

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**RATLARDA DİAZİNON ZEHİRLENMESİNİN
OLUŞTURDUĞU PANKREATİTTE KAFEİK
ASİT FENETİL ESTERİN OLASI ETKİLERİ**

Dr. Esin OĞUZHANOĞLU

ANESTEZİYOLOJİ ve REANİMASYON ANABİLİM DALI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANLARI
Doç. Dr. Lütfi YAVUZ
Doç. Dr. Osman GÖKALP

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu tarafından 1777-TU-09
proje numarası ile desteklenmiştir.**

ISPARTA-2009

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**RATLARDA DİAZİNON ZEHİRLENMESİNİN
OLUŞTURDUĞU PANKREATİTTE KAFEİK
ASİT FENETİL ESTERİN OLASI ETKİLERİ**

Dr. Esin OĞUZHANOĞLU

ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANLARI

Doç. Dr. Lütfi YAVUZ

Doç.Dr. Osman GÖKALP

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 1777-TU-09
proje numarası ile desteklenmiştir.**

ISPARTA-2009

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince ve tez çalışmamın her aşamasında bana desteklerini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım başta tez danışmanı hocam Doç. Dr. Lütfi YAVUZ ve Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Başkanımız Doç. Dr. Füsun EROĞLU olmak üzere, Doç. Dr. Pakize KIRDEMİR, Yrd. Doç. Dr. Tülay T. PEKER, Yrd. Doç. Dr. Dilek KARASLAN ve Yrd. Doç. Dr. Berit G. CEYLAN'a sonsuz şükranlarımı sunarım.

Tez çalışmamın tamamlanmasındaki katkılarından dolayı başta eş tez danışmanım Doç. Dr. Osman GÖKALP olmak üzere, Prof. Dr. Hüseyin VURAL ve Doç. Dr. Alpaslan GÖKÇİMEN'e teşekkürü bir borç bilirim.

Asistanlığım süresince birlikte çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma, anestezi teknisyeni arkadaşlarıma, ameliyathane ve yoğun bakım çalışanlarına teşekkür ederim. Tez çalışmamda yardımcı olan Deney Hayvanları Ünitesi çalışanlarına, Histoloji ve Biyokimya Laboratuvarı çalışanlarına teşekkür ederim.

Tüm eğitim hayatım boyunca manevi destekleri ile hep yanımda olan aileme canı gönülden teşekkür ederim.

Dr. Esin OĞUZHANOĞLU

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR	v
TABLolar DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
RESİMLER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Pesticidler	2
2.2. Türkiye’de Tarımda Kullanılan İnektisidler	3
2.3. Diazinon	4
2.3.1. Diazinon Metabolizması	5
2.3.2. Diazinon ve Diğer Organofosfatların Organizmadaki Klinik Etkileri	5
2.4. Otonomik Sinir Sisteminde Asetilkolinin Yeri	6
2.4.1. ACh Metabolizması	7
2.4.1.1. ACh Sentezi	8
2.4.1.2. ACh’in Veziküllerde Depolanması	8
2.4.1.3. ACh Salınması	8
2.4.1.4. Reseptörlere Bağlanma	9
2.4.1.5. ACh Yıkımı	9
2.4.1.6. Kolinin Yeniden Kullanımı	9
2.5. Organofosfat Zehirlenmelerinin Patofizyolojisi	9
2.6. Organofosfat Zehirlenmelerinde Klinik	10
2.6.1. Akut Pankreatit	11
2.6.1.1. Akut Pankreatit Patofizyolojisi	12
2.6.1.2. Akut Pankreatit Semptomları	13
2.6.1.3. Akut Pankreatit Laboratuvar Bulguları	14
2.6.1.4. Akut Pankreatitte Radyolojik Görüntüleme Yöntemleri	14

2.6.2. Organofosfat Zehirlenmelerinde Akut Pankreatit Tablosu	15
2.7. Organofosfat Zehirlenmelerinde Tedavi	16
2.8. Antioksidanlar	18
2.9. Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE)	20
2.9.1. CAPE'nin Yapısı ve Kimyasal Özellikleri	21
2.9.2. CAPE'nin Fonksiyonel Özellikleri	21
2.10. Çalışmanın Literatür İçindeki Yeri	22
3. MATERYAL ve METOD	24
3.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması	24
3.2. Deney Hayvanlarının Gruplandırılması	24
3.3. Deney Protokolü	25
3.4. Doku ve Kan Örneklerin Alınması	25
3.5. Biyokimyasal Tetkiklerin Uygulanışı	25
3.6. Histopatolojik İnceleme	26
3.6.1. Tespit	26
3.6.2. Suyunu Alma	26
3.6.3. Saydamlaştırma	27
3.6.4. Parafinizasyon	27
3.6.5. Blok hazırlama	27
3.6.6. Kesit Hazırlama	27
3.6.7. Boyama	27
3.6.8. İnceleme	28
3.7. Deneyde Kullanılan Malzeme ve Cihazlar	28
3.8. Deneyde Kullanılan Kimyasal Maddeler	28
3.9. İstatistiksel Analiz	29
4. BULGULAR	30
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	40
6. ÖZET	45
7. SUMMARY	46
8. KAYNAKLAR	47

SİMGELER ve KISALTMALAR

ALP	Alkalen Fosfataz
ACh	Asetilkolin
AChE	Asetilkolinesteraz
dl	Desilitre
rpm	devir/dakika
G6PD	Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz
GGT	Gama Glutamil Transferaz
GSH-Px	Glutasyon Peroksidaz
IU	İnternasyonal ünite
IP	İntraperitoneal
IV	İntravenöz
CAPE	Kafeik Asit Fenetil Ester
CAT	Katalaz
kg	Kilogram
LDH	Laktat Dehidrogenaz
LPO	Lipid Peroksidasyonu
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
µgr	Mikrogram
µmol	Mikromol
mg	Miligram
ml	Mililitre
NF-κβ	Nükleer Faktör Kappa Beta
PAM	Pralidoksim
PChE	Psödokolinesteraz
SOD	Süperoksit Dismutaz

TABLOLAR DİZİNİ

Tablolar	Sayfa
Tablo 1. Etki türlerine göre pestisid tipleri	2
Tablo 2. Türkiye’de kullanılan organofosfatlar	4
Tablo 3. Organofosfat zehirlenmelerinde klinik tablo	10
Tablo 4. Organofosfat zehirlenmelerinde nörotoksisite	11
Tablo 5. Deney grupları	24
Tablo 6. Gruplara göre ratların ağırlıkları ve kontrol grubuna göre istatistiksel karşılaştırılması	30
Tablo 7. Gruplara göre serum amilaz değerleri ve kontrol grubuna göre istatistiksel karşılaştırılması	31
Tablo 8. Gruplara göre serum lipaz değer dağılımları ve kontrol grubuna göre değişimlerinin istatistiksel karşılaştırılması	32
Tablo 9. Gruplara göre serum ALP değer dağılımı ve kontrol grubuna göre değişimlerinin istatistiksel karşılaştırılması	33
Tablo 10. Gruplara göre serum GGT değer dağılımı ve kontrol grubuna göre değişimlerinin istatistiksel karşılaştırılması	34
Tablo 11. Gruplara göre serum kolinesteraz değer dağılımı ve kontrol grubuna göre değişimlerinin istatistiksel karşılaştırılması	35

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Diazinonun kimyasal yapısı	4
Şekil 2. ACh'in nörotransmitter olarak görevleri	7
Şekil 3. Kolinerjik nöronda asetilkolin sentezi ve salıverilmesi	8
Şekil 4. CAPE'nin kimyasal yapısı	21
Şekil 5. Serum amilaz değerlerinin gruplara göre dağılımı	31
Şekil 6: Serum lipaz değerlerinin gruplara göre dağılımı	32
Şekil 7. Serum ALP değerlerinin gruplara göre değişimi	33
Şekil 8. Serum GGT değerlerinin gruplara göre dağılımı	34
Şekil 9. Serum kolinesteraz değerlerinin gruplara göre dağılımı	35

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Kontrol grubu ratların pankreas dokusunun mikroskopik görüntüsü	36
Resim 2. Grup II ratların pankreas dokusunun mikroskopik görüntüsü	37
Resim 3. Grup III ratların pankreas dokusunun mikroskopik görüntüsü	38
Resim 4. Grup VI ratların pankreas dokusunun mikroskopik görüntüsü	39

1. GİRİŞ

Organofosfat zehirlenmeleri tarımsal üretim yapılan bölgelerde sağlık sektörü açısından önemli bir sorun oluşturmaktadır. Ülkemizdeki tarım ilacı kullanımını dünya tüketiminin % 1'idir (1). Tarımda kullanılan bu maddeler, zararlılarla mücadele etmenin yanında çevre kirliliğine de neden olmakta, sebze ve meyvede birikerek insan sağlığı için toksik etkiler gösterebilmektedir (2). Ülkemizin kırsal kesimlerinde görülen zehirlenme olgularında en sık rastlanılan etken organofosfatlardır.

Organofosfatlar etkilerini asetilkolinesteraz (AChE) enzimini inhibe ederek gösterirler. Bu zehirlenmelerde mortalitenin en önemli sebebi solunum kasları tutulumu ile gelişen solunum yetmezliğidir. Ciddi zehirlenme vakalarının yoğun bakım ünitelerinde yakın takibi gerekmektedir. Bu hastalarda gelişebilecek komplikasyonlar arasında merkezi sinir sistemi (MSS) hasarı, hepatotoksisite ve pankreatit yer almaktadır (3). Organofosfatlardan özellikle diazinonun pankreatit yaptığını gösteren birçok çalışma mevcuttur (3,4). Pankreas toksisitesi önemli olmakla birlikte tedavisi için özel bir uygulama henüz pratik kullanımda bulunmamaktadır.

Organofosfatlar, kolinerjik uyarı artışı ile pankreas kanallarındaki basıncın artmasına neden olmaktadır. Böylece oluşan oksidatif stres sonucu pankreatit meydana geldiği düşünülmektedir (4). Akut pankreatit, organofosfat zehirlenmesi nedeniyle mekanik ventilatör desteği gereken hastalarda gelişen ani ölümlerin sebebi olarak ortaya çıkabilir. Bu nedenle klinisyenler açısından, ölümlerle de sonuçlanabilen zehirlenme vakalarında gelişmesi olası pankreatiti zamanında tanımak önemlidir.

Antioksidan maddelerden E ve C vitaminlerinin organofosfatların pankreas, karaciğer, böbrek gibi organlarda sebep olduğu patolojilerin önlenmesinde faydalı olduğu gösterilmiştir (4). Kafeik asit fenetil ester (CAPE), bal arısının ürettiği propoliste bulunan flavonoid benzeri yapıda ve antiinflamatuvar, antioksidan, immün düzenleyici ve apoptozis düzenleyici etkileri çalışmalarla gösterilen bir bileşiktir (5,6,7). Doğal olarak yiyeceklerle alınabilen CAPE'nin, sık kullanılan organofosfatlardan diazinonun yol açtığı pankreas hasarını iyileştirmede olumlu etkisinin olup olmadığını araştırmayı hedefledik.

2. GENEL BİLGİLER

Ülkemizde, insektisidler pamuk ve meyve tarımında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. İnsektisid satışlarında en büyük oran % 40 ile organofosfatlara aittir. Diğer önemli tarım ilacı grubu herbisidler olup bunun % 37'si hububat tarımında kullanılmaktadır. Türkiye'de tarım ilacı kullanımı dünya tüketiminin % 1'i civarındadır (1).

2.1. Pestisidler

Tanım olarak, bitki ve hayvanlardaki herhangi bir zararlının önlenmesinde veya kontrolünde kullanılan kimyasal maddelerdir. Pestisidlerin etki ettikleri zararlılara göre sınıflandırılması Tablo 1'de görülmektedir.

Tablo 1. Etki türlerine göre pestisid tipleri.

<i>Pestisid Tipi</i>	<i>Etki Türü</i>
İnsektisid	Böcek öldürücü
Herbisid	Yabani ot öldürücü
Fungisid	Mantar öldürücü
Mollusid	Yumuşakça öldürücü
Bakterisid	Bakteri öldürücü
Nematisid	Nematod öldürücü
Rodentisid	Kemirgen öldürücü

Pestisidler, sıvı, gaz ve toz şeklinde bulunabildiğinden, tarımda ilaçlama uygulamalarında toz serpme, yakından püskürtme, dumanlama yöntemleriyle uygulanabilmektedir.

Tarımda kullanılan bu maddeler, zararlılarla mücadele etmenin yanında çevreye yayılarak, kirliliğe ve doğal hayatın bozulmasına yol açmakta, sebze ve meyvede birikerek insan sağlığı için toksik etkiler de gösterebilmektedir (2).

Pestisidlerle olan akut zehirlenmelerde daha çok kriminal olaylar söz konusudur. Maddenin intihar amaçlı veya yanlışlıkla organizmaya alınmasıyla klinik belirtiler oluşmaktadır. Pestisidlerin ikinci etkisi ise pestisid üretiminde ve uygulama alanında çalışanlarda görülen veya kontamine olmuş gıdalardaki kalıntıların az fakat sürekli bir

şekilde alınması ile ortaya çıkan kronik zehirlenmelerdir. Pestisidlerle olan zehirlenmelerdeki klinik özellikler, alınan maddenin yapısı, uygulama yöntemi ve kullanım sıklığı gibi çeşitli faktörlere bağlıdır.

2.2. Türkiye’de Tarımda Kullanılan İsektisidler

Türkiye’de kullanılan insektisidler başlıca üç gruba ayrılır:

- a- Asetilkolinesteraz enzim inhibitörleri,
- b- Organoklorlu böcek öldürücüler,
- c- Piretrin grubu.

Asetilkolinesteraz enzim inhibitörleri organofosfatlar ve karbamatlar olarak ikiye ayrılır. Karbamatlı insektisidler grubunda aldicarb (Temik®), carbofuran (Furadan®) ve carbosulfan (Marshal®) yer almaktadır. Organoklorlu insektisidlere örnek olarak endosulfan (Thiodan®, Korsulfan®, Hektionex®, Endol®) verilebilir. Piretrin grubunda cypermethrin (Imperator®), cyhalothrin (Karate®), deltametrin (Decis®) ve permethrin (Helisin®) bulunmaktadır (8).

Türkiye’de zehirlenmeye neden olan insektisidler içinde önemli bir yere sahip olan organofosfatlar, AChE enzim inhibitörleri grubunda yer almaktadır. Tarımda kullanılan organofosfat bileşikler etkinliği çok yüksek olan zehirli kimyasal maddelerdir. Organofosfatların değişik bölgelerine bağlanan sülfür ve fosfor grupları, organofosfatların AChE’ya bağlanma derecesini, hidrolizin zamanını, gücünü ve semptomların ortaya çıkma zamanını belirler.

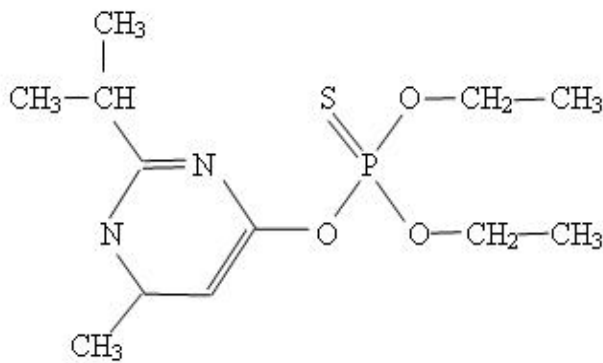
Organofosfatların etki süresi; alınma yoluna, alınan miktara, yağda çözünürlük özelliğine, hidroliz olma zamanına, kolinesterazın aktif bölgesine olan afinitesine, toksinin direkt etkili olup olmamasına ve aktif metabolite dönüşüp dönüşmemesine bağlıdır. Türkiye’de kullanılan organofosfatlı bileşikler Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2. Türkiye’de kullanılan organofosfatlar.

<i>Etken</i>	<i>Preparat</i>
Metil parathion	Folidol [®]
<i>Diazinon</i>	Bazinon [®] , Basudin [®]
Dichlorvos	DDVP [®] , Didifos [®] , Nogos [®]
Chlorpyrifos	Dursban [®] , Korban [®] , Agrosban [®] , Megaban [®]
Malathion	Hektion [®] , Malaton [®] , Malathion [®]
Bromophos	Bromo [®]

2.3. Diazinon

Renksiz ve kokusuz bir yapısı olan diazinon pestisid amaçlı olarak 1950’den beri kullanılmaktadır. Tarımda kullanılan formu koyu kahverengi-yeşil renkli sıvı haldedir. Suda kolay erimez ve yanıcı değildir. Kaynama noktası 83-84 °C’dir. Nötr ortamda stabil olan diazinon, asit ortamda hızla, alkali ortamda ise yavaş bir şekilde hidrolize olur. 120 °C’de bozular. Kimyasal yapısı “O, O - diethyl - O - (2 - isopropyl - 6 - methylpyrimidin - 4 - yl) - phosphorothioate” olan diazinonun moleküler ağırlığı 303.4 Daltondur. Kimyasal formülü C₁₂H₂₁N₂O₃PS’dir (Şekil 1).

