

**T.C.  
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ACİL TIP ANABİLİM DALI**

**ACİL SERVİSE DELİ BAL ZEHİRLENMESİYLE BAŞVURAN  
HASTALARIN KAN, İDRAR VE YEMİŞ OLDUKLARI BALLARDAKİ  
GRAYANOTOKSİN DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Uzmanlık Tezi**

**Dr. Ali AYGÜN**

**TRABZON - 2015**

**T.C.  
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ACİL TIP ANABİLİM DALI**

**ACİL SERVİSE DELİ BAL ZEHİRLENMESİYLE BAŞVURAN  
HASTALARIN KAN, İDRAR VE YEMİŞ OLDUKLARI BALLARDAKİ  
GRAYANOTOKSİN DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Uzmanlık Tezi**

**Dr. Ali AYGÜN**

**Tez Danışmanı  
Prof. Dr. Abdülkadir GÜNDÜZ**

**TRABZON - 2015**

## ÖZET

*Uzmanlık eğitimim boyunca her konuda desteklerini esirgemeyen, kendilerinden bilimsel ve insani anlamda çok şeyler öğrendiğim ve tezimin hazırlanmasında çok değerli yardımları bulunan tez danışmanım Prof. Dr. Abdülkadir GÜNDÜZ'e, tecrübe ve bilgi birikimi ile bana ışık tutan saygıdeğer hocalarım Doç. Dr. Süleyman TÜREDİ'ye, Doç. Dr. Süha TÜRKMEN'e, Yrd. Doç. Dr. Yunus KARACA'ya ve Yrd. Doç. Dr. Aynur ŞAHİN'e, eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden istifade ettiğim tüm kıdemlilerime, beraber görev yaptığım tüm doktor, hemşire, teknisyen ve sağlık personeli arkadaşlarıma, her türlü fedakârlığı sergileyerek bugünlere gelmemi sağlayan anne ve babama, tanıdığım ilk günden beri her an sevgisini ve desteğini esirgemeyen biricik eşim Gamze AYGÜN'e ve biricik oğlum Süleyman Ayaz AYGÜN'e teşekkür ederim.*

*Uzmanlık tezimin yürütülmesi esnasından beni Yurt Dışı Doktora Sırası Araştırma Burs Programı (BİDEB 2214/A) kapsamında National Forensic Service, Daejeon Enstitü, Güney Kore'de burslandıran Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) yetkilileri ve çalışanlarına teşekkürü bir borç bilirim.*

Dr. Ali Aygün

Trabzon 2015

## ÖZET

### ACIL SERVİSE DELİ BAL ZEHİRLENMESİYLE BAŞVURAN HASTALARIN KAN, İDRAR VE YEMİŞ OLDUKLARI BALLARDAKİ GRAYANOTOXİN DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

**Giriş:** R. ponticum ve R. luteum bitkilerinin nektarlarından beslenen arıların ürettiği ve grayanotoksin içeren bala ‘Deli Bal’, ‘Tutan Bal’ ya da ‘Orman Gülü Balı’ denir. Orman gülü balından oluşan zehirlenmelerde hem baldaki toksin seviyesi hem de zehirlenmiş kişilerin vücut sıvılarında bu toksinin düzeyini gösteren çalışma bulunmamaktadır.

**Method:** Üniversite hastanesi Acil Servisinde Eylül 2013 ve Şubat 2015 tarihleri arasında deli bal zehirlenmesi tanısı konulan 25 vaka çalışmaya dahil edildi. Hastalardan tüketmiş oldukları deli bal numuneleri temin edildi. Hastaların kan, idrar örnekleri acil servise başvurduklarında tedavi sırasında alındı. Eş zamanlı olarak hastaların başvuru sırasındaki klinik verileri çalışma formuna işlendi. GTX 1 ve GTX 3 seviyeleri hastaların kan, idrar ve tüketilen bal örneklerinden eş zamanlı olarak LC-MS/MS sistemiyle analiz edildi.

**Bulgular:** Hastaların %60 ında baş dönmesi, %56 da bulantı, % 28 kusma, %44 ünde senkop görüldü. Ortalama sistolik kan basıncı 85,40 mmHg, diyastolik kan basıncı 51,60 mmHg idi. kalp hızı 42,68/dk idi. Hastaların kan ortalama GTX 1 miktarı 4,82 ng/mL, GTX 3 miktarı 6,56 ng/mL; idrar ortalama GTX 1 miktarı 0,036 µg/mL, GTX 3 miktarı 0,391 µg/mL; tüketilen deli ballardaki ortalama GTX 1 miktarı 8,73 µg/gr, GTX 3 miktarı 27,60 µg/gr idi. SKB≤90mmHg ve SKB>90mmHg olan hastaların kan, idrar ve yedikleri ballardaki GTX seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı. Kalp hızı <50/dk olan hastaların kan, idrar ve yedikleri ballardaki GTX seviyeleri arasında ilişki bulunmadı. Kalp hızı ≥50/dk olan hastaların hiçbirinde GTX 3 saptanmadı (p=0,00).

**Sonuç:** Bu tanımlayıcı çalışma ile ilk kez deli bal zehirlenmeli hastaların vücut sıvılarında grayanotoksin seviyeleri gösterildi. Hastaların kan grayanotoksin düzeyleri ve klinik verileri arasında ilişki kurulamadı.

**Anahtar Kelimeler:** Deli Bal, Grayanotoxin, LC-MS/MS, Rhododendron, Kan, İdrar, Nabız Hızı, Kan Basıncı.

## SUMMARY

### GRAYANOTOXIN LEVELS IN BLOOD, URINE AND HONEY AND THEIR ASSOCIATION WITH CLINICAL STATUS IN PATIENTS WITH MAD HONEY INTOXICATION

**Aim:** Grayanotoxin-containing honey produced by bees fed on nectars from the plants *Rhododendron ponticum* and *Rhododendron luteum* is known in Turkey as 'Mad Honey' or 'Rose of the Forest Honey.' No studies have shown the level of toxin in both honey and the body fluids of affected individuals in intoxications caused by rose of the forest honey. The purpose of this study was to investigate whether there is an association between grayanotoxin levels in urine and blood of patients with mad honey intoxication and in the honey consumed, and the resulting clinical picture.

**Method:** Twenty-five cases diagnosed with mad honey intoxication at a university hospital emergency department between September 2013 and February 2015 were included in the study. Samples of mad honey consumed by patients were obtained. Blood and urine specimens were collected at presentation to the emergency department. Clinical data at time of presentation were entered onto study forms. GTX 1 and GTX 3 levels from patients' blood and urine and from honey consumed were investigated simultaneously using the LC-MS/MS system.

**Results:** Dizziness was observed in 60% of patients, nausea in 56%, vomiting in 28% and syncope in 44%. Mean systolic blood pressure (SBP) was 85.40 mmHg, diastolic blood pressure 51.60 mmHg and heart rate 43/min. Mean GTX 1 concentration in blood was 4.82 ng/mL and mean GTX 3 level 6.56 ng/mL. Mean GTX concentration in urine was 0.036 µg/mL and mean GTX 3 level 0.391 µg/mL. Mean GTX I concentration in honeys consumed was 8.73 µg/gr and mean GTX 3 level 27.60 µg/gr. No statistically significant correlation was determined between GTX levels in urine and blood or in honey consumed in patients with  $SBP \leq 90$  mmHg or  $SBP > 90$  mmHg. No correlation was also determined between GTX levels in urine and blood or in honey consumed in patients with heart rate  $< 50$ /min. No GTX 3 was detected in any patient with heart rate  $\geq 50$ /min ( $p=0.00$ ).

**Conclusion:** This descriptive study is the first to show grayanotoxin levels in body fluids of patients with mad honey intoxication. No association was determined between grayanotoxin levels in blood and clinical data.

**Key Words:** Mad honey, Grayanotoxin, LC-MS/MS, Blood, Urine, Pulse rate, Blood pressure

# İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa No</b>
ÖZET .....	iii
SUMMARY .....	iv
İÇİNDEKİLER .....	v
KISALTMALAR DİZİNİ .....	vi
TABLolar DİZİNİ .....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Deli Bal Tarihi .....	3
2.2. Rhododendronlar .....	5
2.2.1. İnsanlar İçin Toksik Olan Rhododendron .....	6
2.3. Grayanotoksin .....	7
2.4. Grayanotoksinlerin Kimyasal Yapısı .....	7
2.5. Deli Bal Zehirlenmesinde Klinik .....	9
2.6. Deli Bal Zehirlenmesi Tanısı .....	11
3. MATERYAL VE METOD .....	12
3.1. Deli Bal, Kan ve İdrar Örneklerin Toplanması .....	12
3.2. Kimyasal Maddeler ve Belirteçler .....	12
3.3. Grayanotoksin Standartın ve Örneklerin Hazırlanması .....	13
3.3.1. Grayanotoksin Standartının Hazırlanması .....	13
3.3.2. Kan Örneklerin Hazırlanması .....	13
3.3.3. İdrar Örneklerin Hazırlanması .....	14
3.3.4. Bal Örneklerinin Hazırlanması .....	14
3.4. Liquid Chromatography and Mass Spectrometer (MS) Koşulları .....	15
3.5. Kan, İdrar ve Deli Bal Örneklerindeki GTX Seviyelerin Hesaplanması .....	15
3.6. İstatiksel Analiz .....	16
4. BULGULAR .....	17
5. TARTIŞMA .....	24
5.1. Çalışmanın Kısıtlamaları .....	27
6. SONUÇ .....	28
7. KAYNAKLAR .....	29

## KISALTMALAR DİZİNİ

<b>Rh</b>	: Rhododendron
<b>R. ponticum</b>	: Rhododendron ponticum
<b>R. luteum</b>	: Rhododendron luteum
<b>GTX</b>	: Grayanatoksin
<b>AV</b>	: Atrioventriküler
<b>EKG</b>	: Elektrokardiografi
<b>ACLS</b>	: İleri Kardiyak Yaşam Desteği
<b>KAH</b>	: Koroner Arter Hastalığı
<b>SF</b>	: Serum Fizyolojik
<b>M.Ö</b>	: Milattan Önce
<b>GRAY</b>	: Grayanotoksin
<b>DSÖ</b>	: Dünya Sağlık Örgütü
<b>IV</b>	: İntravenöz
<b>Na-K ATP az</b>	: Sodyum- Potasyum Adenozidin Trifosfataz
<b>SPE</b>	: Solid Faz Ekstraksiyonu
<b>FDA</b>	: Gıda ve İlaç İdaresi
<b>LC</b>	: Liquid Chromatography
<b>MS</b>	: Mass Spectrometer
<b>IS</b>	: Internal Standart
<b>PEP</b>	: Polymer Enhanced Polymer
<b>HPLC</b>	: High-performance liquid chromatography
<b>B</b>	: Bal
<b>İ</b>	: İdrar
<b>K</b>	: Kan
<b>SD</b>	: Standart Deviasyon

## TABLolar DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
Tablo 1. İnsana Toksik Grayanotoksin Kaynakları.....	7
Tablo 2. Acil Servise Deli Bal Zehirlenmesiyle Başvuran Hastaların Demografik ve Klinik Özellikleri .....	17
Tablo 3. Acil Servise Deli Bal Zehirlenmesiyle Başvuran Hastaların Kan, İdrar ve Tüketilen Deli Bal GTX 1 ve GTX 3 ortalama, SD, Minimum ve Maximum Değerleri .....	19
Tablo 4. Acil Servise Deli Bal Zehirlenmesiyle Başvuran Hastaların Kan, İdrar ve Tüketilen Deli Bal GTX 1 ve GTX 3 Değerleri .....	20
Tablo 5. Hastaların Kan, İdrar ve Yedikleri Ballardaki GTX Düzeyi ile Sistolik Kan Basıncı ve Kalp Hızı Arasındaki İlişki.....	21



## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1. Ülkemizin Doğal <i>Rhododendron</i> (Orman gülü) Türlerinin İri ve Gösterişli Çiçekleri: a- <i>R.ponticum</i> , b- <i>R. ungeronii</i> , c- <i>R. smirnovii</i> , d- <i>R. luteum</i> , e- <i>R. caucasicum</i> (Foto S. Terzioğlu).....	6
Şekil 2. Grayanotoxinin Kimyasal Yapısı: Grayanotoksin I, II ve III'ün Genel Kimyasal Yapısı .....	9
Şekil 3. Acil Servise Deli Bal Zehirlenmesiyle Başvuran Hastaların Klinik Semptomların Yüzde Dağılımı .....	18
Şekil 4. Acil Servise Deli Bal Zehirlenmesiyle Başvuran Hastaların Tüketikleri Balların Üretim Yerleri .....	18
Şekil 5. Hastaların Kan GTX 3 ve Sistolik Kan Basıncı Seviyeleri Arasındaki İlişki Dağılımı.....	21
Şekil 6. Hastaların Kan GTX 3 ve Kalp Hızı Seviyeleri Arasındaki İlişki Dağılımı.....	22
Şekil 7. Hastaların Kan GTX 1 ve Sistolik Kan Basıncı Seviyeleri Arasındaki İlişki Dağılımı.....	22
Şekil 8. Hastaların Kan GTX 1 ve Kalp Hızı Seviyeleri Arasındaki İlişki Dağılımı.....	23

# 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Balın dünyada toksik etkisi bilinen birkaç türünden [Ericaceae (Rhododendron, Azalea, Arbutus, Andromeda, and Kalmia); Solanaceae (Datura, Hyoscyamus, and Atropa); Compositae (Senecio jacobaea or Kanaryaotu); Lagonaceae (Gelseminum); Ranunculaceae (Aconitum)] sadece Rhodendron cinsine ait türler Türkiye'nin Kuzey Bölgesi'nde yetişmekte ve bunların çiçeklerinde biriken nektarlar bala geçmektedir (1). Bu bitkilerin nektarlarından beslenen arıların ürettiği ve grayanotoksin içeren bala 'Deli Bal' ya da 'Tutan Bal' denir (2).

Toksin ihtiva eden türlerden mor çiçekli (Rhododendron ponticum) ve sarı çiçekli (Rhododendron luteum), Türkiye'de Doğu Karadeniz'in yüksek kesimlerinde geniş alanlarda yayılım göstermektedir (3). Zehrin etkisinin söz konusu Rhodendron cinsine ait bitkilerin çiçeklerinin açtığı dönemdeki hava şartlarıyla da ilgili olduğu düşünülmektedir. Çiçeklerin açtığı ilk günlerde yağmur az yağarsa grayanotoksin etkisi artmakta ve çiçeklerden üretilen baldaki toksin miktarı fazla olduğundan tüketicilerin zehirlenme ihtimali de artmaktadır. (4,5).

Dünyada en fazla Türkiye de üretimi yapılan orman gülü balı (deli bal), Ericaceae familyasının R.ponticum ve R.luteum türlerinin nektar ve polenlerinin bal arıları tarafından toplanması ile oluşan doğal bir üründür (6). Orman gülü balından oluşan zehirlenmelerde hem baldaki toksin seviyesi hem de zehirlenmiş kişilerin vücut sıvılarında bu toksinin düzeyini gösteren çalışma bulunmamaktadır. Toksik etkileri nedeniyle, araştırmacılar bugüne kadar bitki ve bal örneklerinden grayanotoksini belirlemek ve karakterize etmek yada yeni bir grayanotoksin sentezlemeye yönelik çalışmalar yapmaya yoğunlaşmışlardır. Son 20 yılda, sıvı kromatografisi-kütle spektrometrisi/ kütle spektrometri (LC-MS/MS) ve son zamanlardaki sıvı kromatografisi uçuş zamanlı kütle spektrometrisi (LC-TOF-MS) grayanotoksinlerin biyolojik materyallerden (yaprak, çiçek ve bal) belirlenmesini mümkün kılmaktadır (7). Hostege ve arkadaşları (2000) grayanotoksinler için iki tabakalı kromatografi ve daha sonra saflaştırma ve izolasyon için SPE kolonlarını kullanarak geliştirilmiş bir izolasyon ve saflaştırma yöntemi tariflediler. Araştırmacılar ayrıca, biyolojik numunelerden grayanotoksinin (GTX) tespit etmek ve yapısını analiz etmek için çalıştılar (8). Hostege ve arkadaşları (2001), daha sonra

işkembe içeriği, dışkı ve idrar dahil olmak üzere biyolojik numunelerde GTX I, II ve III kantitatif tespitine olanak sağlayan hızlı bir LC-MS/MS yöntemi geliştirdiler. Bu yöntemle bileşiklerin tespit edilmesi pozitif iyon elektrosprey iyonizasyon ve iyon trap kütle spektrometresi temeline dayanmaktadır. Kuşkusuz onların geliştirdiği bu hassas belirleme yöntemi toksikoloji ve ilgili laboratuvarlar için kullanım imkanı sağlamıştır. (9).

Bu alışma ile deli bal zehirlenmeli hastaların kan, idrar ve yemiş oldukları ballardaki grayanotoksin düzeyleri ile hastanın kliniği arasında bir ilişki olup olmadığını araştırmayı amaçladık. Ayrıca yine yenmiş olunan baldaki grayanotoksin miktarı ile hastanın kliniği arasındaki ilişki ortaya çıkarılarak hastanın yemiş olduğu balın az veya çok zehirli olup olmadığına karar verebilmeyi ummaktayız.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Deli Bal Tarihi

Orman gülü ya da Latince adı ile Rhododendron'lar sadece kuzey yarım kürede 850'den fazla tür bulundurur. Avrupa'da Alp Dağları, doğuda Kafkas ve Himalaya Dağları gibi geniş bir alana yayılmışlardır. Türkiye'de Karadeniz bölgesinde 800 metre yükseklikteki ormanlık alanlarda yetişen, literatürdeki adı "Rhododendron Pontica" olan ve halk arasında orman gülü olarak bilinir.

Deli bal normal ballardan daha kırmızı ve kahverengi bir renge sahiptir. Keskin özel bir koku ihtiva eder. Kaynatılır ve uzun süre bekletilirse toksisitesinin kaybolacağı düşünüldüğünden, halk arasında bu balın sütle kaynatılıp köpüğü alınmak suretiyle zehirsiz hale geleceğine dair bir inanç vardır. Türkiye de "deli bal, tutan bal, kara ağı" veya "acı bal" olarak da isimlendirilir. Tıbbi literatürün yanı sıra tarih kitaplarında da konu hakkında dikkat çekici bilgiler bulunmaktadır. Deli bal ve deli bal zehirlenmeleri ile ilgili antik kitaplarda çok önemli bilgiler geçmektedir. M.Ö. 23 - M.Ö. 79 yılları arasında yaşayan ünlü doğa bilimcisi Gaius Plinius Secundus "Natural History" adlı eserinde deli bal ve onun zehir özelliği ile ilgili şu bilgiler ".....gerçekten arıların besinleri o kadar önemlidir ki; bu yüzden ballarında zehirle bile karşılaşabiliriz. Pontus'da, Herakleia'da aynı arıdan olan ballar birkaç yıl sonra öldürücü olabilmektedir" yer almaktadır (10).

Deli bal zehirlenmesi, ilk kez M.Ö. 401'de Atinalı tarihçi ve ordu komutanı Ksenophon (M.Ö 430-355) ve onun askerlerinin maruz kaldığı bir durum olarak tarih kitaplarında söz konusu olmuştur. Tanju Gökçöl tarafından Türkçeye "Anabasis, Onbinlerin Dönüşü" olarak çevrilen bu eserde Trabzon Kenti içerisindeki Makronlarla mücadele eden Ksenophon ve askerlerinin maruz kaldığı deli bal zehirlenmesi ve ardından yaşanan gelişmelerden şu şekilde bahsedilmektedir: "..... doruğa ulaşan Yunanlılar bol erzak dolu birçok köyde konakladılar. Bu köyde onları şaşırtan bir tek şeyle karşılaştılar: Birçok kovan vardı ve bu kovanlardaki peteklerden bal yiyen askerler kustular, ishal oldular ve içlerinden hiçbiri ayakta duramıyordu; az yiyenler körkütük sarhoş olmuş insanlara, çok yiyenlerse azgın çılgınlara hatta can çekişen insanlara benziyorlardı. Bu durumda birçoğu bir bozgun sonrasındaymış gibi

yere serilmiş ve büyük bir umutsuzluk başlamıştı. Ertesi gün kimsenin ölmediği görülmüş ve sarhoşluk yaklaşık olarak bir gün önce başladığı saatte sona ermişti. Üçüncü ve dördüncü gün ise, müşil almış gibi bitkin düşmüş halde ayaklandılar”. Bu eserden anlaşılacağı üzere Trabzon bölgesinde yaşayan Makronların arıcılıkla uğraştıkları ve bölgeye özgü olan deli balı ve onun zararlı etkilerinden haberdardır . Ayrıca Makronlar, bu balın bir tüketim maddesi olmasının yanı sıra ondan biyolojik silah olarak da faydalanılabileceğini keşfeden ilk topluluktur (11).

Pontos Kralı Mithradates VI Eupator (M.Ö. 120-63) dönemine ait deli bal ve kullanılış amacı ile ilgili benzer bilgiler vardır. Mithradates’in tabiat bilimi ve toksikoloji bilimine yoğun bir ilgisi vardı. Kralın zehirler için panzehirler ürettiği bilinmektedir. Bu alanlarda kendini geliştiren Mithradates, Kuzey Anadolu’da Roma generali Pompeius’un ordularına karşı bu bilgilerini bir silah olarak kullanmıştır. Mithradates ilerleyen Romalıların yolu üzerine içi deli bal ile dolu petekler yerleştirip ve taktiksel bir geri çekilme yapılması ve ardından bu petekten yiyen Romalıları bitkin düşerek kolayca etkisiz hale getirmesi bunun en güzel örneğidir. Strabon (M.Ö. 64 - M.S. 21) eserinde bu konu şu şekilde geçmektedir: “Heptakometler, Pompeius’un dağlık ülkesinden geçerken üç Roma bölüğünü imha etmiştir. Bunlar ağaç süngülerinden elde edilen deli balını kâselerle yol üzerine bıraktılar ve askerler bunu yiyip de bilinçlerini kaybedince onlara saldırarak kolayca hepsini saf dışı ettiler”. Bu iki olaydan da anlaşıldığı gibi deli balı antik çağlarda biyolojik silah olarak da yararlanılmaktadır (12).

