

c Kontrol, MDPA ve kombine (MDPAEC) tedavi gruplarının, diğer gruplarla karşılaştırıldığında $p<0.05$ olarak anlamlılık düzeyleri.



Grafik 3. Beyin dokusunda TBARS düzeylerinin grafiği

4.1.4. Pankreas Dokusu TBARS Düzeyleri

Pankreas dokusu TBARS düzeyleri ortalama ve standart sapmaları Tablo 5’de gösterilmiştir.

Kontrol ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, MD ($p<0,05$), MDPA ($p<0,05$) ve MDEC ($p<0,05$) gruplarının anlamlı olarak yükseldiğini, MDPAEC grubunda da yükselmenin gözlemlendiği ama bu yükselmenin anlamlı olmadığı tespit edilmiştir.

Tablo 5. Pankreas dokusu TBARS düzeyleri ortalama ve standart sapmaları (gruplar arasındaki anlamlılıklar farklı harflerle gösterilmiştir).

Gruplar	Kontrol	MD	MDPA	MDEC	MDPAEC
TBARS (nmol/mg prt)	1,822±0,31 ^c	2,845±0,50 ^a	2,528±0,60 ^b	2,735±0,81 ^a	2,129±0,54 ^c

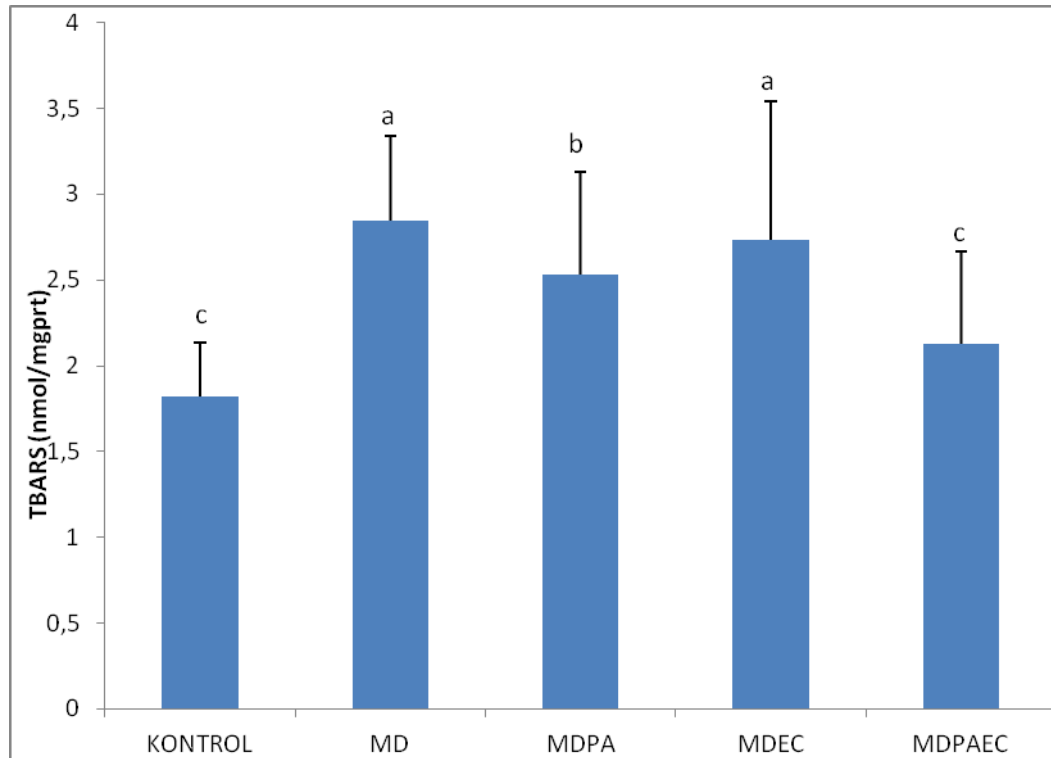
MD: metidathion, MDPA: MD + PAM + Atropin; MDEC: MD + E Vitamini + C Vitamini; MDPAEC: MD + PAM + Atropin + E Vitamini + C Vitamini

a,b,c;One way anova testi

a MD ve MDEC gruplarının, diğer gruplarla karşılaştırıldığında $p<0.05$ olarak anlamlılık düzeyleri

b MDPA verilen grup diğer gruplarla karşılaştırıldığında $p<0.05$ olarak anlamlılık düzeyleri

c Kontrol grubu ve kombine (MDPAEC) tedavi gruplarının, diğer gruplarla karşılaştırıldığında $p<0.05$ olarak anlamlılık düzeyleri



Grafik 4. Pankreas dokusunda TBARS düzeylerinin grafiği

4.1.5. Kalp Dokusu TBARS Düzeyleri

Pankreas dokusu TBARS düzeyleri ortalama ve standart sapmaları Tablo 6'da gösterilmiştir.

Kontrol ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$).

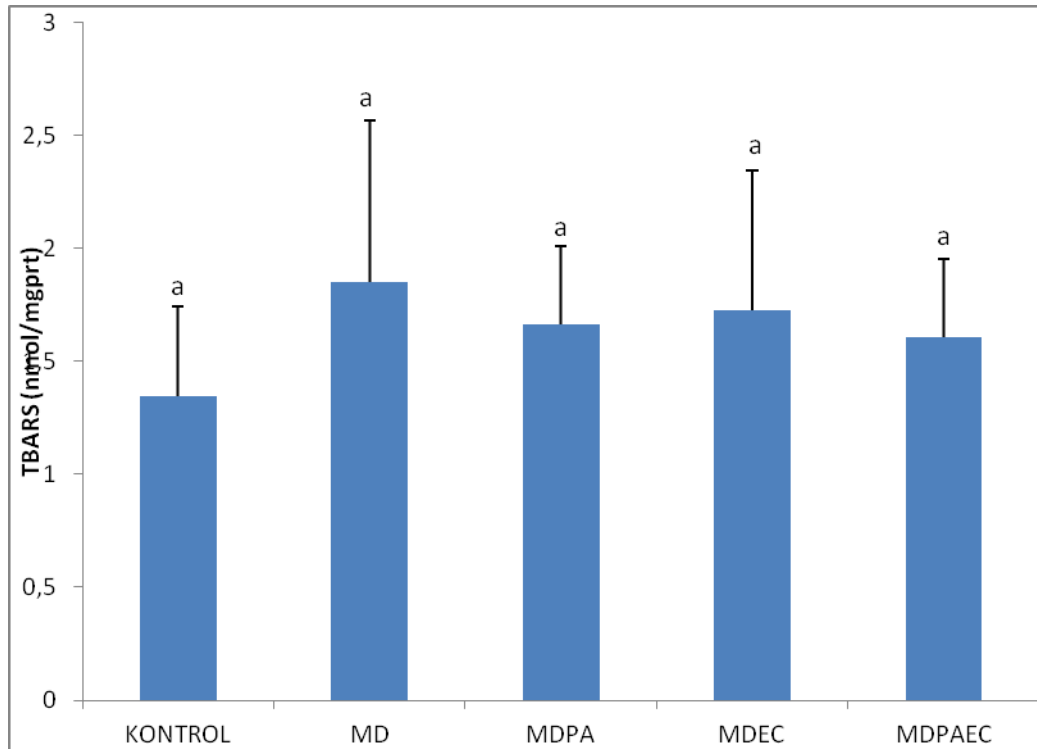
Tablo 6. Kalp doku örneklerinde çalışılan TBARS düzeyleri ortalama ve standart sapmaları (gruplar arasındaki anlamlılıklar farklı harflerle gösterilmiştir).

Gruplar	Kontrol	MD	MDPA	MDEC	MDPAEC
TBARS (nmol/mg prt)	1,346±0,40 ^a	1,852±0,71 ^a	1,662±0,35 ^a	1,727±0,62 ^a	1,608±0,35 ^a

MD: metidathion, MDPA: MD + PAM + Atropin; MDEC: MD + E Vitamini + C Vitamini; MDPAEC: MD + PAM + Atropin + E Vitamini + C Vitamini

a,b,c;One way anova testi

a Kontrol diğer gruplarla karşılaştırıldığında ($p>0,05$) olarak anlamlılık düzeyleri



Grafik 5. Kalp dokusunda TBARS düzeylerinin grafiği

Tablo 7. Dokularda TBARS tablosu (Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı grupları gösterir).

Gruplar	Kontrol	MD	MDPA	MDEC	MDPAEC
Karaciğer	2,871±0,84 ^c	4,873±1,25 ^a	3,879±0,99 ^b	4,000±0,94 ^b	3,491±0,73 ^c
Böbrek	0,899±0,20 ^b	1,744±0,54 ^a	1,432±0,49 ^a	1,503±0,36 ^a	1,056±0,26 ^b
Beyin	4,779±1,09 ^c	7,162±1,36 ^a	5,643±0,83 ^c	6,224±1,17 ^b	5,166±0,91 ^c
Pankreas	1,822±0,31 ^c	2,845±0,50 ^a	2,528±0,60 ^b	2,735±0,81 ^a	2,129±0,54 ^c
Kalp	1,346±0,40 ^a	1,852±0,71 ^a	1,662±0,35 ^a	1,727±0,69 ^a	1,608±0,35 ^a

MD: metidathion, MDPA: MD + PAM + Atropin; MDEC: MD + E Vitamini + C Vitamini; MDPAEC: MD + PAM + Atropin + E Vitamini + C Vitamini
a,b,c,;One way anova testi

4.2. Hemolizat

Çalışmamızdaki grupların hemolizat örneklerinde; TBARS düzeyleri, SOD, GPx, CAT ve CHE aktiviteleri test edilmiş ve her bir parametrenin tüm gruplardaki ortalama değerleri ve standart sapmaları hesaplanmıştır.

4.2.1. Hemolizat Örneklerinde TBARS Düzeyleri

Hemolizat örneklerinde çalışılan TBARS düzeylerinin ortalama ve standart sapmaları Tablo 8'de gösterilmiştir.

Kontrol ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, MD, MDPA ve MDEC gruplarının TBARS düzeyleri anlamlı olarak ($p < 0,001$) yükseldiğini, MDPAEC grubunda da yükselmenin gözlemlendiği ama bu yükselmenin anlamlı olmadığı tespit edilmiştir.

Tablo 8. Hemolizat örneklerinde çalışılan TBARS düzeylerinin ortalama ve standart Sapmaları (gruplar arasındaki anlamlılıklar farklı harflerle gösterilmiştir).

Gruplar	Kontrol	MD	MDPA	MDEC	MDPAEC
TBARS (nmol/gHb)	96,30±9,28 ^c	223,60±38,77 ^{a,x}	174,60±22,67 ^{b,x}	170,60±16,37 ^{b,x}	108,81±46,80 ^c

MD: metidathion, MDPA: MD + PAM + Atropin; MDEC: MD + E Vitamini + C Vitamini; MDPAEC: MD + PAM + Atropin + E Vitamini + C Vitamini

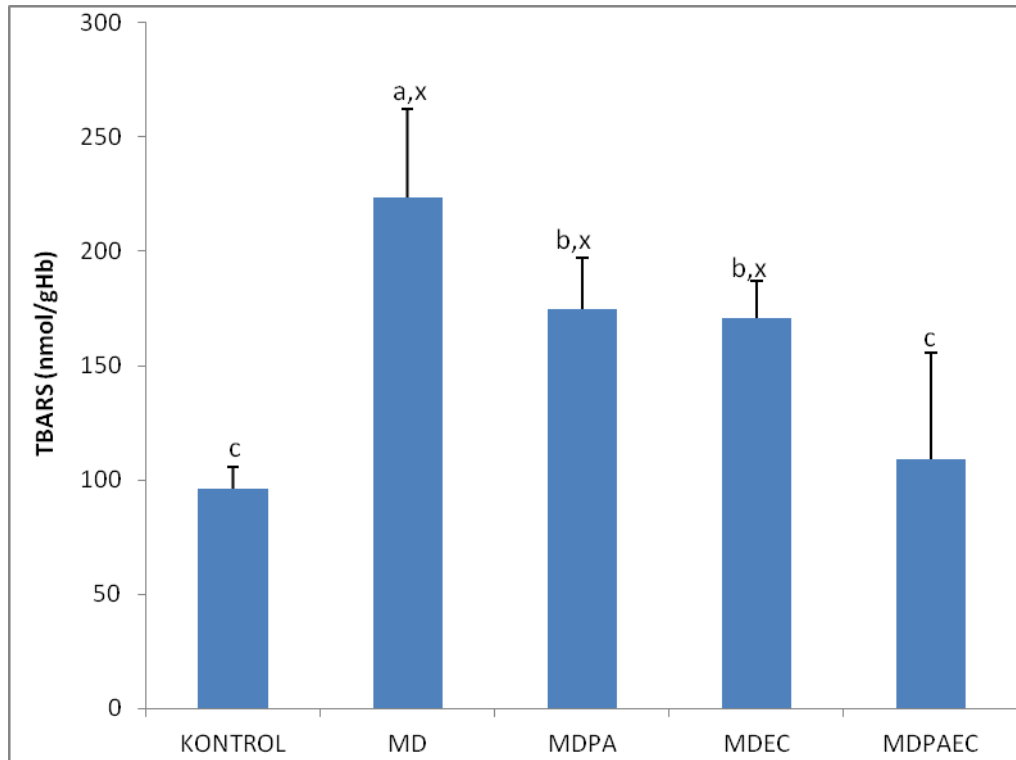
a,b,c,x;One way anova testi

a MD ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $p<0.05$ olarak anlamlılık düzeyleri,

b MDPA ve MDEC verilen gruplarla, diğer gruplar karşılaştırıldığında $p<0.05$ olarak anlamlılık düzeyleri,

c Kontrol grubu ve kombine (MDPAEC) tedavi gruplarının, diğer gruplarla karşılaştırıldığında $p<0.05$ olarak anlamlılık düzeyleri,

x Kontrol ile MD, MDEC ve MDPA verilen gruplar karşılaştırıldığında $P<0,001$ olarak anlamlılık düzeyleri



Grafik 6. Hemolizat örneklerinde TBARS düzeylerinin grafiği

4.2.2. Hemolizat Örneklerinde SOD Aktiviteleri

Hemolizat örneklerinde çalışılan SOD aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları Tablo 9'da gösterilmiştir.

Kontrol ile MD verilen grup karşılaştırıldığında SOD aktivitesinin anlamlı olarak ($p<0,05$) düştüğü tespit edilmiştir. Kontrol ile diğer gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edilememiştir ($p>0,05$).

Tablo 9. Hemolizat örneklerinde çalışılan SOD aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları (gruplar arasındaki anlamlılıklar farklı harflerle gösterilmiştir).

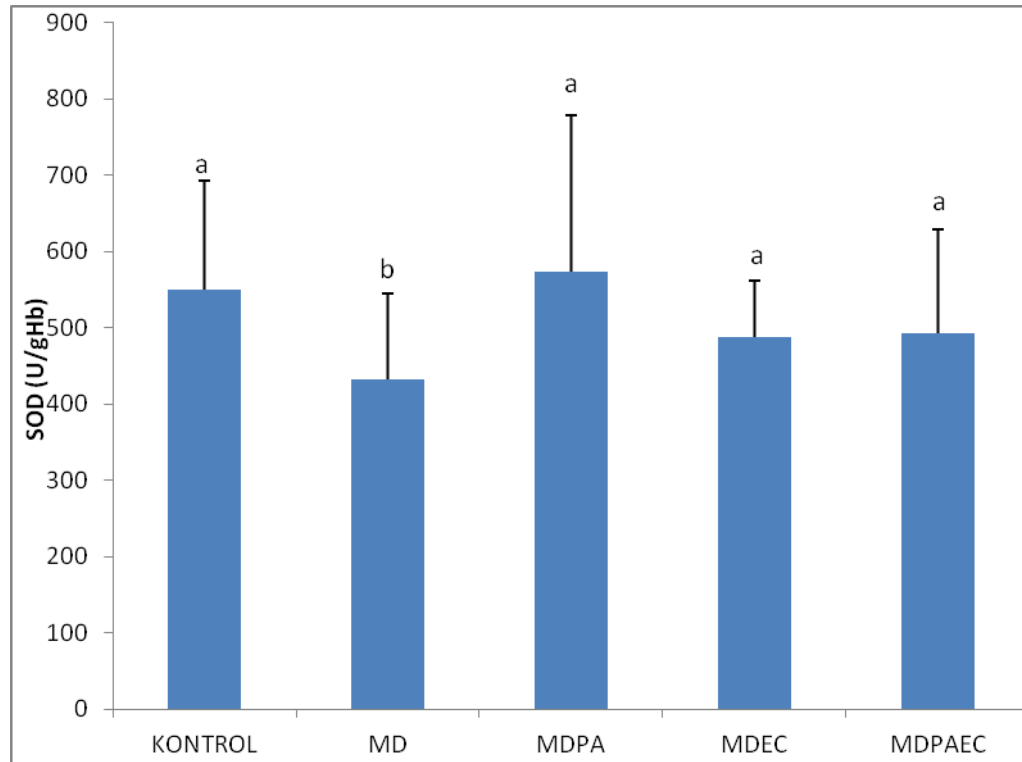
Gruplar	Kontrol	MD	MDPA	MDEC	MDPAEC
SOD(U/gHb)	549,69±143,43 ^a	431,75±112,55 ^b	573,30±205,74 ^a	488,40±74,21 ^a	493,50±136,03 ^a

MD: metidathion, MDPA: MD + PAM + Atropin; MDEC: MD + E Vitamini + C Vitamini; MDPAEC: MD + PAM + Atropin + E Vitamini + C Vitamini

a,b;One way anova testi

a Kontrol, MDPA, MDEC ve MDPAEC gruplarıyla karşılaştırıldığında $p>0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri

b MD, diğer gruplarla karşılaştırıldığında $p<0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri



Grafik 7. Hemolizat örneklerinde SOD aktivitelerinin grafiği

4.2.3. Hemolizat Örneklerinde GSH-Px ve CAT Aktiviteleri

Hemolizat örneklerinde çalışılan GSH-Px ve CAT aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları Tablo 10'da gösterilmiştir.