**Şekil 1.** Diazinonun kimyasal yapısı.

Toksik dozun belirlenmesi için yapılan hayvan çalışmalarında; diazinon oral yolla verildiğinde, hayvanın türüne, cinsine ve uygulama sırasındaki bazı özelliklere göre değişen sonuçlar elde edilmiştir. İlacın saflık düzeyi, farklı rat ırkları ile yapılan çalışmalar (Sprague Dawley veya Wistar Albino) ve laboratuvar şartları gibi nedenlerle farklı LD₅₀ düzeyleri ortaya çıkabilmektedir.

2.3.1. Diazinon Metabolizması

Diazinon oral alımda gastrointestinal sistemden, temas ile deriden ve inhalasyonla akciğerden emilir. Ciltten emilim insanlarda zayıftır. Diazinon mikrozomal enzim sistemi ile okside olup kolinesterazı inhibe eden diazokson, hidroksidiazokson ve hidroksidiazinona dönüşür. Diazinon metabolitleri vücut dokularında depolanmayıp ağızdan alındıktan sonra % 59-95'lik kısmı ilk 24 saatte, % 95-98'lik kısmı ise yedi gün içinde atılmaktadır. Atılımı idrarla olmaktadır (9,10).

Metabolizmasında en önemli yol ester halkasının fosforilasyonu sonucu direkt ya da diazoksona çevrilerek bozulmasıdır. Karaciğer dışındaki metabolizması genellikle plazmada hidrolize olma şeklindedir. Böbrekle atılan ve gösterilebilen metabolitleri ise dietilfosforik asid ve deriveleridir.

2.3.2. Diazinon ve Diğer Organofosfatların Organizmadaki Klinik Etkileri

Diazinonun temel toksik etkisinin mekanizması, sinir kavşağındaki AChE inhibisyonudur. Yapılan bir çalışmada düşük doz diazinon uygulamasına bağlı nörotoksik semptomlar ve nöronlarda histopatolojik değişiklikler gözlenmediği, hiç sinir dejenerasyonu ile karşılaşmadığı, ancak yüksek dozlarda MSS'nin etkilendiği bildirilmiştir (11).

Altuntaş ve ark. ratlarda yaptıkları çalışmada, methidatyonun karaciğer hasarı yaptığını, lipid peroksidasyonunun bu hasarda rolü olabileceğini, vitamin C ve E kombinasyonunun methidatyona bağlı peroksidasyonu azalttığını bildirmişlerdir (12).

Asztalos ve ark. bakır sülfat, parakuat ve methidatyonun sazanlarda yaptığı doku hasarı ve stres etkisinin laktat dehidrogenaz (LDH), aspartat transaminaz (AST) ve glutamat dehidrogenaz (GGT) enzim aktivitelerini arttırdığını ve kan glukoz düzeyini

yükselttiğini göstermişlerdir (13). Fakat olasılıkla oksidatif stres artışı dışındaki mekanizmalar nedeniyle antioksidan tedavi ile iyileşme tam olarak sağlanamamıştır (14).

Organofosfatlı insektisidlere maruz kalan ratlarda yapılan bir çalışmada altı ayrı yaş grubunun beyinlerinde total kolinesteraz aktivitesi inhibisyonunun % 90 AChE'a ve % 10 bütirilkolinesteraza ait olduğu gösterilmiştir. Beyin AChE aktivitesinin yaşla paralel olarak arttığı saptanmıştır (15).

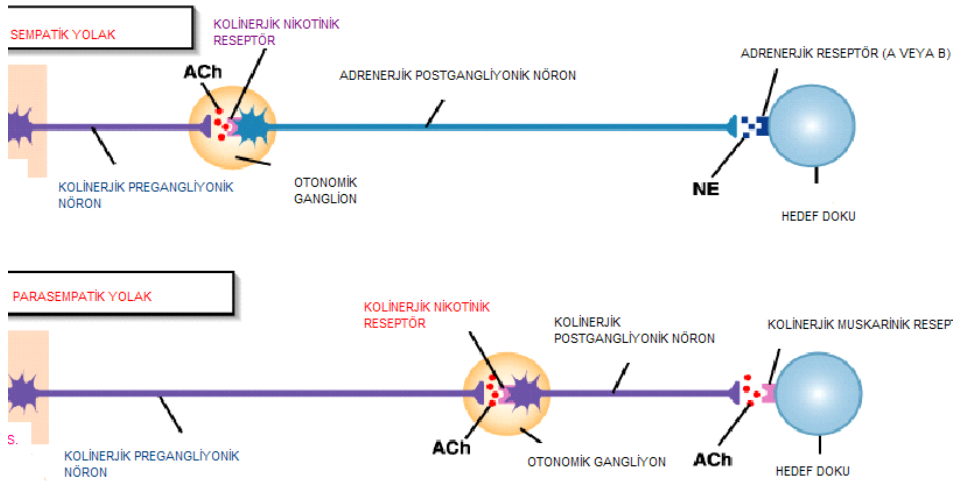
AChE inhibitörü organofosfatlardan fenthion ve paraoksonun intravenöz (IV) enjeksiyonundan birkaç saat sonra sıçanlarda iskelet kas nekrozu olduğu bildirilmiştir (16). Yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda diazinonun teratojenik ve mutajenik potansiyeli bulunmadığı bildirilmiştir (17,18).

2.4. Otonomik Sinir Sisteminde Asetilkolinin Yeri

Otonomik sinir sistemi, endokrin sistemle birlikte vücut fonksiyonlarının düzenlenmesi, koordinasyonu ve integrasyonunu sağlar. Endokrin sistemde uyarılar hedef organlara kan dolaşımına çeşitli miktarlarda verilen hormonlar aracılığıyla iletilir. Buna karşılık sinir sisteminde uyarılar sinir hücrelerinin aksonları üzerinden hızlı elektrik akımı şeklinde efektör hücrelere ulaştıktan sonra salınan nöromediyatör maddeler aracılığı ile iletilir (19).

Sinir sisteminde 50'den fazla kimyasal uyarıcı saptanmıştır. Norepinefrin, epinefrin, asetilkolin (ACh), dopamin, serotonin, histamin ve gama amino butirik asit gibi pek çok kimyasal uyarıcı mevcuttur. Bu kimyasal uyarıcıların her biri kendileri için özgün reseptörlere bağlanır. Kolinerjik ve adrenerjik nörotransmitterler otonomik sinir sisteminde kimyasal iletiyi sağlayan temel mediyatörlerdir (20).

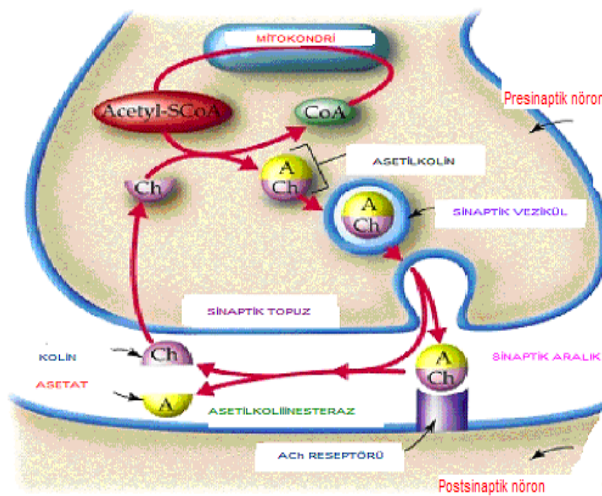
ACh'in iletiyi sağladığı nöron, kolinerjik nöron olarak adlandırılır. ACh hem sempatik hem de parasempatik sinirlerin gangliyonlarında iletiye aracılık eder. Aynı zamanda adrenal medullada nörotransmitter görevi yapar. Parasempatik sistemin postgangliyonik sinirleri ile efektör hücre arasındaki ileti de ACh tarafından sağlanır. Somatik sinir sisteminin sinir lifleri ile istemli kaslar arasındaki nöromusküler kavşakta ileti kolinerjiktir (19) (Şekil 2).



Şekil 2. ACh'in nörotransmitter olarak görevleri.

2.4.1. ACh Metabolizması

Kolinerjik nöronlarda uyarı 6 aşamada iletilir. Sentez, depolanma, salıverilme ve ACh'in reseptöre bağlanması ilk dört basamağı oluşturur. Beşinci aşama sinaptik aralıkta yani sinir uçları ile komşu sinir hücreleri veya efektör organlar üzerindeki reseptörler arasındaki boşlukta nörotransmitterin yıkımıdır. Altıncı basamak kolinin yeniden kullanılmak üzere geri alınmasıdır (Şekil 3).



Şekil 3. Kolinerjik nöronda asetilkolin sentezi ve salıverilmesi.

2.4.1.1. ACh Sentezi

Kolin hücre dışı sıvıdan kolinerjik nöronun sitoplazmasına, sodyumun da birlikte taşınmasından sorumlu olan bir taşıyıcı sistem aracılığıyla alınır. Bu taşıyıcı sistem hemikolinyum tarafından inhibe edilebilir. Nöron sitozolünde kolinasetiltransferaz kolinin ve asetilkoenzim A'nın birleşerek asetilkolini oluşturmasını sağlar.

2.4.1.2. ACh'in Veziküllerde Depolanması

Asetilkolin, proton akımına kenetli bir aktif transport mekanizması aracılığı ile vezikül içerisinde depolanır. Olgun veziküllerde ACh ile birlikte adenosin trifosfat ve proteoglikan da bulunur (20).

2.4.1.3. ACh Salıverilmesi

Voltaja duyarlı sodyum kanalları aracılığıyla oluşan aksiyon potansiyeli sinir uçlarına ulaştığında presinaptik hücre zarındaki voltaja duyarlı kalsiyum kanalları açılır ve hücre içi kalsiyum konsantrasyonunda artış olur. Bu artış sonucunda sinaptik veziküller hücre zarı ile birleşirler ve ACh sinaptik aralığa salıverilir. Bu salınım botulinim toksini ile bloke edilebilir. Karadul örümceğinin (*Latrodectus mactans*) zehiri ise veziküllerde depolanmış tüm asetilkolinin sinaptik aralığa dökülmesine neden olur (19).

2.4.1.4. Reseptörlere Bağlanma

Sinaptik veziküllerden salıverilen ACh sinaptik aralıkta hızla yayılarak hedef hücre üzerindeki reseptörlere bağlanır. ACh'in reseptöre bağlanması, hücre içinde bir biyolojik yanıtı yol açar. Bu yanıt postgangliyonik sinirden bir uyarı başlatılması ya da efektör hücrenin ikincil mesajcılarının yardımı ile uyarılması şeklinde olur.

2.4.1.5. ACh Yıkımı

Postsinaptik hücredeki uyarı hızla sonlanır. Bu olayın nedeni sinaptik aralıkta AChE'nin ACh'i kolin ve asetata parçalamasıdır.

2.4.1.6. Kolinin Yeniden Kullanımı

Kolin, sodyuma bağımlı yüksek afiniteli bir sistem tarafından tekrar nörona alınır ve asetillenerek yeniden ACh haline gelir. Bir sonraki aksiyon potansiyeli tarafından uyarılıp sinaptik aralığa salıverilinceye kadar da depolanır (19,20).

2.5. Organofosfat Zehirlenmelerinin Patofizyolojisi

Kolinesterazların, AChE ve psödokolinesteraz (PChE) olmak üzere iki tipi vardır. AChE akciğer, dalak, sinir sistemi, iskelet kasları ve eritrosit membranında bulunur. PChE ise karaciğerde sentezlenip plazmaya salınır. Ayrıca beyin, kalp ve pankreasta da bulunmaktadır. Fonksiyonu tam olarak bilinmemekle birlikte, plazmaya çıkan serbest ACh'in parçalanmasında rol oynadığı düşünülmektedir (21). AChE iki bağlayıcı bölgeye sahiptir. Bir bölge anyonik olup ACh'in katyonik kuarterner azotunu bağlamakta, serin ve histidin imidazolünden oluşan diğer bölge ise enzim reaksiyonu sırasında salınan protonu tutmaktadır. Bu reaksiyon geri dönüşümlü ve çok yavaş olarak meydana gelmektedir.

Kendi özel yapısı ile AChE'a aktif bölgesinden bağlanan organofosfat, enzimi serin bölgesinden fosforillemiş olur. Bu yapı oldukça sağlamdır. Fosforile olmuş enzim günlerce ve haftalarca yeniden aktif hale geçemez ve AChE inaktif durumda kalır. ACh fosforillenince 24-48 saat içinde alkil grubu konjugatlarını kaybeder. Bu durum '*aging*' olarak adlandırılır ve artık enzim spontan olarak hidrolize olamaz.

2.6. Organofosfat Zehirlenmelerinde Klinik

Bu zehirlenmelerde klinik tablodan sorumlu kolinerjik etkiler, muskarinik ve nikotinik reseptörlerin dağılımına ve aralarındaki dengeye bağlı olarak meydana gelmektedir. Hastalar, genellikle bradikardik, hipotansif ve miyotiktir. Miyozis değişmez bulgudur. Miyozis; pilokarpin, bromid ve fenotiazin zehirlenmesi gibi durumlarda da görülebileceği için ayırıcı tanısının yapılması gerekir. Lakrimal, bronşiyal ve ter salgıları artmıştır. Kolinerjik deşarja bağlı bu bulgular diyare, idrar çıkarma, miyozis, bronkospazm, emezis, lakrimasyon ve salivasyondur (Tablo 3).

Tablo 3. Organofosfat zehirlenmelerinde klinik tablo.

<i>Etki Türü</i>	<i>Klinik Belirti</i>
Muskarinik Etkiler	1. Bronkospazm,
	2. Bronş sekresyonlarda artış
	3. Tükürük artışı
	4. Göz yaşarması
	5. İdrar çıkarma
	6. Dışkılama
Nikotinik Etkiler	1. Kas fasikülasyonları
	2. Kuvvetsizlik
	3. Paralizi
	4. Ataksi

Kronik etkiler, ciddi zehirlenmelerden 2-6 hafta sonra ortaya çıkan tek başına polinöropati semptomları veya eşlik eden piramidal bulgulardan oluşur. Elektromiyografide denervasyon bulguları görülebilir ve diğer nörolojik hastalıklar ekarte edilirse organofosfat zehirlenmelerine bağlı gecikmiş nöropati sendromundan söz edilebilir (Tablo 4).

Tablo 4. Organofosfat zehirlenmelerinde nörotoksisite.

<i>Etki Türü</i>	<i>Klinik Belirtiler</i>
Ara Sendrom (Akut zehirlenmeden 1-4 gün sonra başlar)	1. Motor kranial sinirlerde zayıflık
	2. Tendon reflekslerinde azalma
	3. AChE inhibisyonu
	4. Akut respiratuar paralizi
	5. Proksimal ekstremitte kaslarında zayıflık
	6. Boyun fleksör kaslarında zayıflık
Gecikmiş MSS Belirtileri (Nöropati)	1. Ekstremitte kaslarında atrofi
	2. Flask paralizi
	3. Ataksi
	4. Spastisite
	5. Solunum kaslarında zayıflık

2.6.1. Akut Pankreatit

Organofosfatlardan en sık diazinon, mevinphos, coumaphos ve diphonate pankreatite neden olmaktadır (22). Zehirlenmenin klinik tablosunun karışık olması nedeniyle pankreatit tanısı gözden kaçabilmektedir. Akut pankreatitin görülme sıklığı yaklaşık % 12 olarak bildirilmiştir (4). Normal pankreasta proteolitik enzimler inaktif olarak salınmakta, proenzimler ayrı olarak organellerde sentezlendikten sonra depo edilmektedir. Enzimlerin prematür aktivasyona başlamaması için bunları nötralize etmek amacıyla proteaz inhibitörleri salgılanmaktadır.

Pankreas çeşitli toksik maddelere ve ilaçlara göreceli olarak duyarlı bir organdır. Yapılan çalışmalarda bu maddelerin pankreas üzerine toksik etkilerini sıklıkla oksidatif stres aracılığıyla yaptıkları gösterilmiştir (22). Bu maddelere örnek olarak streptozotosin ve alloksan verilebilir (23). Bu maddeler önceleri ilaç olarak pankreas kanserinin tedavisi için kullanılmış fakat sonradan oksidatif stres aracılığıyla başta beta hücreleri olmak üzere pankreası tahrip ettikleri fark edilmiştir. Antioksidan savunma sistemlerinin diğer hücrelere göre göreceli olarak daha zayıf olması nedeniyle, pankreas beta hücreleri daha fazla hasarlanmaktadır (24).

Pankreatik doku PChE aktivitesine sahiptir. Organofosfat zehirlenmelerinde PChE'nin azalması ile ekzokrin salgılarda ve pankreas intraduktal basıncında artma olmaktadır (25,26).