XIX. yüzyılın ilk çeyreğinde Karadeniz Bölgesini ziyaret eden dönemin Fransız seyyahlarından Par Le Colonel Rottiers, Trabzon şehrine geldiğinde buradaki Fransız konsolosu Pierre Dupre’den deli bal hakkında bilgiler edindi. Dupre, kendisine bu balın *Rhododendrum Poticum* (=orman gülü) çiçeğinin öz suyundan yapıldığını ve bunu tüketen insanların baygın bir şekilde hastanelik olduklarını anlatırken, özellikle yöre halkının bu çiçeklerin açtığı mevsimde bu balı uzak durduklarını bildirdi. Günümüze kadar deli bal zehirlenmesi ile ilgili bildirilen vakaların çoğu Türkiye’de görüldü ve bunların çoğunluğu da Karadeniz Bölgesinde meydana geldi (12). Dünyada ise en çok Nepal, Birleşik Devletler ve Kanada’nın batısında deli bal zehirlenmesi vakaları görüldü. Avrupa ve Kuzey Amerika’da karşılaşılan deli bal zehirlenmesi ile ilgili vakalar ilk kez XIX. yüzyıldan itibaren

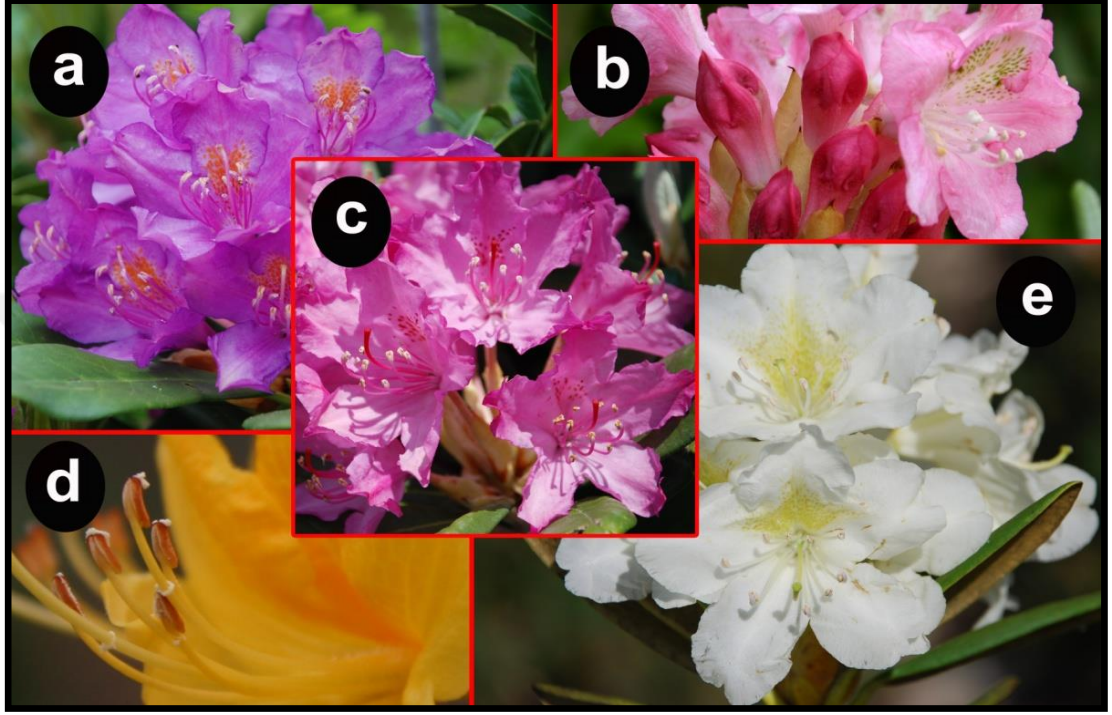
kaydedildi. 1794 yılında deli bal zehirlenmesi hakkındaki çalışmalarını ve bunun sonucunda ortaya çıkan bulguları Amerikan Filozoflar Topluluğu'na sunan Barton, 1802 yılında bu çalışmalarını yayınladı. Daha sonra 1855'de Coleman, New Jersey'de 14 ve Brabchville'de 23 hasta üzerinde yaptıkları çalışmaları bildirdi. Kebler 1986 yılında New Jersey'de 8 adet deli bal zehirlenme vakasını inceleyerek vardığı sonuçlar ortaya koydu. Bunlara ek olarak 1891 yılında Plugge, Ericaceae familyasından birçok bitki üzerinde çalışma yapmış ve bu bitkilerdeki aktif maddenin andromedotoxin (grayanatoksin) olduğunu bulmuştur (13).

Bucak Türkiye'de ilk kez deli bal ile ilgili araştırma yapmıştır ve balı mikroskopik olarak inceleyerek içindeki Rhododendron polenlerini izole etmiştir (11). Biberoglu ve arkadaşları 1984 ile 1986 yılları arasında deli baldan zehirlenen 16 hastayı incelemiş, bu ballarda grayanotoksin tespit etmiştir (14). 1991 yılında Onat ve arkadaşları ratların peritonuna deli bal enjekte etmişler ve bu ratların kalp hızlarının düştüğünü ayrıca solunum paternlerinin değiştiğini tespit etmişlerdir (15). Özhan ve arkadaşları 2002 yılında acil servislerine başvuran bal zehirlenmesi düşündükleri 19 vakayla retrospektif bir çalışma yapmışlardır. 19 vakanın 15'inde sinüs bradikardisi, 4'ünde ise AV tam blok tespit etmişlerdir. Hastaların 30–180 mg arasında bal yedikleri tespit edilmiş olup, hepsi 2–9 saat arasında 0,5–2 mg atropine cevap vermişlerdir ve 24 saat içerisinde kan basınçları düzelmiştir (16). 2007 yılında Gündüz ve arkadaşları ise deli bal zehirlenmesi sonucu kardiyak arrest gelişen hastaya atropin ve sıvı resusitasyonundan sonra pacemaker takıldığını bildirmişlerdir (17).

## 2.2. Rhododendronlar

Ülkemizin nemli Kuzey ormanlarında batıdan doğuya geniş bir bant şeklinde yayılım gösteren Ormangülleri (*Rhododendron* L.) başta bal üretimi olmak üzere, değişik yöresel kullanım alanlarıyla da dikkat çekmektedir. Türkiye'de beş adet doğal türün yanında, dört adet melez Orman gülü türü de doğal olarak ülkemiz bitki örtüsünde yetişmektedir. Çoğunlukla yeşil olan derimsi-parlak yaprakları ve bir avizeyi andıran değişik renklerdeki çiçekleri (Şekil-1) nedeniyle süs bitkileri olarakta kullanılmaktadır. Halk arasında “Komar-Kumar, Ağı-Ağu, Zifin-Çifin” gibi adlar

verilse de orman glü türlerinin isimlendirilmelerinde; çiçek renkleri, yayılış özellikleri ve melez olup olmamaları kullanılmaktadır. Ülkemiz de en yaygın görülen tür *Rhododendron ponticum* ve *Rhododendron luteum* ‘dur ve Türkiye’nin kuzey kesiminde kuşak şeklinde yayılım gösterir (18,19).



şekil 1. Ülkemizin Doğal *Rhododendron* (Orman glü) Türlerinin İri ve Gösterişli Çiçekleri: a-*R.ponticum*, b-*R. ungerii*, c-*R. smirnovii*, d-*R. luteum*, e- *R. caucasicum* (Foto S. Terzioğlu)

### 2.2.1. İnsanlar İçin Toksik Olan Rhododendron

Grayanotoksini yapısında az veya çok bulunduran türler **Tablo 1**’de gösterilmiştir (20,21).

Tablo 1. İnsana Toksik Grayanotoksin Kaynakları (19,20).

Species	Family	Grayanotoxin*
<b>Agauria spp. (DC.) Hooker</b>	<b>Ericaceae</b>	+
<b>Andromeda (Pieris) L.</b>	<b>Ericaceae</b>	
<i>Pieris japonica</i> (Thunb.) D. Don	Ericaceae	+++
<b>Rhododendron L.</b>	<b>Ericaceae</b>	
<i>R. luteum</i> Sweet	Ericaceae	++
<i>R. ponticum</i> L.	Ericaceae	++
<i>R. occidentale</i>	Ericaceae	+
<i>R. macrophyllum</i>	Ericaceae	+
<i>R. albiflorum</i>	Ericaceae	+
<i>R. maximum</i> L.	Ericaceae	++
<i>R. japonicum</i> (Gray) Suringar	Ericaceae	+
<i>R. catawbiense</i> Michx.	Ericaceae	+++
<b>Kalmia L.</b>	<b>Ericaceae</b>	
<i>Kalmia latifolia</i> L.	Ericaceae	+
<i>K. angustifolia</i> L.	Ericaceae	+++
<b>Pernettya Gaud.</b>	<b>Ericaceae</b>	
<i>P. coriacea</i> Klotzsch	Ericaceae	++

\* Bulunma oranı (spektroskopik veri); “+, az”, “++, orta” ve “+++, çok”.

### 2.3. Grayanotoksin

Grayanotoksinler (GTX) toksik diterpenler grubunda yer alır ve GTX-I’ den tiplenerek GTX-II ve GTX-III’ ü meydana getirirler. Bu doğal toksinler *Rhododendron* ve *Kalmia* gibi türlerin yaprak, çiçek ve nektar salgısında önemli bir miktarda bulunur. Bal arıları bu bitkilere ait polenleri ve nektar salgısını alırken bu bileşikler de alıp kovandaki peteklere aktarırlar. Nektar bal peteğine aktarıldığında bu bileşikler detoksifiye olmazlar. Balların toplanma aşamasında veya sonrasında ballar tüketildiğinde GTX’ lerin toksik etkileri meydana çıkar. Bu nedenle çok eski yıllardan beri “*tutan bal*” veya “*deli bal*” olarak adlandırılır (22).

### 2.4. Grayanotoksinlerin Kimyasal Yapısı

Lipid çözünebilir olan grayanotoksinler uçucu olmayan toksik diterpenlerdir. Günümüzde grayanotoksinler olarak bilinen bu toksik diterpenler eskiden çoklu hidroksilli halkalı hidrokarbon bileşikler olarak andromedotoksin, asetil andremodol



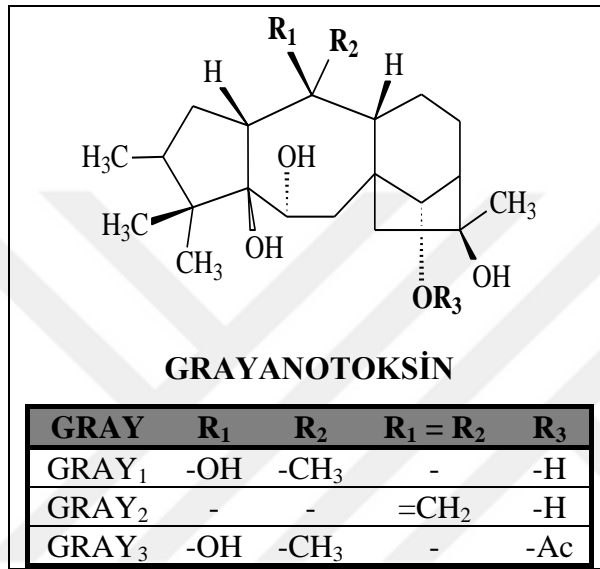
ve rodotoksin olarak bilinmekteydi. Bu bileşikler kararlı ve 300°C' ye kadar yüksek sıcaklıklara dayanıklıdır. Şu ana kadar 18 adet bilinen formu ve 60 adet türevi tespit edilmiştir. GTX-II hariç ,GTX-I ve GTX-III yaygın olarak değişiklik gösterebilir ve tümü çok düşük derişimlerde *Rhododendron* türlerini de içeren GTX türevlerinin oluşturulmasında ara bileşik rolüne sahiptir. 10, 20-epoxy-grayanotoxin-II'nin, GTX-I, GTX-III ve diğerlerini onların C (10) türevlerine dönüştürmede anahtar bir role sahip olduğu belirtilmiştir. Fakat bu türevin toksisitesi ile ilgili şuna kadar bir bulgu saptanmamıştır. Transformasyon yeni GTX' lerin oluşumunda son derece önemlidir. GTX-III' ün 9 $\alpha$ - ve 9 $\beta$ -hydroxygrayanotoksini buna güzel bir örnektir. Bu türevlerin toksisitesi doğal GTX-II ile karşılaştırıldı ve GTX-III' ün 9 $\alpha$ - ve 9 $\beta$ -hydroxygrayanotoksin türevlerinin bilinen toksisiteyi yaptığı saptandı. Bunun yanında, GTX-III' ün, bir seri oksidasyon basamaklarından sonra 10-epi-GTX-III' e transforme olduğu bildirilmiştir ve doğal GTX-III' ün akut toksik dozu 10-epi-GTX-III' ün yaklaşık iki katı olduğu bulunmuştur. Literatüre bakıldığında, grayanotoksinlerin bu türevlere olan doğal parçalanması hakkında bir bulgu olmadığını saptanmıştır (22).

En son 60 farklı grayanotoksin çeşidi tespit edilmiş olup bunlardan primer toksik içeriklere sahip olanlar grayanotoxin I, -III ve VI' dir (3,23). Grayanotoxinin genel kimyasal yapısı **Şekil-2** de gösterilmiştir.

