

**T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ACİL TIP ANABİLİM DALI**

**N-ASETİL SİSTEİNİN DENEYSEL MALATHİON UYGULANAN
SIÇAN BÖBREK VE KARACİĞER DOKULARINDA
TRANSİENT RESEPTÖR POTANSİYEL MELASTATİN 2
(TRPM2) KANALLARINA ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. F.Ahmet ATILGAN**

**TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç.Dr. Metin ATEŞÇELİK**

**ELAZIĞ
2016**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Murad ATMACA

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur

Doç. Dr. Mustafa YILDIZ

Acil Tıp Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Yrd. Doç.Dr. Metin ATEŞÇELİK _____

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

..... _____

..... _____

..... _____

..... _____

..... _____

TEŞEKKÜR

Uzmanlık Tezimin hazırlanmasındaki katkılarından dolayı tez danışman hocam Yrd.Doç.Dr. Metin ATEŞÇELİK'e, deneyimin planlanmasından sonuçlandırılmasına kadar her aşamasında yanımda olan Yrd. Doç. Dr. Tuncay KULOĞLU'na, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım hocalarım; Doç. Dr. Mustafa YILDIZ'a, Yrd. Doç. Dr. Mehtap GÜRGER'e, Yrd. Doç. Dr. Mustafa YILMAZ'a, Yrd. Doç. Dr. M.Çağrı GÖKTEKİN'e,

Asistanlığım süresince birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarım başta olmak üzere tüm çalışma arkadaşlarıma ve deney aşamasında benimle çalışan Histoloji laboratuvarı ekibine ve deneysel araştırma merkezi çalışanlarına,

Eğitim hayatım boyunca hiçbir fedakârlıktan kaçınmayarak bugünlere gelmemde en büyük paya sahip olan sevgili anne ve babama, bana her zaman manen destek olan kardeşlerim Esra, Kübra ve Tuba'ya,

Asistanlık eğitimim sürecinde her zaman yanımda olan ve sabırla her türlü desteği veren, fedakâr eşim Nilüfer'e ve yaşam sevinçlerim, Şevval Eylül'e, Zülal Zehra'ya, Mehmet Yiğit'e ve Ömer Tarık'a en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

Dr. Fethi Ahmet ATILGAN

ÖZET

Organofosfat bileşikleri, insektisid olarak zararlı böcek ve bitkilerin kontrolü için yaygın olarak kullanılmaktadır. Organofosfatlar ile subkronik veya kronik toksisitenin, dokularda histopatolojik değişikliklere sebep olduğu bilinmektedir. Malathion, geniş spektrumlu bir organofosfat bileşiktir. Çalışmamızda, N-Asetil sisteinin (NAS) deneysel malathion uygulanan sıçan böbrek ve karaciğer dokularında Transient Reseptör Potansiyel Melastatin 2 (TRPM2) kanal ekspresyonuna etkilerinin incelenmesi amaçlandı.

Çalışmada, 42 adet 8-10 haftalık Wistar albino cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Deneysel hayvanları her grupta 6 hayvan olacak biçimde; Kontrol, NAS, PAM + Atropin, Malathion, Malathion + PAM + Atropin, Malathion + PAM + Atropin + NAS ve Malathion + NAS olmak üzere 7 gruba ayrıldı.

N-Asetil sistein intraperitoneal (i.p) 100 mg/kg tek doz, PAM 40 mg/kg i.p, Atropin 2 mg/kg i.p, mısır yağında çözülmüş tek doz Malathion LD50 (1375 mg/kg)/3 miktarında orogastrik olarak uygulandı.

Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için TUNEL metodu, TRPM2 immünreaktivitesi için avidin-biotin-peroksidaz yöntemi uygulandı.

Çalışmamızda karaciğer dokusunda MDA düzeyleri, apoptosis ve TRPM2 immünreaktivitesi açısından gruplar arasında bir fark tespit edilmedi.