Her iki parametre için de kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$).

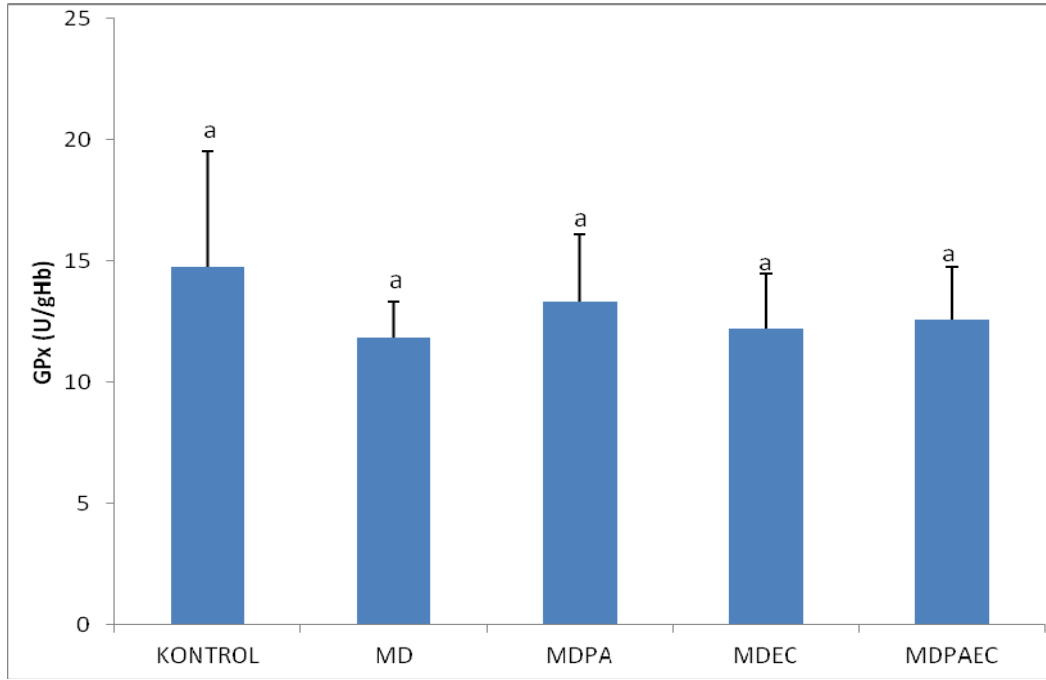
Tablo 10. Hemolizat örneklerinde çalışılan GSH-Px ve CAT aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları (gruplar arasındaki anlamlılıklar farklı harflerle gösterilmiştir).

Gruplar	Kontrol	MD	MDPA	MDEC	MDPAEC
GSH-Px(U/gHb)	14,73±4,79 ^a	11,82±1,53 ^a	13,32±2,80 ^a	12,18±2,30 ^a	12,56±2,19 ^a
CAT (kU/gHb)	2792,9±1097,67 ^a	2363,25±933,63 ^a	2748,58±741,70 ^a	2453,94±307,07 ^a	3277,19±1897,95 ^a

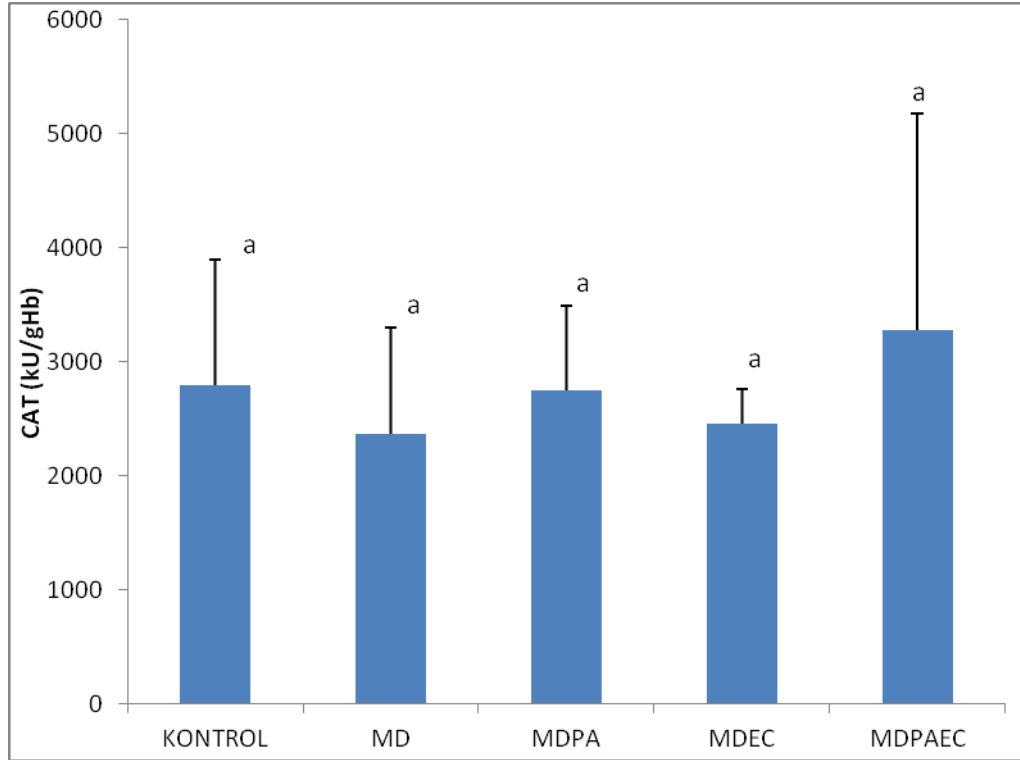
MD: metidathion, MDPA: MD + PAM + Atropin; MDEC: MD + E Vitamini + C Vitamini; MDPAEC: MD + PAM + Atropin + E Vitamini + C Vitamini

a;One way anova testi

a Her iki parametre için de tüm gruplar birbirleriyle karşılaştırıldıklarında $p>0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri



Grafik 8. Hemolizat örneklerinde GSH-Px aktivitelerinin grafiği



Grafik 9. Hemolizat örneklerinde CAT aktivitesinin grafiği

4.2.4. Hemolizat Örneklerinde CHE Aktiviteleri

Hemolizat örneklerinde çalışılan **CHE** aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları Tablo 11’de gösterilmiştir. Kontrol ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, MD, MDPA, MDEC ve MDPAEC gruplarının **CHE** aktivitelerinin anlamlı olarak ($p<0,001$) düştüğü tespit edilmiştir.

Tablo 11. Hemolizat örneklerinde çalışılan CHE aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları (gruplar arasındaki anlamlılıklar farklı harflerle gösterilmiştir).

Gruplar	Kontrol	MD	MDPA	MDEC	MDPAEC
CHE(U/L)	2235±199,42 ^{a,x}	938±100,02 ^d	1683±201,20 ^b	1474±168,81 ^c	1774±109,47 ^b

MD: metidathion, MDPA: MD + PAM + Atropin; MDEC: MD + E Vitamini + C Vitamini; MDPAEC: MD + PAM + Atropin + E Vitamini + C Vitamini

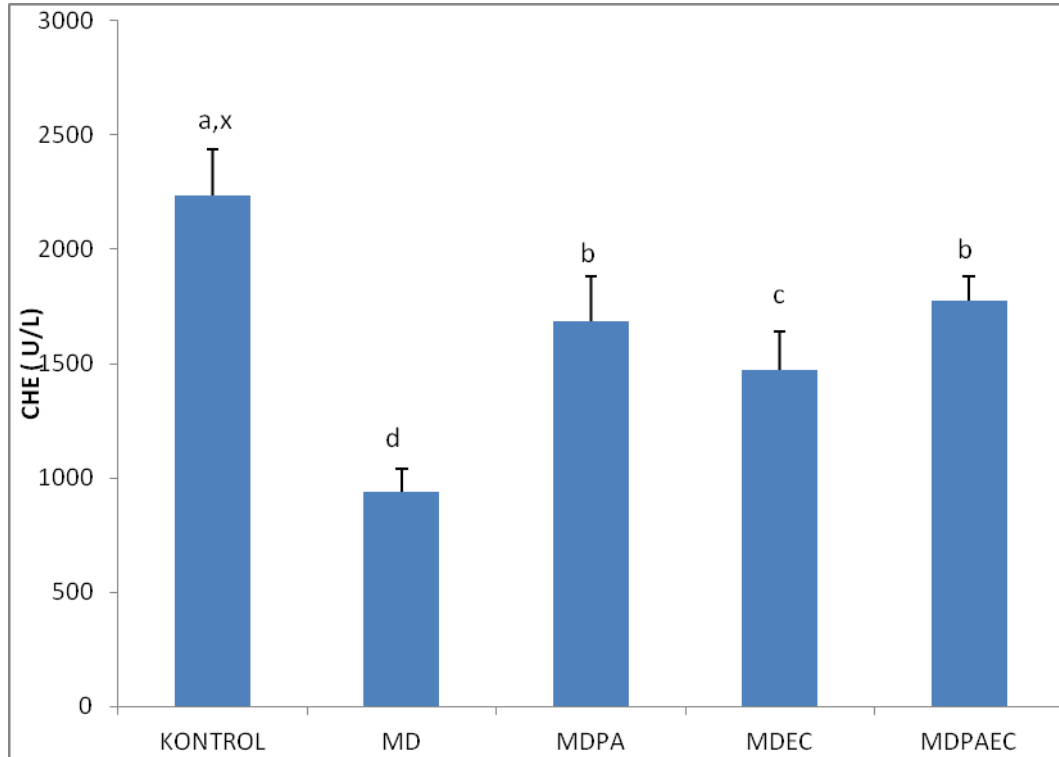
a,b,c,d,x;One way anova testi

a,x Kontrol diğer gruplarla karşılaştırıldığında $p<0,001$ olarak anlamlılık düzeyleri

b MDPA ile MDPAEC verilen grup diğer gruplar ile karşılaştırıldığında $p<0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri

c MDEC ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $p<0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri

d MD ile diğer gruplar ile karşılaştırıldığında $p<0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri



Grafik 10. Hemolizat örneklerinde CHE aktivitelerinin grafiği

Tablo 12. Tüm hemolizat parametreleri (Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı grupları gösterir).

Gruplar	Kontrol	MD	MDPA	MDEC	MDPAEC
TBARS (nmol/g Hb)	96,30±9,28 ^c	223,60±38,77 ^a	174,60±22,67 ^b	170,60±16,37 ^b	108,81±46,80 ^c
SOD(U/gHb)	549,69±143,43 ^a	431,75±112,55 ^b	573,30±205,74 ^a	488,40±74,21 ^a	493,50±136,03 ^a
GSH-Px(U/gHb)	14,73±4,79 ^a	11,82±1,53 ^a	13,32±2,80 ^a	12,18±2,30 ^a	12,56±2,19 ^a
CAT(kU/gHb)	2792,9±1097,67 ^a	2363,25±933,63 ^a	2748,58±741,70 ^a	2453,94±307,07 ^a	3277,19±1897,95 ^a
CHE(U/L)	2235±199,42 ^a	938±100,02 ^d	1683±201,20 ^b	1474±168,81 ^c	1774±109,47 ^b

MD: metidathion, MDPA: MD + PAM + Atropin; MDEC: MD + E Vitamini + C Vitamini; MDPAEC: MD + PAM + Atropin + E Vitamini + C Vitamini

4.3. Serum

Çalışmamızdaki grupların serum örneklerinde; TBARS, ÜRE, BUN, KREATİNİN düzeyleri, AST, ALT, ALP, GGT, LDH, CK, CKMB, LİPAZ, AMİLAZ ve CHE aktiviteleri test edilmiş ve her bir parametrenin tüm gruplardaki ortalama değerleri ve standart sapmaları hesaplanmıştır.

4.3.1. Serum Örneklerinde Çalışılan TBARS Düzetleri

Serum örneklerinde çalışılan TBARS düzeylerinin ortalama ve standart sapmaları Tablo 13’de gösterilmiştir.

Kontrol ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, MD, MDPA, MDEC ve MDPAEC gruplarının TBARS değerlerinin anlamlı olarak ($p<0,001$) yükseldiği tespit edilmiştir.

Tablo 13. Serum örneklerinde çalışılan TBARS düzeylerinin ortalama ve standart sapmaları (gruplar arasındaki anlamlılıklar farklı harflerle gösterilmiştir).

Gruplar	Kontrol	MD	MDPA	MDEC	MDPAEC
TBARS (umol/L)	3,663±0,29 ^d	5,821±0,18 ^a	4,929±0,344 ^b	5,072±0,13 ^b	4,518±0,33 ^{c,x}

MD: metidathion, MDPA: MD + PAM + Atropin; MDEC: MD + E Vitamini + C Vitamini; MDPAEC: MD + PAM + Atropin + E Vitamini + C Vitamini

a,b,c,d,x;One way anova testi

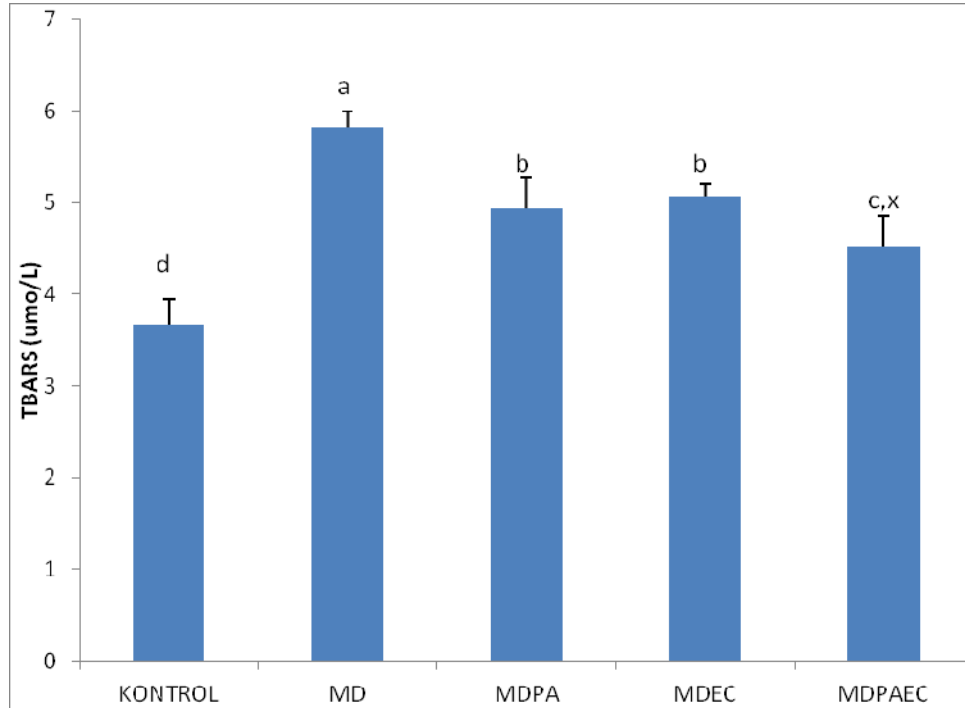
a MD ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $P<0,001$ olarak anlamlılık düzeyleri,

b MDEC ve MDPA ile diğer gruplar ile karşılaştırıldığında $p<0,05$ düzeyleri,

c MDPAEC ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $p<0,05$ düzeyleri,

d Kontrol ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $P<0,001$ olarak anlamlılık düzeyleri,

x MDPAEC ile kontrol, MD ve MDEC verilen gruplar karşılaştırıldığında $P<0,001$ olarak anlamlılık düzeyleri.



Grafik 11. Serum örneklerinde TBARS düzeylerinin grafiği

4.3.2. Serum Örneklerinde Çalışılan LDH Aktiviteleri

Serum örneklerinde çalışılan **LDH** aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları Tablo 14’de gösterilmiştir.

Kontrol ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, MD, MDPA, MDEC ve MDPAEC gruplarının **LDH** aktivitelerinin anlamlı olarak ($p<0,05$) yükseldiği tespit edilmiştir.

Tablo 14. Serum örneklerinde çalışılan LDH aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları (gruplar arasındaki anlamlılıklar farklı harflerle gösterilmiştir).