Organofosfat zehirlenmesinde pankreatit oluşumunu inceleyen Dressel ve ark. diazinon verdikleri köpeklerde pankreas intraduktal basıncındaki artmanın 25 mg/kg dozda başlayıp doz bağımlı olarak arttığını göstermiştir (25). Dressel ve ark. yaptıkları diğer çalışmada diazinon zehirlenmesinde pankreatik sindirim enzimlerinin interstisyel alana salınmasıyla ilgili olarak iki görüş öne sürmüştür. İlk görüş intraduktal basınç artışı sonucu asiner hücrelerdeki sıkı bağlantı noktalarında oluşan anatomik ayrılmalar sonucunda sindirim enzimlerinin kanal lümeninden interstisyel alana sızmasıdır. İkincisi ise sindirim enzimlerini asiner hücrelerden interstisyel alana taşıyan vakuoler transport mekanizmasıdır (26).

Akut nekrotizan pankreatitte pankreas enzimleri hücre mebranlarına hasar vererek proteolizis, ödem, interstisyel hemoraji, vasküler hasar, koagülasyon nekrozu ve yağ nekrozuna yol açmaktadır. Hücre hasarına cevaben aktive olan bradikinin ve histamin gibi vazoaaktif maddeler vazodilatasyon, vasküler geçirgenlik artışı ve ödeme neden olmaktadır.

2.6.1.1. Akut Pankreatitte Patofizyoloji

Akut pankreatitteki patofizyolojik süreç pankreasta aktive olan proteolitik ve lipolitik enzimler tarafından dokunun kendine hasar vermesiyle (otodigesyon) başlamaktadır. Normal pankreas dokusunda proteolitik enzimler inaktif olarak salgılanır. Prematür aktivasyonu önlemek için proenzimler ayrı organellerde sentez ve depo edilir. Pankreastan prematür aktivasyona uğramış enzimleri nötralize etmek için proteaz inhibitörleri de salgılanır.

Patofizyolojik süreci başlatan ilk olay proteolitik enzimleri aktive eden tripsinin aktive olmasıdır. Tripsinin Kallikrein-Kinin sistemini aktive etmesi ile vazodilatasyon, vasküler permeabilite artışı ve lökosit aktivasyonu meydana gelir. Tripsin tarafından aktive edilen elastaz, damarların elastik fibrillerini çözerek hemorajiye neden olur. Lipolitik bir enzim olan Fosfolipaz A ortamda safra asitleri varsa pankreasta parankimal nekroza yol açar. Fosfolipaz A ve diğer toksik hücre membran fosfolipidleri dolaşıma karışarak akut sıkıntılı solunum sıkıntısı sendromu gibi durumlara neden olur. Safra asitlerinin varlığında aktive olan lipaz otodigesyon sürecine katılarak yağ nekrozuna neden olur.

Pankreas içinde tripsinin hangi sebeple aktive olduğunu açıklamaya yönelik ortaya atılan teoriler;

1. Obstrüksiyon-sekresyon,
2. Ortak kanal veya safranın pankreas kanalına reflüsü,
3. Duodenum içeriğinin pankreas kanalına reflüsü,
4. Proteolitik enzimlerin intrasellüler aktivasyonu olarak sıralanabilir (27).

2.6.1.2. Akut Pankreatit Semptomları

Klinik bulgular pankreatitin şiddeti ile orantılıdır. En sık görülen bulgu epigastrik ağrıdır. Ağrı şiddetli ve sürekli. Sıklıkla sırta vurur ve kuşak şeklinde olabilir. Bulantı ve sürekli kusma eşlik eder. Kronik zeminde akut atak da aynı belirtileri gösterebilir. Ateş hafif yüksektir. Eğer ateş 38 °C'den yüksek ise infektif komplikasyonlar düşünülür. Dehidratasyon bulguları, hipotansiyon ve taşikardi tabloya eklenebilir. Sarılık % 20-25 olguda görülen klinik bir bulgudur. Ağrı özellikle epigastriumda belirgin olmak üzere yaygın da olabilir. Akut pankreatitte genelde kitle palpe edilmez. Eğer kitle varsa flegmon, psödokist veya abseden şüphe etmek gerekir. Barsak sesleri azalmıştır veya hiç duyulamaz. Fizik muayenede önemli iki belirti mevcuttur;

1. *Grey Turner Belirtisi*; retroperitoneal kanamaya veya diseksiyona bağlı olarak karın yan bölgesinde ekimoz varlığı,

2. *Cullen Belirtisi*; retroperitoneal kanamaya bağlı olarak periumbilikal bölgede ekimoz varlığıdır.

Yoğun bakım ünitesinde tedavi edilen organofosfat zehirlenmesi olgularında hafif formdan başlayıp hemorajik pankreatite kadar değişen pankreatit tablosu görülebilir (28).

2.6.1.3. Akut Pankreatit Laboratuvar Bulguları

Kanda lökositöz varlığı süperatif komplikasyonları ve ciddi nekrozu düşündürür. Hemokonsantrasyona bağlı olarak hematokrit değeri yüksek bulunabilir. Bilirubin genellikle normal seyredir. Bilier pankreatitte ve pankreas başında ödeme bağlı olarak bilirubin yüksek bulunabilir, çoğunlukla düzeyi 2 mg/dL'yi aşmaz.

Pankreatit tanısı genellikle serum amilaz değerinin üç kat veya daha fazla yükselmesiyle konur. Ancak enfarktüs, mide ve bağırsak perforasyonu gibi durumlarda da amilaz artışı görülebilir. Normal serum amilaz değerleri 28-100 U/L arasındadır. Serum amilaz düzeyi tek başına bir anlam ifade etmediğinden pankreas kaynaklı olmayan hiperamilazeminin ayırıcı tanısı yapılmalıdır. Tükrük bezlerinden

salınan amilaz ile karışmaması için pankreatik amilaz bakılması daha spesifiktir. Bununla birlikte serum amilaz düzeyi ile pankreatitin şiddeti arasında ilişki yoktur.

İdrar amilaz klirensinin >5000 IU/24 saat olması veya amilaz/kreatinin klirens oranının 5'ten büyük olması pankreatit tanısı koymada güvenilirdir. Serum lipaz değerindeki amilaza paralel yükselme olması tanı koymada daha spesifiktir. Pankreatit devam ederken serum amilazı 48-72 saatte azalmakta, lipaz düzeyleri 7-14 gün daha yüksek seyretmektedir (29).

2.6.1.4. Akut Pankreatitte Radyolojik Görüntüleme Yöntemleri

Radyolojik görüntüleme yöntemleri pankreatitin kesin tanısının konmasında önemli bir yer tutar. Direkt akciğer grafilerinde, özellikle solda plevral effüzyon görünümü, direkt karın grafilerinde pankreatik bölgede kalsifikasyon görünümü, safra kesesi ve yollarında radyopak taşlar olması pankreatit lehinedir. Karnın genellikle sol tarafında olan, lokal ileusa ikincil ortaya çıkan 'sentinel loop' ve psoas gölgesinin silinmiş olması (retroperitoneal pankreatik nekroz) pankreatitin radyolojik görünümülerindendir. Ayrıca transvers kolonun inflame pankreasa komşu bölgesindeki spazmın, kolon gazında kesintiye yol açtığını gösteren 'cut-off bulgusu' ve pankreasa komşu bölgede duodenal ve jejunal ileusa bağlı ters üç bulgusunun varlığı da pankreatit lehinedir (27).

Pankreatit tanısı koymak için hastaya ultrasonografi yapılması gereklidir. Özellikle bilier pankreatit tanısında yardımcıdır. Ultrasonografi safra taşlarını ve safra yollarında dilatasyonu göstermektedir. Ayrıca ödemli pankreası, peripankreatik sıvı kolleksiyonunu, asiti ve psödokistleri görüntülemek mümkündür. Pankreatik kolleksiyonlardan biyopsi için örnek alınabilir.

Bu biyopsilerin histopatolojik incelemesi yapılmalıdır. İnterstisyel (ödematöz) pankreatit tablosunda tedavi ile tam iyileşme var iken ciddi seyreden akut pankreatitin prognozu kötüdür. Bu durumda ortamdaki sindirim enzimleri ile likefaksiyon nekrozu hızlı bir şekilde gelişmiştir.

Akut pankreatit tanısı konup 2-3 günde düzelmeyen bütün hastalara mutlaka bilgisayarlı tomografi çekilmelidir. Tomografide pankreas normal veya ödemli

olabilir. Flegmon, peripankreatik sıvı kolleksiyonu, nekroz, abse ve inflamasyonun yayılımı görüntülenebilir. Kontrastlı bilgisayarlı tomografide pankreasın perfüzyon ve nekrozu daha iyi belirlenebilir. Bilgisayarlı tomografi anatomik olarak en güvenilir görüntüleme yöntemidir.

Bir başka görüntüleme yöntemi Endoskopik Retrograt Kolanjio Pankreato Grafidir. Akut pankreatitli hastalara düşük morbidite ve mortalite ile erken dönemde uygulanabilir. Bilier pankreatit tedavisinde önemlidir.

2.6.2. Organofosfat Zehirlenmelerinde Akut Pankreatit Tablosu

Pankreatik dokuda PChE aktivitesi bulunduğundan, zehirlenme durumlarında bu enzimin aktivitesindeki azalmaya bağlı olarak, pankreasın ekzokrin salgılarında ve intraduktal basıncında artma olmaktadır. Bu intraduktal basınç artışının serum PChE azalması ile paralellik gösterdiği bildirilmiştir (25). Akut nekrotizan pankreatite kadar gidebilen klinik tablodan; pankreas enzimlerinin hücre membranlarına hasar vermesi, proteoliz olması, ödem, hemoraji, vasküler hasar, koagülasyon nekrozu ve sonunda yağ nekrozu oluşması sorumludur.

Değişik diazinon dozları ile yapılan bir çalışmada, serum amilaz düzeyleri 25 mg/kg ile kıyaslandığında 50, 100 ve 200 mg/kg dozlarda doza bağımlı olarak anlamlı bir artış göstermiştir. Serum lipaz düzeyleri ise 200 mg/kg dozda anlamlı yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada pankreas dokusunda histolojik değişiklikler 200 mg/kg dozda görülmüş, 100 mg/kg ve altındaki dozlarda izlenmemiştir (3).

Organofosfat zehirlenmesi nedeniyle izlenen 159 hastada pankreatit gelişimi retrospektif olarak araştırılmıştır. Serum amilaz, pankreatik amilaz, tükrük amilazı, lipaz ve kolinesteraz seviyelerine bakılmış ve % 36 olguda hiperamilazemi (amilaz> 360 U/L) mevcut iken, amilaz yüksekliği olan 28 olgunun 9'una lipaz yüksekliğinin (lipaz>380 U/L) eşlik ettiği görülmüştür. Hiperamilazemi olan hastalardaki lipaz düzeyinin erken tanı koymada önemli olduğu düşünülmüştür (30).

2.7. Organofosfat Zehirlenmelerinde Tedavi

Ülkemizde hastaneye başvuran zehirlenme olguları içerisinde organofosfat zehirlenmeleri önemli bir yer tutmaktadır. Çetin ve ark. acil servise başvuran toplam 100 zehirlenme vakasından 14'ünün çeşitli organofosfat maddelerle olduğunu bildirmiştir (31). Bu çalışmada hastaneye yatış oranı % 87 olarak bulunmuştur. Yapılan bir diğer çalışmada ise bu oran % 51-64 arasında değişmektedir (32). Pankreatit görülme oranı ise acil servise başvuran hastalar içinde % 12-13'tür (33).

Organofosfat ile olan zehirlenme vakalarının mortalite ve morbidite oranı diğer zehirlenmelere oranla yüksek olduğu için bu olguların erken tanı ve tedavisi önem kazanmaktadır. Uygun tedavi için bu hastaların tamamının yoğun bakım ünitelerinde takip edilmesi gerekmektedir. Organofosfat zehirlenmelerindeki mortalite oranı % 14 olarak bildirilmiştir (46).

Tedavide ilk olarak organofosfat ile temasın mümkün olan en kısa sürede önlenmesi gerekir. Hasta ilacın bulunduğu ortamdan uzaklaştırılmalı ve tüm giysileri çıkartılmalıdır. Ciltten organofosfat emilimini önlemek için sabun ve bol su ile hasta silinmelidir. Tüm bu müdahaleler sırasında, sağlık personelinin mutlaka kendini ilaçtan korumak için maske ve eldiven kullanması gereklidir. Acil servis koşullarında yapılan ilk müdahale hayat kurtarıcı olabilir. Nazogastrik sondadan veya bilinç durumu uygun olan hastalarda ağızdan aktif kömür verilir. İlk 30 dakika içerisinde midenin yıkanması gerekir. Temel yaşam desteği algoritmasına uygun bir şekilde hasta değerlendirilmelidir. Öncelikle yeterli solunum desteği vermek ve artan muskarinik etkileri geri çevirmeye yoğun gayret etmek gerekmektedir. Erken ölüm sebepleri solunum yetmezliği, hipoksi, koma, nöbet, bronkospazm, bradikardi ve hipotansiyon olarak bildirilmiştir (35).

Tedavide kullanılan atropin, artmış sekresyonlar, bradikardi ve sindirim sistemi belirtilerinde kullanılmaktadır. Etkisi 3-4 dakika (dk) içinde başlar ve 13-16 dk sonra en yüksek düzeye ulaşır. Atropin testi, organofosfat intoksikasyonu kliniğine benzeyen durumu olan şüpheli vakalarda yapılabilir. Test için çocukta 0,01 mg/kg, erişkinde 1 mg dozda atropin IV veya intramüsküler verilir. 5 dk içinde kalp hızı aniden artarsa (20-25 atım/dk) ve yüzde kızarıklık olursa bu organofosfat

zehirlenmesi lehinedir. Atropin ilk dozdan sonra 3-5 dk'lık aralıklarla artan dozlarda tekrarlanır. Atropinizasyon belirtilerini takip etmek için pupil büyüklüğü, solunum, nabız, kan basıncı ve terlemeye bakılır. Bronkospazm ve sekresyonlarda artış mevcut ise atropin idamesine geçilir (35). Hastanın klinik değerlendirmesine göre atropin tedavisine devam edilir.

Organofosfat zehirlenmelerinde tedavide kullanılan asıl ajanlar oksim grubu maddelerdir. Bu gruptan en sık kullanılan pralidoksimdir (PAM). Serbest organofosfat moleküllerini bağlayarak ve AChE'ı tekrar etkin hale getirerek etki gösterirler. Bu yüzden oksim grubu ilaçlara *asetilkolinesteraz yenileyicileri* ya da *reaktivatörleri* denilmektedir. Organofosfatlar AChE'in aktif bölümündeki serin aminoasitine bir kovalen fosfat bağı ile bağlanarak baskılanma yaparlar. Bu durumda AChE'in yeniden etkili olabilmesi için ya vücutta tekrar üretilmesine ya da oksim türü maddeler kullanılmasına gereksinim vardır. Oksim grubu maddelerin kullanımı ile organizmadaki AChE yeniden etkin hale getirilmektedir. Ancak organofosfat alımından 24-48 saat sonra AChE + Organofosfat kompleksinin bağ yapısı değişmekte, oksim grubu maddeler artık bu bağı ayıramamaktadır. Buna '*aging*' denmektedir.

PAM nöromusküler kavşakta etki gösterdiğinden muskarinik belirtiler üzerinde etkisi yoktur ve kan beyin bariyerini geçemediği için MSS üzerinde de etkisi görülmez.

Tedavi için yetişkinlerde IV serum fizyolojik içinde 1-2 gr PAM uygulanır. Hızlı infüzyon şeklinde uygulanırsa AChE'ı baskılayarak kolinerjik etkilere, solunum depresyonuna yol açabilir. Çocuk hastalarda 20-40 mg/kg dozda 30 dk'dan daha uzun sürede IV verilir. Bu yükleme dozundan sonra sürekli infüzyon tedavisine geçilir. Erişkinde 250-500 mg/saat, çocukta 10-20 mg/kg/saat infüzyon hızında verilir (36). Çocuklarda PAM dağılım hacmi ve plazma klirensi farklılık göstermektedir.

PAM uygulamasının infüzyon şeklinde devamlı verilmesinin daha etkin olduğu kabul edilmektedir. PAM tedavisinde, sürekli infüzyon ve aralıklı bolus uygulamalarının karşılaştırıldığı bir çalışmada, IV PAM verilmesinden 1,5-2 saat sonra serum seviyesinin 4 µgr/mL'den az olduğu görülmüş ve sürekli infüzyonun

daha etkili olduğu belirtilmiştir (37). Nöbet gelişmesi durumunda benzodiazepinler özellikle diazepam tercih edilmelidir (35). Pankreatit, hepatit veya solunum yetmezliği durumlarında nedene yönelik destek tedavisi verilmelidir.

Atropin ve PAM tedavide sinerjistik etki göstererek AChE inhibisyonuna bağlı semptomları ortadan kaldırır ve atropin ihtiyacını azaltır. Organofosfat zehirlenmesi nedeniyle takip edilen 2 gruba ayrılmış toplam 30 hastaya atropin ve atropin + PAM tedavisi verilmiş, yoğun bakımda kalış ve mekanik ventilasyon sürelerinde gruplar arasında anlamlı fark bulunmadığı bildirilmiştir (38).

2.8. Antioksidanlar

Başlıca enzimatik antioksidan sistemler; glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), mitokondrial sitokrom oksidaz, glutatyon-S-transferaz, glutatyon redüktaz ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD)'dır (39).