Böbrek dokusunda; kontrol grubuyla karşılaştırıldığında Malathion ve Malathion + NAS gruplarında MDA düzeyleri, apoptosis ve TRPM2 immünreaktivitesinde anlamlı artış tespit edildi. Malathion grubuyla kıyaslandığında ise Malathion + PAM + Atropin, Malathion + PAM + Atropin + NAS grubunda MDA düzeyleri, apoptosis ve TRPM2 immünreaktivitesi anlamlı olarak azalmış izlendi.

Sonuç olarak, deneysel malathion uygulanmasının sıçan karaciğer dokusunda MDA, apoptosis ve TRPM2 immünreaktivitesini etkilememesine karşın böbrek dokusunda belirgin değişiklikler yaptığı, organofosfat zehirlenmelerinde böbrek dokusunda TRPM2 kanallarının önemli bir rol oynadığı ve gelecekte yapılacak daha kapsamlı çalışmalarla klinik olarak TRPM2 ile ilgili tedavi seçeneklerinin gündeme gelebileceği kanaatine varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Malathion, Böbrek, Karaciğer, N-Asetil Sistein, TRPM2.

ABSTRACT

EFFECTS OF N-ACETYL CYSTEINE IN APPLIED EXPERIMENTAL MALATHION ON RAT KIDNEY AND LIVER TISSUE TRANSIENT RECEPTOR POTENTIAL MELASTATIN 2 (TRPM2) CHANNELS

Organophosphate compounds are commonly used for the control of pests and plants as insecticides. It is known that organophosphates and sub-chronic or chronic toxicity cause histopathologic changes in tissues. Malathion is a wide spectrum organophosphate compound.

The objective of the our study was to scrutinize the effects of N-acetyl cysteine on Transient Receptor Potential Melastatin 2 (TRPM2) channel expression in experimental malathion applied rat kidney and liver tissues.

42, 8–10 weeks old, male Wistar albino rats were used in the study. Experimental animals were separated into 7 groups of Control, NAS, Pralidoxime + Atropine, Malathion, Malathion + Pralidoxime + Atropine, Malathion + Pralidoxime + Atropine + NAS and Malathion + NAS, with 6 rats each. N-acetyl cystein was administered as single dose intraperitoneal (i.p.) 100 mg/kg; Pralidoxime 40 mg/kg i.p.; Atropine 2 mg/kg i.p. and single dose orogastric Malathion LD50 (1375 mg/kg)/3 dissolved in corn oil was applied.

For determination of apoptotic cells, were used TUNEL method and for immunoreactivity, avidin-biotin-peroxidase method.

No differences were observed between the groups in MDA levels, apoptosis, and TRPM2 immunoreactivity in liver tissue in the our study.

However, significant increases were observed in MDA levels, apoptosis and TRPM2 immunoreactivity in Malathion and Malathion + NAS groups when compared to the control group in kidney tissue. Also significant reductions were observed in MDA levels, apoptosis and TRPM2 immunoreactivity in Malathion + Pralidoxime + Atropine, Malathion + Pralidoxime + Atropine + NAS groups when compared to Malathion group.

As a result, it was concluded that application of experimental malathion did not affect MDA levels, apoptosis, and TRPM2 immunoreactivity in rat liver tissue, while it caused significant changes in kidney tissue, TRPM2 channels played an

important role in kidney tissue in organophosphate poisoning, and future clinical and extended studies could be conducted on the treatment options about TRPM2.