Grayanotoxinin hücre üzerindeki toksik etkileri sodyum kanalları üzerinden meydana gelir. Maejima tarafından yapılan derlemeye göre grayanotoksinin voltaj bağımlı Na kanalları üzerine etkisi 3 aşamalıdır. İlk olarak grayanotoksin voltaj bağımlı kanalların açılma fazında bu kanallara bağlanır daha sonra kanallar modifiye olur ve en son olarak da modifiye Na kanallarının aktivasyon potansiyeli hiperpolarizasyonuna neden olur. Bu durum sonucunda hücre membranında voltaj bağımlı aktivasyon veya inaktivasyon meydana gelir (5).

Vagus siniri üzerinden inhibitor etkisi de bilinen diğer bir etki mekanizmasıdır. Onat ve arkadaşları, farelerde grayanotoksinin bradikardi ve respiratuvar depresyona sebep olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada grayanotoksinin bradikardik etkisinin bileteral vagotomi ile ortadan kalktığı ve grayanotoksinin bradikardik etkilerinin, N.vagus ile periferal yoldan oluştuğunu göstermiştir. Bir başka fare deneyinde Onat, grayanotoksinin indüklediği

bradikardinin ve respiratuar depresyonun non-spesifik antimuskarinik bir ajan olan atropin ile düzeldiğini sonucuna varmıştır. Selektif M<sub>2</sub>-Muscorinik reseptör antagonisti olan AF-DX116 uyguladıkları farelerde ise bradikardi düzelmiş fakat respiratuar sistem üzerine bir etkisi olmamış ve solunum depresyonu düzelmemiştir. Bu bulgulara eşliğinde Onat, grayanotoksinin kardiotoksik etkisinin M<sub>2</sub>-Muscorinik reseptörler üzerinden geliştiği sonucuna varmıştır (15).



Şekil 2. Grayanotoxinin Kimyasal Yapısı: Grayanotoksin I, II ve III'ün Genel Kimyasal Yapısı (3).

## 2.5. Deli Bal Zehirlenmesinde Klinik

Hastalarda görülen en sık bulgular bulantı, kusma, baş dönmesi, sersemlik hissi ve bayılacak gibi olma hissi deli bal yenmesinden sonra görülmektedir. “bal tutması” olarak bilinen bu durumla karşılaşınca bu iyi bilindiği bölgelerde halk genellikle hastaneye gitmemektedir. Zehirlenen kişiler bal tutmasının olduğu yerde dinlendirilmekte, tuzlu su ve tuzlu ayran gibi doğal tedavi yöntemleri uygulanmaktadır. Doğal tedavi sonrası ya da yalnızca yatırılarak bir süre dinlendirilen hastalar kendiliğinden saatler içerisinde iyileşmektedir. Genelde bayılma gibi daha ağır klinik tabloları olan hastalar hastaneye başvurmaktadır. En sık, kardiyovasküler sistem bulguları görülmektedir. Bu bulgulara sıklıkla kardiyak aritmi eşlik etmektedir. Günümüze kadar bildirilen vakaların hemen hemen

tamamında kardiyak aritmi mevcuttur. Nonspesifik bradiaritmi, nodal ritim, atrioventriküler ( AV ) tam blok ve 2. derece AV bloklar bildirilmesine rağmen en sık sinüs bradikardisi görülmektedir. Hastaneye başvuran hastalar incelendiğinde hastaların çoğunda ( %90'ında) görülen klinik bulgular; bulantı, kusma, bradikardi ve hipotansiyondur. Hastaların daha az bir kısmında ( %70'inde) yorgunluk, terleme, sersemlik hissi, baş dönmesi ve bilinç değişikliği gibi bulgular görülmektedir. Hastaların yaklaşık 1/3 ünde senkop oluşmaktadır. Görme keskinliğinde azalma ve çift görme de literatürde bildirilen klinik şikayetlerdendir. Farklı oranlarda görülmekle beraber boğazda takılma hissi, solunum sıkıntısı, siyanoz, titreme, tükürük salgısında artış, baş ağrısı, yüzde kızarma, titreme gibi semptomlar da deli bal zehirlenmesinde oluşabilmektedir. Deli bal sonrası tonik klonik tarzda nöbet geçirme ile hastaneye başvuran bir çocuk hasta vakası bildirilmiştir. Ancak GTX nöbet oluşumu ile ilgili yapılan bir deneysel çalışmaya göre ise sorumlu bulunmamıştır. Hayvan çalışmalarında gösterilen kan şekerini düzenleme etkisi, renal ve hepatik toksisite insan vaka serilerinde bildirilmemiştir (24).

Deli bal zehirlenmesinde semptomlar doz bağımlıdır. Zehirlenmenin gerçekleşmesi için 5-30 g bal yeterlidir. Zehirlenmenin görüldüğü ortalama yaş grubu 49 dur ve vakaların büyük çoğunluğu erkektir ( % 80,7 ). Semptomların ortaya çıkışı alınan miktara bağlı olarak bir kaç dakika ile iki saati aşan sürelerde olabilir. Semptomlar zehirlenmenin şiddetine bağlı olarak bir kaç saatten bir kaç güne kadar devam edebilmektedir. Deli bal zehirlenmesinde akut koroner sendrom ile uyumlu semptom ve bulgular gelişebileceğinin gösterildiği vakalar da mevcuttur. Deli bal zehirlenmesinde akut koroner olay mekanizmasının gelişen hipotansiyon ve bradikardiye sekonder koroner kan akımı yetersizliği olduğu düşünülmektedir. Deli bal zehirlenmesinde bahsedilen klinik tablolar birçok hastalık kliniği ile hatta birçok zehirlenme ile karışabilir. Bundan dolayı özellikle zehirlenmenin endemik olduğu bölgeler başta olmak üzere bu sık karşılaşılan hasta semptomları ile gelen hastalarda bal yeme öyküsünün sorgulanması, deli bal zehirlenmesinin akla getirilmesi önemlidir. Zehirlenen hastalar yeterli serum fizyolojik ile destek tedavi ve 1-2 mg intravenöz atropin ile genelde düzelmeye gösterirler. Bu tedaviye cevap vermeyen hastalarda İleri Kardiyak Yaşam Desteği Klavuzu (ACLS) da yer alan bradikardi algoritmasının uygulanması uygun olacaktır. Bu tedaviye rağmen düzelmeyen

hastalara geçici pacemaker kullanımı gerektiren vakalar bildirilmiştir. Hafif zehirlenmelerde 2–6 saat kardiyak monitorizasyondan sonra hasta güvenli bir şekilde taburcu edilebilir. Tedavi edilmemiş ciddi zehirlenmelerde önemli semptomlar ve belirtiler en geç 24 saat içinde kaybolur. Bu sürenin sonuna kadar tüm vital bulgular normale döner (3).

## **2.6. Deli Bal Zehirlenmesi Tanısı**

Günümüzde kliniklerde deli bal zehirlenmesi tanısı; hipotansiyon ve bradikardi semptomlarıyla başvuran hastalarda öyküde deli bal tüketiminin sorgulanması, şikayetlerin bu balı yedikten sonra başlaması, vital bulgular ve klinik semptomların varlığı ile konulmaktadır. Birçok klinikte bu hastaların vücut sıvılarında ve yedikleri ballardaki grayanotoksin seviyelerini kesin tespit edecek laboratuvar testi veya yöntem uygulanmamaktadır. Bu tür zehirlenmeli hastaların kan, idrar örnekleri ve yemiş oldukları ballar ile yapılan çalışma yoktur. Bu tür zehirlenme ile ilgili oluşturulan deney protokollerinde yapılmış çalışmalar mevcuttur (25).

Holstege ve arkadaşları (2000,2001) önceki hayvan çalışmalarında GTX tespit etme ve miktarını belirlemek için LC-MS/MS kullandı. Fakat kullandıkları yöntem çok zaman alıcı ve karmaşıktı. Ayrıca LC-MS/MS' in analitik koşullarında kabul edilebilir doğrusallık, kesinlik ve kurtarma özellikleri açısından belirsizlikler vardı. Cho ve arkadaşları (2014) ilk kez deney ortamında fare kanındaki GTX miktarını tespit ederek hassas, güvenilir ve geçerli nicel bir LC-MS/MS yöntemi geliştirdi. Kan numuneleri kullanılarak GTX miktarı tespiti, örnekleme ve algılamadaki belirsizlikleri elimine etmiştir (26).

### 3. MATERYAL VE METOD

Bu tanımlayıcı klinik çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Acil A.B.D' da yapıldı. Çalışmada toplanan numunelerin kimyasal analizi National Forensic Service, Daejeon Enstitü, Güney Kore de yapıldı. Çalışmanın etik onayı Karadeniz Teknik Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'ndan alındı. Çalışmanın analizi Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) burs desteği ile gerçekleştirilmiştir.

#### 3.1. Deli Bal, Kan ve İdrar Örneklerin Toplanması

Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi Acil Tıp (Trabzon, Türkiye) kliniğine başvuran ve deli bal zehirlenmesi tanısı konulan 25 vaka çalışmaya dahil edildi. Eylül 2013 ve Şubat 2015 tarihleri arasında Acil Tıp kliniğinde GTX zehirlenmesi teşhisi konulan hastalardan tüketilmiş olan deli bal numuneleri temin edildi ve hastaların kan, idrar örnekleri acil servise başvurdıklarında tedavi sırasında alındı. Eş zamanlı olarak hastaların başvuru sırasındaki klinik verileri not alındı. GTX seviyeleri hastaların kan, idrar ve tüketilen bal örneklerinden eş zamanlı incelendi. Kan (5ml) ve idrar (5ml) örnekleri hastalar acil servise başvurdıklarında alındı. Alınan kan ve idrar örnekleri 5°C de 12.000 rpm de santrifüj edildi. Santrifüjden sonra oluşan süpernatantlar toplandı, -50°C de gece boyunca liyofilize edildi ve elde edilen kuru materyaller bir sonraki analiz için -80°C saklandı.

#### 3.2. Kimyasal Maddeler ve Belirteçler

Bütün kimyasal maddeler ve belirteçler analitik kalite idi. GTX I Chungnam National University, Daejeon, G.Kore temin edildi. GTX III Hemi (etil asetat) ve klindamisin hidroklorür (internal standart, IS), Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA)'den satın alındı. Solid-faz ekstraksiyon kartuşu (SPE) ve adante 1: PEP (polymer enhanced polymer, 30 mg/1 mL) Shiseido (Tokyo, Japonya)' dan alındı. HPLC-grade metanol ve su Fischer Scientific Co. (Fair Lawn, NJ, USA)'dan alındı. Analitik reaktif-grade glacial asetik asit Merck Company (Darmstadt,

Germany)’den alındı. Diğer kullanılan kimyasal maddeler yüksek kalitede idi ve National Forensic Service (Daejeon Enstitü, South Korea) temin edilerek, aynı merkez toksikoloji laboratuvarında kullanıldı.

### **3.3. Grayanotoksin Standartın ve Örneklerin Hazırlanması**

Cho ve arkadaşlarının (2014), ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) 2001 klavuzu bioanalitik method doğrulama kuralları eşliğinde doğrulaması yapılmış olan yöntemi takip edildi. Grayanotoksin standartları ve örnekler, Cho ve arkadaşların (2014) çalışmalarını yaptıkları aynı merkezde, spesifitesi ve sensitivitesi yüksek, doğruluğu kanıtlanmış olan tarif ettikleri yöntemde küçük modifikasyonlar yapılarak hazırlandı.

#### **3.3.1. Grayanotoksin Standartının Hazırlanması**

Standart stok solüsyonu sırasıyla 1mg GTX 1 ve GTX 3’ ün 10 mL metanol (v/v) içinde çözünmesiyle elde edildi. Internal Standart (IS) stok solüsyonu 1mg klindamisin 10 mL deiyonize su içerisinde çözülmesi ile elde edildi. GTX çalışma solüsyonları, stok solüsyonlarının gerekli konsantrasyonda metanol ile seri seyreltmeler ile elde edildi. IS, 25 ng/ml ‘ lik konsantrasyona kadar su ile seyreltme ile hazırlandı. Kalibrasyon standartları kan, idrar ve deli bal örneklerinin (0.2 g) içine GTX 1 ve GTX 3 solüsyonlarından 0.5mL konulması ile hazırlandı. Kan, idrar ve bal örneklerinde ki GTXs konsantrasyonları 10, 20, 50, 100 ve 500 ng/mL idi. IS (25ng/ml, 0.05mL) sabit bir miktarda 2.5ng/mL nihai konsantrasyon elde etmek için her bir örneğe ilave edildi. Bütün solüsyonlar bir sonraki analiz için 4°C saklandı.