Gruplar	Kontrol	MD	MDPA	MDEC	MDPAEC
LDH (U/L)	480,80±47,70 ^d	836,00±40,11 ^a	669,60±70,55 ^{b,x}	719,30±55,34 ^{b,x}	563,50±62,40 ^c

MD: metidathion, MDPA: MD + PAM + Atropin; MDEC: MD + E Vitamini + C Vitamini; MDPAEC: MD + PAM + Atropin + E Vitamini + C Vitamini

a,b,c,d,x;One way anova testi

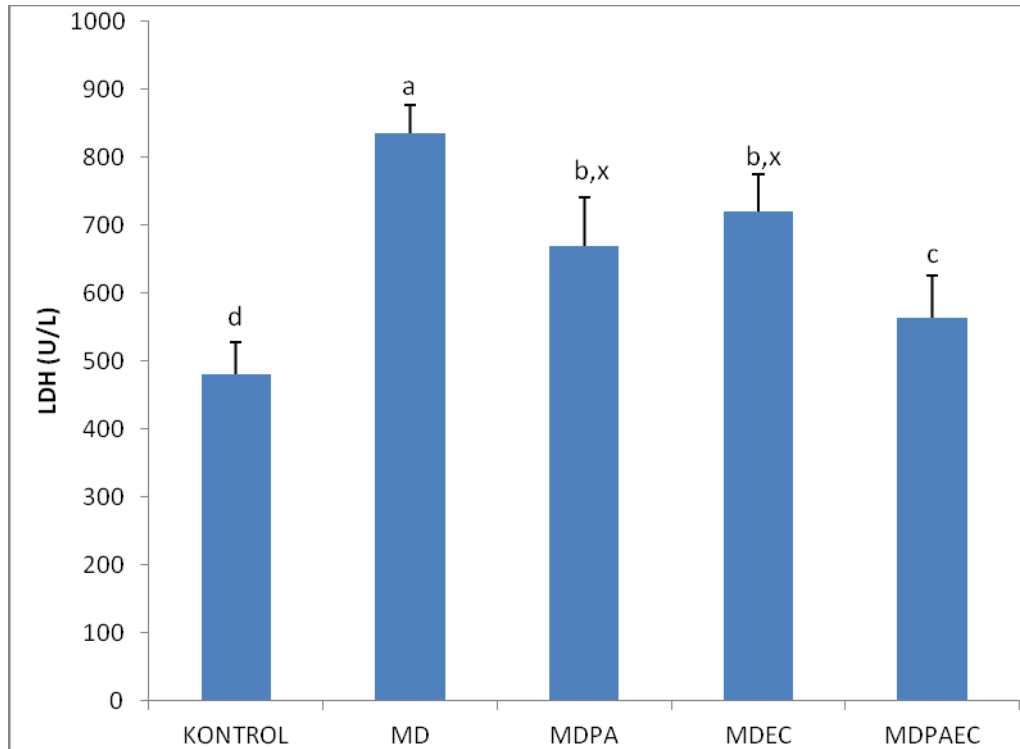
a MD verilen grup diğer gruplarla karşılaştırıldığında $p<0,001$ olarak anlamlılık düzeyleri

b MDPA ve MDEC diğer gruplarla karşılaştırıldığında $p<0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri

c MDPAEC ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $p<0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri

d Kontrol ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $p<0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri

x MDPA ve MDEC grupları MD ile karşılaştırıldıklarında $p<0.001$ olarak anlamlılık düzeyleri



Grafik 12. Serum örneklerinde LDH aktivitelerinin grafiği

4.3.3. Serum Örneklerinde Çalışılan Üre ve BUN Değerleri

Serum örneklerinde çalışılan Üre ve BUN değerleri ortalama ve standart sapmaları Tablo 15’de gösterilmiştir.

Her iki parametre içinde kontrol ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, MD, MDPA, MDEC ve MDPAEC gruplarının Üre ve BUN değerlerinin anlamlı olarak yükseldiği ($p<0,001$) tespit edilmiştir.

Tablo 15. Serum örneklerinde çalışılan Üre ve BUN değerlerinin ortalama ve standart sapmaları (gruplar arasındaki anlamlılıklar farklı harflerle gösterilmiştir).

Gruplar	Kontrol	MD	MDPA	MDEC	MDPAEC
Üre(mg/dl)	31,458±3,64 ^d	75,114±7,65 ^a	59,942±7,60 ^{c,x}	68,266±7,71 ^b	53,072±8,31 ^{c,x}
BUN	14,700±1,70 ^d	35,100±3,57 ^a	27,800±3,55 ^c	31,900±3,60 ^b	24,800±3,88 ^c

MD: metidathion, MDPA: MD + PAM + Atropin; MDEC: MD + E Vitamini + C Vitamini; MDPAEC: MD + PAM + Atropin + E Vitamini + C Vitamini

a,b,c,d,x;One way anova testi

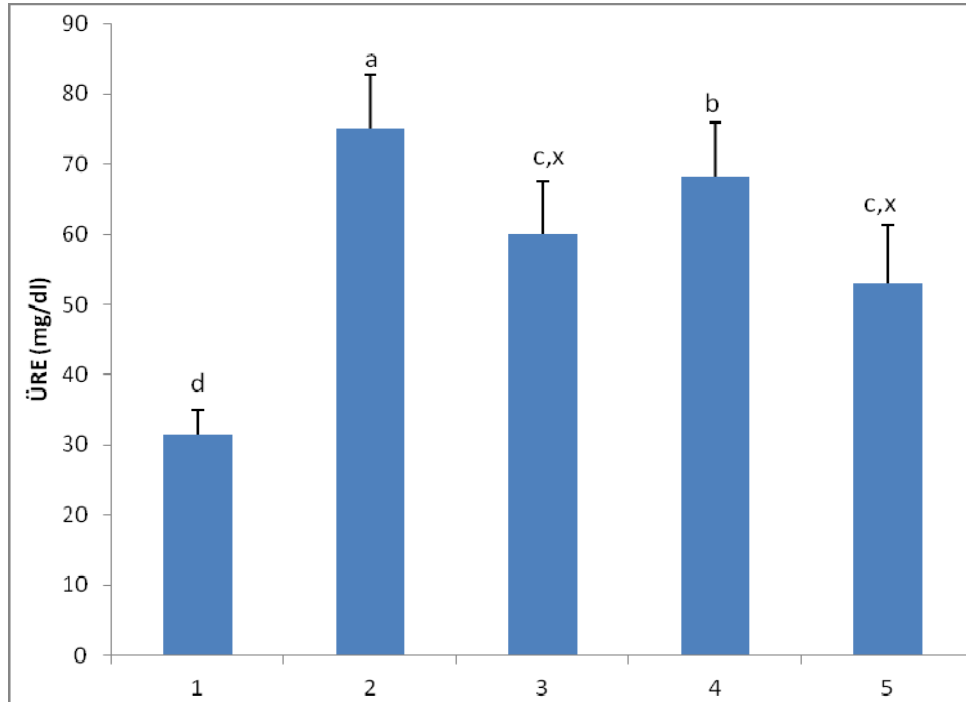
a MD ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $p<0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri,

b MDEC ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $p<0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri,

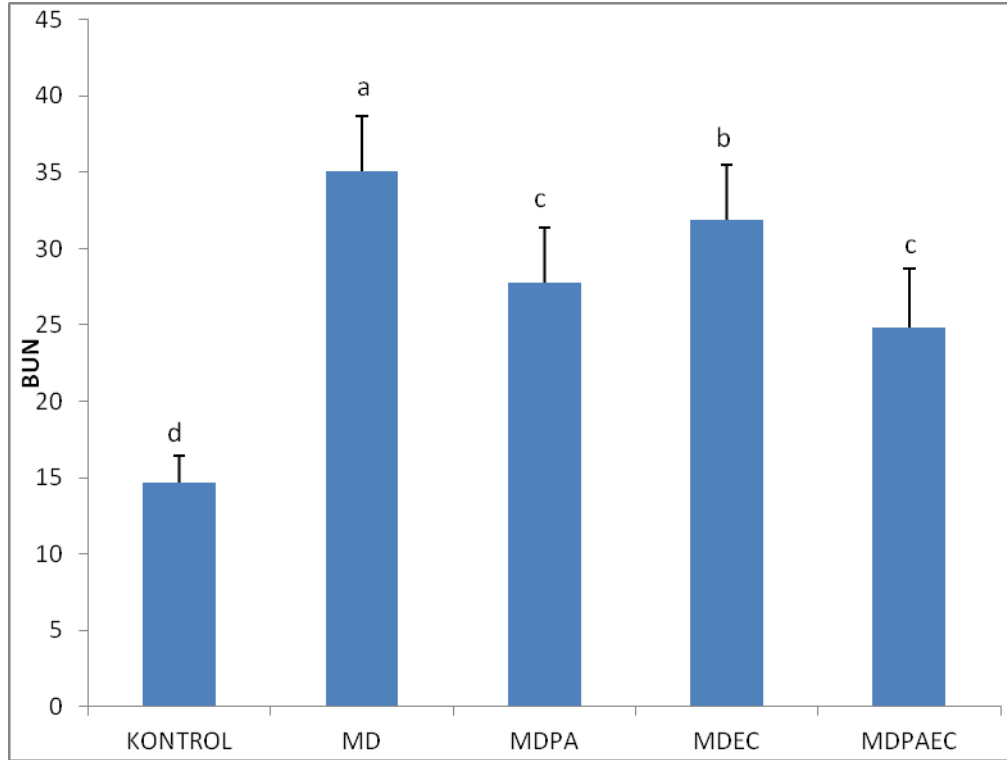
c MDPA ve MDPAEC ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $p<0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri,

d Kontrol diğer gruplarla karşılaştırıldığında $p<0,001$ olarak anlamlılık düzeyleri,

x MDPA ve MDPAEC ile kontrol ve MD grupları karşılaştırıldığında $p<0,001$ olarak anlamlılık düzeyleri.



Grafik 13. Serum örneklerinde ÜRE düzeylerinin grafiği



Grafik 14. Serum örneklerinde BUN düzeylerinin grafiği

4.3.4. Serum Örneklerinde Çalışılan Kreatinin Düzeyleri

Serum örneklerinde çalışılan **kreatinin** düzeylerinin ortalama ve standart sapmaları Tablo 16’da gösterilmiştir.

Kontrol ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, MD ($p < 0,001$), MDPA, MDEC ve MDPAEC ($p < 0,05$) gruplarının **kreatinin** düzeylerinin anlamlı olarak yükseldiği tespit edilmiştir.

Tablo 16. Serum örneklerinde çalışılan kreatinin değerlerinin ortalama ve standart sapmaları (gruplar arasındaki anlamlılıklar farklı harflerle gösterilmiştir).

Gruplar	Kontrol	MD	MDPA	MDEC	MDPAEC
Kreatinin (mg/dl)	0,491±0,03 ^c	0,555±0,04 ^a	0,527±0,02 ^b	0,541±0,03 ^b	0,525±0,02 ^b

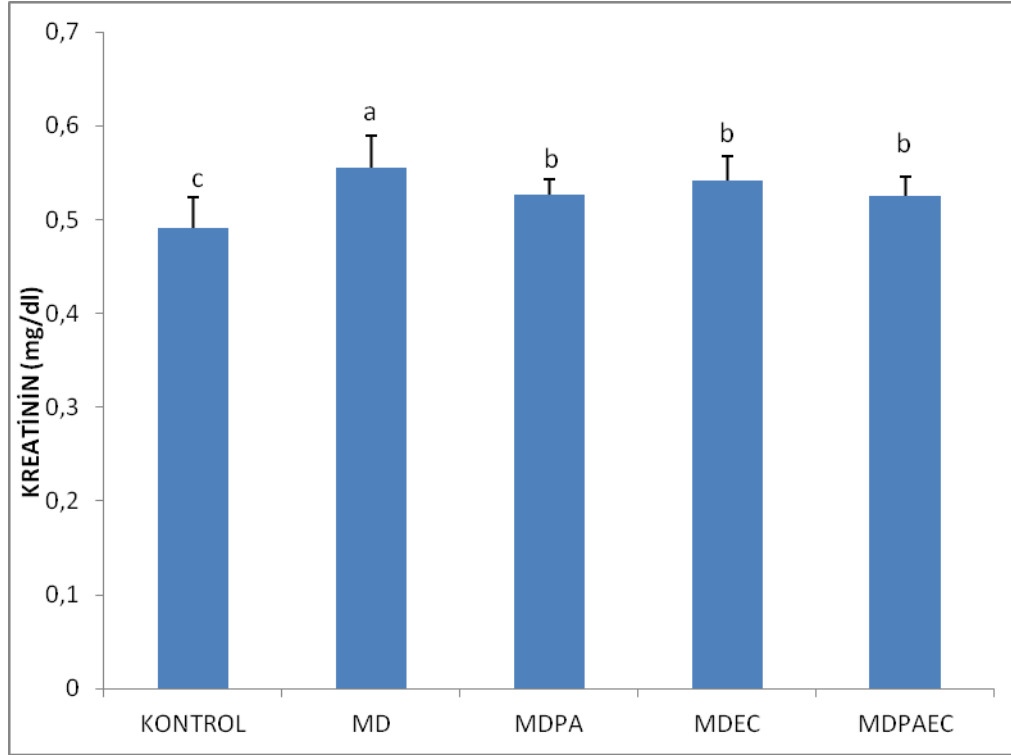
MD: metidathion, MDPA: MD + PAM + Atropin; MDEC: MD + E Vitamini + C Vitamini; MDPAEC: MD + PAM + Atropin + E Vitamini + C Vitamini

a,b,c;One way anova testi

a MD ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $p < 0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri,

bMDPA, MDEC ve MDPAEC ile kontrol ve MD grupları karşılaştırıldıklarında $p < 0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri

c Kontrol diğer gruplarla karşılaştırıldığında $p < 0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri



Grafik 15. Serum örneklerinde Kreatinin değerlerinin grafiği

4.3.5. Serum Örneklerinde Çalışılan AST Aktiviteleri

Serum örneklerinde çalışılan AST aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları Tablo 17’de gösterilmiştir.

Kontrol ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, MD ($p<0,001$), MDPA ve MDEC ($p<0,05$) gruplarının AST aktivitelerinin anlamlı olarak yükseldiğini, MDPAEC grubunda da yükselmenin gözlemlendiği ama bu yükselmenin anlamlı olmadığı tespit edilmiştir.

Tablo 17. Serum örneklerinde çalışılan AST aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları (gruplar arasındaki anlamlılıklar farklı harflerle gösterilmiştir).

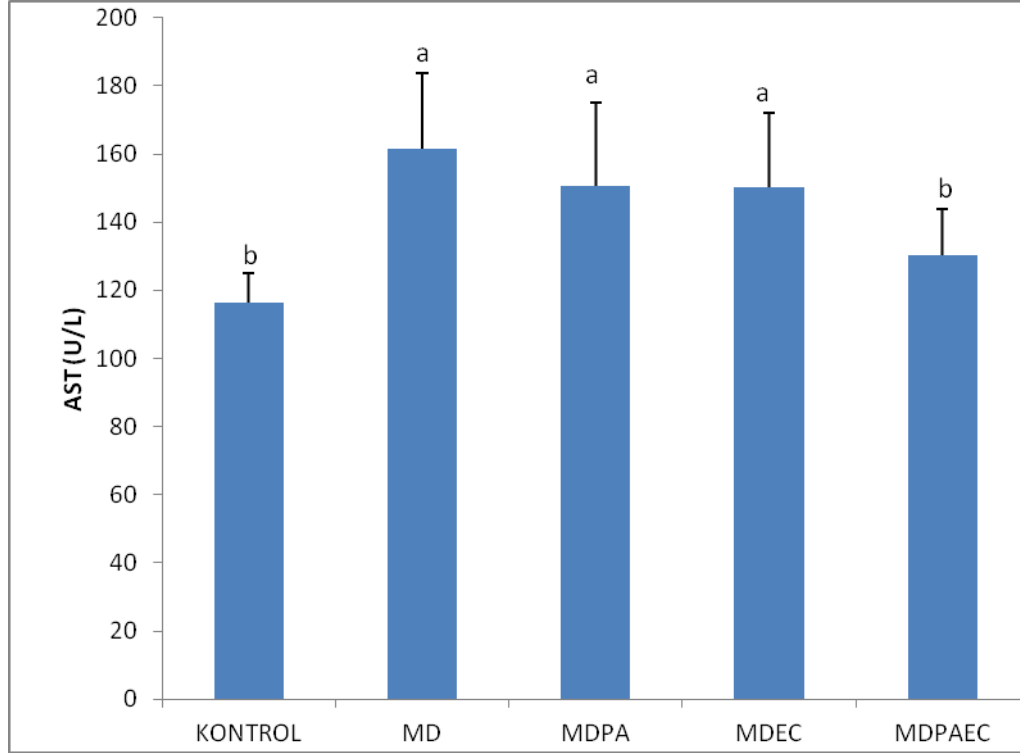
Gruplar	Kontrol	MD	MDPA	MDEC	MDPAEC
AST (U/L)	116,30±8,59 ^b	161,40±22,45 ^a	150,50±24,45 ^a	150,20±21,78 ^a	130,40±13,41 ^b

MD: metidathion, MDPA: MD + PAM + Atropin; MDEC: MD + E Vitamini + C Vitamini; MDPAEC: MD + PAM + Atropin + E Vitamini + C Vitamini

a,b;One way anova testi

a MD, MDPA ve MDEC ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $p<0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri,

b Kontrol ve MDPAEC diğer gruplarla karşılaştırıldığında $p<0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri.



Grafik 16. Serum örneklerinde AST aktivite düzeylerinin grafiği

4.3.6. Serum Örneklerinde Çalışılan ALT Aktivite Düzeyleri

Serum örneklerinde çalışılan ALT aktivite düzeylerinin ortalama ve standart sapmaları Tablo 18’de gösterilmiştir.

Kontrol ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, MD ($p < 0,05$), MDEC ($p < 0,001$) ve MDPAEC ($p < 0,05$) gruplarının ALT aktivite düzeylerinin anlamlı olarak düştüğünü, MDPA ($p > 0,05$) grubunda da düşmenin gözlemlendiği ama bu düşmenin anlamlı olmadığı tespit edilmiştir.

Tablo 18. Serum örneklerinde çalışılan ALT aktivite düzeylerinin ortalama ve standart sapmaları (gruplar arasındaki anlamlılıklar farklı harflerle gösterilmiştir).