Keywords: Malathion, kidney, liver, N-acetyl Cysteine, TRPM2



İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vii
TABLO LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ	x
KISALTMALAR LİSTESİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgiler	1
1.1.1. Organofosfatlar	1
1.1.1.1. Tanım	1
1.1.1.2. Organofosfat Bileşiklerinin Tarihçesi	2
1.1.1.3. Organizmaya giriş yolları	3
1.1.1.4. Kimyasal Özellikler	3
1.1.1.5. Vücutta Dağılımı	5
1.1.1.6. Farmakoloji ve Etki Mekanizmaları	5
1.1.2. Klinik bulgular	8
1.1.2.1. Diğer sistemik bulgular:	9
1.1.3. Tanı	10
1.1.4. Tedavi	13
1.2. Malathion	19
1.2.1. Fiziksel ve kimyasal özellikler	20
1.2.2. Akut Toksikite	20
1.3. Oksidatif Stres	22
1.4. Antioksidanlar	23
1.5. N- Asetil Sistein	24
1.6. Transient Reseptör Potansiyel Kanalları	25

1.6.1. Transient Reseptör Potansiyel Kanalları Üst Ailesi	26
1.6.2. Transient Reseptör Potansiyel Melastatin Alt Ailesi	27
1.6.3. Transient Reseptör Potansiyel Melastatin 2 Kanalları	28
2. GEREÇ VE YÖNTEM	30
2.1. Deney Hayvanları Ve Beslenmeleri	30
2.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	31
2.3. Doku Örneklerinin Alınması	31
2.4. Malondialdehid Çalışması	32
2.5. TUNEL Metodu	33
2.6. İmmünohistokimyasal İnceleme	34
2.7. İstatistiksel Analiz	36
3. BULGULAR	37
3.1. Malondialdehid düzeyleri	37
3.2. TUNEL Bulgular	37
3.3. İmmünohistokimyasal Bulgular	45
3.3.1. TRPM2 İmmünreaktivitesi	45
4. TARTIŞMA	54
5. KAYNAKLAR	60
6. ÖZGEÇMİŞ	75

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Organofosfat bileşiklerinin tehlike düzeylerine göre sınıflandırılması	4
Tablo 2.	Zehirlerin oral/dermal ÖD50 dozu açısından sınıflandırılması	8
Tablo 3.	Toksik sendromlar, ajanlar, belirti ve bulgular	12
Tablo 4.	Mnemonikler	12
Tablo 5.	Organofosfat zehirlenmesinde tedavi	14
Tablo 6.	Organofosfat zehirlenmesi olan olgularda atropinizasyon bulguları	15
Tablo 7.	Malathion'un toksisite sınıflandırılması	21
Tablo 8.	Deney Hayvanlarına Verilen Sıçan Yeminin Terkibi	30
Tablo 9.	Histolojik Takip Serileri	32
Tablo 10.	TUNEL Boyama Prosedürü.	34
Tablo 11.	İmmünohistokimyasal boyama prosedürü	35
Tablo 12.	Doku MDA değerleri	37
Tablo 13.	Apoptotik indeks	45
Tablo 14.	TRPM2 histoskor	53

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Organofosfatların kimyasal yapısı	3
Şekil 2.	Fosforik asit, Fosfonik asit, Fosfinik asit kimyasal yapısı	4
Şeki 3.	Asetilkolin nörotransmitterinin döngüsü	7
Şekil 4.	Malathionun açık formülü	20
Şekil 5.	TRPM kanalları	27
Şekil 6.	TRPM2 alt tipleri	28
Şekil 7.	TRPM2 katyon kanallarının moleküler yapısı	29
Şekil 8.	Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler.	38
Şekil 9.	NAS grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler.	38
Şekil 10.	PAM+Atropin grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler.	39
Şekil 11.	Malathion grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler.	39
Şekil 12.	Malathion + PAM + Atropin grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler.	40
Şekil 13.	Malathion + PAM + Atropin + NAS grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler.	40
Şekil 14.	Malathion+NAS grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler.	41
Şekil 15.	Kontrol grubuna ait karaciğer dokusunda TUNEL pozitif hücreler.	41
Şekil 16.	NAS grubuna ait karaciğer dokusunda TUNEL pozitif hücreler.	42
Şekil 17.	PAM+Atropin grubuna ait karaciğer dokusunda TUNEL pozitif hücreler.	42
Şekil 18.	Malathion grubuna ait karaciğer dokusunda TUNEL pozitif hücreler.	43
Şekil 19.	Malathion + PAM + Atropin grubuna ait karaciğer dokusunda TUNEL pozitif hücreler.	43
Şekil 20.	Malathion + PAM + Atropin + NAS grubuna ait karaciğer dokusunda TUNEL pozitif hücreler.	44
Şekil 21.	Malathion+NAS grubuna ait karaciğer dokusunda TUNEL pozitif hücreler.	44
Şekil 22.	Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi.	46