#### **3.3.2. Kan Örneklerin Hazırlanması**

0,05mL IS (klindamisin, 25ng/mL), 0,5mL fosfat tamponu (0.05 m, pH 6) ve 2mL asetonitril, kapaklı tüplerdeki 0,5mL bütün kan örneklerine eklendi. Örnek karışımları önce vorteks karıştırıcıda 3 dakika daha sonra 5 dakika 10,000 rpm de santrifuj edildi. Elde edilen süpernatant solüsyonlar 60°C’ de N<sub>2</sub> altında buharlaştırıldı. Buharlaştırma sonrası kalan tortu üzerine 1mL su konularak vorteks ile

kariştirildi. Oluşan süpernatantlar önceden 1mL metanol ve 1mL su ile yıkanmış adande:1 PEP kartuşlarına aktarıldı. Tüm aktarımdan sonra kartuşlar 1mL su ve 1mL hexane ile yıkandı. Daha sonra 2mL metanol ile yıkanan kartuşlar vakumize edildikten sonra elde edilen sıvı çözelti 60°C’ de N2 altında buharlaştırıldı. En son olarak buharlaştırma sonrası kalan kuru kalıntıya 0.1mL %1 asetik asit eklendi ve 1 dakika vorteks ile kariştırıldıktan sonra 5µL lik aliquot tüplerine aktarıldı ve LC-MS/MS sistemine yüklendi.

### **3.3.3. İdrar Örneklerin Hazırlanması**

0,05mL IS (klindamisin, 25ng/mL), 0.45mL fosfat tamponu (0.05 m, pH 6) tüplerdeki 0,5mL bütün idrar örneklerine eklendi. Örnek karişımları vorteks kariştırıcıda 3 dk. kariştırıldı. Oluşan süpernatantlar önceden 2mL metanol ve 2mL su ile yıkanmış SPE (adande:1 PEP) kartuşlarına aktarıldı. Kartuşlar 2mL su ile yıkandıktan sonra son olarak 2mL metanol ile yıkanan kartuşlar vakumize edildikten sonra elde edilen sıvı çözelti 60°C’ de N2 altında buharlaştırıldı. En son olarak buharlaştırma sonrası kalan kuru kalıntıya 0.1mL %1 asetik asit eklendi ve 1 dakika vorteks ile kariştırıldıktan sonra 5µL lik aliquot tüplerine aktarıldı ve LC-MS/MS sistemine yüklendi.

### **3.3.4. Bal Örneklerinin Hazırlanması**

Her bir bal örneğinden 0,2g olacak şekilde 10 mL lik mass flask tüplerin içine konularak hassas bir şekilde tartıldı. 0.025 mL of IS tüm örneklere eklendi ve örneklerin toplam miktarı 10mL olacak şekilde su eklendi. Bütün örnekler vorteks kariştırıcı ile 3 dk. kariştırıldı. Oluşan bal örneklerinden 1mL alınarak önceden 2mL metanol ve 2mL su ile yıkanmış SPE (adande:1 PEP) kartuşlarına aktarıldı. Kartuşlar 2mL su ile yıkandıktan sonra son olarak 2mL metanol ile yıkanan kartuşlar vakumize edildikten sonra elde edilen sıvı çözelti 60°C’ de N2 altında buharlaştırıldı. En son olarak buharlaştırma sonrası kalan kuru kalıntıya 0.1mL %1 asetik asit eklendi ve 1 dakika vorteks ile kariştırıldıktan sonra 5µL lik aliquot tüplerine aktarıldı ve LC-MS/MS sistemine yüklendi.

### **3.4. Liquid Chromatography and Mass Spectrometer (MS) Koşulları**

Analiz boyunca, Cho ve arkadaşların başka bir yerde yayınlanmış olan (2014) son yayındaki geçerliliği doğrulanmış HPLC ve LC-MS/MS çalışma koşulları seçildi. Grayanotoksin, Agilent 1200 series high-performance liquid chromatography ( HPLC ) (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) sistem üzerinden analiz edildi. Kromatografik ayırma işlemi, +40°C de C18 guard column (2.1 mm i.d., Phenomenex) ile korunan Kinetex Biphenyl column (2.6 µm, 100 x 2.1 mm i.d., Phenomenex, Torrance, CA, USA) üzerinde uygulandı. Mobil fazlar, %1 asetik asit su içinde (A) ve %1 asetik asit metanol içinde (B) oluşuyordu. Gradient elüsyon işlemi 0–13 dk, 5–90% B; 13–20 dk 90% B, 0.25 ml / dk' lık bir akış hızında püskürtme altında yapıldı. Numune alıcısı 10°C altında muhafaza edildi ve 5 µL enjeksiyon hacminde kullanıldı.

Mass spectrometric tespiti, pozitif iyon modunda Sciex 3200 QTRAP (AB Sciex, Concord, Canada) sistemi üzerinde yapıldı. Analitler, pozitif iyon transfer modunda çoklu monitör takibi (multiple reaction monitoring, MRM) ile analiz edildi. İyon kaynağı sıcaklığı 600 °C de muhafaza edildi ve sprey voltajı 5500V olarak ayarlandı. Tüm kaynak parametreleri LC koşulları altında optimize edildi ve elektriksel parametreler direk infüzyon ile optimize edildi. Analyst software paket programı (version 1.5.1, AB Sciex) cihaz ayarı, veri satın almalar ve veri işlemek için kullanıldı.

### **3.5. Kan, İdrar ve Deli Bal Örneklerindeki GTX Seviyelerin Hesaplanması**

LC-MS/MS sistemiyle elde edilen toksikokinetik parametreler WinNonlin software (version 5.2, MountainView, CA., USA) programı kullanılarak hesaplandı. Kan sonuçları ng/mL, idrar sonuçları µg/mL, deli bal sonuçları µg/g cinsinden verildi.



### 3.6. İstatiksel Analiz

Çalışmanın istatistiksel analizi için SPSS (Statistical Package for Social Sciences for Windows v.13.0) programı kullanıldı. Değerlendirme sonuçlarının tanımlayıcı istatistikleri; kategorik değişkenler için sayı ve yüzde, sayısal değişkenler için ortalama, standart sapma, minimum, maksimum olarak verildi. Gruplar arası ortalamalar karşılaştırılmasında Independent-Samples T-Test testi kullanıldı. Değişkenler arasındaki korelasyonun değerlendirilmesinde Pearson korelasyon analizi kullanıldı. İstatistiksel alfa anlamlılık seviyesi  $p < 0,05$  olarak kabul edildi.



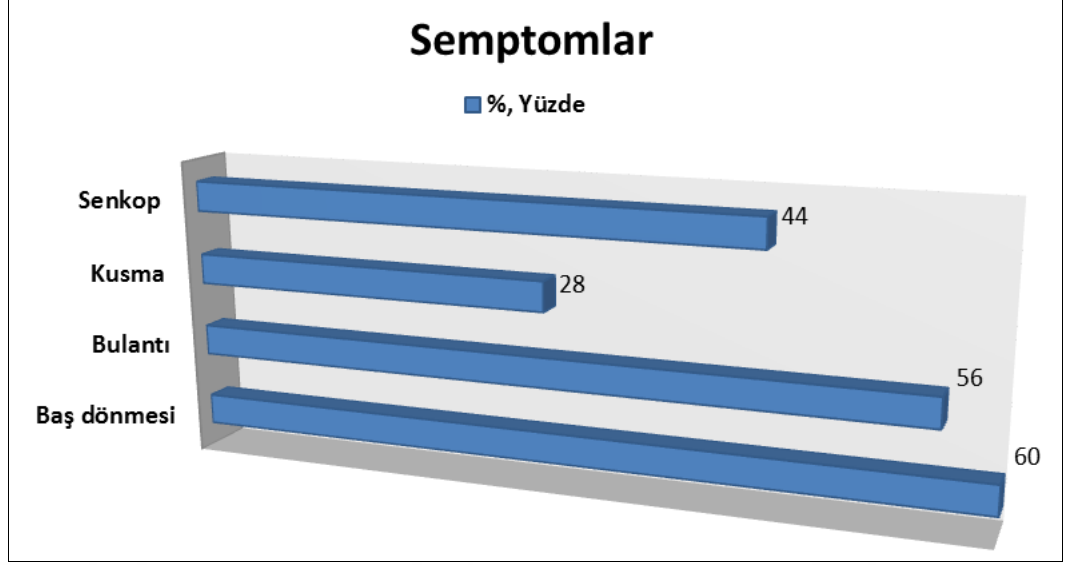
## 4. BULGULAR

Hastaların demografik özellikleri, semptomların deli bal tüketiminden sonra başlama zamanı (saat), klinik semptomları, sistolik ve diyastolik kan basıncı (mmHg), kalp hızı ortalama, minimum ve maksimum değerleri **Tablo 2.** de özetlendi.

**Tablo 2. Acil Servise Deli Bal Zehirlenmesiyle Başvuran Hastaların Demografik ve Klinik Özellikleri**

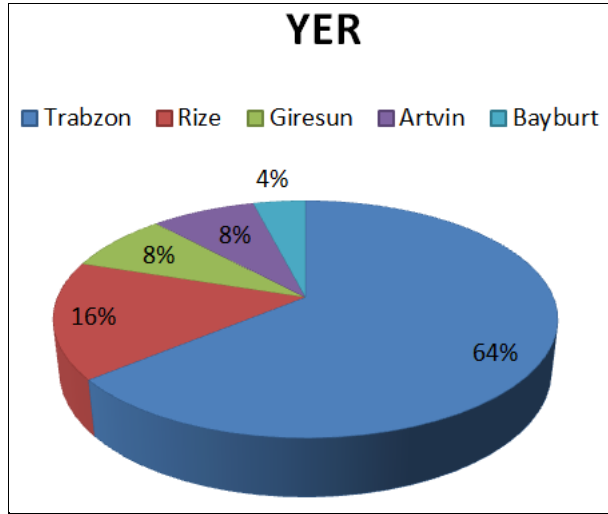
	Bulgular	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Cinsiyet	Erkek 72% (18) Kadın 28% (7)				
Yaş		56,48	± 15,72	33	80
Semptomların ilk başlama zamanı		1,79 hour	±1,079	0,5 hour	5 hour
Baş Dönmesi	60 %				
Bulantı	56 %				
Kusma	28 %				
Senkop	44%				
Sistolik Kan Basıncı		85,40 mmHg	±17,31 mmHg	60 mmHg	120 mmHg
Diyastolik Kan Basıncı		51,60 mmHg	±10,11 mmHg	40 mmHg	70 mmHg
Kalp Hızı		42,68	±7,42	30	58
Ek Hastalıklar	36 %				

Hastaların %72 si erkek, %28 i kadın idi. Ortalama yaş 56,48 olup en küçük hasta yaşı 33, en büyük ise 80 idi. Hastalar deli bal yedikten ortalama 1,79 saat sonra klinik semptomların başladığı belirtiler. Klinik semptomlar en erken 30 dk. sonra, en geç 5 saat sonra başladı. Hastaların %60 da baş dönmesi, %56 da bulantı, % 28 kusma, %44 ünde senkop görüldü (**şekil 3**). Ortalama sistolik kan basıncı 85,40 mmHg, diyastolik kan basıncı 51,60 mmHg idi. Hastaların ortalama kalp hızı 42,68/dk, en düşük 30/dk, en yüksek 58/dk idi. %36 sında ek hastalık mevcut olup en sık görülen ek hastalık hipertansiyonu.