Gruplar	Kontrol	MD	MDPA	MDEC	MDPAEC
ALT(U/L)	43,00±2,94 ^{a,x}	40,40±4,24 ^b	42,40±2,79 ^a	32,30±7,90 ^{c,x}	37,10±6,33 ^b

MD: metidation, MDPA: MD + PAM + Atropin; MDEC: MD + E Vitamini + C Vitamini; MDPAEC: MD + PAM + Atropin + E Vitamini + C Vitamini

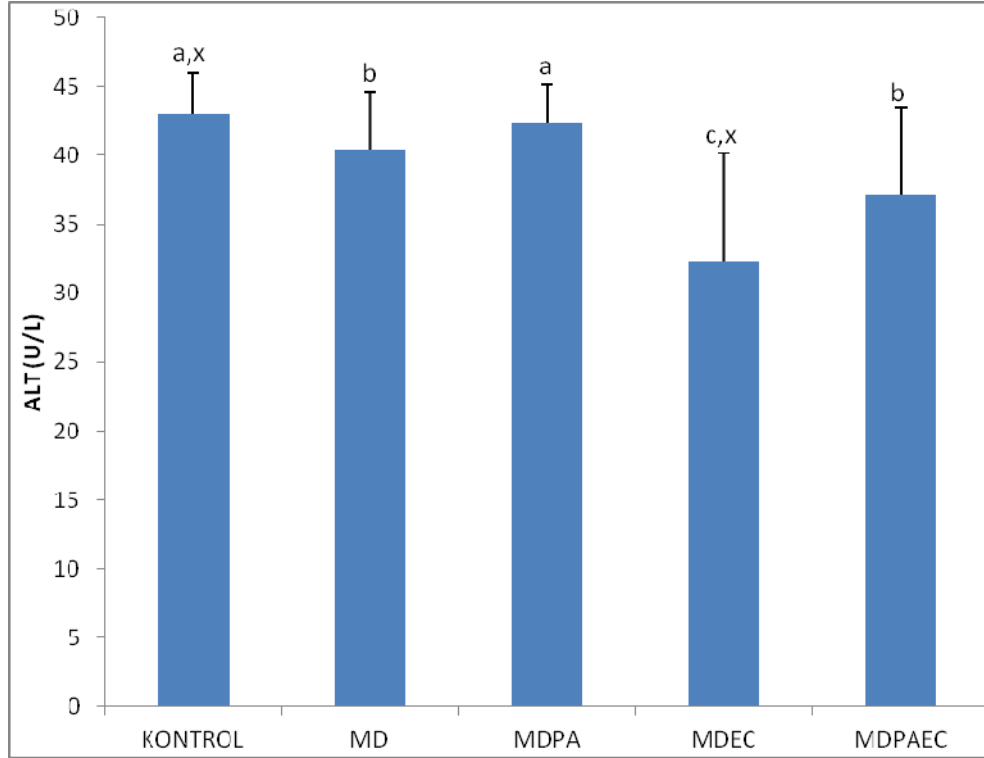
a,b,c,x;One way anova testi

a Kontrol ve MDPA ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $p < 0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri

b MD ve MDPAEC ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $p < 0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri

c MDEC ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $p < 0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri

x Kontrol ile MDEC karşılaştırıldığında $p < 0,001$ olarak anlamlılık düzeyleri



Grafik 17. Serum örneklerinde ALT aktivitesinin grafiği

4.3.7. Serum Örneklerinde Çalışılan ALP Aktiviteleri

Serum örneklerinde çalışılan ALP aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları Tablo 19’da gösterilmiştir.

Kontrol ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, MD, MDPA, MDEC ve MDPAEC gruplarının ALP aktivitelerinin anlamlı olarak ($p < 0,001$) yükseldiği tespit edilmiştir.

Tablo 19. Serum örneklerinde çalışılan ALP aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları (gruplar arasındaki anlamlılıklar farklı harflerle gösterilmiştir).

Gruplar	Kontrol	MD	MDPA	MDEC	MDPAEC
ALP(U/L)	61,60±4,55 ^e	142,70±4,55 ^a	111,40±11,51 ^c	122,60±10,71 ^b	101,60±12,59 ^{d,x}

MD: metidathion, MDPA: MD + PAM + Atropin; MDEC: MD + E Vitamini + C Vitamini; MDPAEC: MD + PAM + Atropin + E Vitamini + C Vitamini

a,b,c,d,e,x;One way anova testi

a MD ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $p < 0,001$ olarak anlamlılık düzeyleri

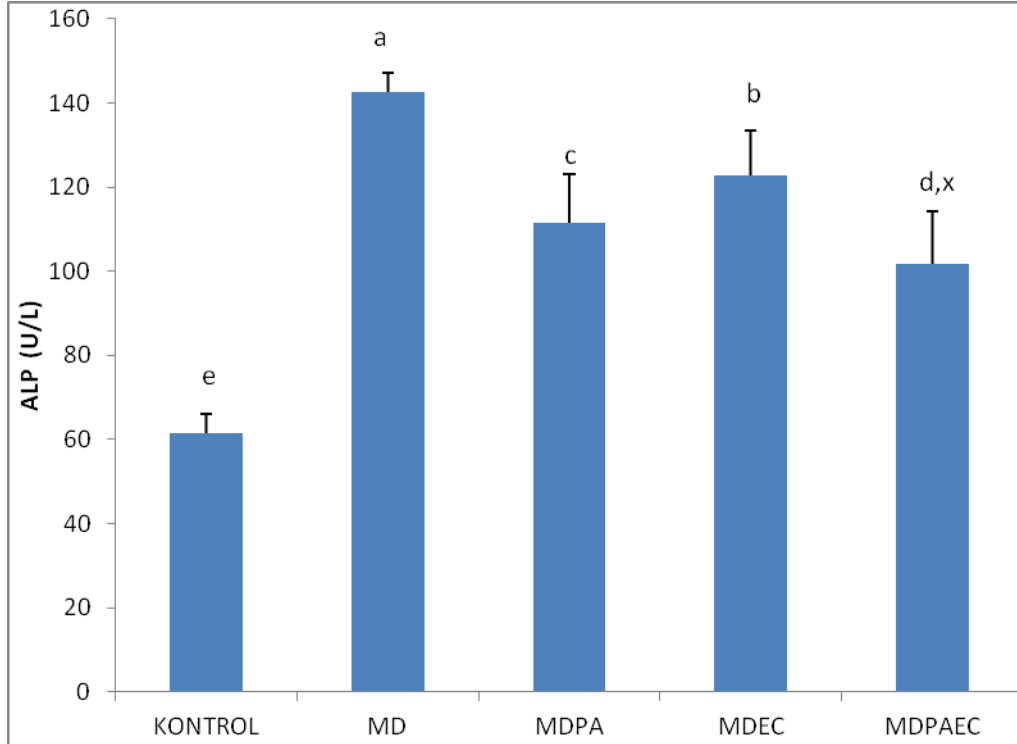
b MDEC ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $p < 0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri

c MDPA ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $p < 0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri

d MDPAEC ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $p < 0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri

e Kontrol ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $p < 0,001$ olarak anlamlılık düzeyleri

x MDPAEC ile kontrol, MD ve MDEC karşılaştırıldığında $p < 0,001$ olarak anlamlılık düzeyleri



Grafik 18. Serum örneklerinde ALP aktivite değerlerinin grafiği

4.3.8. Serum Örneklerinde Çalışılan GGT Aktiviteleri

Serum örneklerinde çalışılan **GGT** aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları Tablo 20’de gösterilmiştir.

Kontrol ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, MD, MDPA, MDEC ve MDPAEC gruplarının **GGT** aktivitelerinin anlamlı olarak ($p<0,05$) yükseldiği tespit edilmiştir.

Tablo 20. Serum örneklerinde çalışılan GGT aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları (gruplar arasındaki anlamlılıklar farklı harflerle gösterilmiştir).

Gruplar	Kontrol	MD	MDPA	MDEC	MDPAEC
GGT(U/L)	1,40±0,52 ^c	2,50±0,85 ^a	2,00±0,67 ^b	2,20±0,63 ^b	1,80±0,63 ^b

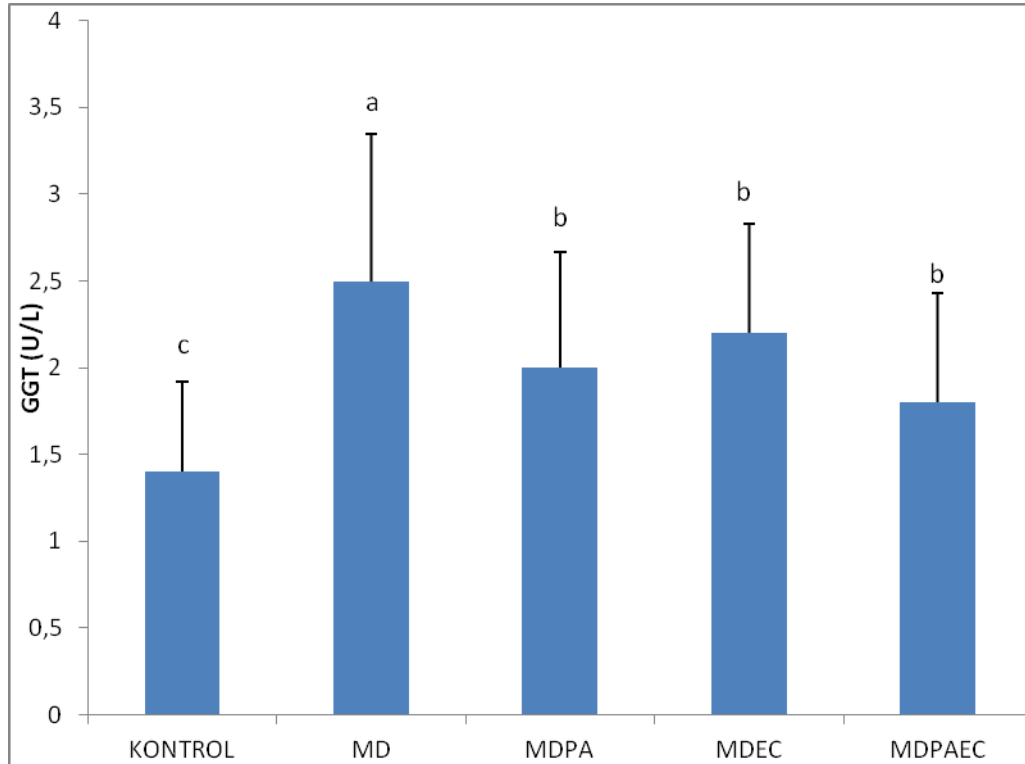
MD: metidathion, MDPA: MD + PAM + Atropin; MDEC: MD + E Vitamini + C Vitamini; MDPAEC: MD + PAM + Atropin + E Vitamini + C Vitamini

a,b,c;One way anova testi

a MD ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $p<0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri,

b MDPA, MDEC ve MDPAEC ile diğer karşılaştırıldığında $p<0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri,

c Kontrol ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $p<0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri.



Grafik 19. Serum örneklerinde GGT aktivitelerinin grafiği

4.3.9. Serum Örneklerinde Çalışılan CK Aktiviteleri

Serum örneklerinde çalışılan CK aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları Tablo 21 'de gösterilmiştir.

Kontrol ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, MD, MDPA, MDEC ve MDPAEC gruplarının CK aktivitelerinin anlamlı olarak ($p < 0,05$) yükseldiği tespit edilmiştir.

Tablo 21. Serum örneklerinde çalışılan CK aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları (gruplar arasındaki anlamlılıklar farklı harflerle gösterilmiştir).

Gruplar	Kontrol	MD	MDPA	MDEC	MDPAEC
CK	330,50±54,13 ^c	431,00±26,62 ^a	409,10±18,88 ^a	423,80±27,95 ^a	395,20±21,82 ^b

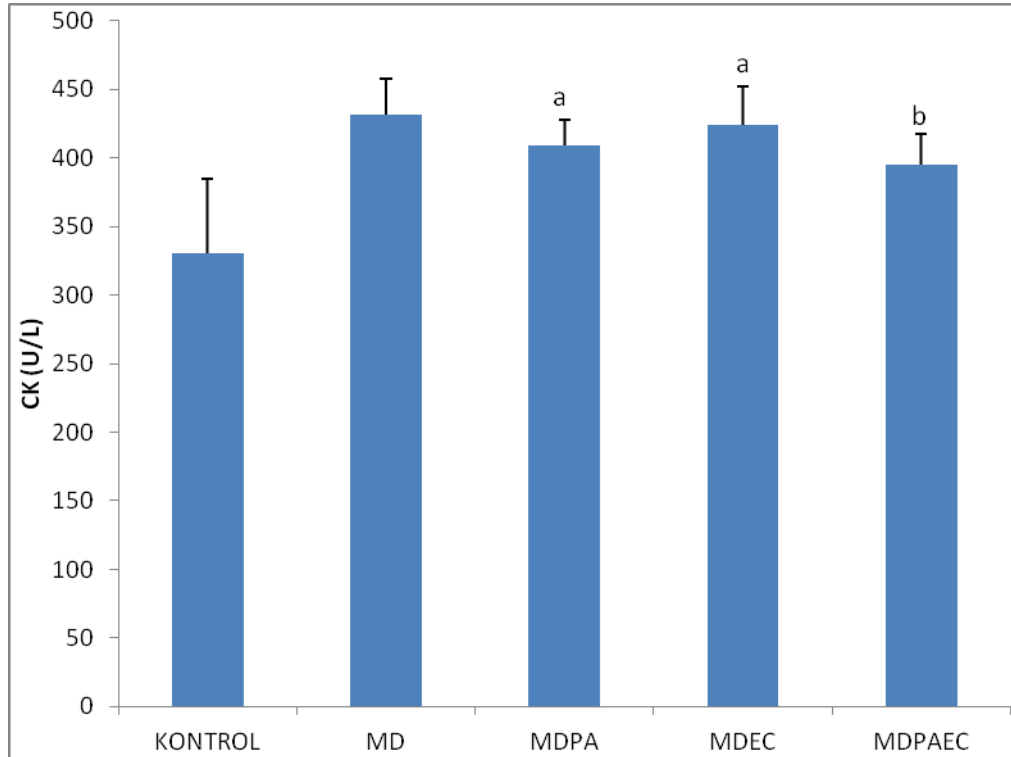
MD: metidathion, MDPA: MD + PAM + Atropin; MDEC: MD + E Vitamini + C Vitamini; MDPAEC: MD + PAM + Atropin + E Vitamini + C Vitamini

a,b,c; One way anova testi

a MD, MDPA ve MDEC ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $p < 0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri

b MDPAEC ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $p < 0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri

c Kontrol ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $p < 0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri



Grafik 20. Serum örneklerinde CK aktivite seviyelerinin grafiği

4.3.10. Serum Örneklerinde Çalışılan CK-MB Aktivite Seviyeleri

Serum örneklerinde çalışılan **CK-MB** aktivite seviyelerinin ortalama ve standart sapmaları Tablo 22’de gösterilmiştir.

Kontrol ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, MD, MDPA ve MDEC gruplarının anlamlı olarak ($p < 0,05$) yükseldiğini, MDPAEC grubunda da yükselmenin gözlemlendiği ama bu yükselmenin anlamlı olmadığı tespit edilmiştir.

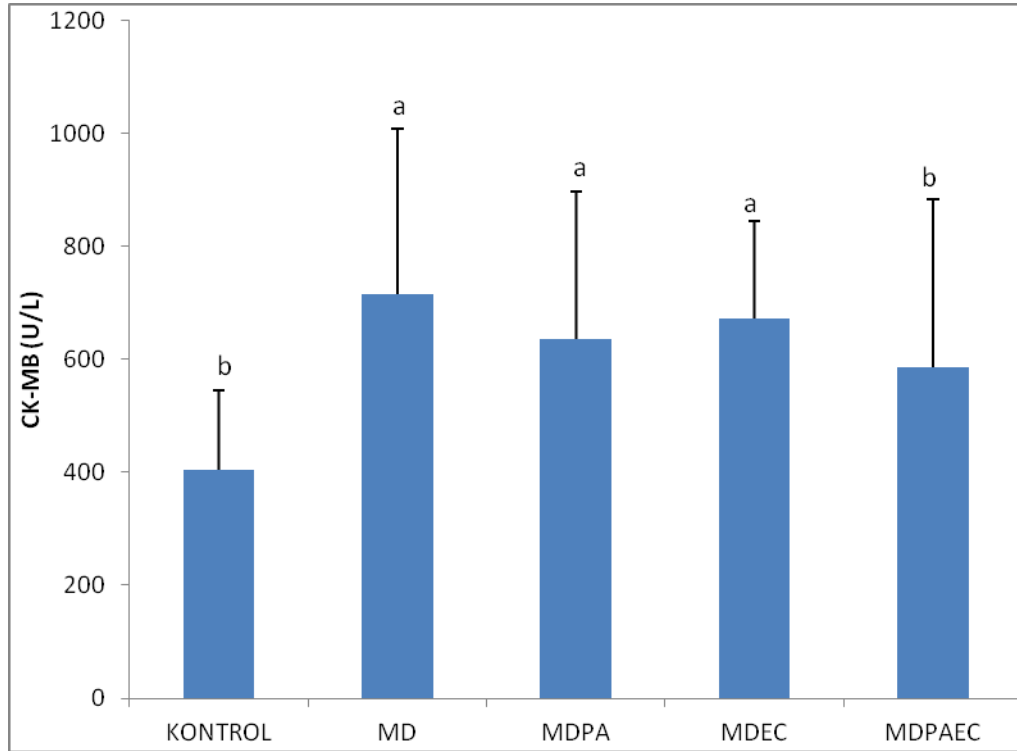
Tablo 22. Serum örneklerinde çalışılan CK-MB aktivite seviyelerinin ortalama ve standart sapmaları (gruplar arasındaki anlamlılıklar farklı harflerle gösterilmiştir).

Gruplar	Kontrol	MD	MDPA	MDEC	MDPAEC
CK-MB (U/L)	405,00±139,49 ^b	716,10±292,14 ^a	636,70±259,70 ^a	671,70±174,43 ^a	586,20±297,73 ^b

MD: metidathion, MDPA: MD + PAM + Atropin; MDEC: MD + E Vitamini + C Vitamini; MDPAEC: MD + PAM + Atropin + E Vitamini + C Vitamini

a,b;One way anova testi

a MD, MDPA ve MDEC ile diğer gruplarla karşılaştırıldığında $p < 0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri, b Kontrol ve MDPAEC ile diğer karşılaştırıldığında $p < 0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri.