Eritrositlerdeki en kuvvetli antioksidan olan GSH-Px, membran lipidlerini ve hemoglobini lipid peroksidasyonuna karşı korur (40). E vitamini yetersiz olduğu zaman membranın peroksidasyona karşı korunmasını sağlar. Selenyum bu enzimin integral bir parçası olduğu için selenyum eksikliğinde GSH-Px yetersizliği görülebilir (41,42). GSH-Px aktivitesindeki azalma hidrojen peroksitin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar (43).

Yapısında 4 tane hem grubu bulunan CAT bir hemoproteindir. Pankreatit, hemolitik hastalık ve bazı karaciğer hastalıklarında yükselmiş katalaz aktivitesinin saptanmasının diagnostik önemi vardır (44,45).

Süperoksit dismutazın esas fonksiyonu ise oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalinin lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır. SOD, fagosite edilmiş bakterilerin intrasellüler öldürülmesine rol oynar (46).

G6PD, indirekt yolla antioksidan aktivite gösteren bir enzimdir. G6PD enziminin eksikliğinde oksidan ajanların detoksifiye edilememesi sonucu hemolitik anemi oluşur (47).

Enzimatik antioksidanlardan mitokondrial sitokrom oksidaz, elektronlanmış oksijen moleküllerini kendi aktif merkezinde sıkıca tutarak elektronların ortama sızmasını engeller. Böylece ortamdaki diğer moleküllerin oksidasyona uğramasını önleyerek etkinlik gösterir (48). Glutasyon redüktaz ise indirgenmiş glutasyon kullanan antioksidan enzimlerin ihtiyacını karşılayarak indirekt yolla etki gösterir (49). Glutasyon-S-Transferaz karaciğerde sitokrom p-450 enzim sistemi ile detoksifikasyona katkıda bulunur (50).

Enzimatik olmayan antioksidanlardan E vitaminini lipid peroksidasyonuna karşı ilk sıradaki korunma mekanizmasını oluşturur. Membranları geçebildiği için mitokondri membranında oksidatif stresin mitokondri dışına çıkmadan önlenmesinde önemlidir (4). Zincir kırıcı antioksidan olarak fonksiyon görür (51).

C vitamini organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici ajan olarak görev alır. Kollajen sentezinde lizin ve prolinin hidroksilasyonu için gereklidir. Demirin emiliminde enzimatik olmayan bir yol ile indirgeyici rol oynar. İmmünitede ve yara iyileşmesinde gereklidir (52). C vitamini, plazmada oksidan ajanlara karşı ilk antioksidan savunma hattını oluşturur. Düşük dansiteli lipoproteinli kolesterolün oksidasyonunu önleyerek ateroskleroza karşı korunmada yardımcı olur (53).

A vitamininin metabolik öncüsü olan beta karoten, oksidatif nedenlerle oluşan hücre yıkımının tamirinde önemli rol oynayan bir vitamindir. Bazı epidemiyolojik çalışmalarda ateroskleroz ve kanser sıklığının uygun miktarda beta karoten ve diğer karotenoidleri alan kişilerde daha düşük olduğu saptanmıştır (54).

Bir diğer enzimatik olmayan antioksidan olan melatonin pineal bezden salgılanan ve tümör oluşumunun sınırlandırılması, immün sistemin düzenlenmesi, reproduktif fonksiyonların kontrolü gibi etkilere sahip bir hormondur (55-57). Jaworek ve ark. melatonin ve onun prekürsörü olan L-triptofanın, pankreası iskemik – reperfüzyon hasarının zararlı etkisinden koruduğunu, akut pankreatite karşı koruyuculukta olumlu yöndeki bu etkisinin antioksidan enzimleri aktive etme yeteneği yoluyla olduğunu göstermiştir (58).

Glutasyon karaciğerde sentezlenen eritrositleri, lökositleri ve göz lensini oksidatif strese karşı korumada hayati önem taşır (39,59). Ayrıca proteinlerdeki '-SH' gruplarını indirgenmiş halde tutarak okside olmalarını engeller. Böylece fonksiyonel protein ve enzimlerin inaktivasyonunu önler. Diğer enzimatik olmayan antioksidanlara örnek olarak albumin, koenzim Q, sistein, bilirubin, ürat, taurin, piruvat ve laktoferrin verilebilir.

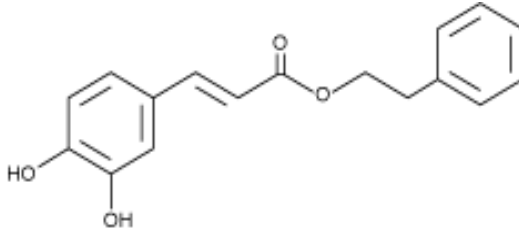
2.9. Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE)

Son yıllarda bal ve propolis gibi doğal arı ürünlerine yönelik artan bir ilgi söz konusudur. Arı kovanlarının hasarlanmış ve çatlak kısımlarının onarılmasında, giriş deliklerinin daraltılmasında, kovana giren yabancı maddeler, mikroorganizmalar ve böceklerin mumlanarak etkisiz hale getirilmesinde propolis kullanılmaktadır. Propoliste yüz çeşide yakın bileşen vardır ve bu içerik arıların bitkilerden topladığı maddelere göre değişmektedir. CAPE, bal arısının ürettiği propolisten elde edilen flavonoid benzeri yapıda bir bileşiktir (60). CAPE'nin antioksidan, antiinflamatuvar, antiviral ve antikanserojen pek çok etkisi bulunan kimyasal bir maddedir (5-7,61,62).

Son yıllarda önemi anlaşıldıkça üzerinde daha çok çalışma yapılmaya başlanmıştır. İnsan vücudunun doğal endojen antioksidan savunma sistemi, reaktif oksijen türlerinin düzeylerini ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için çalışmaktadır. İnsan vücudundaki normal hücrelere karşı bilinen hiçbir zararlı etkisi bulunmamaktadır (5). Yapılan hayvan çalışmalarında CAPE, intraperitoneal (IP) olarak uygulandığı zaman yeterli kan konsantrasyonuna ulaşmaktadır (6). 10 µmol/kg konsantrasyonda ksantin-ksantin oksidaz sistemini ve reaktif serbest oksijen radikali oluşumunu inhibe etmektedir (5). CAPE, kafeik asit ve fenetil alkol üzerinden asit ile esterifikasyon yöntemiyle kimyasal olarak da üretilmektedir (63).

2.9.1. CAPE'nin Yapısı ve Kimyasal Özellikleri

Antioksidan özelliğini zincirinde bulunan iki hidroksil grubuyla sağlamaktadır (Şekil 4). Halkalarından bir tanesinde molekülün hemen hemen bütün kimyasal özelliklerini gösteren ve fonksiyonel olan iki '-OH' grubu vardır.



Şekil 4. CAPE'nin kimyasal yapısı

Hidroksil grupları, aktif bir şekilde elektron alıp vererek oksitleyici ve indirgeyici özellik gösterir. Aromatik ve alifatik yapıdaki karbon grupları çok uzun olduğu için aynı zamanda lipofilik özelliktedir (60). Böylece molekülün kolayca hücre membranından geçmesi mümkün olmaktadır.

2.9.2. CAPE'nin Fonksiyonel Özellikleri

CAPE'nin antiinflamatuvar etkinliği ratlarda hidrokortizon ve diklofenak ile eşdeğer bulunmuştur (6). Vücutta, özellikle iskemi esnasında, adenosin trifosfattan hipoksantin oluşur ve ardından ksantine indirgenir. İskemi esnasında çokça sentezlenen ksantin ise reperfüzyonla ortama oksijen sunulması ile ksantin oksidazın katalizlediği bir reaksiyonla ürik aside çevrilir. Bu reaksiyonla ortaya çıkan süperoksit anyonu nedeniyle hücre hasarı oluşur. Ksantin oksidaz inhibitörleri ve özellikle CAPE ile yapılan çalışmalar, iskemi-reperfüzyon hasarındaki antioksidan özelliklerini göstermiştir (64). İskemi-reperfüzyon hasarı oluşturulan rat böbreklerinde CAPE'nin antiinflamatuvar etkinliği araştırılan bir çalışmada ise nötrofil kümelenmesini azalttığı bulunmuştur (65). Diyabetik ratların kalp hücrelerinde uzun süreli alımda CAPE'nin antioksidan etki ile olumlu özellikleri gösterilmiştir (66).

İnsan kolon ve prostat kanseri hücre kültürlerindeki çalışmalarda CAPE'nin apoptozisi uyardığı gösterilmiştir (67,68). Ratlarda epidermal hücre kültürlerinde malign dönüşüm uyarılarak CAPE'nin apoptozis üzerindeki etkisi araştırılmış; CAPE'nin apoptozisi uyardığı ve malign dönüşüme uğrayan hücreleri saf dışı bıraktığı gösterilmiştir (69).

Nükleer faktör kappa beta (NF- κ β), gen mutajen ailesine bağlı bir transkripsiyon faktörüdür. İmmün sistem, inflamatuvar yolak ve apoptoziste önemli rolü vardır (70). NF- κ β'nin regülasyonunda bozulma, graft versus host hastalığı, toksik şok, kanser ve

akut inflamatuvar hastalıklar gibi pek çok patolojide rol oynar. Reaktif oksijen radikalleri NF- κ B için ikincil habercilerdir. CAPE özgül olarak NF- κ B'yı ve oksijen radikallerini inhibe ederek inflamatuvar yolağın işlemlerini önlemektedir.

Yılmaz ve ark., diyabetik ratlarda karaciğer malondialdehit, SOD ve CAT aktivitelerine baktıkları çalışmalarında, diyabetik ratların karaciğer malondialdehit seviyesinin kontrol grubuna göre arttığını, CAPE tedavisi alan grupta ise karaciğer CAT ve SOD aktivitelerinin azaldığını bildirmişlerdir (5). CAPE'nin tirozin kinaz, siklooksijenaz ve lipooksijenaz aktivitesini baskıladığı ve bu şekilde lipid peroksidasyonunu engellediği gösterilmiştir (5).

2.10. Çalışmanın Literatür İçindeki Yeri

Akut pankreatit, subklinik dozda organofosfat alanlarda diğer zehirlenme bulguları olmaksızın görülebilir. Yoğun bakım ünitelerinde, genel durumu kötü hastaların bakım önceliğinin pulmoner ve kardiyovasküler sisteme verilmesi nedeniyle pankreatit tanısı gözden kaçabilmektedir. Bu zehirlenmelerde akut pankreatitin görülme sıklığı yaklaşık % 12 olarak bildirilmektedir (33). Bu nedenle organofosfat zehirlenmelerinde gelişebilecek pankreatit tablosunun erken tanınması ve ona yönelik tedavi planının erken uygulanması mortaliteyi azaltacaktır. Organofosfat zehirlenmesi ve tedavisi üzerine yayınlanan literatürlerin önemli bir kısmının Türkiye'den çıkmasının nedeni ülkemizde bu zehirlenmenin yaygın olarak görülen önemli bir klinik tablo olmasındandır.

Günümüzde organofosfatlar pestisidlerin en masumları olarak kabul edilmektedir. Tarımda kullanımı kaçınılmaz olan bu ilaçların ülkemizdeki kullanımı batı ülkelerine kıyasla çok azdır. Bunun sebebi daha büyük tesislerde kooperatif tarımın yapıldığı batı ülkelerinde kısıtlı tarım alanlarından en çok verimi almak için daha çok ilaç ve gübre kullanılmasıdır. Ülkemizin verimli topraklarında daha bireysel ağırlıklı tarım yapılmaktadır. Büyük ölçekli tarımsal işletmeler istisna olmakla beraber özellikle meyvecilikte çiftçiler kuşaktan kuşağa devreden tecrübe ile üretim yapmaktadır. Dünya tarım ilacı kullanımında % 1'lik payı olan ülkemizden bildirilen ölümcül zehirlenme vaka sayısı yüksek olduğu için organofosfat zehirlenmelerinin tedavisindeki her yeni gelişme değerlidir (1).

Organofosfatlara bağlı oluşan oksidatif stresin etkisini azaltmaya yönelik olarak antioksidanlar ile yapılan pek çok çalışma vardır (4,14). Biz bu çalışmamızda diyetle de alınabilen ve herhangi bir zararlı etkiye sahip olmayan CAPE'yi, önceden çalışılan antioksidanlara alternatif olarak araştırmayı hedefledik. Bal peteğinde bol miktarda bulunan CAPE'nin etkinliği kanıtlandığında; doğal, etkin ve ucuz bir ajan ile oksidatif stres aracılı organofosfat zehirlenmelerindeki pankreatite karşı tedavi de sağlanabilmiş olacaktır (60,61).

3. MATERYAL ve METOD

Çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı ve Farmakoloji Anabilim Dalı tarafından, Hayvan Deneyleri Laboratuvarı, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı ve Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı'nın ortak katkılarıyla gerçekleştirildi. Çalışma için Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay alındı ve çalışmamız etik kurul kurallarına uygun olarak yapıldı.

3.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması

Çalışmamızda 24 haftalık 300-350 gram ağırlığında, 35 adet Wistar Albino türü erkek rat kullanıldı. Deney süresince hayvanlar standart nem, ışık (12 saat gün ışığı/12 saat karanlık) ve ısı koşullarında (23°C) bulunduruldu. Beslenmede herhangi bir kısıtlama yapılmaksızın standart rat yemi ve su kullanıldı. Deneye başlamadan önce tüm ratların ağırlıkları ölçülerek kaydedildi.

3.2. Deney Hayvanlarının Gruplandırılması

Ratlar; kontrol grubu (Grup I, n: 5), yalnızca diazinon verilen grup (Grup II, n: 10), diazinondan bir gün önce CAPE uygulanan grup (Grup III, n: 10) ve diazinondan yarım saat sonra CAPE uygulanan grup (Grup IV, n: 10) olmak üzere 4 gruba ayrıldı.

Tablo 5. Deney grupları.

<i>Gruplar</i>	<i>Medikasyon Tipi</i>	<i>Verilen İlaç</i>	<i>Doz</i>	<i>Veriliş Yolu</i>
Grup I (n:5)	Kontrol grubu	-	-	
Grup II (n:10)	Diazinon grubu	Diazinon	200 mg/kg	Orogastrik sonda
Grup III (n:10)	1 gün önce CAPE verilen Diazinon grubu	CAPE + Diazinon	CAPE 10 µmol/kg Diazinon 200 mg/kg	IP Orogastrik sonda
Grup IV (n:10)	Diazinondan ½ saat sonra CAPE verilen grup	Diazinon + CAPE	Diazinon 200 mg/kg CAPE 10 µmol/kg	IP Orogastrik sonda

3.3. Deney Protokolü

Grup I: Bu gruba orogastrik sonda (beslenme sondası) aracılığı ile mısır yağı verildi. Verilen mısır yağı 100 gr hayvan ağırlığı için 1 ml olacak şekilde ayarlandı. Diazinon diğer gruplara verilir iken daha iyi çözünmesi için mısır yağıyla karıştırıldığı için kontrol grubuna da mısır yağı verildi.

Grup II: Diazinon (Basudin®) 60 mg/mL konsantrasyonda, homojen bir çözelti sağlanacak şekilde iyice çalkalanarak mısır yağı içerisinde çözüldü. Diazinon 200 mg/kg dozda orogastrik sonda yoluyla verildi (3).

Grup III: Bu gruba önce IP yolla 10 µmol/kg dozda CAPE uygulandı. Ratlara tekrar ilaç uygulaması ya da herhangi bir girişim yapılmadı. 24 saat sonra orogastrik sonda ile 200 mg/kg dozda mısır yağında çözülmüş diazinon verildi.

Grup IV: Diazinon 200 mg/kg dozda diğer gruplarda kullanıldığı şekilde verildi. Bu uygulamadan yarım saat sonra IP yolla 10 µmol/kg dozda CAPE verildi.

Doku ve kan örneklerinin alınması literatürdeki çalışma protokolüne benzer şekilde 48 saat sonra gerçekleştirildi (71).

3.4. Doku ve Kan Örneklerinin Alınması

İşlem için 0.5 mg/kg ketamin ve 1 mg/kg xsilazin IP verilerek genel anestezi uygulandı. Genel anestezi sonrası dekapite edilen ratların mediyan hattın yapılan insizyonla batınları açılarak vena cava inferiordan 4 ml kan alınarak biyokimyasal analiz için kullanılmak üzere biyokimya tüplerine alındı. Hemen ardından histopatolojik inceleme için pankreas dokusundan parça alındı ve özel olarak hazırlanan fiksator solüsyona konuldu.

3.5. Biyokimyasal Tetkiklerin Uygulanışı

Biyokimyasal incelemeler SDÜ Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda yapıldı. Kan örnekleri alındığı gün bekletilmeden incelendi. Düz biyokimya tüplerine alınan kan örnekleri 4000 rpm'de 5 dk santrifüj edilerek serum örnekleri hazırlandı.

Serumda gama-glutamil transferaz (GGT), amilaz, lipaz, alkalen fosfataz (ALP) ve kolinesteraz değerlerine bakıldı. Bu ölçümler Abbott Aeroset® (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL 60064 USA) cihazında hazır kitler ile otomatik olarak gerçekleştirildi.