**Şekil 3. Acil Servise Deli Bal Zehirlenmesiyle Başvuran Hastaların Klinik Semptomların Yüzde Dağılımı**

Çalışmaya katılan hastaların tükettikleri balların üretim yerleri **Şekil 4.** de gösterildi. Hastaların % 64'ü yedikleri balların Türkiye'nin kuzey bölgesinde yer alan Trabzon ili yüksek dağlarında üretilen doğal ballar olduğunu söyledi.



**Şekil 4. Acil Servise Deli Bal Zehirlenmesiyle Başvuran Hastaların Tükettikleri Balların Üretim Yerleri**

Çalışmaya dahil edilen 25 vakanın kan, idrar ve tüketilen ballardaki GTX miktarı ölçüldü. Bulunan GTX değerleri, ortalama, standart deviasyon, minimum ve maksimum değerler **Tablo 3. ve 4.** de gösterildi. Kan GTX miktarı ng/mL cinsinden

hesaplandı. İdrar GTX miktarı  $\mu\text{g/mL}$  cinsinden hesaplandı. Bal GTX miktarı  $\mu\text{g/gr}$  cinsinden hesaplandı. Hastaların kan ortalama GTX 1 miktarı 4,82 ng/mL, GTX 3 miktarı 6,56 ng/mL idi. Kan minimum GTX 1 düzeyi 0,35 ng/mL, maksimum GTX 1 düzeyi 25,27 ng/mL' dir. Kan minimum GTX 3 düzeyi 0,00 ng/mL, maksimum GTX 1 düzeyi 29,04 ng/mL' dir. Hastaların idrar ortalama GTX 1 miktarı 0,036  $\mu\text{g/mL}$ , GTX 3 miktarı 0,391  $\mu\text{g/mL}$  idi. İdrar minimum GTX 1 düzeyi 0,00  $\mu\text{g/mL}$ , maksimum GTX 1 düzeyi 0,158  $\mu\text{g/mL}$ ' dir. İdrar minimum GTX 3 düzeyi 0,00  $\mu\text{g/mL}$ , maksimum GTX 3 düzeyi 1,896  $\mu\text{g/mL}$ ' dir. Hastaların tüketilen deli ballardaki ortalama GTX 1 miktarı 8,73  $\mu\text{g/gr}$ , GTX 3 miktarı 27,60  $\mu\text{g/gr}$  idi. Deli bal minimum GTX 1 düzeyi 0,17  $\mu\text{g/gr}$ , maksimum GTX 1 düzeyi 20,22  $\mu\text{g/gr}$ ' dir. Deli bal minimum GTX 3 düzeyi 0,00  $\mu\text{g/gr}$ , maksimum GTX 3 düzeyi 75,46  $\mu\text{g/gr}$ ' dir.

**Tablo 3. Acil Servise Deli Bal Zehirlenmesiyle Başvuran Hastaların Kan, İdrar ve Tüketilen Deli Bal GTX 1 ve GTX 3 ortalama, SD, Minimum ve Maximum Değerleri**

	<b>GTX 1K (ng/mL)</b>	<b>GTX 3K (ng/mL)</b>	<b>GTX 1İ (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>GTX 3İ (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>GTX 1B (<math>\mu\text{g/gr}</math>)</b>	<b>GTX 3B (<math>\mu\text{g/gr}</math>)</b>
<b>Mean</b>	<b>4,82</b>	<b>6,56</b>	<b>0,036</b>	<b>0,391</b>	<b>8,73</b>	<b>27,60</b>
<b>SD</b>	<b><math>\pm 5,57</math></b>	<b><math>\pm 8,37</math></b>	<b><math>\pm 0,04</math></b>	<b><math>\pm 0,461</math></b>	<b><math>\pm 6,02</math></b>	<b><math>\pm 18,98</math></b>
<b>Min.</b>	<b>0,35</b>	<b>0,00</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,17</b>	<b>0,00</b>
<b>Max.</b>	<b>25,27</b>	<b>29,04</b>	<b>0,158</b>	<b>1,896</b>	<b>20,22</b>	<b>75,46</b>

**GTX: Grayanotoksin, K: Kan, İ: İdrar, B: Bal, SD: Standart Deviasyon, Min: minimum, Max: maximum**

**Tablo 4. Acil Servise Deli Bal Zehirlenmesiyle Başvuran Hastaların Kan, İdrar ve Tüketilen Deli Bal GTX 1 ve GTX 3 Değerleri**

VAKA	GTX 1K (ng/mL)	GTX 3K (ng/mL)	GTX 1İ (µg/mL)	GTX 3İ (µg/mL)	GTX 1B (µg/gr)	GTX 3B (µg/gr)
1	7,03	15,43	0,032	1,896	14,96	41,48
2	0,81	5,41	0,023	0,232	1,55	9,30
3	25,27	4,06	0,079	0,472	7,20	32,69
4	0,38	1,61	0,027	0,159	3,65	22,63
5	14,48	1,85	0,067	0,113	5,35	10,34
6	1,50	0,00	0,008	0,000	10,33	29,24
7	4,12	3,00	0,158	0,554	1,71	8,07
8	10,82	19,15	0,129	0,574	7,38	59,42
9	3,03	3,60	0,018	0,076	9,13	28,85
10	4,01	9,18	0,014	0,434	20,22	18,91
11	4,62	3,11	0,021	0,296	13,68	19,73
12	1,28	0,00	0,006	0,081	5,30	27,40
13	0,80	0,00	0,046	0,058	3,49	9,66
14	3,72	27,33	0,005	0,089	9,86	26,47
15	0,35	0,00	0,006	0,000	9,39	24,59
16	8,23	4,76	0,029	0,202	12,06	35,82
17	6,28	13,57	0,084	0,619	12,10	47,49
18	0,65	0,00	0,000	0,555	0,17	5,14
19	4,55	0,00	0,011	0,093	3,81	9,05
20	8,30	29,04	0,009	0,979	19,56	59,18
21	2,33	6,30	0,018	1,429	12,62	75,47
22	0,55	0,00	0,011	0,000	1,86	0,00
23	0,60	0,00	0,013	0,056	1,59	11,10
24	4,54	10,45	0,030	0,314	11,03	37,86
25	2,33	6,27	0,050	0,490	20,22	40,19

**GTX: Grayanotoxin, K: Kan, İ: İdrar, B: Bal**

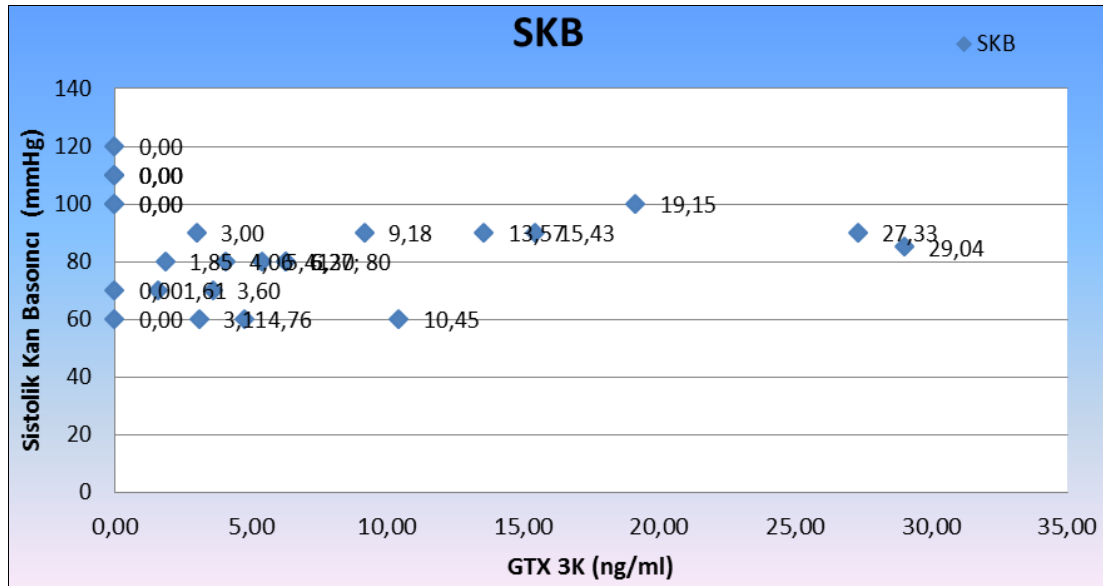
Sistolik kan basıncı  $\leq 90$ mmHg ve  $> 90$ mmHg, kalp hızı  $< 50$ /dk ve  $\geq 50$ /dk olan hastaların kan, idrar ve yedikleri ballardaki GTX seviyeleri arasındaki ilişki **Tablo 5.** de gösterildi ve **p** anlamlılık değeri **p<0,05** olarak alındı. SKB $\leq 90$ mmHg ve SKB $> 90$ mmHg olan hastaların kan, idrar ve yedikleri ballardaki GTX seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı. Kalp hızı  $< 50$ /dk olan hastaların kan, idrar ve yedikleri ballardaki GTX seviyeleri arasında ilişki bulunmadı. Kalp hızı  $\geq 50$ /dk olan hastaların hiçbirinde GTX 3 saptanmadı ve p=0,00 dir. Kalp hızı  $\geq 50$ /dk olan hastaların diğer grayanotoksin parametreleri ile arasında ilişki yoktur.

**Tablo 5. Hastaların Kan, İdrar ve Yedikleri Ballardaki GTX Düzeyi ile Sistolik Kan Basıncı ve Kalp Hızı Arasındaki İlişki**

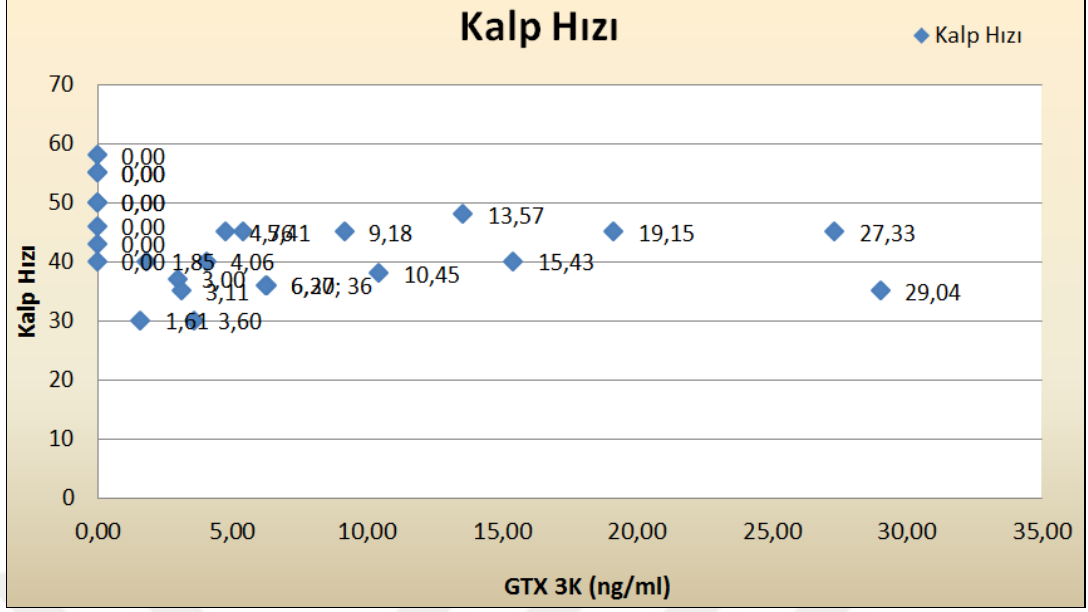
	SKB≤90mmHg Mean ±SD (n=18)	SKB>90mmHg Mean ±SD (n=7)	P Skoru	Heart rate <50 Mean ±SD (n=20)	Heart rate ≥50 Mean ±SD (n=5)	P Skoru
GTX 1K (ng/mL)	5,84 ±5,88	2,18 ±3,82	<b>0,143</b>	5,63 ±5,92	1,56 ±1,72	<b>0,147</b>
GTX 3K (ng/mL)	8,05 ±8,48	2,73 ±7,23	<b>0,158</b>	1,56 ±1,72	0 ±0	<b>,000</b>
GTX 1İ (µg/mL)	0,03 ±0,03	0,03 ±0,04	<b>0,684</b>	0,04 ±0,04	0,01 ±0,01	<b>0,243</b>
GTX 3İ (µg/mL)	0,47 ±0,49	0,17 ±0,26	<b>0,153</b>	0,47 ±0,47	0,04 ±0,04	<b>0,056</b>
GTX 1B (µg/gr)	10,22 ±6,06	4,88 ±4,08	<b>0,044</b>	9,48 ±6,28	5,72 ±3,88	<b>0,219</b>
GTX 3B (µg/gr)	30,60 ±18,14	19,87 ±20,27	<b>0,211</b>	30,32 ±19,92	16,72 ±9,47	<b>0,156</b>

**GTX: Grayanotoksin, K: Kan, İ: İdrar, B: Bal, SD: Standart Deviasyon, SKB: Sistolik Kan Basıncı, p<0,05**

Hastaların kan GTX 3 ile sistolik kan basıncı ve kalp hızı arasındaki korelasyon dağılımı Şekil 5 ve Şekil 6’da gösterildi. Kan GTX 3 ile sistolik kan basıncı ve kalp hızı arasında korelasyon kurulamadı.