Grafik 21. Serum örneklerinde CK-MB aktivitelerinin grafiği

4.3.11. Serum Örneklerinde Çalışılan Troponin T ve Myoglobün Aktiviteleri

Serum Troponin T ve Myoglobün aktiviteleri incelendiğinde her iki parametre için çalışmaya dahil edilen tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır ($p>0,05$).

4.3.12. Serum Örneklerinde Çalışılan Lipaz Aktiviteleri

Serum örneklerinde çalışılan Lipaz aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları Tablo 23'de gösterilmiştir.

Kontrol ile MD karşılaştırıldığında Lipaz aktivitelerinin anlamlı ($p<0,05$) olarak düştüğü, MDPAEC uygulanmasıyla anlamlı ($p<0,05$) olarak Lipaz aktivitelerinin yükseldiği tespit edilmiştir.

Tablo 23. Serum örneklerinde çalışılan Lipaz aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları (gruplar arasındaki anlamlılıklar farklı harflerle gösterilmiştir).

Gruplar	Kontrol	MD	MDPA	MDEC	MDPAEC
LİPAZ (U/L)	16,10±2,80 ^b	13,30±2,21 ^{c,x}	14,10±1,59 ^b	16,50±2,41 ^b	20,50±4,74 ^{a,x}

MD: metidathion, MDPA: MD + PAM + Atropin; MDEC: MD + E Vitamini + C Vitamini; MDPAEC: MD + PAM + Atropin + E Vitamini + C Vitamini

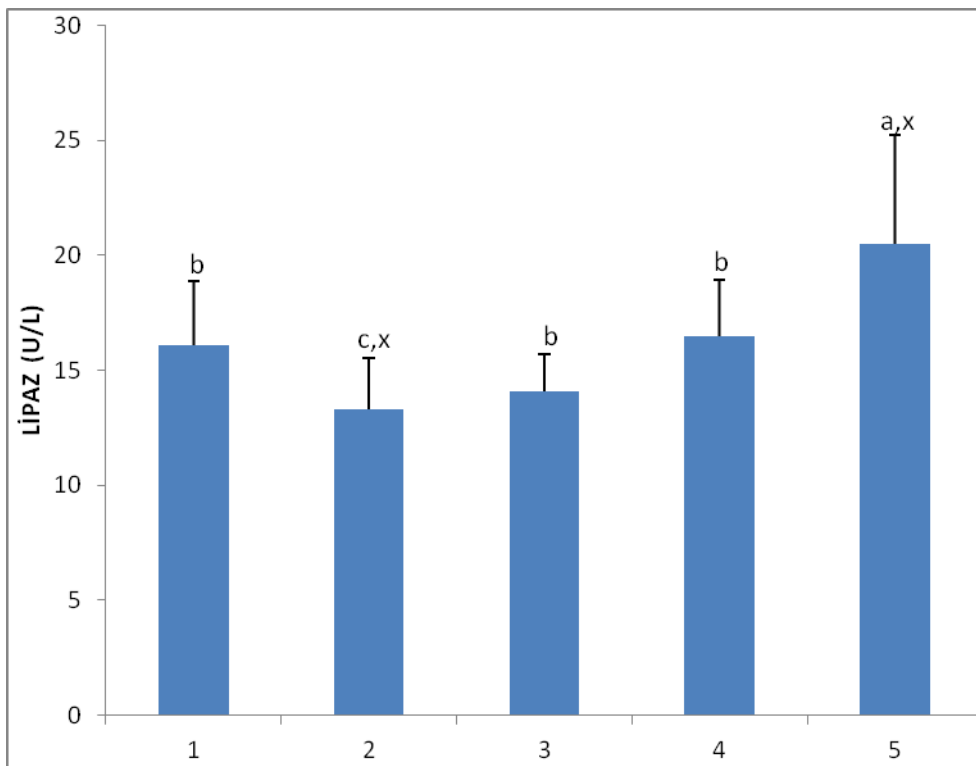
a,b,c,x;One way anova testi

a MDPAEC ile diğer gruplar karşılaştırıldığında p<0,05 olarak anlamlılık düzeyleri,

b Kontrol, MDPA ve MDEC ile diğer gruplar karşılaştırıldığında p<0,05 olarak anlamlılık düzeyleri,

c MD diğer gruplarla karşılaştırıldığında p<0,05 olarak anlamlılık düzeyleri,

x MDPAEC ile MD karşılaştırıldığında p<0,001 olarak anlamlılık düzeyleri.



Grafik 22. Serum örneklerinde Lipaz aktivitelerinin grafiği

4.3.13. Serum Örneklerinde Çalışılan Amilaz Aktiviteleri

Serum örneklerinde çalışılan **Amilaz** aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları Tablo 24'de gösterilmiştir.

Kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p>0,05).

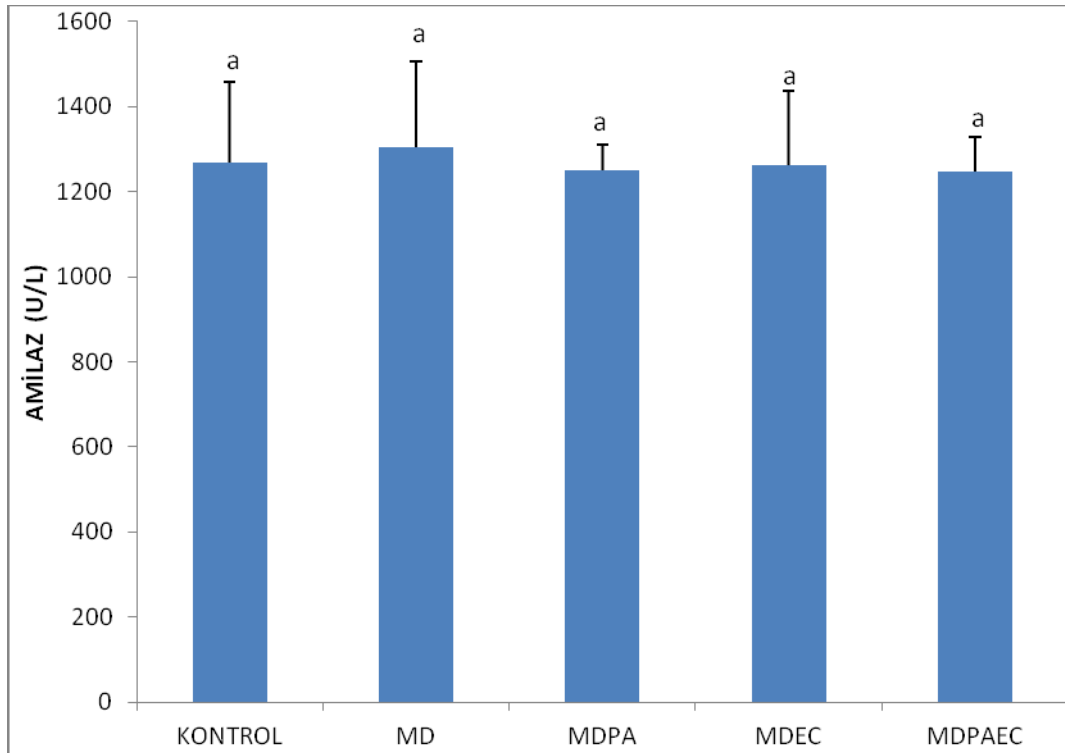
Tablo 24. Serum örneklerinde çalışılan Amilaz aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları (gruplar arasındaki anlamlılıklar farklı harflerle gösterilmiştir).

Gruplar	Kontrol	MD	MDPA	MDEC	MDPAEC
Amilaz (U/L)	1267,70±191,14 ^a	1302,80±202,03 ^a	1251,00±59,03 ^a	1263,00±173,58 ^a	1245,60±81,81 ^a

MD: metidathion, MDPA: MD + PAM + Atropin; MDEC: MD + E Vitamini + C Vitamini; MDPAEC: MD + PAM + Atropin + E Vitamini + C Vitamini

a;One way anova testi

a Tüm gruplar birbirleriyle karşılaştırıldıklarında ($p>0,05$) olarak anlamlılık düzeyleri.



Grafik 23. Serum örneklerinde Amilaz aktivitelerinin grafiği

4.3.14. Serum Örneklerinde Çalışılan CHE Aktiviteleri

Serum örneklerinde çalışılan CHE aktivitelerinin ortalama ve standart sapmaları Tablo 25’de gösterilmiştir.

Kontrol ile diğer gruplar karşılaştırıldığında, MD, MDPA, MDEC ve MDPAEC gruplarının CHE aktivitelerinin anlamlı olarak ($p<0,001$) düştüğü tespit edilmiştir. MDPAEC ile MDPA karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemesine ($p>0,05$) rağmen MDPAEC’de serum kolinesteraz aktiviteleri daha yüksek saptanmıştır.

Tablo 25. Serum örneklerinde çalışılan CHE aktivitelerinin ortalama ve standart Sapmaları (gruplar arasındaki anlamlılıklar farklı harflerle gösterilmiştir).

Gruplar	Kontrol	MD	MDPA	MDEC	MDPAEC
CHE (U/L)	2329,00±196,23 ^a	1036,10±94,91 ^d	1774,10±201,46 ^b	1554,80±174,38 ^c	1861,16±96,76 ^b

MD: metidathion, MDPA: MD + PAM + Atropin; MDEC: MD + E Vitamini + C Vitamini; MDPAEC: MD + PAM + Atropin + E Vitamini + C Vitamini

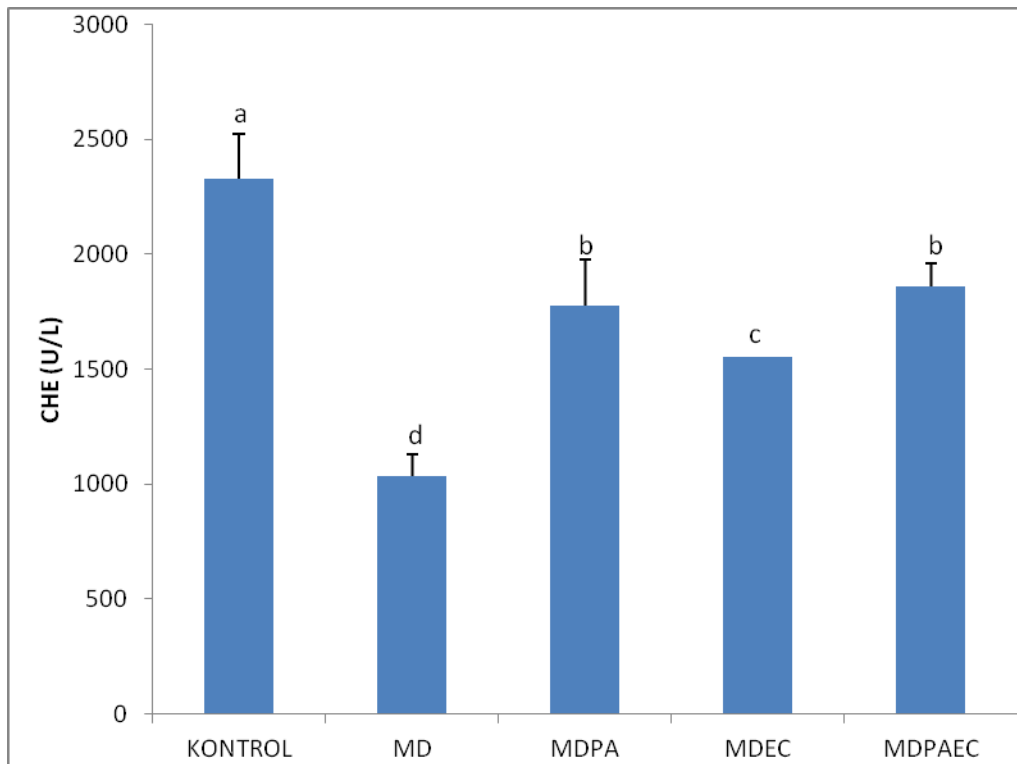
a,b,c,d;One way anova testi

a Kontrol ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $p < 0,001$ olarak anlamlılık düzeyleri

b MDPA ve MDPAEC ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $p < 0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri

c MDEC ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $p < 0,05$ olarak anlamlılık düzeyleri

d MD ile diğer gruplar karşılaştırıldığında $p < 0,001$ olarak anlamlılık düzeyleri



Grafik 24. Serum örneklerinde CHE aktiviteleri

Tablo 26. Tüm serum parametreleri (Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı grupları gösterir).

Gruplar	KONTROL	MD	MDPA	MDEC	MDPAEC
TBARS (umol/L)	3,663±0,29 ^d	5,821±0,18 ^a	4,929±0,34 ^b	5,072±0,13 ^b	4,518±0,33 ^c
ÜRE (mg/dl)	31,458±3,64 ^d	75,114±7,65 ^a	59,942±7,60 ^c	68,266±7,71 ^b	53,072±8,31 ^c
BUN	14,700±1,70 ^d	35,100±3,57 ^a	27,800±3,55 ^c	31,900±3,60 ^b	24,800±3,88 ^c
KREATİNİN (mg/dl)	0,491±0,03 ^c	0,555±0,04 ^a	0,527±0,02 ^b	0,541±0,03 ^b	0,525±0,02 ^b
AST (U/L)	116,30±8,59 ^b	161,40±22,45 ^a	150,50±24,45 ^a	150,20±21,78 ^a	130,40±13,41 ^b
ALT (U/L)	43,00±2,94 ^a	40,40±4,24 ^b	42,40±2,79 ^a	32,30±7,90 ^c	37,10±6,33 ^b
ALP (U/L)	61,60±4,55 ^c	142,70±4,55 ^a	111,40±11,51 ^c	122,60±10,71 ^b	101,60±12,59 ^d
GGT (U/L)	1,40±0,52 ^c	2,50±0,85 ^a	2,00±0,67 ^b	2,20±0,63 ^b	1,80±0,63 ^b
LDH (U/L)	480,80±47,70 ^d	836,00±40,11 ^a	669,60±70,55 ^b	719,30±55,34 ^b	563,50±62,40 ^c
CK	330,50±54,13 ^c	431,00±26,62 ^a	409,10±18,88 ^a	423,80±27,95 ^a	395,20±21,82 ^b
CK-MB (U/L)	405,00±139,49 ^b	716,10±292,14 ^a	636,70±259,70 ^a	671,70±174,43 ^a	586,20±297,73 ^b
LİPAZ (U/L)	16,10±2,80 ^b	13,30±2,21 ^c	14,10±1,59 ^b	16,50±2,41 ^b	20,50±4,74 ^a
AMİLAZ (U/L)	1267,70±191,14 ^a	1302,80±202,03 ^a	1251,00±59,03 ^a	1263,00±173,58 ^a	1245,60±81,81 ^a
CHE (U/L)	2329,00±196,23 ^a	1036,10±94,91 ^d	1774,10±201,46 ^b	1554,80±174,38 ^c	1861,16±96,76 ^b

MD: metidathion, MDPA: MD + PAM + Atropin; MDEC: MD + E Vitamini + C Vitamini; MDPAEC: MD + PAM + Atropin + E Vitamini + C Vitamini
a,b,c,x;One way anova testi

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Son yıllarda OPİ'lerin, ROS üretimini arttırarak hücrel antioksidan savunma sistemini aşması sonucu oksidatif doku hasarına yol açtığı birçok deneysel çalışmada gösterilmiştir (1, 2, 7, 11). Süperoksit anyonu, hidroksil radikali, hidrojen peroksit bu radikallerden bazılarıdır (şekil: 4). Bu radikal türlerinin hücrel protein, lipid ve DNA ile etkileşmesi sonucunda yapısal fonksiyonlar bozulabilir. Radikaller, özellikle hücre ve organellerin membranlarında bulunan fosfolipid yapılarıdaki çoklu doymamış yağ asitleri üzerine etki ederek lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır. Bu tür oksidasyonlar, sonuçta hücrel membranlardaki hasarı daha da arttırarak hücreyi ölüme götürmektedir (9, 38, 79, 81- 83).

Çalışmamızda MD intoksikasyon tedavisinde kullanılan PAM ve Atropinin klinik etkinliğini arttıracığı düşüncesiyle kombine olarak E ve C vitamini de ekledik. Bu çalışma kapsamında sıçanların karaciğer, böbrek, beyin, pankreas ve kalp dokularında, ayrıca serum ve hemolizat örneklerinde TBARS düzeylerini, hemolizatta antioksidan enzimlerini, serum ve hemolizatta ACHE enzim aktivitesini, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri ile kardiyak ve pankreas enzimlerini 7 ana başlık altında inceledik.

5.1. Tbars Düzeyleri

Karaciğer, böbrek, beyin ve pankreas dokularında, ayrıca serum ve hemolizat örneklerinde çalışılan TBARS düzeylerinin kontrol gruplarına göre MD verilen grupta anlamlı olarak, kalp dokusunda ise istatistiksel olarak anlamlı olmasa da yükseldiği tespit edilmiştir.

Kombine tedavinin verildiği grupta (MDPAEC) karaciğer, böbrek, beyin ve pankreas dokularında ayrıca hemolizat örneklerinde tespit edilen TBARS düzeyleri incelendiğinde, kontrol grubuna yakın değerlerde olduğu ve kontrol grubuna göre anlamlı farklılık tespit edilmediği gözlenmiştir.

Öncü ve ark. klorprifos-etil toksisitesinin (16,90) böbrek ve karaciğer dokuları, Gökalp ve ark. (88) akut MD'nin karaciğer dokusu, Sulak ve ark. (89) subkronik MD'nin böbrek dokusu üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarda, OPİ

verilen grupta TBARS düzeylerinin anlamlı olarak yükseldiğini ve histopatolojik olarak karaciğer ve böbrek dokusunda hasar oluştuğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmalarda E ve C vitamini eklenmesi ile TBARS seviyesinin kontrole yakın olduğunu, hasarın histopatolojik olarak da engellendiğini göstermişlerdir.