3.6. Histopatolojik İnceleme

Histolojik preparatlar SDÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda hazırlandı.

3.6.1. Tespit

Tespit işleminde önemli olan dokuyu olabildiğince hızlı bir şekilde stabil hale getirmektir. Bu amaçla çeşitli solüsyonlar kullanılır. Rutinde en çok kullanılan solüsyon formalindir. Çalışmamızda kullanacağımız pankreas dokusu zor fikse olan bir doku olduğundan 'Bouin' solüsyonu kullanıldı. Bouin Solüsyonu, 15 mL doymuş pikrik asit, 5 mL formol ve 1 mL asetik asitle hazırlanmaktadır.

Çalışmamızda alınan doku hacminin 10 katı miktarda tespit solüsyonu ve buna uygun kaplar kullanıldı. Tespit olan materyalin zamanla sertleşmesi ihtimali olduğu için dokunun parçalanmasını önlemek amacıyla ağız geniş kaplar kullanıldı. Pankreas dokuları Bouin Solüsyonunda 1 gece bekletildi. Ardından 1 gece akan suda yıkama işlemine tabi tutuldu.

3.6.2. Suyunu Alma

Doku içindeki suyun alınıp yerine alkolün geçmesi sağlanarak doku sert hale getirilmektedir. Böylece mikrotom (dilimleyici alet) yardımıyla birkaç mikron kalınlığında kesilebilmektedir. Çalışmamızda bu amaçla dokular % 70 alkolde bir gece bekletildikten sonra sırasıyla % 80, % 90, % 96, % 100 ve tekrar % 100'lük alkolde 1'er saat bekletildi.

3.6.3. Saydamlaştırma

Dokudaki alkolü alıp yerine ksilol geçirme işlemidir. Ksilol yağları eritir ve dokuyu saydamlaştırır. Bu aşamada dokular ardı sıra iki kez yarım saat ksilolde bekletildi.

3.6.4. Parafinizasyon

Dokulardaki ksilol yerine parafin geçirilmesi amacıyla yapılan işlemdir. Kullanılan parafinin özelliğine bağlı olarak 60 °C sıcaklıktaki etüvde örnekler ksilol + parafin içinde 15 dk bekletildi. Ardından 60 °C sıcaklıktaki etüvde yumuşak parafin içinde 1 saat bekletildikten sonra yine 60 °C sıcaklıktaki etüvde sert parafinde 4 saat bekletildi.

3.6.5. Blok Hazırlama

Sertleştirilen dokuların kesilecek yüzleri alt tarafa gelecek şekilde parafin içine gömülerek bloklar hazırlandı. Kesilmeye hazır hale gelmesi için soğuması beklendi.

3.6.6. Kesit Hazırlama

Mikrotoma monte edilen dokunun içinde bulunduğu parafin blok kesildi. 4 mikron kalınlığında kesitler alındı. Bloktan elde edilen kesitler 35 - 40 °C sıcaklıktaki su banyosuna (benmari) atıldı. Düzgün doku lam yardımıyla sudan alındı. Parafinin akması ve yalnızca doku kesiti kalması için lamlar etüvde bekletildi.

3.6.7. Boyama

Lam üzerindeki parafini temizlemek ve dokuyu saydamlaştırmak için iki kez 20'şer dk süreyle örnekler ksilolde tutuldu. Daha sonra % 90'lık alkolden başlamak üzere alkol serilerinden geçirilerek ksilol uzaklaştırıldı. Distile suda bekletilen lamlar hematoksilin ile 3 dk boyandı. Çeşme suyundan ve asit-alkol karışımından (% 70'lik alkol + 5 damla hidroklorik asit) geçirilerek hematoksilinin fazlası atıldı. Ardından eozin ile 1 dk süreyle boyandı. Yeniden çeşme suyunda yıkanan lamlar yükselen alkol serilerinden geçirilerek şeffaflaşması için ksilolde bekletildi. Lamlar şeffaflaştıktan sonra üzerlerine entellan damlatılarak lamel ile kapatıldı.

3.6.8. İnceleme

Boyanan preparatlar Olympus BX50 tipi binoküler mikroskopta incelendi ve farklı büyütmelerde fotoğrafları çekildi.

3.7. Deneyde 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- pH metre:	Hanna Instruments (Portekiz)
8- Rat gavaj iğnesi	
9- Lam (Rodajlı):	Sail Brand
10-Lamel 24x50:	Marienfeld
11- Biyokimya tüpü 8 mL, jelli	
12- Steril olmayan eldiven	
13- Enjektör	

3.8. Deneyde Kullanılan Kimyasal Maddeler

CAPE Sigma–Aldrich, St. Louis, ABD firmasından temin edilmiştir. Organofosfat zehirlenmesi Diazinon (Basudin®) ile subletal doz kullanılarak oluşturulmuştur. Kesim işleminde anestezi vermek amacıyla kullanılan Ketalar® Eczacıbaşı firmasından temin edilmiştir. Histopatolojik inceleme için preparat

hazırlamak amacıyla kullanılan kimyasal maddelerden başlıcaları, hematoksilen (Mayer), absolute alkol (Fluka, Almanya) ve osmik asit % 2 (Merck)'dir.

3.9. İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen amilaz, lipaz, ALP, GGT ve kolinesteraz değerleri belirlendikten sonra grupların ortalama ve standart sapmaları hesaplandı. İstatistiksel değerlendirmede grupların karşılaştırılmasında One Way Anova testi kullanıldı. Post Hoc olarak Tukey HSD testi kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Ratların Ağırlıkları

Çalışmamız 24 haftalık, 300-350 gr Wistar Albino türü 35 adet erkek rat 4 gruba ayrılarak yapıldı. Diazinon uygulamasından sonra deneyin takip aşamasında Grup II'den 4, Grup III'ten 3 ve Grup IV'ten 4 adet ratta genel durumda bozulma meydana gelmiş, sulu dışkılama, batında distansiyon, gözlerde kızarıklık ve hareketsizlik gözlenmiştir. Saatler içinde bu ratlar öldüğü için çalışma dışı kalmıştır. Grupların ağırlık değerlerinin kontrol grubu ile istatistiksel karşılaştırma sonuçları Tablo 6'da gösterildi.

Tablo 6. Gruplara göre ratların ağırlıkları ve kontrol grubuna göre istatistiksel karşılaştırılması. Değerler ortalama \pm standart sapma (SS) olarak verilmiştir.

	Ağırlık (gr \pm SS)	<i>p</i>
Grup I (n: 5)	322.8 \pm 15.2	-
Grup II (n: 6)	312 \pm 31.6	0.040
Grup III (n: 7)	317 \pm 22.1	0.400
Grup IV (n: 6)	320.6 \pm 10.3	0.380

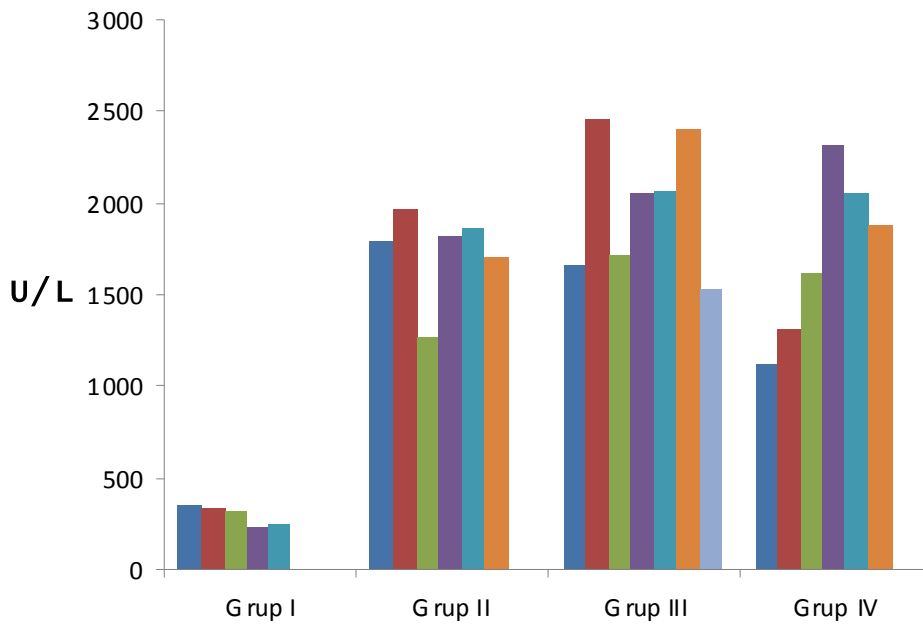
4.2. Biyokimyasal Değerlendirme Sonuçları

4.2.1. Serum Amilaz Değerleri

Serum amilaz değer ortalamaları ve kontrol grubuna göre değişimlerinin istatistiksel karşılaştırılması Tablo 7 ve Şekil 5'te gösterildi.

Tablo 7. Gruplara göre serum amilaz değerlerinin dağılımları ve kontrol grubuna göre değişimlerinin istatistiksel karşılaştırılması. Değerler Ortalama \pm Standart Sapma olarak verilmiştir.

	Amilaz (U/L\pmSS)	<i>p</i>
Grup I (n: 5)	293.2 \pm 54.4	-
Grup II (n: 6)	1725.8 \pm 244.0	<0.0001
Grup III (n: 7)	1976.0 \pm 367.0	<0.0001
Grup IV (n: 6)	1710.0 \pm 454.0	<0.0001



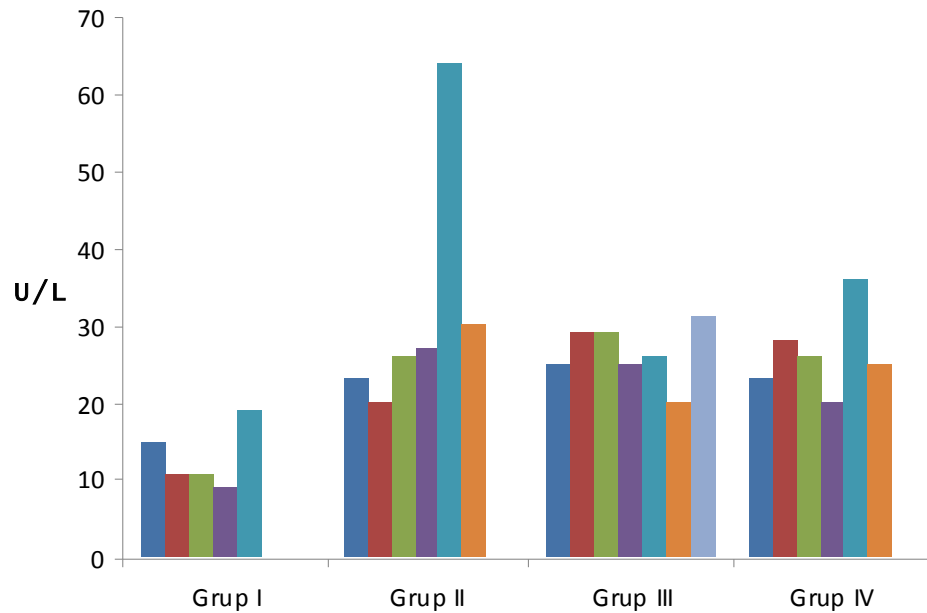
Şekil 5. Serum amilaz değerlerinin gruplara göre dağılımı.

4.2.2. Serum Lipaz Değerleri

Serum lipaz değer ortalamaları ve kontrol grubuna göre değişimlerinin istatistiksel karşılaştırılması Tablo 8 ve Şekil 6'da gösterildi.

Tablo 8. Gruplara göre serum lipaz değerlerinin dağılımları ve kontrol grubuna göre değişimlerinin istatistiksel karşılaştırılması. Değerler Ortalama \pm Standart Sapma olarak verilmiştir.

	Lipaz (U/L \pm SS)	<i>p</i>
Grup I (n: 5)	13.0 \pm 4.0	-
Grup II (n: 6)	31.6 \pm 16.2	0.013
Grup III (n: 7)	26.4 \pm 3.6	0.081
Grup IV (n: 6)	26.3 \pm 5.4	0.098



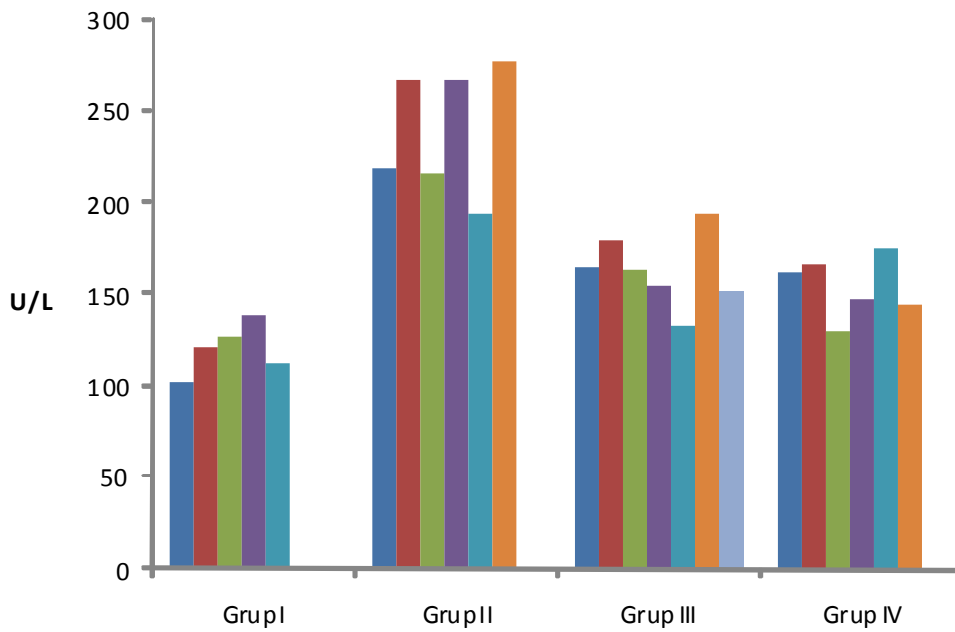
Şekil 6: Serum lipaz değerlerinin gruplara göre dağılımı.

4.2.3. Serum ALP Değerleri

Serum ALP değer ortalamaları ve kontrol grubuna göre değişimlerinin istatistiksel karşılaştırılması Tablo 9 ve Şekil 7’de gösterildi.

Tablo 9. Gruplara göre serum ALP değerlerinin dağılımları ve kontrol grubuna göre değişimlerinin istatistiksel karşılaştırılması. Değerler Ortalama \pm Standart Sapma olarak verilmiştir.

	ALP (U/L \pm SS)	<i>p</i>
Grup I (n: 5)	120 \pm 14.2	-
Grup II (n: 6)	240.5 \pm 34.2	<0.0001
Grup III (n: 7)	163.4 \pm 19.7	0.021
Grup IV (n: 6)	155.0 \pm 16.5	0.090



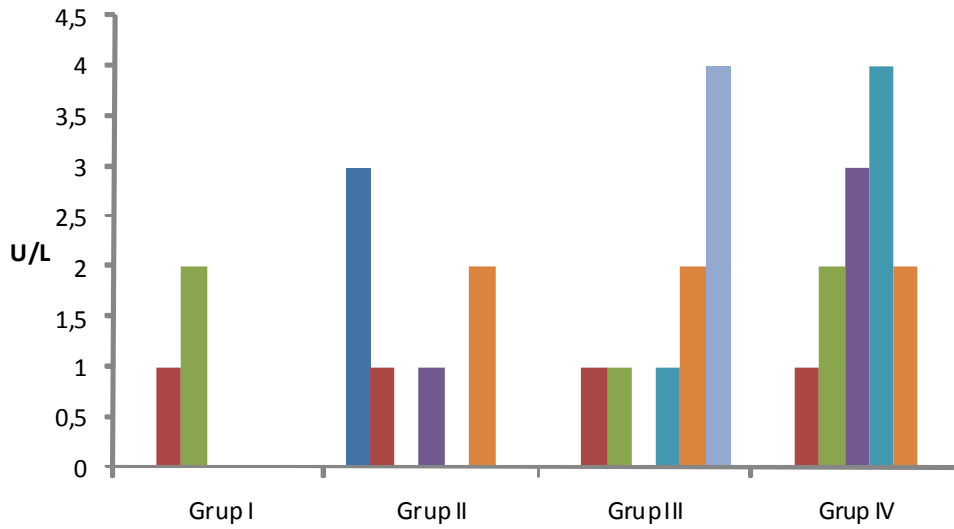
Şekil 7. Serum ALP değerlerinin gruplara göre dağılımı.

4.2.4. Serum GGT Değerleri

Serum GGT değer ortalamaları ve kontrol grubuna göre değişimlerinin istatistiksel karşılaştırılması Tablo 10 ve Şekil 8’de gösterildi.

Tablo 10. Gruplara göre serum GGT değerlerinin dağılımları ve kontrol grubuna göre değişimlerinin istatistiksel karşılaştırılması. Değerler Ortalama \pm Standart Sapma olarak verilmiştir.