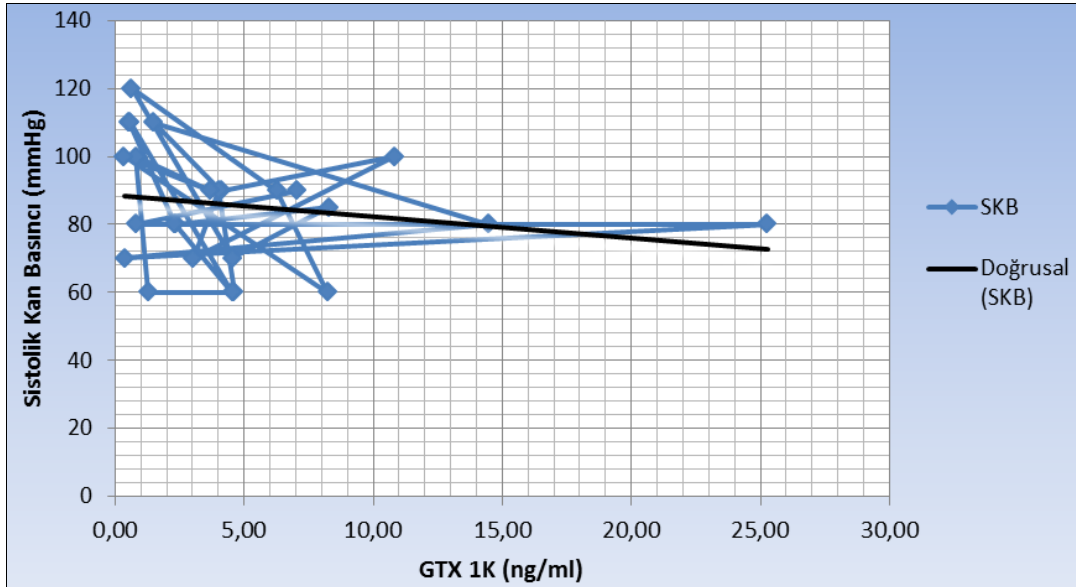


**Şekil 5. Hastaların Kan GTX 3 ve Sistolik Kan Basıncı Seviyeleri Arasındaki İlişki Dağılımı**

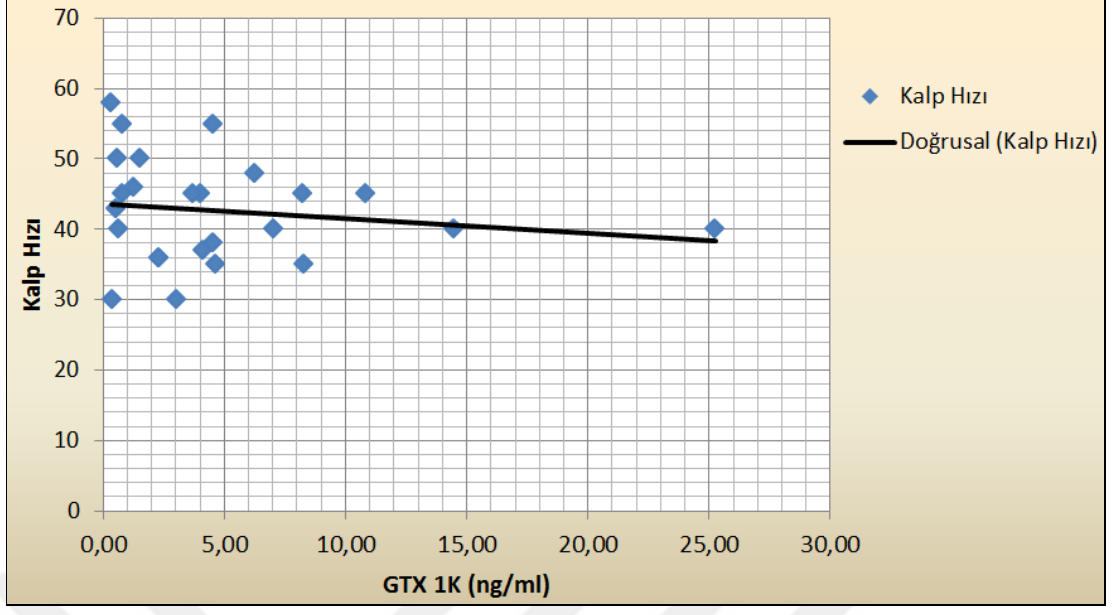


Şekil 6. Hastaların Kan GTX 3 ve Kalp Hızı Seviyeleri Arasındaki İlişki Dağılımı

Hastaların kan GTX 1 ile sistolik kan basıncı ve kalp hızı arasındaki korelasyon dağılımı Şekil 7 ve Şekil 8’ de gösterildi. Kan GTX 1 ile aynı hastaların sistolik kan basıncı düzeyleri ve kalp hızı düzeyleri arasında korelasyon kurulmadı. Bu parametreler arasında doğrusal bir ilişki yoktur.



Şekil 7. Hastaların Kan GTX 1 ve Sistolik Kan Basıncı Seviyeleri Arasındaki İlişki Dağılımı



Şekil 8. Hastaların Kan GTX 1 ve Kalp Hızı Seviyeleri Arasındaki İlişki Dağılımı



## 5. TARTIŞMA

Deli baldaki grayanayotoksin miktarı çeşitli faktörlerden etkilenmektedir. Benzer şekilde orman gülü balının GTX miktarının balın saflığına (monofloral özelliğine), toplandığı bölgenin coğrafik özelliğine ve işlemden geçip geçmediğine bağlı olarak değişim göstermektedir. Bilimsel olmayan verilere göre ısıtılan veya kaynatılan ve uzun süre bekletilen balın toksisitesinin azaldığı veya kaybolduğu söylenmektedir (27).

Deli bal zehirlenmesi, balı tüketen herkeste görülmez. Zehirlenme nedeniyle acil servise başvuran hastalarda bulgular benzerdir ve çoğunluğunda belirgin hipotansiyon ve bradikardi görülür. Bu sonuç geçmişte yapılan deli bal zehirlenmesi çalışmalarıyla benzerlik göstermektedir. Deli bal zehirlenmelerinde görülen diğer semptomlar; bulantı, kusma, terleme, sersemlik, mental durum değişikliği, senkop, diplopi, bulanık görme ve hipersalivasyondur (3,28,29). Yavuz ve ark. (1991) yaptığı bir çalışmada hastaların %91 inde bulantı-kusma, %74 ünde baş dönmesi görülmüştür. Yılmaz ve ark. (2006) yaptığı başka bir çalışmada hastaların %17,6 sında senkop, %45,4 ünde bulantı, %31,8 inde kusma semptomları mevcuttu. Bu çalışmada bradikardi ve hipotansiyonun yanında en sık görülen klinik semptomlar baş dönmesi, senkop, bulantı ve kusmadır. Hastaların %60 ında baş dönmesi, %44 ünde senkop, %56 sında bulantı, %28 sinde kusma semptomları görüldü. Ana semptom olarak görülen hipotansiyon ve bradikardinin yanında diğer görülen yan klinik semptomların hastaların yaş, cinsiyet ve ek hastalıklarına göre değişmektedir. Literatür incelemelerinde, deli bal zehirlenmesi ortalama 49 yaşında ve vakaların çoğunun erkeklerde (%80,7) görüldüğü tespit edilmiştir (24). Bu çalışmamızda hasta popülasyonu literatürle benzerlik göstermiş olup hastaların ortalama yaşı 56 ve hastaların %72 si erkektir.

Deli bal zehirlenmesinde semptomlar tüketilen balın miktarıyla ilişkilidir ve toksisite oluşması için 5-30 g deli bal yenmesi gerektiği belirtilmektedir (28). Çalışmada hastaların yedikleri deli bal miktarı değerlendirilememiştir. Çünkü bir yıl boyunca acil servise deli bal zehirlenmesiyle başvuran hastaların miktarı tarif ederken “yemek kaşığı, çay kaşığı ve tatlı kaşığı sayısı” olarak kullandıkları terimler kesin miktarı belirlemek için yeterince objektif olmamıştır. Semptomların

ortaya çıkışı alınan miktara bağlı olarak bir kaç dakika ile iki saati aşan sürelerde ortaya çıkarken toplam süresi ise zehirlenmenin şiddetine bağlı olarak bir kaç saatten bir kaç güne kadar devam edebilir. Semptomlar genelde yeterli miktarda serum fizyolojik ve 1–2 mg atropin intravenöz yolla verilmesi ile düzelir. Destek tedaviye cevap vermeyen hastalarda İleri Kardiyak Yaşam Desteği Klavuzu (ACLS) da yer alan bradikardi algoritmasının uygulanmalıdır. Böylece medikal tedavi ile düzelmeyen hastalara geçici pacemaker kullanımı gerekir ve böyle vakalar literatürde bulunmaktadır (3).

Hafif zehirlenmelerde 2–6 saat kardiyak monitörizasyondan sonra hasta güvenli bir şekilde taburcu edilebilir (24,30). Çalışmamızdaki hastaların semptomları deli bal tüketimi sonrası ortalama 1,79 saat sonra ortaya çıkmıştır. Tüm hastalara literatürdeki tedavi önerilerine uygun olarak serum fizyolojik ve 1-2 mg atropin intravenöz destek tedavi olarak uygulandı. Hastaların hiçbirinde geçici pacemaker ihtiyacı görülmedi. Ayrıca 3 hasta haricindeki tüm hastalar acil serviste 2-6 saat kardiyak monitorizasyondan sonra güvenli bir şekilde taburcu edildi. 3 hasta ise ek hastalıkları sebebiyle koroner yoğun bakımda takip edildiler ve 24 saat sonunda tüm vital bulguları stabil bir şekilde taburcu edildiler.

Deli bal zehirlenmesinde hastalar çoğunlukla balın içinde bulunan grayanotoksinin kardiyovasküler sistem üzerine olan etkileri nedeniyle hastaneye başvurmuştur (24). Günümüze kadar hastaların yedikleri ballardaki grayanotoksin miktarı ve bu kardiyovasküler sistem etkileri arasındaki ilişkiyi gösteren klinik çalışma yapılmamıştır. Sadece sınırlı sayıda yapılmış deneysel çalışmalar mevcuttur (15). Türkmen ve ark (2013) yaptığı deneysel çalışmada, farelere değişik dozlarda sistemik olarak GTX 3 verilerek farelerin kan basıncı ve kalp hızı gözlemlendi. Yaptıkları bu fare deneyinde verdikleri GTX 3 dozu ile zehirlenmenin klinik şiddeti arasında anlamlı bir ilişki olduğunu gösterdiler. Fakat fare kanındaki GTX düzeyi ölçülmediği için kan GTX düzeyi ile klinik arasındaki ilişki değerlendirilememiştir.