İnsektisitlerin detoksifiye edildiği karaciğer ve böbrek dokularında hücre hasarının en aza indirilmesi amacıyla çalışmamızda antioksidan özellikleri düşünülerek PAM ve Atropin tedavi protokolüne E ve C vitaminlerinin eklenmesinin önemli olabileceği anlaşılmaktadır.

Diazinonun (91) ve klorprifos-etil'in (80) beyin dokusu, ayrıca diazinonun pankreas dokusu (87) toksisiteyi üzerine olan etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, TBARS düzeyleri OPİ verilen grupta anlamlı olarak yüksek, OPİ ile birlikte E ve C vitamini verilen gruplarda ise TBARS düzeylerinin anlamlı olarak düştüğünü belirtmişlerdir.

Kardiyak dokusu üzerine yapılan OPİ uygulamalarında diazinon'un TBARS düzeylerini yükselttiği (126), subkronik MD verilen (92) başka bir çalışmada ise hem TBARS düzeylerinin yükseldiği hem de histopatolojik hasarın tespit edildiği belirtilmiştir. Bu çalışmalarda tedavi için verilen E ve C vitaminlerinin de hasarı düzelttiği gösterilmiştir.

Bizim çalışmamızda ise, kardiyak doku üzerine MD'nin toksisitesi gözlenmiş fakat gruplar arasında bir anlamlılık bulunamamıştır.

Subkronik MD verilen (101) sıçanların serumlarında, akut MD verilen (1, 2) sıçanların serum ve hemolizatlarında TBARS değerlerinin, OPİ verilmesi ile yükseldiği, E ve C vitaminlerinin tedaviye eklenmesi ile bu yükselmenin olmadığı gözlenmiştir.

Araştırmamızda karaciğer, böbrek, beyin ve pankreas dokularında, ayrıca serum ve hemolizat örneklerinde çalışılan TBARS düzeylerinin kontrol gruplarına göre MD verilen grupta anlamlı olarak, kalp dokusunda ise istatistiksel olarak anlamlı olmasa da yükseldiği tespit edilmiştir. TBARS düzeyindeki bu artış, MD'nin metabolizması sırasında oluşan serbest radikallerin artışı ile lipid peroksidasyonu sonucu oluşan hasarın bir göstergesi olabilir.

Tüm dokularda, serumda, hemolizatta PAM ve atropin yanında Vitamin E ve C'nin eklenmesiyle TBARS düzeyleri kontrol grubuna yakın değerlerde bulunmuştur. Bu durum, MD toksisitesinde PAM ve atropin yanı sıra tedaviye E ve C vitaminlerinin eklenmesinin LPO'yu azaltmada daha etkin olduğunu düşündürmektedir.

Sonuç olarak MD toksisitesinin doku hasarına neden olduğu, lipid peroksidasyonunun (LPO) bu hasara aracılık eden mekanizma olabileceği ve MD toksisitesine karşı E ve C vitamini kombinasyonu kullanılmasının LPO'yu azaltarak ve E ve C vitamini kombinasyonu ile PAM ve Atropin kullanılmasının sinerjik etkiyi artırarak doku hasarını engelleyebileceğini söyleyebiliriz.

Bu durum, MD toksisitesinde PAM ve atropin yanı sıra tedaviye E ve C vitaminlerinin eklenmesinin LPO'yu azaltmada daha etkin olduğunu düşündürmektedir.

5.2. Antioksidan Enzim Aktiviteleri

Memeli hücrelerinde biyolojik membranların peroksidatif hasarına karşı en hayati biyolojik savunma GSH-Px, CAT ve SOD enzimleridir. Metabolik aktiviteler sonucu oluşan süperoksit, SOD aktivitesi ile H_2O_2 'e dönüştürülmekte, H_2O_2 ise GSH-Px ve CAT etkisiyle suya dönüştürülerek zararlı etkileri ortadan kaldırılmaktadır (90, 93, 95).

Üretilen serbest radikalleri direkt olarak toplayan çok miktarda değişik moleküller vardır. Bunların bir kısmı GSH gibi hücre içinde sentezlenirken, diğerleri ise C ve E vitaminleri, beta karoten gibi besinlerle dışarıdan alınmaktadır. E ve C vitaminleri organizmada sinerjistik etki göstermekte olup hücre membran stabilitesinin devamlılığını sağlarlar. C ve E vitamininin birlikte uygulanmasının çeşitli oksidanların sebep olduğu oksidatif hasara karşı koruyucu olduğuna dair birçok rapor mevcuttur (80, 97, 98, 99).

Araştırmamızda, hemolizattaki SOD aktivitesi, MD verilen grupta anlamlı olarak düşük düzeylerde saptanmıştır. E ve C vitaminleri ile PAM ve Atropin ilave edilen gruplarda kontrole yakın değerlerde ölçülmüştür. GSH-Px ve CAT düzeyleri incelendiğinde, MD verilen grupta GSH-Px ve CAT aktiviteleri anlamlı olmasa da

daha düşük düzeylerde saptanmıştır. Tedavi gruplarındaki antioksidan enzim aktiviteleri değerlendirildiğinde, anlamlı olarak yükselmiş ve kontrol değerlerine yaklaşmıştır. Tedavi grupları kendi aralarında değerlendirildiğinde, anlamlı bir farklılığın olmadığı, bununla birlikte OPI toksisitesinin yol açtığı antioksidan enzim inhibisyonunun kısıtlı düzeyde de olsa engellenebildiği söylenebilir.

Yarsan ve ark. aldicarb ve malathion'un fare eritrositlerinde subakut, subkronik ve kronik verilmesinin doza bağımlı olarak SOD, GSH-Px ve CAT aktivitelerini inhibe ettiğini göstermişlerdir (96).

Kale ve ark. sıçanlarda pyrethroid kullanarak yaptıkları çalışmalarında pyrethroid verilmesinden sonraki 24. saatte yapılan incelemede sıçan eritrositlerinde SOD aktivitesinin düştüğünü, GSH-Px ve CAT aktivitesinin ise seviyesini yükseldiğini rapor etmişlerdir (82).

Altuntaş ve ark. MD'un sıçan eritrositlerinde SOD, GSH-Px ve CAT aktivitelerini inhibe ettiğini ve bu inhibisyonun E ve C vitamini verilmesi ile GSH-Px aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde, engellenebildiğini göstermişlerdir (2). Fenthion uyguladıkları başka bir çalışmada, sıçan eritrositlerinde SOD aktivitesinde anlamlı düşüş oluşturduğunu, GSH-Px ve CAT aktivitelerini ise etkilemediğini bildirmişlerdir (83). Gökalp ve ark. sıçanlara MD uygulaması ile antioksidan enzimlerde benzer aktivite değişikliklerini tespit etmişlerdir (88).

Antioksidan enzimlerin yetersizliği sonucu ortamda biriken hidrojen peroksidin, fenton reaksiyonları ile en potent radikal olan hidroksil radikallerine dönüşmesi ile membran hasarı gelişebilir.

Tüm bu veriler ışığında, MD'un antioksidan enzimlerin inhibisyonunda PAM-atropin tedavisine benzer şekilde, C ve E vitaminlerinin de eklenmesi ile toksisitesinin bir miktar engellenebildiğini ve değerlerin kontrole yaklaştığını söyleyebiliriz.

5.3. Asetilkolinesteraz Aktivitesi

Daha önce yapılmış pek çok çalışmada, çeşitli deney hayvanlarının doku örneklerinde ve insan serum, eritrosit, plazma ve lenfositlerinde organofosfatların yol açtığı ACHE enzim aktivitelerindeki değişiklikler incelenmiştir. Bu çalışmaların

tümünde ACHE enzim aktivitelerinin OPI dozuna bağı olarak azaldığı gösterilmiştir (1,5,9,33, 84,85).

Çalışmamızda hemolizat ve serum örneklerinde araştırılan ACHE enzim aktiviteleri kontrole kıyasla diğer tüm gruplarda düşük bulunmuştur. Tedavi uygulanan gruplar ise ACHE aktivitelerini anlamlı olarak yükseltmiştir. MDPA tedavisi anlamlı olarak ACHE aktivitesini yükseltmiş fakat tedaviye sadece E ve C Vitaminlerinin eklenmesi aynı derecede etkili olmamıştır. Kombine tedavi ise MDPA grubundan daha fazla ACHE aktivitesini artırmasına rağmen bu artış anlamlı olmamıştır.

Fidan ve ark. (104) sıçanlarda fenthion uygulaması ile ACHE enzim düzeylerinin anlamlı olarak düştüğünü, fenthion ile birlikte yüksek doz atropin uygulamasının anlamlı olmamakla birlikte ACHE enzim düzeylerini yükselttiğini bildirmişlerdir.

OPI'lerden olan Fenthion'la yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmada (100) ve MD ile yapılan bir başka çalışmada (89), düşen ACHE aktivitesinin E ve C vitaminlerinin eklenmesi ile kontrol grubuna yaklaşarak düzeldiği gösterilmiştir. Ayrıca Diclorvos (102) ve Methamidophos (105) ile yapılan diğer çalışmalarda, tedaviye PAM ve atropin eklenmesi ile ACHE aktivitesinin anlamlı olarak yükseldiğini göstermişlerdir.

Bu bulgulardan yola çıkarak, OPI toksisitesinde tedaviye PAM ve atropinin yanı sıra E ve C vitamini eklenmesinin sinerjik etki ile ACHE enzim inhibisyonunun düzeltilmesinde daha etkili olabileceğini söyleyebiliriz.

5.4. Karaciğer Fonksiyon Testleri

Serum enzimlerinden ALP, ALT, AST, GGT ve LDH esas olarak karaciğer hasarının gösterilmesi için değerlendirilmiştir. Bu enzimlerin karaciğer dokusuna tam olarak spesifik olmamalarına karşın, serum düzeylerinin artışı aktif bir karaciğer hasarını yansıtabilmektedir.

Çalışmamızda MD verilmesi ile AST, ALP, GGT ve LDH aktivitelerinde anlamlı bir artış, ALT aktivitesinde ise anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir. Tüm tedavi

gruplarında ise MD'nin etkisinin azaltıldığı gözlenmiştir. Bu azalma özellikle kombine tedavide daha da belirgin olmuştur.

MD verilmesi ile açığa çıkan oksijen radikallerinin oluşturduğu hasarlar ile karaciğer enzimlerinde artış görülmektedir. Bu enzimlerden ALT aktivitesindeki düşüşte, muhtemelen MD'nin enzim üzerine olumsuz etkisi rol alıyor olabilir. Tedavi gruplarına eklediğimiz vitaminlerin ise, MD ile hücrede oluşan radikalleri süpürerek hücre hasarının önüne geçtiği düşünülebilir. E ve C vitaminlerinin bu etkileri ile normal ALT aktivitesi tespit etmemiz gerekirken, MD'nin mevcut enzim üzerine olumsuz etkisi de birleşince, vitamin verilen gruplarda anlamlı olarak ALT aktivitesinin daha da düştüğü söylenebilir.

Laboratuvarımızda MD ile yapılan benzer çalışmada, tek dozluk MD verilmesinin sıçan serumlarında bulgularımızla uyumlu olarak ALP, AST, GGT ve LDH aktivitelerini anlamlı bir şekilde arttırdığı, yine ALT aktivitesini anlamlı bir şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu çalışmada MD'nin in vitro olarak insan serumlarında bahsedilen enzimler üzerine etkinliği de araştırılmıştır. ALT ve LDH aktivitelerini anlamlı bir şekilde inhibe ettiği, ALP, AST ve GGT aktivitelerinde ise önemli bir değişiklik yapmadığı belirtilmiştir (1).

Aynı araştırmacıların Fenthion'un sıçan serumlarında AST, ALP, GGT ve LDH aktivitelerini anlamlı şekilde arttırdığı ve yine ALT aktivitesini ise anlamlı şekilde inhibe ettiği gösterilerek, fenthion'un in vitro insan serumuna uygulanması sonucunda ALT aktivitesini anlamlı bir şekilde inhibe ederken AST, ALP, GGT ve LDH aktivitelerinde önemli değişiklikler yapmadığı rapor edilmiştir (9).

Gökçimen ve ark. (103) diazinonun karaciğer üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, ALP, AST, ALT ve LDH düzeylerinin dozla doğru orantılı olarak arttığını tespit etmişlerdir.

Kalender ve ark. (106) malathion toksisitesini araştırdıkları çalışmalarında, malathion verilmesi ile ALT, AST, ALP ve LDH düzeylerinin yükseldiğini, malathion ile birlikte E ve C vitamini verilmesinin ardından ALT, AST, ALP ve LDH düzeylerinin düştüğünü göstermişlerdir.

Sütçü ve ark. (101) subkronik MD'nin karaciğer üzerine toksik etkilerini araştırdıkları çalışmalarında AST, ALP ve LDH aktivitelerinin kontrol grubuna

kıyasla MD verilen grupta anlamlı olarak yükseldiğini ve bu yükselmenin MD'ye ilaveten E+Cvit verilmesiyle anlamlı olarak düştüğünü göstermişlerdir. Yine aynı araştırmacılar bulgularımızla uyumlu olarak MD verilen grupta ALT aktivitesinin düştüğünü, E+C Vit eklenen grupta daha fazla düşüş olduğunu gözlemlemişlerdir. Farklı olarak, Gökalp ve ark. (87) diazinonun toksik etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, diazinon verilen grupta ALP düzeylerinin anlamlı olarak düştüğünü, E ve C Vit verilmesi ile ALP düzeylerinin anlamlı olarak yükseldiğini bildirmişler. Bu durumu diazinonun ALP üzerinde inhibisyon yaptığı ve bu inhibisyonun E ve C Vit. ile ortadan kaldırıldığı şeklinde yorumlamışlardır.

Yapılan pek çok çalışmada farklı OPI türlerinin karaciğer enzimleri üzerine olan etkilerinin de farklı olduğu bildirilmektedir. Bazı türler bazı karaciğer enzimlerini aktive ederken, bazıları da inhibe etmektedir. Örneğin MD'un ALT üzerine olan inhibisyon etkisine karşılık, diazinon ALP enzimini inhibe etmektedir (1,87).

Bu literatürler ve bizim bulgularımız ışığında, baktığımız karaciğer enzimlerinin nonspesifik olmasına rağmen artan enzim aktivitelerinin karaciğer hasarını gösterdiği kanısına varabiliriz.

5.5. Böbrek Fonksiyon Testleri

Detoksifikasyonda önemli olan böbrek dokusu ksenobiyotiklerin nefrotoksik etkilerine karşı duyarlıdır. OPI'ye maruz kalmanın ardından akut böbrek yetmezliği bildirilmiştir. Çeşitli çalışmalarda geçici böbrek hasarı hem tübüler hücre nekrozuna hem de hipovolemik şok ve rabdomyolizle sonuçlanan kolinerjik krize dayandırılmıştır (123-125).

Kerem ve ark.(122) fenthion'un artan dozlarıyla (25, 50, 75 ve 100 mg/kg) yaptıkları çalışmalarında doz arttıkça kreatinin ve BUN değerleri anlamlı olarak artarken, histopatolojik incelemelerde ise sadece 100 mg/kg fenthion verilen grupta anlamlı değişiklikler bildirilmiştir.

Bizim çalışmamızda da MD verildiğinde Üre, BUN ve kreatinin değerleri istatistiksel olarak anlamlı yükselmiştir. Tedavi uygulanan gruplar, MD ile

karşılaştırıldığında bu değerlerin anlamlı olarak kontrole daha yakın olduğu gözlenmiştir.

Klorprifos-etil'in (90) böbrek dokusu üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmada, kontrol grubuna göre klorprifos-etil verilen grupta histopatolojik olarak böbrek dokusunda hasar oluştuğunu tespit etmişlerdir. Ve bu hasarın E ve C vitamini ile önlenebildiğini göstermişlerdir.

Tüm bu bulgularımız ışığında MD'nun böbrek toksisitesine sebep olduğunu; tedaviye eklenen PAM+Atropin ve E+ C Vitamin kombinasyonlarının toksisiteyi anlamlı şekilde azaltmasının yanı sıra kombine tedavinin (MDPAEC) daha etkin olduğu gözlemlendi.

5.6. Pankreas Enzimleri

Organofosfatlı insektisit zehirlenmelerinden birkaç gün sonra meydana gelen ölüm nedenlerinden birinin de pankreatit olduğu bildirilmiştir. Organofosfatların pankreatite neden olma mekanizması olarak aşırı kolinerjik uyarım sonucu pankreas ve kanallarında oluşan hipertansiyonun rol aldığı belirtilmiştir. Çeşitli organofosfat bileşikleri bulunmakla birlikte, literatürlerde özellikle pankreatite neden olan organofosfatlar arasında malathion, diazinon, parathion, coumaphos, difonate ve dimethoate sayılmaktadır (118-121).

Gökalp ve ark. (117) fenthionun sıçan amilaz ve lipaz enzimleri üzerine olan etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, serum amilaz değerlerinde fenthion uygulaması ile bir değişiklik olmadığını, lipaz değerlerinin ise anlamlı düzeyde düştüğünü bildirmişlerdir. Aynı çalışmada fenthiona E ve C vitamini eklenmesi ile lipazdaki bu düşüşün anlamlı olarak engellendiği bildirilmiştir.