	GGT (U/L \pm SS)	<i>P</i>
Grup I (n: 5)	0.6 \pm 0.8	-
Grup II (n: 6)	1.16 \pm 1.1	0.870
Grup III (n: 7)	1.2 \pm 1.3	0.780
Grup IV (n: 6)	2.0 \pm 1.4	0.280



Şekil 8. Serum GGT değerlerinin gruplara göre dağılımı.

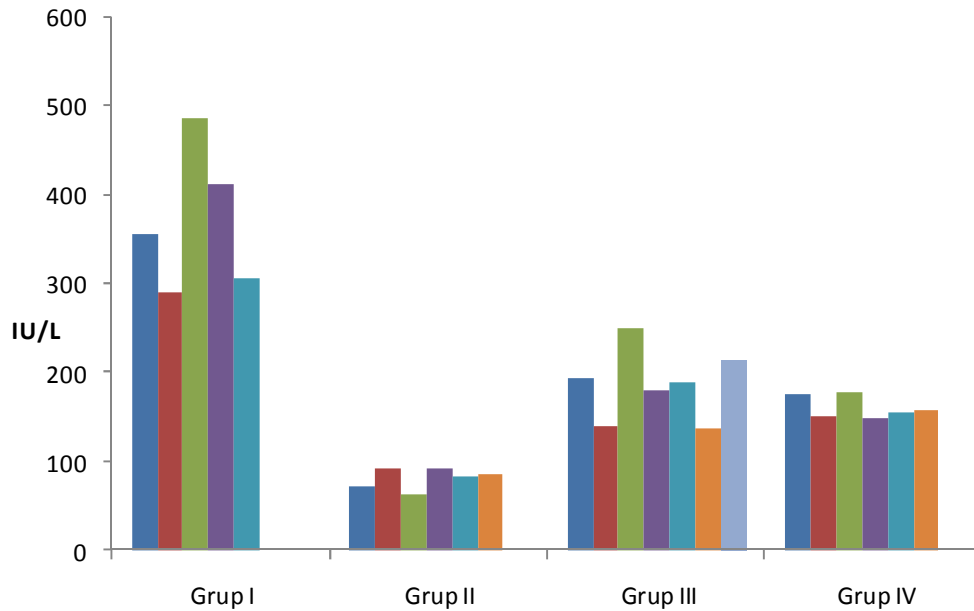
4.2.5. Serum Kolinesteraz Değerleri

Serum kolinesteraz değer ortalamaları ve kontrol grubuna göre değişimlerinin istatistiksel karşılaştırılması Tablo 11 ve Şekil 9’da gösterildi.

Tablo 11. Gruplara göre serum kolinesteraz değerlerinin dağılımları ve kontrol grubuna göre değişimlerinin istatistiksel karşılaştırılması. Değerler Ortalama \pm Standart Sapma olarak verilmiştir.

	Kolinesteraz (U/L \pm SS)	p^1	p^2
Grup I (n: 5)	369.0 \pm 80.8	-	-
Grup II (n: 6)	81.5 \pm 11.7	<0.0001	-
Grup III (n: 7)	185.7 \pm 39.8	<0.0001	0.002
Grup IV (n: 6)	160.1 \pm 12.6	<0.0001	0.023

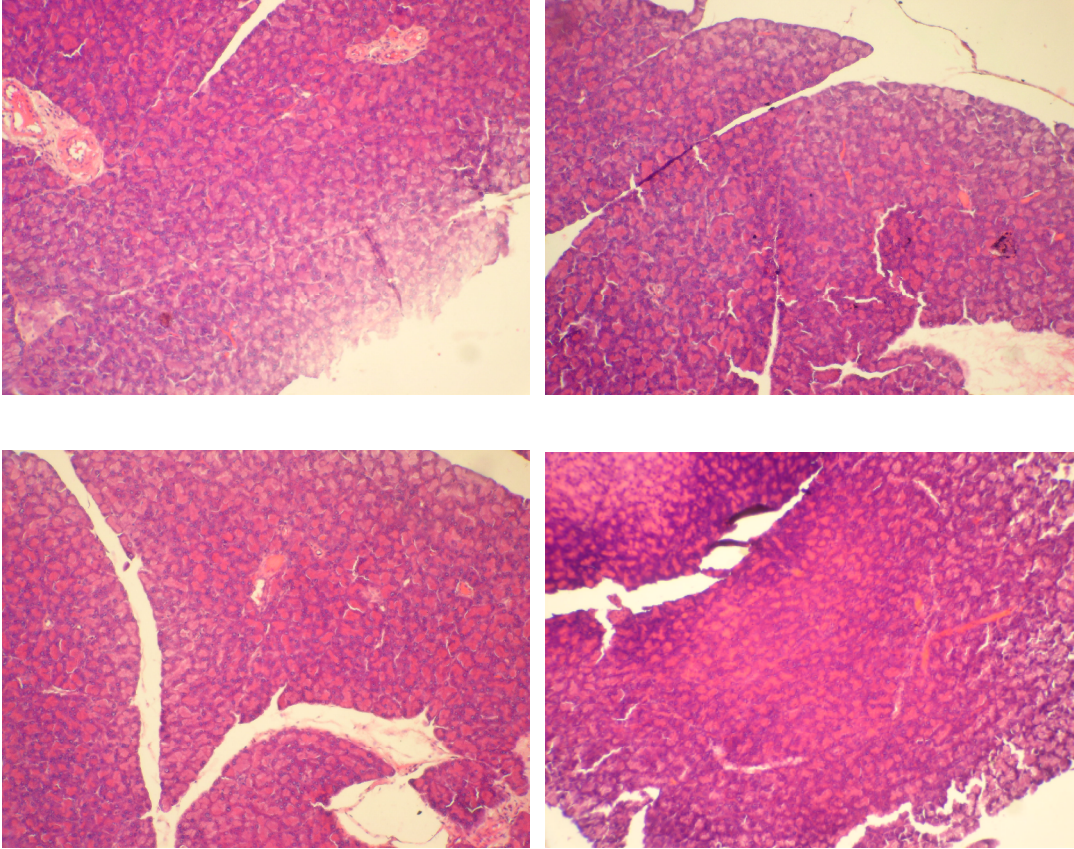
p^1 Kontrol grubuna göre Grup II, Grup III ve Grup IV değerlerinin değişim anlamlılığı,
 p^2 Grup II'ye göre Grup III ve Grup IV değerlerinin değişim anlamlılığı.



Şekil 9. Serum kolinesteraz değerlerinin gruplara göre dağılımı.

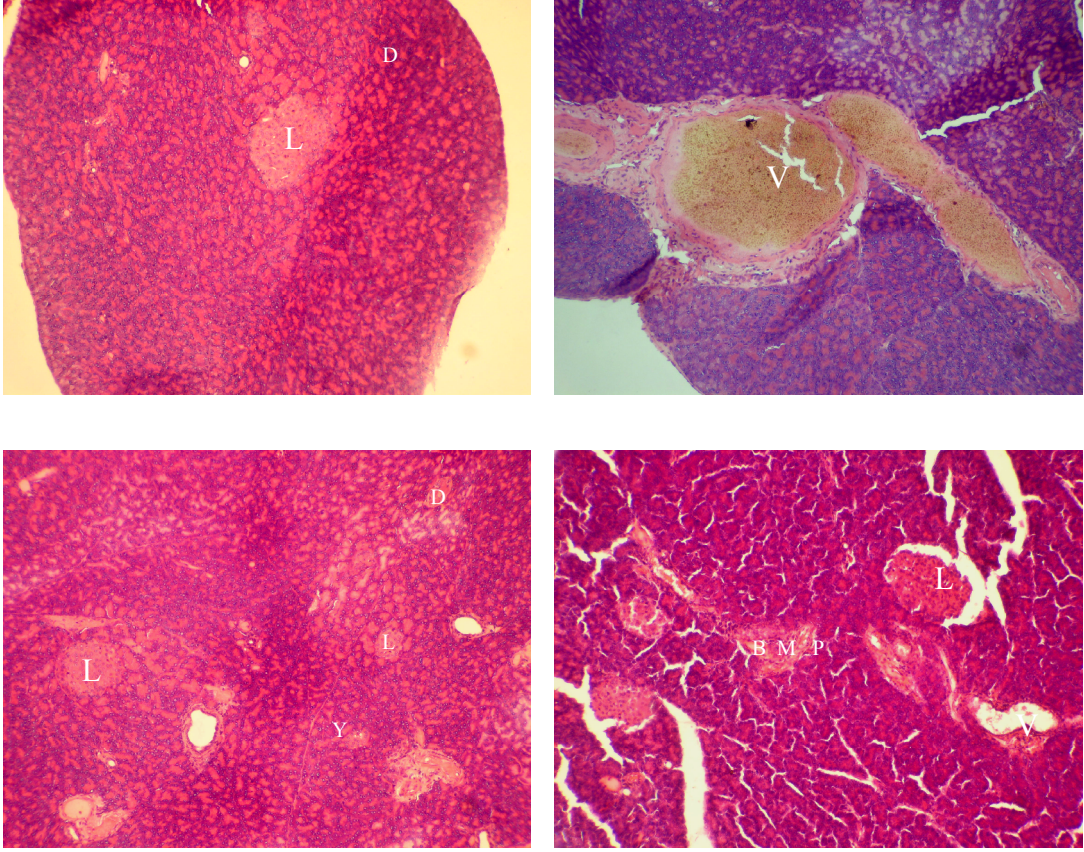
4.3. Histopatolojik İnceleme Bulguları

4.3.1. Kontrol Grubu: Bu preparatlarda intertisyel ödem, seröz asinüs ödemi ve asiner hücre dejenerasyonu görülmedi. Venüllerde dolgunluk tespit edilmedi. Yağ nekrozu ve bağ dokusu artışı bulunmadı. Endokrin ve ekzokrin bez yapıları normal olarak değerlendirildi (Resim 1).



Resim 1. Kontrol grubu ratların pankreas dokusunun mikroskopik görüntüsü.

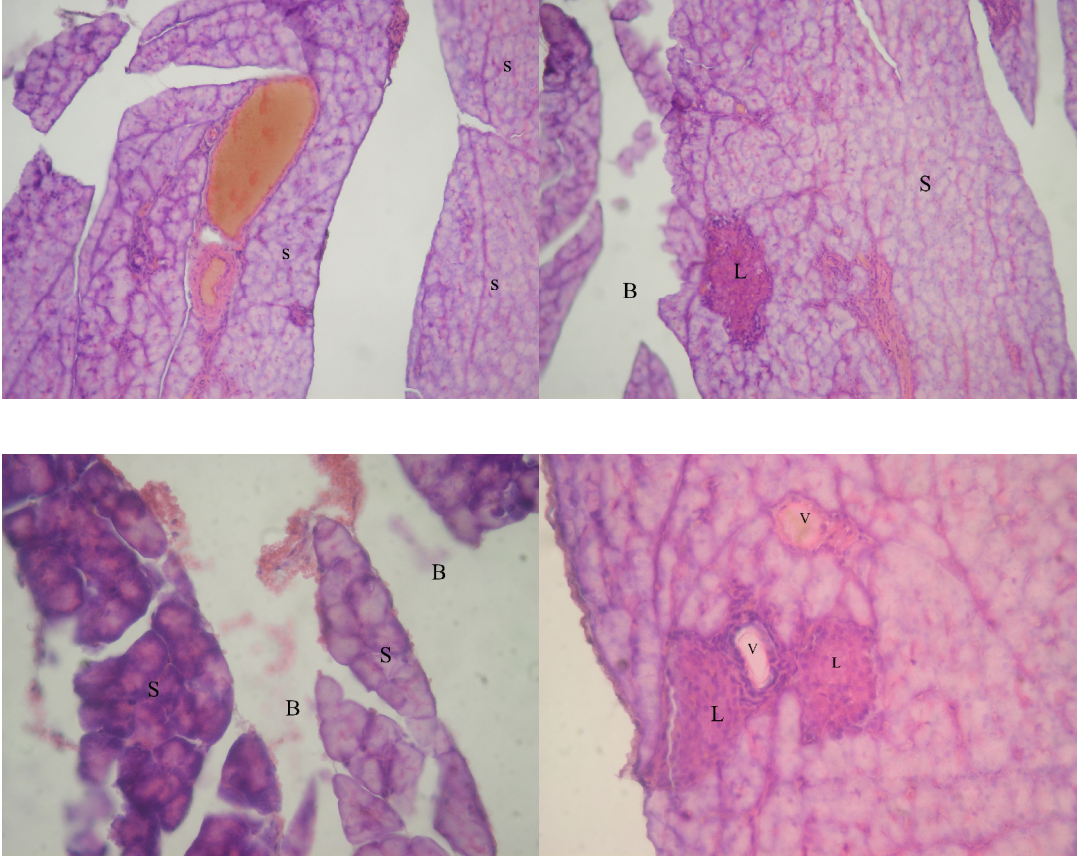
4.3.2. Grup II: Langerhans Adacıkları normal, seröz bezlerde dejenerasyon (+), bağ dokusunda artış (+), mononükleer hücre infiltrasyonu (+), vasküler dilatasyon (++) , yağ nekrozu (++) , piknotik çekirdeklenme (+) olarak değerlendirildi (Resim 2).



Resim 2. Grup II ratların pankreas dokusunun mikroskopik görüntüsü.

- D: Seröz Bezlerde Dejenerasyon*
B: Bağ Doku Artışı
M: Mononükleer Hücre İnfiltrasyonu
L: Langerhans Adacıkları
V: Vasküler Dilatasyon
Y: Yağ Nekrozu
P: Piknotik Çekirdeklenme

4.3.3. Grup III: Langerhans Adacıklarında herhangi bir dejenerasyon veya nekroza rastlanmadı. Bağ doku kaybı ve vasküler dilatasyon yoktu. Pankreasın % 98'lik kısmını oluşturan ekzokrin kısımda da patolojik bir görünüme rastlanmadı. İlk sıradaki fotoğraflar x10 büyütmede, alt sıradakiler ise ayrıntılı inceleme için x40 büyütmede çekilmiştir (Resim 3).



Resim 3. Grup III ratların pankreas dokusunun mikroskopik görüntüsü.

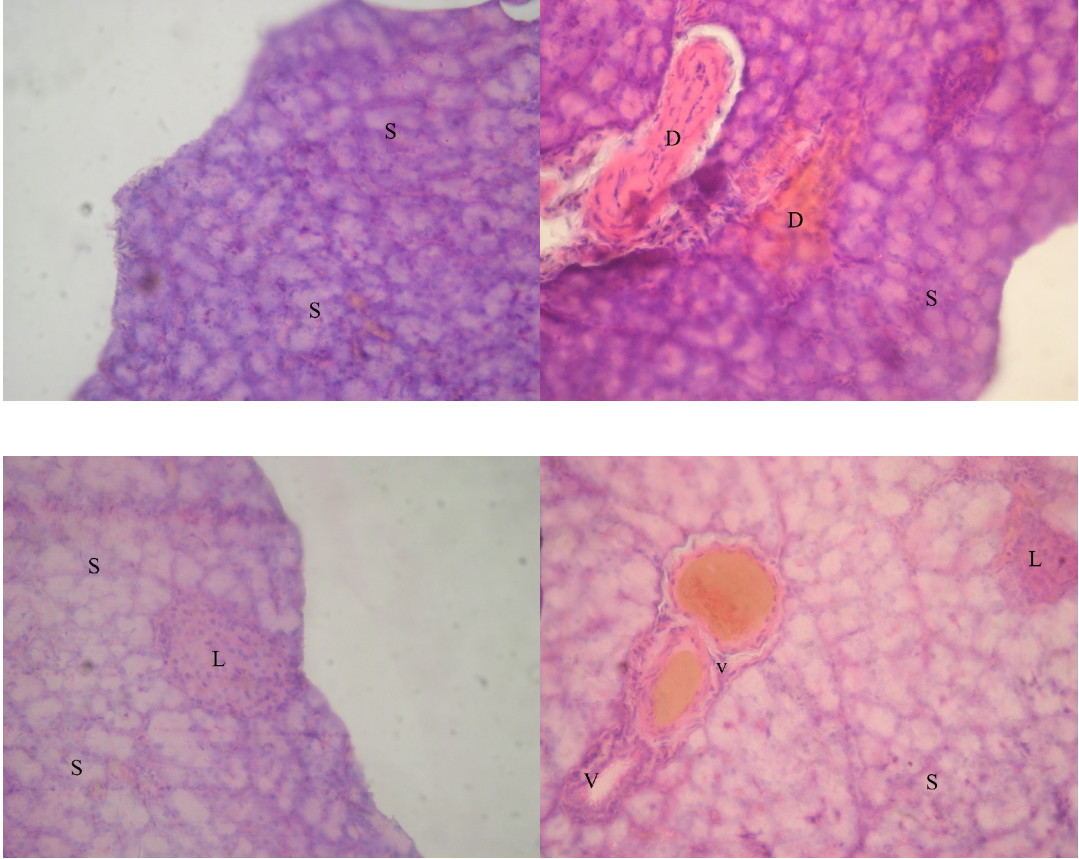
S: Seröz Bezlerde Dejenerasyon

B: Bağ Doku Artışı

L: Langerhans Adacıkları

V: Vasküler Dilatasyon

4.3.4. Grup IV: Yapılan histopatolojik değerlendirmede Langerhans Adacıklarında herhangi bir dejenerasyon veya nekroz benzeri bulguya rastlanmadı. Görüntülerde bağ doku kaybı (-) ve vasküler dilatasyon (-) olarak izlendi. Ekzokrin kısımda da patolojik bir duruma rastlanmadı. Tüm resimler ayrıntılı inceleme için x40 büyütmede çekilmiştir (Resim 4).