Zehirlenme ile başvuran hastaların başvurduğu birçok merkezde halen vücut sıvılarında ya da yedikleri deli baldaki GTX miktarını gösterecek laboratuvar testi bulunmamaktadır. Son 20 yılda, sıvı kromatografisi-kütle spektrometrisi/kütle spektrometri (LC-MS/MS) ve son zamanlardaki sıvı kromatografisi uçuş zamanlı kütle spektrometrisi (LC-TOF-MS) grayanotoksinlerin biyolojik materyallerden

(yaprak, çiçek ve bal) belirlenmesini mümkün kılmaktadır (7). Holstege ve ark ilk kez dışkı, rumen ve idrarı içeren bazı biyolojik numunelerde grayanotoksin tespit ettiler. Fakat bu çalışmalarda (9,31) hayvan dışkı, rumen ve idrarında ölçülen grayanotoksin değerleri insan vücut sıvıları yerine mukayese edilemez. Buna ek olarak biyolojik numunelerdeki köken farklılığı ve GTX' lerin ekstraksiyon ve izolasyon yönteminde düşük sensivite ve selektivite mevcuttu. Bu yöntem karmaşık bir ön protokole sahiptir (9,31). Yine yapılan başka bir araştırmada deli bal zehirlenmesine maruz kalmış kimselerin tükettiği deli ballardaki GTX 3 miktarı LC-MS/MS ile ölçülmüş ve 10-70,00 µg/g arasında olduğu bildirilmiştir (32). Önceki hayvan çalışmalarında da (9,31) GTX miktarının ölçülebilmesi için LC-MS/MS kullanıldı fakat ölçülebilen miktar dışkı ve rumen içeriğinde 0.2 µg/g ve idrar içerisinde ise 0.05 µg/g ile sınırlıydı, aynı zamanda örneklerin hazırlanması zaman alıcı ve karışıktı. LC-MS/MS' in analitik koşullarında kabul edilebilir bir doğrusalılığı, hassasiyet ve iyileştirme açısından da belirsizlikler mevcuttu. Grayanotoksinin örneklenmesi, saptanması ve miktarının ölçülmesindeki bu belirsizlikler kan örneği kullanılarak Cho ve arkadaşları tarafından ortadan kaldırıldı (26). Cho ve arkadaşları ilk kez deney ortamında fare kanında GTX miktarını tespit ederek hassas, güvenilir ve geçerli bir LC-MS/MS yöntemi geliştirdi. Bu çalışmada aynı yöntem kullanılarak acil servise deli bal zehirlenmesiyle başvuran 25 hastanın kan, idrar ve yedikleri ballardaki GTX 1 ve 3 düzeyi ölçüldü ve bulunan değerler hastaların klinik bulguları karşılaştırıldı. Bu çalışmanın ön çalışmasına ait bir kısım veriler daha önce yayımlanmış olup, devamında yaptığımız geniş serili çalışma sonuçları ile benzerlik göstermiştir (33). Hastaların kan ortalama GTX 1 miktarı 4,82 ng/mL, GTX 3 miktarı 6,56 ng/mL, idrar ortalama GTX 1 miktarı 0,036 µg/mL, GTX 3 miktarı 0,391 µg/mL, tüketilen deli ballardaki ortalama GTX 1 miktarı 8,73 µg/gr, GTX 3 miktarı 27,60 µg/gr idi. Hastaların kan, idrar ve yedikleri deli baldaki GTX 1 ve 3 düzeyleri ile hastaların sistolik kan basıncı ve kalp hızları karşılaştırıldı ve aralarında korelasyon kurulamadı,  $p>0,05$  (Pearson korelasyon testi).

## 5.1. Çalışmanın Kısıtlamaları

Bu çalışmada deli bal zehirlenmeli hastaların kan, idrar ve yedikleri ballardaki GTX seviyeleri ile klinik parametreler arasında ilişki kurulamamasını, çalışmada var olan bazı kısıtlamalar ile ilgili olduğunu düşünmekteyiz. Öncelikli olarak çalışmaya alınan hastaların yaş, cinsiyet, ek hastalıklar, tüketilen balların orijini arasında farklılıklar vardır. Rhododendron türlerin Türkiye’ deki dağılımı oldukça heterojendir ve bu varyasyon nektar bileşimindeki GTX konsantrasyonunu ve böylece deli bal kompozisyonunu etkileyebilmektedir. Ayrıca hastaların acil servise başvuru sürelerindeki farklılıklar, yedikleri balların orijinin ve miktarının farklı olması çalışmanın standartizasyonunu etkilediğini düşünmekteyiz. Zehirlenmenin başlangıç süresi ve GTX konsantrasyonları arasındaki varyasyonlar öncelikle hastaların metabolizmalarının, deli ballın emilim hızının farklı olmasına bağlı olabileceğini düşünüyoruz.

## 6. SONUÇ

Bu tanımlayıcı çalışma ile ilk kez deli bal zehirlenmeli hastaların vücut sıvılarında grayanotoksin seviyeleri gösterildi. Hastaların kan grayanotoksin düzeyleri ve klinik verileri arasında ilişki kurulamamıştır. Genel olarak basit, güvenilir ve geçerliliği onaylanmış bir LC-MS/MS yöntemiyle başarılı bir şekilde insan kan, idrar ve tüketilen bal örneklerinde grayanotoksin ölçümü yapıldı. Geniş çaplı seri çalışmalar insanları zehirleyen bu ballardaki toksinin üst ve alt limitini göstererek riskli toksin düzey aralığını belirleyebilir.



## 7. KAYNAKLAR

1. Kolaylı S. Bal ve Deli Bal. Gunduz A., editör. Balın Biyokimyasal Yapısı. 1. Basım. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi; 2015. sayfa.10
2. Viccellio P. Systemic poisonous plant intoxication. Handbook of Medical Toxicology. Washington: Library of Congress Cataloging, 1993:718.
3. Gunduz A, Turedi S, Russell RM, Ayaz FA. Clinical review of grayanotoxin/mad honey poisoning past and present. Clin Toxicology (Phila) 2008;46:437-42
4. Koca İ., Koca F.A. Poisoning by mad honey: A brief review. Food and Chem. Toxicol. (2007), doi:10.1016/j.fct.2007.04.006
5. Maejima H, Kinoshita E, Seyama I, Yamaoka K. Distinct sites regulating grayanotoxin binding and unbinding to D4S6 of Na(v)1.4 sodium channel as revealed by improved estimation of toxin sensitivity. J Biol Chem 2003;278:9464-71.
6. Çeter T. ve Güney K., 2011. Ormangülü ve Deli Bal, Uludağ Arıcılık Dergisi, 11, 4, 124-129.
7. Hough LR, Crews C, White D, Driffield M, Campbell CD, and Maltin C. Degradation of yew, ragwort and rhododendron toxins during composting. Sci Total Environ 2010; 408: 4128-37.
8. Terai T, Osakabe K, Katai M, Sakaguchi K, Narama I, Matsuura T, Katakawa J, and Tetsumi T. Preparation of 9-hydroxy grayanotoxin derivatives and their acute toxicity in mice. Chem Pharm Bull (Tokyo). 2002; 51: 351-3.
9. Holstege DM, Puschner B, and Le T. Determination of grayanotoxins in biological samples by LC-MS/MS. J Agric Food Chem 2001; 49: 1648 -51.
10. Plinius Gaius Secendus, Natural History of Pliny, (Translate. J. Bostock and H. T. Riley), London: George Bell & Sons York Setreet, (1890).
11. Gökçel T, Xenophon: Anabasis, Onbinlerin Dönüşü Sosyal. Yayınlar ikinci baskı, Sena Ofset. sayfa:143-4
12. Oksuz H., Emir O. Bal ve Deli Bal. Gunduz A., editör. Tarihsel Süreçte Bal. 1. Basım. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi; 2015. sayfa.1-7
13. Kebler LF. Poisonous honey. Am Pharm Assoc proc 1896;44:167-174
14. Biberoglu S, Biberoglu K, Komsuoglu B. Mad honey. JAMA. 1988;259:1943

15. Onat FY, Yegen BC, Lawrence R. Mad honey poisoning in man and rat. *Rev Environ Health* 1991;9,3-92
16. Ozhan H, Akdemir R, Yazici M,. Cardiac emergencies caused by honey ingestion: a single centre experience. *Emerg Med J.* 2004; 21:742-4.
17. Durmus I, Türedi S, Gündüz A, Öztürk S. Mad honey poisoning related asystole. *Emerg Med* 2007; 24: 592-3
18. Terzioglu S. Bal ve Deli Bal. Gunduz A., editör. *Rhodendronlar: Türkiye' nin Ormangülleri*. 1. Basım. Istanbul: Nobel Tıp Kitapevi; 2015. sayfa.53-56
19. Gunduz A, Bostan H, Turedi S, Nuhoglu I and Patan T. Wild flowers and mad honey. *Wilderness Environ Med* 2007; 18: 69-71.
20. Tallent WH, Riethof ML, Horning EC. Studies on the occurrence and acetylandromedol (andromedotoxin). *Journal of the American Chemical Society* 1957; 79: 4548-54.
21. Adler LS. The ecologic significance of toxic nectar. *Oikos* 2000; 91: 409-20
22. Ayaz AF., Çolak N., Kurt A., Bal ve Deli Bal. Gunduz A., editör. *Grayanotoksinlerin (GTX) Kimyasal Yapısı ve Analitik Belirlenme Yöntemlerine Genel Bir Bakış*. 1. Basım. Istanbul: Nobel Tıp Kitapevi; 2015. sayfa.45-7.
23. Zhang PH, Wang BH, Wang QL, Bao HG, Qin WG. A new 1,5- seco grayanotoxin from *Rhododendron decorum*. *Journal of Asian Natural Products Research*.2005; 7: 87-90
24. Gunduz A., Tugrul O., Argın EC., Bal ve Deli Bal. Gunduz A., editör. *Deli Bal Zehirlenmesinde Klinik Tanı ve Tedavi*. 1.Basım. Istanbul: Nobel Tıp Kitapevi; 2015. sayfa.147-53.
25. Gunduz A, Eraydın I, Turkmen S, Kalkan O S, Turedı S, Eryığıt U, Ayar A. Analgesic effects of mad honey (grayanotoxin) in mice models of acute pain and painful diabetic neuropathy. *Hum Exp Toxicol.* 2014 Feb;33(2):130-5.
26. Cho HE, Ahn SY, Kim D.-W, Woo S.-H, Park S.-H, Kyunghwa H, Moon D.-C, Kim S. Development of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the determination of Grayanotoxins in rat blood and its application to toxicokinetic study. *Biomed Chromatogr.* 2014 Dec;28(12):1624-32.
27. Başgöl A. Deli Bal Zehirlenmesi. *Yoğun Bakım Dergisi* 2003;3(1):33-36).

28. Yilmaz O, Eser M, Sahiner A, et al. Hypotension, bradycardia and syncope caused by honey poisoning. *Resuscitation*. 2006;68:405–8
29. Yavuz H, Ozel A, Akkus I, et al. Honey poisoning in Turkey. *Lancet*. 1991;337:789-790.
30. Gunduz A, Meric ES, Baydin A, et al. Does mad honey poisoning require hospital admission? *Am J Emerg Med* 2009;27:424–7.
31. Holstege DM, Francis T, Puschner B, Booth MC, and Galey FD. Multiresidue screen for cardiotoxins by two-dimentional thin layer chromatography. *J Agric Food Chem* 2000; 48: 60-4.
32. Sahin H., Akyuz Turumtay, E., Kolayli, S., Determination of Grayanotoxin-III in Turkish Mad Honey Samples by LC-MS/MS, 12th Asian Apicultural Association Conference, Antalya, 2014.
33. Aygun A, Gunduz A, Turedi S, Turkmen S, Karaca Y, Ayaz FA, Ahn SY, Kim S. *Ann Saudi Med*. 2015 Mar-Apr;35(2):161-4.A