Aynı araştırmacılar diazinon toksisitesinin pankreas üzerine olan etkilerini araştırdıkları başka bir çalışmalarında (87), diazinon verilmesi ile lipaz aktivitesinin anlamlı olarak arttığını, diazinonla birlikte E ve C vitamini verilmesinin bu artışı engellediğini ve kontrol grubu ile aynı düzeye getirdiğini göstermişlerdir. Aynı çalışmada diazinon verilmesi ile amilaz aktivitesinin kontrol grubuna göre düştüğünü, diazinonla birlikte E ve C vitamini verilmesinin bu düşüşü engellediğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda amilaz aktivitelerinin değişmediği fakat lipaz aktivitesinin ise MD ile anlamlı olarak düştüğü gözlenmiştir. Bu aktivitedeki düşüş, PAM+Atropin ve E+C Vit tedavilerinin eklenmesiyle kontrole yakın tutulduğu, kombine tedavinin ise lipaz aktivitesini kontrolden anlamlı olarak daha yüksek seviyeye getirdiği gözlenmiştir. Normalde MD'nun pankreasta hasar oluşturmayıp serum lipaz aktivitesini inhibe ettiğini düşünebiliriz. Kombine tedavimizin de bu inhibisyonu ortadan kaldırarak aktivite artışına sebep olduğunu söyleyebiliriz.

5.7. Kardiyak Enzimler

Organofosfat zehirlenmelerinden sonra ani ölüm ve kardiyak komplikasyonların görülebildiği bildirilmektedir. Kardiyak aritmiler ve iletim kusurları, sempatik ve parasempatik over aktiviteye bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Ayrıca ek olarak bir kaç vakada hipotansiyon, hipertansiyon, nonkardiyak pulmoner ödem ve miyokardiyal hasar tanımlanmıştır (107-111).

Organofosfat insektisitlerle olan zehirlenmenin indüklediği kardiyotoksitenin mekanizması bugüne kadar tam olarak açıklanamamıştır. OPI'ye bağlı kardiyak toksitenin sebebi olarak tek bir mekanizmanın olduğunu söylemek zordur. Bu konu ile ilgili yapılmış pek çok araştırma olmasına rağmen, olayın patogenezi ve altta yatan mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir (112, 113, 114). Kardiyak biyokimyasal markırlarla ilgili olarak elimizde yeterli çalışma ve veri bulunmamaktadır. Özellikle kardiyak hasarı belirlemede kullanılan CK, CK-MB, Miyoglobulin, TroponinI ve proBNP markırları ile ilgili veriler oldukça kısıtlıdır.

Çalışmamızda akut MD'nin kardiyak toksitesini araştırmak amacıyla Troponin-T ve Miyoglobulin, CK, CK-MB, aktiviteleri araştırılmıştır. Troponin-T ve Miyoglobulin düzeyleri gruplar arasında farklılık göstermezken; kontrole kıyasla MD verilen grupta CK ve CK-MB aktivitelerinin anlamlı olarak arttığı görülmüştür. Enzim aktivitelerindeki bu artışın kombine tedavi (MDPAEC) uygulanmasıyla kontrole yaklaştığı gözlenmiştir.

Serum CK enzimidaki yükselme, bazı klinik toksite çalışmalarında da rapor edilmiştir (115,116). Fakat OPI toksitesindeki CK-MB düzeyleri insanlarda yapılan herhangi bir klinik çalışmada değerlendirilmemiştir

Nitekim Köse ve ark.'nın (102) dichlorvosun kardiyak toksisitesini araştırdıkları çalışmaları, miyokardiyal nekrozun histolojik bulgularını gösteren literatürdeki ilk çalışma olmasına rağmen, bizim bulgularımıza benzer şekilde kardiyak hasarı gösteren biyokimyasal parametreler olan CK, CK-MB, Troponin-T ve Miyoglobulin düzeylerinde anlamlı bir yükselme tespit edemediklerini bildirmişlerdir.

Farklı olarak, Yavuz ve ark. (92) bir aylık kronik MD toksisitesinin kardiyak etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, MD verilen grupta Troponin I düzeylerinin anlamlı olarak yükseldiğini ve MD'ye ilaveten E ve C vitamini verilmesi ile Troponin I düzeylerinin anlamlı olarak düştüğünü bildirmişlerdir.

Bizim çalışmamızın akut olması, MD verilmesiyle açığa çıkan radikallerin akut süreçte dokudaki mevcut antioksidan sistem ile temizlenmesi sonucu Troponin I ve Miyoglobulin düzeylerinde anlamlı bir değişiklik oluşturmadığını düşünebiliriz. MD uygulaması ile elde ettiğimiz yüksek CK düzeylerinin ise, OPİ toksisitelerinde gözlenen kolinerjik krizle veya rabdomiyolizle ilişkili olabileceğini söyleyebiliriz.

Sonuç olarak MD'un dokularda hasara neden olduğu, lipid peroksidasyonunun bu hasara aracılık eden mekanizma olabileceği, OPİ zehirlenmelerinde rutin tedavide yer alan PAM ve atropin'in klinik semptomları düzeltirken, E ve C vitaminlerinin tedaviye eklenmesi ile komplikasyonların azaltılmasına katkı sağlayabileceğini düşünüyoruz.

ÖZET

Akut Methidathion Toksisitesinin Karaciğer, Kalp, Pankreas, Böbrek, Beyin Dokularına Olan Etkisi ve Tedavide PAM, Atropin ve Antioksidanların Koruyucu Rolünün Araştırılması

Organofosfat zehirlenmesi özellikle yoğun bakım ünitelerinde sıkça karşılaştığımız sorunlardandır. Antioksidan maddelerin ise günümüzde iyileşme sürecindeki önemi gittikçe artmaya başlamıştır. Çalışmamız; birçok hasara neden olabilen methidathion (MD)'un akut kullanımının sıçan karaciğer, böbrek, pankreas, kalp ve beyin dokularına olası etkisini incelemek ve buna E, C vitaminleri, pralidoksim (PAM) ve atropin kombinasyonlarının olası toksisite üzerine etkinliğini araştırmak amacıyla planlanmıştır.

Çalışmada ağırlıkları 250 ± 50 gr olan 50 adet dişi Wistar Albino sıçan kullanıldı. Her grupta 10 sıçan bulunacak şekilde; kontrol, MD, MD + PAM + atropin, MD + vit E + vit C ve MD + vit E + vit C + PAM + atropin kombinasyonu olmak üzere 5 gruba ayrılmıştır.

Araştırmamızda MD uygulanan tüm doku örneklerinde, serumda ve hemolizatta lipid peroksidasyon ürünü (TBARS) ve kolinesteraz düzeyleri artarken, P+A+E+C kombinasyonu ile bu değerlerin kontrole yakın olduğu gözlenmiştir.

Serumda üre, BUN, kreatinin, AST, ALP, GGT, LDH, CK ve CK-MB düzeyleri MD uygulaması ile anlamlı artarken, P+A+E+C kombinasyon grubunda bu değerler kontrole yakın çıkmıştır. Myoglobulin, troponin-T, amilaz düzeyleri tüm gruplarda istatistiksel olarak farklılık göstermezken, lipaz ve ALT aktivitelerinin MD verilen grupta kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulunmuştur.

Hemolizat örneklerinde SOD aktivitesi MD uygulanan grupta düşük bulunurken GPx ve CAT aktivitelerinde ise gruplar arası farklılık gözlenmemiştir.

Sonuç olarak MD'un dokularda hasara neden olduğu, lipid peroksidasyonunun (LPO) bu hasara aracılık eden mekanizma olabileceği ve MD toksisitesine karşı P+A+E+C kombinasyonunun kullanılmasının sinerjik etki ile LPO'nu azaltarak doku hasarını engelleyebileceğini söyleyebiliriz.

Anahtar Kelimeler: Methidathion, eritrosit, serum, oksidatif hasar, antioksidan vitamin.

SUMMARY

Investigation of The Effect of Acute Methidathion Intoxication on Liver, Heart, Pancreas, Kidney, Brain Tissues and The Possible Protective Role of PAM, Atropin and Antioxidant Treatment

Organophosphate intoxication is one of the most common health problems encountered in intensive care units. On the other hand, the importance of antioxidants is gradually increasing in healing process. Our study was planned to investigate the possible effect of methidathion (MD) usage, which could cause various damages on liver, kidney, pancreas, heart and brain tissues of rats and to reveal the protective effect the combination of vitamin E, vitamin C, pralidoxime (PAM) and atropin on possible toxicity of MD. A total of 50 female Wistar albino rats weighing between 200 and 300 grams were included in this study. Whole animals were equally and randomly separated into five groups as follows: Controls (n=10), only MD given group (n=10), MD + PAM + atropin given group (n=10), MD + vit E + vit C given group (n=10) and MD + vit E + vit C + PAM + atropin given group (n=10). In our research, we have observed that the lipid peroxidation substrate (TBARS) and cholinesterase levels have increased in whole tissue samples, sera and hemolysates exposed to MD, whereas these values were near to controls when treated with PAM + vitamin A + vitamin E + vitamin C combination. MD exposure has also caused a significant increase in mean urea, blood urea nitrogen (BUN), creatinin, AST, ALP, GGT, LDH, CK and CK-MB levels in sera samples and these measured parameters were near to the control values in group treated with PAM + vitamin A + vitamin E + vitamin C combination. There was no statistically significant difference among the groups by means of myoglobin, troponin-T and amylase levels, however lipase and ALT enzyme activity levels were significantly lower in only MD given group, when compared with the controls. The mean SOD activity level measured from hemolysate samples was decreased in MD group, whereas there was no prominent difference among the groups by means of GPx and CAT enzyme activity levels. As a result, it can be suggested that MD leads to tissue damage, in which lipid peroxidation (LPO) may involve in the occurrence mechanism of this damage and PAM + vitamin A + vitamin E + vitamin C combination treatment against MD toxicity could prevent from tissue damage via lowering the LPO level by synergistic effect.

Key Words: Methidathion, erythrocytes, serum, oxidative damage, antioxidant vitamins

KAYNAKLAR

1. Altuntas I, Delibas N, Demirci M, Kilinc I, Tamer N. The effects of methidathion on lipid peroxidation and some liver enzymes: role of vitamins E and C. *Arch Toxicol* 2003; 76: 470-473.
2. Altuntas I, Delibas N, Sutcu R. The effects of organophosphate insecticide methidathion on lipid peroxidation and anti-oxidant enzymes in rat erythrocytes: role of vitamins E and C. *Hum Exp Toxicol* 2002; 21(12): 681-685.
3. Szolics I. & Simoneaux B. Characterization of carbonyl ¹⁴C-labelled methidathion metabolites in rat urine. Project no. ABR-86107. Unpublished report dated March 2, 1997 fROS Ciba-Geigy Corporation, Greensboro, USA. Submitted to WHO by Ciba-Geigy Ltd, Basle, Switzerland.
4. Guidanse for the Reregistration of Pesticide Products containing Methidathion as the Active Ingredient. Office of Pesticide and Toxic Substances. Environmental Protection Agency. Washington, DC. 870: 1988.
5. Belden JB, Lydy MJ. Effects of atrazine on acetylcholinesterase activity in midges exposed to organophosphorus insecticides. *Chemosphere* 2001; 44: 1685-1689.
6. Altuntas I, Delibas N, Doguc DK, Ozmen S, Gultekin F. Role of reactive oxygen species in organophosphate insecticide phosalone toxicity in erythrocytes in vitro. *Toxicol In Vitro* 2003; 17: 153-157.
7. Dwivedi PD, Das M, Khanna SK. Role of Cytochrome P-450 in Quinalphos Toxicity: Effect on Hepatic and Brain anti-oxidant enzymes in rats. *Food Chem Toxicol* 1998; 36(5): 437-444.
8. 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.
9. Altuntaş İ, Delibaş N. The effects of Fenthion on Lipid Peroxidation and Some Liver Enzymes: The Possible Protective Role of vitamins E and C. *Turk Klin J Med Sci* 2002; 32: 293-297.
10. Altuntas I, Delibas N, Yonden Z, Orhan H, Sutcu R. Effects of organophosphate insecticide methidathion on lipid peroxidation and anti-oxidant enzymes in rat erythrocytes (in vitro). *Biomedical Research* 2002; 13(1): 11-14.
11. Altuntaş I, Delibaş N, Can M, Yönden Z, Orhan H. Effects of organophosphate insecticide Fenthion on lipid peroxidation and anti-oxidant enzymes in rat erythrocytes (in vitro). *İbni Sina Tıp Dergisi* 2002; 7: 90 – 95.
12. Asuncion JG, Olmo ML, Sastre J, Millan A, Pellin A, Pallardo FV et al. AZT treatment induces molecular and ultrastructural oxidative damage to muscle mitochondria. Prevention by antioxidant vitamins. *J Clin Invest* 1998; 102(1): 4-9.
13. Etlik O, Tomur A, Dundar K, Erdem A, Gundogan NU. The effect of antioxidant vitamins E and C on lipoperoxidation of erythrocyte membranes during hyperbaric oxygenation. *J Basis Clin Physiol Pharmacol* 1997; 8(4): 269-77.
14. Ramanathan K, Shila S, Kumaran S, Panneerselvam C. Protective role of ascorbic acid and -tocopherol on arsenic-induced microsomal dysfunctions. *Hum Exp Toxicol* 2003; 22: 129-136.

15. C Abbara, JM Rousseau, B Lelièvre, A Turcant, G Lallement, S Ferec et al. Pharmacokinetic analysis of pralidoxime after its intramuscular injection alone or in combination with atropine-avizafone in healthy volunteers. *British Journal of Pharmacology* 2010; 161(8):1857-1867.
16. Öncü M, Gultekin F, Karaöz E, Altuntaş İ, Delibaş N. Klorprifos-Etil tarafından oluşturulan oksidatif hasarın sıçan karaciğerine etkileri. *Türk Klin J Med Sci* 2002; 22: 50-55.
17. Delen N, Toros S, Tosun N, Öztürk S, Yücel A, Çalı S. Tarım ilaçları kullanımı ve üretimi. Türkiye Ziraat Mühendisliği 4. Teknik Kongresi. *T.C. Ziraat Bankası Kültür Yayınları* 1995; No:26, 1015-1028.
18. Karadağ K. Kolinesteraz inhibitörü pestisidlere maruz kalan işlerde iş sağlığı uygulamaları. *Türk Tabipler Birliği Mesleki Sağlık ve Güvenlik Dergisi* 2000; Temmuz.
19. Gupta PK, Gupta RC. Pharmacology, toxicology and degradation of endosulfan. *Toxicology* 1979; 13: 115-30.
20. Öztürk S, Özgen N. *Bitki Koruma İlaçları*. Eser matbaası yayını, 1978.
21. Berksan N. Tarım ilaçları ve Çevre. Tarım ilaçlarının kullanılması semineri. ODTÜ Gaziantep Kampüsü 1996; Yayın No: 1-7.
22. Rafi GM, Srinivas T, Reddy SJ, Reddy DC, Ramamurthy R. Acute and chronic toxicity of endosulfan to carp: Effect on lipid metabolism. *Bull Environ Contam Toxicol* 1991; 47(6): 918-924.
23. Blanco-Coronado JL, Repetto M, Ginestal RJ, Vicente JR, Yelamos F, Lardelli A. Acute intoxication by endosulfan. *J Toxicol* 1992; 30(4): 575-583.
24. Gold LS, Manley NB, Slone TH, Ward JM. Compendium of Chemical Carcinogens by Target Organ: Results of Chronic Bioassays in Rats, Mice, Hamsters, Dogs and Monkeys. *Toxicol Pathol* 2001; 29: 639-652.
25. Farag AT, Eweidah MH, Tayel SM, El-Sebae AH. Developmental toxicity of acephate by gavage in mice. *Reprod Toxicol* 2000; 14: 241-245.
26. Esser HO, Mücke W, Alt KO. Der Abbau des Insektizides GS 13005 in der Ratte. Strukturklärung der wichtigsten Metaboliten. *Helv CHEM Acta* 1969; 51(3): 513-517.
27. Boutsionki P, Thompson P, Clough F. Effects of local blood flow on the percutaneous absorption of the organophosphorus compound malathion: a microdialysis study in man. *Arch Toxicol* 2001; 75: 321-328.
28. Moretto A. Experimental and clinical toxicology of anticholinesterase agents. *Toxicol Lett* 1998; 102-103: 509-513.
29. Arao T, Fuke C, Takaesu H, Morinaga Y, Miyazaki T. A case of fatal trichlorfon and methidathion poisoning. *Leg Med* 2002; 4(3): 182-186.
30. Flammarion P, Migeon B, Garric J. Joint Effects of Copper Sulphate and Methidathion on Rainbow Trout EROD and ACHE Activities. *Bull Environ Contam Toxicol* 1996; 56: 440-445.
31. Lang G, Kufcsak O, Szegletes T, Nemcsok J. Quantitative Distribution of Different Cholinesterases and Inhibition of Acetylcholinesterase by Metidathion and Paragat in Alimentary Canal of Common Carp. *Gen Pharmac* 1997; 29(1): 55-59.