Resim 4. Grup VI ratların pankreas dokusunun mikroskopik görüntüsü.

S: Seröz Bezlerde Dejenerasyon

B: Bağ Doku Artışı

L: Langerhans Adacıkları

V: Vasküler Dilatasyon

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Türkiye’de dünya kullanımının % 1’i oranında tarım ilacı kullanılmaktadır (1). Pestisidlerle olan akut zehirlenmelerde daha çok kriminal olaylar söz konusudur. Organizmaya alım sonrası klinik belirtiler meydana gelmektedir. Ülkemizde acil servise başvuran zehirlenme olgularının % 16’sı organofosfat kaynaklıdır (31,32,34).

Organofosfat zehirlenmelerinde mortalitenin en önemli sebebi solunum kasları tutulumu sonucu gelişen solunum yetmezliğidir. Ağır zehirlenme olgularında yoğun bakım ünitelerinde yakın izlem gerekmektedir. Bu olgularda gelişebilecek komplikasyonlar arasında MSS hasarı, hepatotoksisite ve pankreatit yer almaktadır (3,11,28,31-33).

Organofosfatlardan daha çok diazinon, mevinphos, coumaphos ve diphonate pankreatite neden olmaktadır (3,12,16,22). Yoğun bakım ünitelerinde, genel durumu kötü hastaların bakım önceliğinin pulmoner ve kardiyovasküler sisteme verilmesi nedeniyle pankreatit tanısı gözden kaçabilmektedir. Bu zehirlenmelerde akut pankreatitin görülme sıklığı yaklaşık % 12 olarak bildirilmektedir (33).

Literatüre bakıldığında organofosfatlara bağlı ciddi akut pankreatit vakalarının olgu sunumu şeklinde olduğu görülmektedir. Harputluoğlu ve ark. (72) intihar amaçlı ağızdan yüksek doz diazinon ile diklorvos alan iki olguyu sundukları bildirilerinde, karın ağrısı sonrası yapılan bilgisayarlı tomografi ve ultrasonografi incelemelerinde ödematöz pankreatit saptandığını ve tedavi sonrası hastaların 14. ve 16. günde tamamen iyileştiğini belirtmişlerdir. Kawabe ve ark. (73) akut organofosfat zehirlenmesi nedeniyle tedavi ettikleri 73 yaşındaki olguda tedavi sırasında hiperamilazemi geliştiğini ve pankreasında da 7 cm çaplı psödokist oluştuğunu bildirmişlerdir. Paineri ve ark. (28) organofosfat zehirlenmesi nedeniyle mekanik ventilatörde takip ettikleri hastada aralıklı batın distansiyonu oluştuğunu, nekrotizan pankreatit ve pankreas absesi saptadıklarını ve tedavinin ölümlle sonuçlandığını bildirmişlerdir.

Yapılan hayvan deneylerinde de diazinon zehirlenmesi modelinde pankreatit üzerinde çalışmalar mevcuttur (3,4,25,26,74).

Çalışmamızda; ratlarda subletal doz ile oluşturulan diazinon zehirlenmesi modelinde gelişen pankreatitte doğal olarak yiyeceklerle alınabilen CAPE'nin, pankreas hasarını iyileştirmede olumlu etkisinin olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

Diazinonun organizmada oluşturacağı etkiler doza bağımlı olarak ortaya çıkmaktadır. İnsanlarda diazinon zehirlenmesinde vücuda alınan dozun saptanması oldukça güçtür. Farklı diazinonun dozları ile yapılan bir hayvan çalışmasında, 300 mg/kg dozda ratların tamamının öldüğü, 200 mg/kg dozda pankreasta histolojik değişiklikler görüldüğü, 100 mg/kg altındaki dozlarda ise pankreasın etkilenmediği bildirilmiştir. Araştırmacılar çalışmada hayvanların sadece zehirlendiğini, herhangi bir tedavi uygulanmadığını, subletal dozda solunum yetmezliğinin çok az veya hiç görülmediğini, histolojik olarak pankreatit bulgularının görüldüğünü bildirmişlerdir (3). Biz de çalışmamızda 200 mg/kg olan bu subletal dozu kullandık.

Akut pankreatit kliniğinde çoğunlukla amilaz ve lipaz enzimlerinin birlikte yüksekliği söz konusudur. Dressel ve ark. (26) köpeklerle yaptıkları çalışmada operasyonla pankreasta intraduktal kanal dekompresyonu oluşturduktan sonra serum amilaz ve lipaz seviyelerinde anlamlı artma olduğunu göstermişlerdir.

Lee ve ark. (75) organofosfat zehirlenmesi tanısı almış 159 olguluk retrospektif incelemelerinde, amilaz yüksekliğinin akut pankreatit tanısı için yeterli ve güvenilir olamayacağını, birlikte lipaz yüksekliğinin de saptanması gerektiğini, ancak amilaz yüksekliği ile şiddetli organofosfat zehirlenme belirtileri ve şok varlığı arasında korelasyon olduğunu bildirmişlerdir. Bu durum organofosfat zehirlenmesi olan tüm olgularda akut pankreatit erken tanısı için amilaz ve lipaz takibinin birlikte yapılması gerekliliğini desteklemektedir. Biz de bu nedenle hem amilaz hem de lipaz düzeylerini beraber çalıştık.

Çalışmamızda diazinon verilen tüm gruplarda amilaz düzeylerinde Grup I yani kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak çok anlamlı ($p < 0,0001$) artış saptadık. Lipaz düzeylerinde ise kontrol grubu değerlerine oranla Grup II'de anlamlı ($p = 0.013$) artış, Grup III ($p = 0,081$) ve Grup IV'te ($p = 0.098$) ise anlamsız artış saptandı. CAPE'nin zehirlenmeden bir gün önce verildiği grupta (Grup III) amilaz aktivitesi diğer tüm

gruplara oranla yüksek saptandı. CAPE'nin kolinesteraz enzimi dışında diğer enzimlerin de aktivitesini artırması açısından bu bulgumuzun ilgi çekici olduğunu düşünmekteyiz.

Gökalp ve ark. (14) organofosfatlardan fenthion ve methidatyonla yaptıkları çalışmalarında, bu maddelerin pankreas enzimlerinin aktivitesini azaltabildiğini göstermişlerdir. Bu bulguları organofosfatlardan bazılarının kolinesteraz dışında amilaz, lipaz ve SOD gibi enzimleri de inhibe edebildiğini düşündürmektedir.

Organofosfat zehirlenmelerinde temel patolojik mekanizma AChE enzim aktivitesinin azalmasıdır. Çalışmamızda yalnız diazinon verilen Grup II ile CAPE uygulanan grupların kolinesteraz düzeyleri karşılaştırıldığında, Grup III ve Grup IV'te istatistiksel olarak çok anlamlı ($p < 0,0001$) kolinesteraz artışı saptadık.

Diazinon aracılı pankreatitte aşırı kolinerjik uyarıma bağlı olarak pankreatik kanal spazmı olduğu ve bunun sebep olduğu pankreas kanalcıklarındaki daralmanın pankreatitin sebebi olduğu Dressel tarafından ileri sürülmüştür (25,26). Fakat diazinon aracılı pankreatitte oksidatif stresin de önemli bir mekanizma olduğu ve vitamin E ve C ikili tedavisinin birlikte kullanımı ile pankreatitin biyokimyasal parametrelerinin önemli derecede düzeldiği gösterilmiştir (4). Antioksidan özelliği olduğu bildirilen CAPE'nin kolinesteraz seviyesindeki azalmayı % 50'den fazla oranda önlemiş olmasını dikkat çekici bir bulgu olarak kabul etmekteyiz. Bu bulgumuza paralel literatür taramalarında bir yayına rastlamadık. CAPE'nin bu etkisi nedeniyle organofosfat zehirlenmelerinde gerek profilaktik gerekse tedavi amaçlı kullanılabileceğini, mortalite ve morbiditeyi azaltabileceğini öngörmekteyiz.

Serum ALP aktivitesi; karaciğer, kemik, barsak ve plasenta kökenli bir grup izoenzimi yansıtır. Serum düzeyleri kolestazda, tam ya da tam olmayan safra kanalı tıkanıklığında ve yeni kemik yapımında yükselir. İzole yüksek ALP düzeyi, tam olmayan koledok tıkanıklığında, tek lob ya da segmentteki kanalların tıkanması durumunda önemli bir ipucu olabilir. ALP, hepatositlerin plazma membranlarında yerleşiktir. Kolestaza eşlik eden serum ve doku safra asidi düzeylerinin artması sonucunda ALP içeren hepatosit membranı parçaları çözünerek dolaşıma karışır. Karaciğer safra asidi düzeylerinin artması ALP yapımını da artırır. GGT ve 5'-

Nükleotidaz gibi diğer hepatosit plazma membranı enzimleri de safra kanal tıkanıklığında benzer şekilde dolaşıma karışırlar (76). Çalışmamızda grupların ALP düzeyleri Grup I ile karşılaştırıldığında, Grup II'de çok anlamlı ($p < 0,0001$) artma, Grup III'te anlamlı ($p = 0,021$) artma ve Grup IV'te anlamsız artma ($p = 0,090$) saptandı. GGT düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Grup II'de ($p = 0,870$), Grup III'te ($p = 0,780$) ve Grup IV'te ($p = 0,280$) anlamsız artış görüldü. Çalışmamızdaki ALP düzeylerinin Grup II'de çok anlamlı artış göstermesi pankreas kanal basıncında artış olduğunu desteklemektedir. Ayrıca serum amilaz ve lipaz değerlerinin kontrol değerlerine göre yüksek olması ve pankreatit lehine olan histopatolojik değişiklikler ALP'nin pankreas kanal basıncında artış ile pankreatit oluşumuna zemin hazırladığı görüşünü desteklemektedir.

Diazinon ile yapılan ve pankreatit gelişiminin 24. saatte incelendiği farklı iki toksisite çalışmasında nekrotizan pankreatit gelişmesine zemin hazırlayan histopatolojik bulgular gözlemlendiği bildirilmiştir (3,4).

Yapılan histopatolojik inceleme sonucunda esas olarak Langerhans Adacıkları, seröz bezlerde dejenerasyon, bağ dokusu artışı, mononükleer hücre artışı, vasküler dilatasyon ve yağ nekrozu değerlendirildi. Grup I'de tüm histolojik örnekler normal olarak değerlendirildi (Resim 1). Grup II'de belirgin Langerhans Adacıkları, seröz bezlerde dejenerasyon, bağ dokusu artışı, belirgin mononükleer hücre artışı, vasküler dilatasyon ve yağ nekrozu görünümü saptandı. Yalnız diazinon verilen bu grubun histolojik değerlendirmesi belirgin pankreatit olarak yorumlandı (Resim 2). Diğer gruplardaki histopatolojik değişimler minimal olarak değerlendirildi.

Tüm gruplardaki serum amilaz, serum lipaz ve histopatolojik inceleme sonuçlarımız; organofosfat zehirlenmesi şüphesi olan hastalarda serum amilaz ve serum lipaz takibinin mutlaka yapılması gerektiğini desteklemektedir.

Çalışmamızdaki biyokimyasal bulgularımız oksidatif stresin diazinon aracılı pankreatitte önemli bir mekanizma olduğunu göstermektedir. Bu konuda önceden yapılan çalışmaların bulguları da göz önüne alındığında; antioksidanların organofosfat zehirlenmelerinin tedavisinde ya da etkisinin azaltılmasında olumlu etkilerinin olduğu kabul edilebilir.

Organofosfat zehirlenmelerinde mortalite nedenleri çok farklı olmakla birlikte, pankreatit bulguları gözden kaçabileceği için mortalite yönüyle önemlidir. Araştırmamızın bulgularına göre diazinonun oluşturduğu pankreatit tablosunu CAPE kullanımının önlediğini düşünmekteyiz. Ayrıca zehirlenmenin ana patofizyolojik yolağında bulunan kolinesteraz enzimi üzerinde CAPE'nin yükseltici yönde olumlu etkisi göz önüne alındığında, geniş serilerde yapılacak çalışmaların organofosfat zehirlenmelerinde mortalite ve morbiditeyi azaltıcı tedavi yaklaşımları ortaya çıkaracağını düşünmekteyiz.

6. ÖZET

Ratlarda Diazinon Zehirlenmesinin Oluşturduğu Pankreatitte Kafeik Asit Fenetil Ester'in Olası Etkileri

Ülkemizin kırsal kesimlerinde görülen zehirlenme olgularında en sık rastlanılan etken organofosfatlardır. Bu zehirlenmelerde mortalitenin en önemli sebebi solunum kasları tutulumu ile gelişen solunum yetmezliğidir. Ciddi zehirlenme vakalarının yoğun bakımda takibi gerekmektedir. Bu hastalarda gelişebilecek pankreas toksisitesi önemlidir. Kafeik asit fenetil ester (CAPE) bal arısının ürettiği propoliste bulunan flavonoid benzeri yapıda ve antiinflamatuvar, antioksidan, immün düzenleyici ve apopitozis düzenleyici etkileri çalışmalarla gösterilen bir bileşiktir. Bu bizi, doğal olarak yiyeceklerle de alınabilen CAPE'nin, sık kullanılan organofosfatlardan diazinonun yol açtığı pankreas hasarını iyileştirmede olumlu etkisinin olup olmadığını araştırmaya yönlendirdi.

35 adet erkek Wistar Albino rat 4 gruba ayrıldı. Kontrol grubu, 200 µg/kg (subletal) diazinon verilen grup, 1 gün önce 10 µmol/kg CAPE uygulaması sonrasında diazinon verilecek grup ve diazinon uygulamasından yarım saat sonra aynı dozda CAPE uygulanan grup olmak üzere. Hayvanlara herhangi bir ek ilaç veya besin kısıtlaması uygulanmadı. Kesim işlemi anestezi altında 48. saatte gerçekleştirildi. Biyokimyasal olarak serumda ALP, kolinesteraz, GGT, amilaz ve lipaz bakmak için kan alındı. Ayrıca histopatolojik inceleme için pankreas dokuları çıkarılarak özel fiksator solüsyonda bekletildi.

Çalışmamızda yalnız diazinon verilen Grup II ile CAPE uygulanan gruplar kolinesteraz düzeyleri açısından karşılaştırıldığında, Grup III ve IV'te istatistiksel olarak anlamlı ($p=0.002$) artma gözlemlendi. CAPE'nin bir gün önce verildiği grupta amilaz aktivitesi de artmıştır. Bu ilginç bir bulgudur. Kolinesteraz enzimi dışında diğer enzimlerin de aktivitesini artırması bizce olumlu bir bulgu olarak değerlendirilebilir. Çünkü organofosfat zehirlenmelerinde temel mekanizma AChE enzim aktivitesinin çok fazla azalmasıdır. CAPE'nin bu azalmayı % 50'den fazla oranda önlemiş olması önemli bir sonuçtur. Bu uygulama organofosfat zehirlenmelerinde hastaların hayatta kalması için iyi bir profilaktik ilaç olabileceği fikrini bize vermektedir.

Anahtar sözcükler: CAPE, diazinon, organofosfat, pankreatit

7. SUMMARY

Probable Effects of the Caffeic Acid Phenethyl Ester in the Pancreatitis Which the Diazinon Intoxication Formed on the Rats

They are the most frequently encountered organophosphates in the intoxication events which are seen in rural areas of our country. The most important reason of the mortality in these intoxications is the restrictive pulmonary syndrome which develops by muscle involvement. The serious intoxication events should be followed up in intensive care. The pancreatic toxicity is important which may be developed on these patients. The caffeic acid phenethyl ester is a compound which the honeybees produce, which is on the bee gums and is similar the flavonoidler structure, which is antiinflammatory, antioxidant and immune regulator. Herewith we aimed to investigate whether it has a positive effect the damage on pancreas which the CAPE that can be taken as a natural food, and diazinon from the organophosphates which are often used, cause.

35 male Wistar albino rat were divided into 4 groups. The control group which was given diazinon of 200 µg/kg (sublethal) to, the group which will be given diazinon after the application of 10µmol/kg CAPE one day ago and the group which was given the same dose of CAPE after the application half an hour later. Animals were not applied any additional drug or feed restriction. The cutting process was performed under the anesthesia at 48th hour. Blood has been received to see ALP, cholinesterase, GGT, amylase and lipase in the serum as biochemical. In addition the pancreas tissue cells were waited in a special fixer solution by being extracted for histopathological analyzing.

A meaningful ($p=0.002$) increase was observed on the Group III and IV as statistical at our work, when the Group II which was given only diazinon and the groups which were applied CAPE to in terms of cholinesterase levels. The amylase activity also increased on the group which was given CAPE one day ago. This is an interesting finding. The increasing of the other enzymes except the cholinesterase enzyme can be evaluated by us as a positive finding. Because the main mechanism is that the enzyme activity reductives in the organophosphate intoxications very much. It's a valuable result preventing of CAPE this reductive more than over the rate of 50%. This application gives us the idea that it can be a good prophylactic medicine in the organophosphate intoxications for human survival.

Key words: CAPE, diazinon, organophosphate, pancreatitis.

KAYNAKLAR

- 1- Delen N, Özbek T. Türkiye'de Tarım İlacı Kullanımı ve Yarattığı Sorunlar. TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, T.C. Ziraat Bankası Kültür Yayınları Ankara 1990;26: 1015-1028.
- 2- Demircan V, Yılmaz H. The Analysis of pesticide use in apple production in Isparta province in terms of economy and environmental sensitivity perspective. *Ekoloji* 2005;14:15-25.
- 3- 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(2):103–108.
- 4- Gokalp O, Buyukvanli B, Cicek E, Ozer MK, KoyuA, Altuntas I, Koylu H. The effects of diazinon on pancreatic damage and ameliorating role of vitamin E and vitamin C. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2005;81:123–128.
- 5- Yilmaz HR, Uz E, Yücel N, Altuntas I, Ozcelik N. Protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rat liver. *J Biochem Mol Toxicol*. 2004;18(4):234-238.
- 6- Koksel O, Ozdulger A, Tamer L, Cinel L, Ercil M, Degirmenci U, Unlu S, Kanik A. Effects of caffeic acid phenethyl ester on lipopolysaccharide-induced lung injury in rats. *Pulm Pharmacol Ther*. 2006;19(2):90-95.
- 7- Sud'ina GF, Mirzoeva OK, Pushkareva MA, Korshunova GA, Sumbatyan NV, Varfolomeev SD. Caffeic acid phenethyl ester as a lipoxygenase inhibitor with antioxidant properties. *FEBS Lett*. 1993;329(1-2):21-24.
- 8- T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma Kontrol Genel Müdürlüğü Yayınları, Bitki Koruma Ürünleri. Editör: C. KARACA, Ankara,2009; 4-14.
- 9- Wu HX, Evreux-Gros C, Drscotes J. Diazinon toxicokinetics, tissue distribution and anticholinesterase activity in the rat. *Biomed Environ Sci*. 1996;9(4):359-369.
- 10- Wester RC, Sedik L, Melendres J, Logan F, Maibach HI, Russell I. Percutaneous absorption of diazinon in humans. *Food Chem Toxicol*. 1993;31(8):569-572.
- 11- Slotkin TA, Levin ED, Seidler FJ. Comparative developmental neurotoxicity of organophosphate insecticides effects on brain development are separable from systemic toxicity. *Environ Health Perspect*. 2006;114(5):746-751.
- 12- 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*. 2002;76(8):470-473.
- 13- Asztalos B, Nemcsok J, Benedeczky I, Gabriel R, Szabo A, Refaie OJ. The effects of pesticides on some biochemical parameters of carp (*Cyprinus carpio* L.) *Arch Environ Contam Toxicol*. 1990;19(2):275-282.

- 14- Gokalp O, Gulle K, Sulak O, Cicek E, Altuntas I. The effects of methidathion on liver: role of vitamins E and C. *Toxicol Ind Health*. 2003;19(2-6):63-67.
- 15- Mortensen SR, Hooper MJ, Padilla S. Rat brain acetylcholinesterase activity: developmental profile and maturational sensitivity to carbamate and organophosphorus inhibitors. *Toxicology*. 1998;125(1):13-19.
- 16- De Bleecker J, Lison D, Van Den Abeele K, Willems J, De Reunck J. Acute and subacute organophosphate poisoning in the rat. *Neurotoxicology*. 1994;15(2):341-348.
- 17- Husain K, Mirza MA, Matin MA. Convulsions as the etiology of lactic acidosis in acute diazinon toxicity in rats. *Toxicol Lett*. 1987;37(3):257-261.
- 18- Marshall TC, Dorough HW, Swim HE. Screening of pesticides for mutagenic potential using Salmonella typhimurium mutants. *J Agr Food Chem*. 1976;24:560-563.
- 19- Mycek MJ, Harvey RA, Champe PC. Pharmacology 2. Baskı, Lippincott's Illustrated Review, 1997; 35-38.
- 20- Kayaalp O. Tıbbi Farmakoloji. 8. Baskı Ankara, Hacettepe-Taş, 1998; 1110-1113.
- 21- Kwong TC. Organophosphate pesticides: biochemistry and clinical toxicology. *Ther Drug Monit*. 2002;24(1):144-149.
- 22- Hsiao CT, Yang CC, Deng JF, Bullard MJ, Liaw SJ. Acute pancreatitis following organophosphate intoxication. *J Toxicol Clin Toxicol*. 1996;34(3):343-347.
- 23- Hegyi P, Takacs T, Tislavicz L, Czako L, Lonovics J. Recovery of exocrine pancreas six months following pancreatitis induction with L-arginine in streptozotocin-diabetic rats. *J Physiol Paris*. 2000;94(1):51-55.
- 24- Cheta D. Animal models of type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 1998;11(1):11-19.
- 25- Dressel TD, Goodale RL Jr, Hunninghake DB, Borner JW. Sensitivity of the canine pancreatic intraductal pressure to subclinical reduction in cholinesterase activity. *Ann Surg*. 1979;190(1):6-12.
- 26- Dressel TD, Goodale RL Jr, Zweber B, Borner JW. The effect of atropine and duct decompression on the evolution of Diazinon-induced acute canine pancreatitis. *Ann Surg*. 1982;195(4):424-434.
- 27- Gülşen M. Akut Pankreatitlerde Etiyopatogenez. *Güncel Gastroenteroloji Dergisi*, 2006;10(4): 305-314.
- 28- Panieri E, Krige JE, Bornman PC, Linton DM. Severe Necrotizing Pancreatitis Caused by Organophosphate Poisoning. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 1997;25(2):463-465.
- 29- Greenberger NJ, Toskes PP, Isselbacher KJ. Acute and chronic pancreatitis. In: Wilson JO, Braunwald E, Isselbacher KJ, et al., eds. *Harrison's principles of internal medicine*. 12th ed. New York: McGraw-Hill, 1991:1372-1383.

- 30- Lee WC, Yang CC, Deng JF, Wu ML, Ger J, Lin HC, Chang FY, Lee SD. The clinical significance of hyperamylasemia in organophosphate poisoning. *J Toxicol Clin Toxicol.* 1998;36(7):673-681.
- 31- Çetin NG, Beydilli H, Tomruk Ö. Acil servise başvuran intoksikasyon olgularının geriye dönük analizi. *S.D.Ü. Tıp Fak. Derg.* 2004;11(4):7-9.
- 32- Serinken M, Yanturalı S. Acil serviste intihar amaçlı zehirlenmelerin geriye dönük analizi. *Toksikoloji Dergisi* 2003;1(1):15-19.
- 33- Sahin I, Onbasi S, Sahin H, Karakaya C, Ustun Y, Noyan T. The prevalence of pancreatitis in organophosphate poisonings. *Hum Exp Toxicol.* 2002;21(4):175-177.
- 34- Al B, Güllü MN, Küçüköner M, Yılmaz B, Aldemir M, Kara İH. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Servisi'ne ilaçlara bağlı zehirlenmeler ile başvuran hastaların epidemiyolojik özellikleri. *Türk Toksikoloji Dergisi*, 2005;4(3-4):11-20.
- 35- T.C. Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Hıfzıssıhha Mektebi Müdürlüğü. Zehirlenmeler Tanı ve Tedavi Rehberleri 2006;88-92.
- 36- Schexnayder S, James LP, Kearns GL, Farrar HC. The pharmacokinetics of continuous infusion pralidoxime in children with organophosphate poisoning. *J Toxicol Clin Toxicol.* 1998;36(6):549-555.
- 37- Thompson DF, Thompson GD, Greenwood RB, Trammel HL. Therapeutic dosing of pralidoxime chloride. *Drug Intell Clin Pharm.* 1987;21(7-8):590-593.
- 38- Chung SN, Aggarwal N, Dabla S, Chhabra B. Comparative Evaluation of "Atropine Alone" and "Atropine with Pralidoxime (PAM)" in the Management of Organophosphorus Poisoning. *Journal Indian Academy of Clinical Medicine* 2005;6(1): 33-37.
- 39- Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise and antioxidant supplementation. *Toxicology.* 2003;189(1-2):41-54.
- 40- Akkus I, Kalak S, Vural H, Caglayan O, Menekse E, Can G, Durmus B. Leukocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and serum and leukocyte vitamin C levels of patients with type II diabetes mellitus. *Clin Chim Acta.* 1996;244(2):221-227.
- 41- Bonnefont-Rousselot D, Lacomblez L, Jaudon M, Lepage S, Salachas F, Bensimon G, Bizard C, Doppler V, Delattre J, Meininger V. Blood oxidative stress in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci.* 2000;178(1):57-62.
- 42- Whiting PH, Kalansooriya A, Holbrook I, Haddad F, Jennings PE. The relationship between chronic glycaemic control and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *Br J Biomed Sci.* 2008;65(2):71-74.
- 43- Wheeler CR, Salzman JA, Elsayed NM, Omaye ST, Korte DW Jr. Automated assays for superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and glutathione reductase activity. *Anal Biochem.* 1990;184(2):193-199.

- 44- Goth L. Origin of serum catalase activity in acute pancreatitis. *Clin Chim Acta*. 1989;186(1):39-44.
- 45- Popovic M, Janicijevic-Hudomal S, Kaurinovic B, Rasic J, Trivic S. Effects of various drugs on alcohol-induced oxidative stress in the liver. *Molecules*. 2008;13(9):2249-2259.
- 46- Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull*. 1993;49(3):481-493.
- 47- González-Quiroga G, Rico-Bazaldua G, Ibarra B, Vaca G, Garza-Chapa R. Deficiency of glucose-6-phosphate dehydrogenase in a family. *Arch Invest Med* 1989;20(3):229-232.
- 48- 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.
- 49- Cabeza J, Motilva V, Martin MJ, De La Lastra CA. Mechanisms involved in gastric protection of melatonin against oxidant stress by ischemia-reperfusion in rats. *Life Sci*. 2001;68(12):1405-1415.
- 50- Dikmen B, Unal Y, Pampal HK, Nurlu N, Kurtipek O, Canbolat O, Ozogul C, Kavutcu M. Effects of repeated desflurane and sevoflurane anesthesia on enzymatic free radical scavenger system. *Mol Cell Biochem*. 2007;294(1-2):31-36.
- 51- Van Haaften RI, Haenen GR, Van Bladeren PJ, Bogaards JJ, Evelo CT, Bast A. Inhibition of various glutathione S-transferase isoenzymes by RRR-alpha-tocopherol. *Toxicol In Vitro*. 2003;17(3):245-251.
- 52- Wintergerst ES, Maggini S, Hornig DH. Immune-enhancing role of vitamin C and zinc and effect on clinical conditions. *Ann Nutr Metab*. 2006;50(2):85-94.
- 53- Afkhami-Ardekani M, Shojaoddiny-Ardekani A. Effect of vitamin C on blood glucose, serum lipids & serum insulin in type 2 diabetes patients. *Indian J Med Res*. 2007;126(5):471-474.
- 54- Di Mascio P, Murphy ME, Sies H. Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *Am J Clin Nutr*. 1991;53(1):194-200.
- 55- Cos S, Gonzales A, Martinez-Campa C, Mediavilla MD, Alonso-Gonzales C, Sanchez-Barcelo EJ. Melatonin as a selective estrogen enzyme modulator. *Curr Cancer Drug Targets*. 2008;8(8):691-702.
- 56- Cardinali DP, Esquifino AI, Srinivasan V, Pandi-Perumal SR. Melatonin and the immune system in aging. *Neuroimmunomodulation*. 2008;15(4-6):272-178.
- 57- Tamura H, Nakamura Y, Terron MP, Flores LJ, Manchester LC, Tan DX, Sugino N, Reiter RJ. Melatonin and pregnancy in the human. *Reprod Toxicol*. 2008;25(3):291-303.
- 58- Jaworek J, Nawrot-Porabka K, Leja-Szpak A, Bonior J, Szklaczyk J, Kot M, Konturek SJ, Pawlik WW. Melatonin as modulator of pancreatic enzyme secretion and pancreatoprotector. *J Physiol Pharmacol*. 2007;5(6):65-80.

- 59- Chandrasena LG, De Silva LD, De Silva KI, Dissanayaka P, Peiris H. Changes in erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) and reduced glutathione (GSH) activities in the development of senile and diabetic cataracts. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2008;39(4):731-736.
- 60- Russo A, Longo R, Vanella A. Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin. *Fitoterapia*. 2002;73(1):21-29.
- 61- Dobrowolski JW, Vohora SB, Sharma K, Shah SA, Naqvi SA, Dandiya PC. Antibacterial, antifungal, antiamoebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *J Ethnopharmacol*. 1991;35(1):77-82.
- 62- Fesen MR, Pommier Y, Leteurtre F, Hiroguchi S, Yung J, Kohn KW. Inhibition of HIV-1 integrase by flavones, caffeic acid phenethyl ester (CAPE) and related compounds. *Biochem Pharmacol*. 1994;48(3):595-608.
- 63- Son S, Lobkowsk EB, Lewis BA. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE): synthesis and X-ray crystallographic analysis. *Chem Pharm Bull*. 2001;49(2):236-238.
- 64- Ozer MK, Parlakpınar H, Vardi N, Cigremis Y, Ucar M, Acet A. Myocardial ischemia/reperfusion-induced oxidative renal damage in rats: protection by caffeic acid phenethyl ester (CAPE). *Shock*. 2005;24(1):97-100.
- 65- Gurel A, Armutcu F, Sahin S, Sogut S, Ozyurt H, Gulec M, Kutlu NO, Akyol O. Protective role of alpha-tocopherol and caffeic acid phenethyl ester on ischemia-reperfusion injury via nitric oxide and myeloperoxidase in rat kidneys. *Clin Chim Acta*. 2004;339(1-2):33-41.
- 66- Okutan H, Ozcelik N, Yilmaz HR, Uz E. Effects of caffeic acid phenethyl ester on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rat heart. *Clin Biochem*. 2005;38(2):191-196
- 67- Wang D, Xiang DB, He YJ, Li ZP, Wu XH, Mou JH, Xiao HL, Zhang QH. Effect of caffeic acid phenethyl ester on proliferation and apoptosis of colorectal cancer cells in vitro. *World J Gastroenterol*. 2005;11(26):4008-4012.
- 68- McEleny K, Coffey R, Morrisey C, Fitzpatrick JM, Watson RW. Caffeic acid phenethyl ester-induced PC-3 cell apoptosis is caspase-dependent and mediated through the loss of inhibitors of apoptosis proteins. *BJU Int*. 2004;94(3):402-406
- 69- Nopmura M, Kaji A, Ma W, Miyamoto K, Dong Z. Suppression of cell transformation and induction of apoptosis by caffeic acid phenethyl ester. *Mol Carcinog*. 2001;31(2):83-89.
- 70- Watabe M, Hishikawa K, Takayanagi A, Shimizu N, Nakaki T. Caffeic acid phenethyl ester induces apoptosis by inhibition of NFkappaB and activation of Fas in human breast cancer MCF-7 cells. *J Biol Chem*. 2004;279(7):6017-6026.
- 71- Altınışik U. Sıçanlarda subletal doz ile oluşturulan akut diazinon toksisitesinde pankreas hasarının zamana göre değişimi. Tez Danışmanı Doç.Dr. Sadık Özmen. SDÜ Tıp Fakültesi, Isparta 2007

- 72- Harputluoglu MM, Kantarceken B, Karıncaoglu M, Aladag M, Yildiz R, Ates M, Yildirim B, Hilmioğlu F. Acute pancreatitis: an obscure complication of organophosphate intoxication. *Hum Exp Toxicol*. 2003;22(6):341-343.
- 73- Kawabe K, Ito T, Arita Y, Sadamoto Y, Harada N, Yamaguchi K, Tanaka M, Nakano I, Nawata H, Takayanagi R. Pancreatic pseudocyst after acute organophosphate poisoning. *Hukuoka Acta Medica*. 2006;97(4):123-129.
- 74- Frick TW, Dalo S, O'Leary JF, Runge W, Borner JW, Baraniewski H, Dressel T, Shearen JG, Goodale RL. Effects of insecticide, diazinon, on pancreas of dog, cat and guinea pig. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*. 1987;7(4):1-11.
- 75- Lee WC, Yang CC, Deng JF, Wu ML, Ger J, Lin HC, Chang FY, Lee SD. The clinical significance of hyperamylasemia in organophosphate poisoning. *J Toxicol Clin Toxicol*. 1998;36(7):673-681.
- 76- Goldman L, Ausiello D. Cecil Textbook of Medicine. Saunders W.B. (edi.) New York, 22. Baskı 2003 Cilt: 1:879-884.