32. Ray DE, Richards PG. The potential for toxic effects of chronic, low-dose exposure to organophosphates. *Toxicol Lett* 2001; 120: 343-351.
33. Das BK, Mukherjee SC. Chronic toxic effects of quinalphos on some biochemical parameters in *Labeo rohita*. *Toxicol Lett* 2000; 114: 11-18.
34. Aygun D, Erenler AK, Karatas AD, Baydin A. Intermediate syndrome following acute organophosphate poisoning: correlation with initial serum levels of muscle enzymes. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2007; 100(3):201-204.
35. Ray DE. Chronic effects of low level exposure to anticholinesterases: a mechanistic review. *Toxicol Lett* 1998; 102-103: 527-533.
36. Prasanta KM, Anand K. Dimethoate inhibits extrathyroidal 5'-monodeiodination of thyroxine to 3, 3', 5-triiodothyronine in mice: the possible involvement of the lipid peroxidative process. *Toxicol Lett* 1997; 91: 1-6.
37. Bachowski S, Kolaja KL, Xu Y, Ketcham CA, Stevenson DE, Walborg EF, Jret al. Role of oxidative stress in the mechanism of dieldrin's hepatotoxicity. *Ann Clin Lab Sci* 1997; 27(3): 196-209.
38. 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(1-3): 129-140.
39. Lodovici M, Cassalini C, Briani C, Dolara P. Oxidative liver DNA damage in rats treated with pesticide mixtures. *Toxicology* 1997; 117(1): 55-60.
40. Lodovici M, Aiolfi S, Monserrat C, Dolara P, Medica A, Simplicio P. Effect of a mixture of 15 commonly used pesticides on DNA levels of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine and xenobiotic metabolizing enzymes in rat liver. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 1994; 13(3): 163-8.
41. Doner F, Delibas N, Dogru H, Sari I, Yorgancigil B. Malondialdehyde levels and superoxide dismutase activity in experimental maxillary sinusitis. *Auris Nasus Larynx* 1999; 26: 287-291.
42. Handy RD, Abd-El Samei HA, Bayomy MFF, Mahran AM, Abdeen AM, EL-Elaimy EA. Chronic diazinon exposure: pathologies of spleen, thymus, blood cells, and lymph nodes are modulated by dietary protein or lipid in the mouse. *Toxicology* 2002; 172: 13-34.
43. Thrasher JD, Madison R, Broughton A. Immunologic abnormalities in humans exposed to chlorpyrifos: preliminary observations. *Arch Environ Health* 1993; 48(2): 89-93.
44. Blakley BR, Yole MJ, Brousseau P, Boermans H, Fournier M. Effect of chlorpyrifos on immune functions in rats. *Vet Hum Toxicol* 1999; 41(3): 140-4.
45. Juhler RK, Larsen SB, Meyer O, Jensen ND, Spano M, Giwercman A, Bonde JP. Human Semen Quality in Relation to Dietary Pesticide Exposure and Organic Diet. *Arch Environ Contam Toxicol* 1999; 37: 415-423.
46. Khan IA, Reddy BV, Mahboob M, Rahman MF, Jamil K. Effects of phosphorothionate on the reproductive system of male rats. *J Environ Sci Health B* 2001; 36(4): 445-456.
47. Kazanç MB. Antioksidan vitaminler. *Sendrom* 1997; Temmuz, 14-23.
48. Karaöz E, Özcan O, Irmak K, Sarsılmaz M. In vitro hidrojen peroksit uygulamasında kolon mukozasında görülen değişiklikler ve buna E vitamininin etkisi. *Gazi Tıp Dergisi* 1992; 3: 177-183.

49. Reiter RJ. Functional aspects of the pineal hormone melatonin in combating cell and tissue damage induced by free radicals. *Eur J Endocrinol* 1996; 134: 412-420.
50. Simonian NA, Coyle JT. Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1996; 36: 83-106.
51. Reiter RJ. Oxidative damage in the central nervous system: protection by melatonin. *Prog Neurobiol* 1998; 56(3): 359-384.
52. Beckman KB, Ames BN. Oxidative decay of DNA. *J Biol Chem* 1997; 272(32): 19633-19636.
53. Reiter RJ, Pablos MI, Agapito TT, Guerrero JM. Melatonin in the context of the free radical theory of aging. *Ann N Y Acad Sci* 1996; 786: 362-378.
54. Auletta CS, Weiner ML, Richter WR. A dietary Toxicity/oncogenicity study of tributyl phosphate in the rat. *Toxicology* 2000; 128: 125-134.
55. Özkurt S, Altın R, Hacıoğlu M, Enli Y, Aslan D, Fişekçi F. Tarım ilacı satışı yapanlarda solunumsal semptomlar, solunum fonksiyon testi sonuçları ve asetil kolinesteraz düzeyleri. *Solunum* 2001; 3: 272-275.
56. Marklund SL. Analysis of extrasellüler süperoxide dismutase in tissue homogenates and extracellular fluids. *Methods Enzymol* 1990; 186:260-265.
57. Halliwell B. Free radical, antioxidants and human disease: curiosity, cause, consequence. *The Lancet* 1994; 344:721-724.
58. Spallholz JE. Selenium and glutathione peroxidase: Essential nutrient and antioxidant component of the immune system. *Adv. Exp. Med. Biol* 1990; 262:145-158.
59. Padney N, Gundevira F, Prem AS, Ray PK. Studies on the genotoxicity of endosulfan an organochlorine insecticide, in mammalian germ cell. *Mutat Res* 1990; 242(1):1-7.
60. Rambabu JP, Rao MB. Effect of an organochlorine and three organophosphate pesticides on glucose, glycogen, lipid and protein contents in tissues of the freshwater snail *Bellamya dissimilis*. *Bull Environ Contam Toxicol* 1994; 53(1):142-148.
61. 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(1-3): 129-140.
62. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull* 1993; 49(3):479-480.
63. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Konya, 1995
64. Blecker J, Lison D, Abeele KV, Willems J, Reuck J. Acute and subacute organophosphate poisoning in rat. *Neuro Toxicology* 1994; 15(2):341-348.
65. Bushnell PJ, Kelly KL, Ward TR. Repeated inhibition of cholinesterase by chlorpyrifos in rats: behavioral, neurochemical and pharmacological indices of tolerance. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 270(1):15-25.
66. Atterbury TT, Burnett WT, Chambers JE. Age-related differences in parathion and chlorpyrifos toxicity in male rats: target and non target esterase sensitivity and cytochrome p450 mediated metabolism. *Toxicol Appl Pharmacol* 1997; 147(2):411-418.
67. Uz E. Deneysel karaciğer iskemisi-reperfüzyonu oluşturulan sıçanlarda doku oksidant-antioksidanlarının durumu: doku hasarına E vitamini ve kafeik asit fenetil ester (CAPE)'in etkisi. Tez. İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2001

68. Paolini M, Pozzetti L, Pedulli GF, Marchesi E, Cantelli-Forti G. The nature of prooxidant activity of vitamin C. *Life Sci* 1999; 64(23): 273-278.
69. Özgüner F, Özçankaya R, Delibaş N, Koyu A, Çalışkan S. Melatonin ve klinik önemi. *S.D.Ü Tıp Fak Derg* 1995; 2(4): 1-6.
70. Jialal I, Fuller CJ. Oxidized LDL and antioxidants. *Clin Cardiol* 1993; 16: 1-9.
71. Sies H. Oxidative stress: From basic research to clinical application. *Am J Med* 1991; 91: 31-38.
72. Halliwell B, Gutteridge JMC. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. *Methods. Enzymol* 1990; 186: 1-85.
73. Chanda SM, Pope CN. Neurochemical and neurobehavioral effects of repeated gestational exposure to chlorpyrifos in maternal and developing rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1996; 53(4) : 771-776.
74. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folinphenol reagents. *J Biol Chem* 1951; 193:265-275.
75. Woolliams JA, Wiener G, Anderson PH, McMurray CH. Variation in the activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase and in the concentration of copper in the blood various breed crosses of sheep. *Res Vet Sci* 1983; 34:69-77.
76. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70:158-169.
77. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 1984;105:121-26.
78. Drapper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1990; 186:421-431.
79. Roy TS, Andrews JE, Seidler FJ, Slotkin TA. Chlorpyrifos elicits mitotic abnormalities and apoptosis in neuroepithelium of cultured rat embryos. *Teratology* 1998; 58(2): 62-68.
80. Gültekin F, Delibaş N, Kutluhan S, Akdoğan M, Kılınc İ, Sütçü R. Sıçan beyin dokularında chlorpyrifos-ethyl'in neden olduğu antioksidan sistemdeki değişiklikler ile melatonin ve vitamin C + E'nin koruyucu etkileri. *S.D.Ü Tıp Fak Derg* 2001; 17: 79-86.
81. Pond AL, Chambers HW, Chambers JE. Organophosphate detoxication potential of various rat tissues via A-esterase and aliesterase activities. *Toxicol Lett* 1995; 78(3): 245-252.
82. Kale M, Rathore N, John S, Bhatnagar D. Lipid peroxidative damage on pyrethroid exposure and alteration in antioxidant status in rat erythrocytes: a possible involvement of reactive oxygen species. *Toxicol Lett* 1999; 105: 197-205.
83. Altuntas I, Delibas N. Effects of organophosphate insecticide fenthion on lipid peroxidation and anti-oxidant enzymes in rat erythrocytes: Role of vitamins E and C. *Biomedical Research* 2002; 13(1): 43-47.
84. Hazarika A, Sarkar SN, Hajare S, Kataria M, Malik JK. Influence of malathion pretreatment on the toxicity of anilofos in male rats: a biochemical interaction study. *Toxicology* 2003; 185: 1-8.
85. John S, Kale M, Rathore N, Bhatnagar D. Protective effect of vitamin E in dimethoate and malathion induced oxidative stress in rat erythrocytes. *J Nutr Biochem* 2001; 12: 500-504.

86. Ranjbar A, Pasalar P, Sedighi A, Abdollahi M. Induction of oxidative stress in paracetamol-formulating workers. *Toxicol Lett* 2002; 131: 191-194.
87. Gokalp O, Buyukvanli B, Cicek E, Ozer MK, Koyun A, Altuntas I, et al. The effects of diazinon on pancreatic damage and ameliorating role of vitamin E and vitamin C. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2005; 81:123–128.
88. Gokalp O, Gulle K, Sulak O, Cicek E and Altuntas I. The effects of methidathion on liver: role of vitamins E and C. *Toxicology and Industrial Health* 2003; 19: 63-67.
89. Sulak O, Altuntas I, Karahan N, Yildirim B, Akturk O, Yilmaz HR, Delibas N. Nephrotoxicity in rats induced by organophosphate insecticide methidathion and ameliorating effects of vitamins E and C. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2005; 83:21–28.
90. Oncu M, Gultekin F, Karaoz E, Altuntas I and Delibas N. Nephrotoxicity in rats induced by chlorpyrifos-ethyl and ameliorating effects of antioxidants. *Human & Experimental Toxicology* 2002; 21:223-230.
91. Yilmaz N, Yilmaz M and Altuntas I. Diazinon-induced brain toxicity and protection by vitamins E plus C. *Toxicol Ind Health* 2012; 28(1):51-57.
92. Yavuz T, Altuntas I, Delibas N, Yildirim B, Candir 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): 323-329.
93. Gupta J, Datta C. Effect of malathion on antioxidant defence system in human fetus-An in vitro study. *Indian J Exp Biology* 1992; 30(4): 352-354.
94. Datta C, Gupta J, Sarkar A, Sengupta D. Effects of organophosphorus insecticide phosphomidon on antioxidant defence components of human erythrocyte and plasma. *Indian J Exp Biol* 1992; 30(1): 65-67.
95. Padney S, Ahmad I, Parvez S, Bin-Hafeez B, Haque R, Raisuddin S. Effect of endosulphan on antioxidants of freshwater fish channa punctatus. Bloch: 1. Protection against lipid peroxidation in liver by copper preexposure. *Arch Environ Contam Toxicol* 2001; 41: 352-354.
96. Yarsan E, Tanyüksel M, Celik S, Aydin A. Effects of aldicarb and malathion on lipid peroxidation. *Bull Environ Contam Toxicol* 1999; 63: 575-581.
97. Naziroglu M, Dilsiz N, Cay M. Protective role of intraperitoneally administered vitamins C and E and selenium on the levels of lipid peroxidation in the lens of rats made diabetic with streptozotocin. *Biol Trace Elem Res* 1999; 70(3): 223-232.
98. Dirican M, Tas S. Effects of vitamin E and vitamin C supplementation on plasma lipid peroxidation and on oxidation of apolipoprotein B-containing lipoproteins in experimental hyperthyroidism. *J Med Invest* 1999; 46(1-2): 29-33.
99. Umar IA, Wuro-CHEkke AU, Gidado A, Igbokwe IO. Effects of combined parenteral vitamins C and E administration on the severity of anemia, hepatic and renal damage in *Trypanosoma brucei brucei* infected rabbits. *Vet Parasitol* 1999; 85(1): 43-47.
100. Altuntaş İ, Delibaş N. The Effects of Fenthion on Lipid Peroxidation and Some Liver Enzymes: The Possible Protective Role of Vitamins E and C. *Turk J Med Sci* 2002; 32:293-297.
101. Sutcu R, Altuntas, Yildirim B, Karahan N, H. Demirin and N. Delibas. The effects of subchronic methidathion toxicity on rat liver: Role of antioxidant vitamins C and E. *Cell Biol Toxicol* 2006; 22(3):221-227.

102. Kose A, Gunay N, Yildirim C, Tarakcioglu M, Sari I, Demiryurek AT. Cardiac damage in acute organophosphate poisoning in rats: Effects of atropine and pralidoxime. *American Journal of Emergency Medicine* 2009; 27:169–175.
103. Gokcimen A, Gulle K, Demirin H, Bayram D, Kocak A, Altuntas I. Effects of diazinon at different doses on rat liver and pancreas tissues. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2007; 87:103–108.
104. Fidan H, Sahin O, Ela Y, Kilbas A, Bas O, Yavuz Y et al. Influence of Different Atropine Therapy Strategies on Fenthion-Induced Organ Dysfunction in Rats. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 2007; 100:308–315.
105. Satar D, Satar S, Mete UO, Karakoc E, and Kaya M. Ultrastructural Changes in rat Thyroid Tissue After Acute Organophosphate Poisoning and Effects of Antidotal Therapy with Atropine and Pralidoxime: A Single-Blind, Ex Vivo Study. *Excerpta Medica Inc* 2008; 389-393.
106. Kalander S, Uzun FG, Durak D, Demir F, Kalender Y. Malathion-induced hepatotoxicity in rats: The effects of vitamins C and E. *Food and Chemical Toxicology* 2010; 48(2):633-638.
107. Roth A, Zellinger I, Arad M, et al. Organophosphates and the heart. *Chest* 1993; 103(2):576-582.
108. Karalliedde L. Organophosphorus poisoning and anaesthesia. *Anaesthesia* 1999; 54(11):1073-1088.
109. Brill DM, Maisel AS, Prabhu R. Polymorphic ventricular tachycardia and other complex arrhythmias in organophosphate insecticide poisoning. *J electrocardiol* 1984; 17(1):97-102.
110. Wang MH, Tseng CD, Bair SY. Q-T interval prolongation and pleomorphic ventricular tachyarrhythmia in organophosphate poisoning: report of a case. *Hum Exp Toxicol* 1998; 17(10):587-590.
111. Karki P, Ansari JA, Bhandary S, et al. Cardiac and electrocardiographical manifestations of acute organophosphate poisoning. *Singapore Med J* 2004; 45(8):385-389.
112. Ludomirsky A, Klein HO, Sarelli P, et al. Q-T prolongation and polymorphous ventricular arrhythmias associated with organophosphorus insecticide poisoning. *Am J Cardiol* 1982; 49(7):1654-1658.
113. Rubinshtein R, Bar-Meir E, Grubstein A, et al. Early onset of ventricular tachyarrhythmias in organophosphate intoxication. *Isr Med Assoc J* 2002;4(1):63-64.
114. Saadeh AM, Farsakh NA, al-Ali MK. Cardiac manifestations of acute carbamate and organophosphate poisoning. *Heart* 1997; 77:461-464.
115. Young GD, Koplovitz I. Acute toxicity of cyclohexylmethylphosphonofluoridate (CMPF) in rhesus monkeys: serum biochemical and hematologic changes. *Arch Toxicol* 1995; 69(6):379-383.
116. Futagami K, Hirano N, Iimori E, et al. Severe fenitrothion poisoning complicated by rhabdomyolysis in psychiatric patient. *Acta Med Okayama* 2001; 55(2):129-132.
117. Gökalp O, Mollaoğlu H, Yilmaz HR, Altuntaş İ. Organofosfat insektisit Fenthion'un sıçan amilaz ve lipaz enzimleri üzerine etkisi: Vitamin E ve C'nin rolü. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2003; 10(2):21-23.

118. Sahin I, Onbasi K, Sahin H, Karakaya C, Ustun Y, Noyan T. The prevalence of pancreatitis in organophosphate poisonings. *Hum Exp Toxicol* 2002; 21:175-177.
119. Hsiao CT, Yang CC, Deng JF, Bullard MJ, Liaw SJ. Acute pancreatitis following organophosphate intoxication. *J Toxicol Clin Toxicol* 1996; 34:343-347.
120. Panieri E, Krige JE, Bornman PC, Linton DM. Severe necrotizing pancreatitis caused by organophosphate poisoning. *J Clin Gastroenterol.* 1997; 25:463-465.
121. Liu S, Oguchi Y, Borner JW, Runge W, Dressel TD, Goodale RL. Increased canine pancreatic acinar cell damage after organophosphate and acetylcholine or cholecystikinin. *Pancreas* 1990; 5(2):177-182.
122. Kerem M, Bedirli N, Gurbuz N, Ekinci O, Bedirli A, Akkaya T, Şakrak O, Paşaoğlu H. Effects of Acute Fenthion Toxicity on Liver and Kidney Function and Histology in Rats. *Turk J Med Sci* 2007; 37(5):281-288.
123. Bardin PG, Van Eden SF, Joubert JR. Intensive care management of acute organophosphate poisoning. A 7-year experience in the Western Cape. *S Afr Med J* 1987; 72: 593-597.
124. Betrosian A, Balla M, Kafiri G, Kofinas G, Makri R, Kakouri A. Multiple system organ failure from organophosphate poisoning. *Clin Toxicol* 1995; 33:257-260.
125. Pond AL, Chambers HW, Chambers JE. Organophosphate detoxication potential of various rat tissues via A-esterase and aliesterase activities. *Toxicol Lett* 1995; 78:245-252.
126. O. Akturk₁, H. Demirin₁, R. Sutcu₁, N. Yilmaz₁, H. Koylu₂ and I. Altuntas₁
The effects of diazinon on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat heart and ameliorating role of vitamin E and vitamin C *Cell Biol Toxicol* 2006; 22: 455–461.