Şekil 23.	NAS grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi	46
Şekil 24.	PAM+Atropin grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi	47
Şekil 25.	Malathion grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi	47
Şekil 26.	Malathion + PAM + Atropin grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi	48
Şekil 27.	Malathion + PAM + Atropin + NAS grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi	48
Şekil 28.	Malathion+NAS grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi	49
Şekil 29.	Kontrol grubuna ait karaciğer dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi	49
Şekil 30.	NAS grubuna ait karaciğer dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi	50
Şekil 31.	PAM+Atropin grubuna ait karaciğer dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi	50
Şekil 32.	Malathion grubuna ait karaciğer dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi	51
Şekil 33.	Malathion+PAM+Atropin grubuna ait karaciğer dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi	51
Şekil 34.	Malathion+PAM+Atropin+NAS grubuna ait karaciğer dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi	52
Şekil 35.	Malathion+NAS grubuna ait karaciğer dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi	52

KISALTMALAR LİSTESİ

Ach	: Asetilkolin
AchE	: Asetilkolin esteraz
ADP	: Adenozin di-fosfat
ADPR	: Adenozin di-fosfat Riboz
Ca²⁺	: Kalsiyum
DAB	: Diaminobenzidine
FÜDAM	: Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi
GABA	: Gama amino bütirik asit
GSH	: Glutasyon
HCl	: Hidroklorik asit
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
IM	: İntramusküler
IV	: İntravenöz
i.p.	: İntraperitoneal
MDA	: Malondialdehit
Mg	: Magnezyum
MgSO₄	: Magnezyum sülfat
MSS	: Merkezi sinir sistemi
Na⁺	: Sodyum
NAD⁺	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NAS	: N-asetil sistein
OB	: Organofosfat bileşikleri
OF	: Organofosfat
PAM	: Pralidoksim
PBS	: Phosphate buffered saline

PchE	: Psödokolinesteraz
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
TCA	: Trikloroasetik asit
TBA	: Tiobarbitürik asit
TNF-α	: Tümör nekrozis faktör-alfa
TRP	: Transient Resesptör Potansiyel
TRPA	: TRP ankyrin
TRPC	: TRP conancial
TRPM	: TRP melastatin
TRPML	: TRP mucolipin
TRPP	: TRP polycystein
TRPV	: TRP vanilloid

1. GİRİŞ

Organofosfatlar (OF), yaklaşık olarak 50 yıldır pestisid olarak zararlı böcek ve bitkilerin kontrolü için yaygın olarak kullanılmakla birlikte (1) bir kimyasal savaş ajanı olarak da kullanılmaktadır. Bu ajanlara maruziyet dünya genelinde rapor edilen yıllık 3 milyon etkilenim ve 200 bin ölüm ile ciddi bir halk sağlığı problemidir (2, 3). Zehirlenme, özellikle gelişmekte olan ülkelerde görülmekte olup en sık olarak da tarım işçilerinde, üretim sektörü çalışanlarında ve küçük çocuklarda rapor edilmiştir. Suisidal zehirlenmeler, kolay elde edilebilmelerinden dolayı gelişmekte olan ülkelerin büyük bir problemidir (3).

1.1. Genel Bilgiler

1.1.1. Organofosfatlar

1.1.1.1. Tanım

Organofosfat pestisidler, tarım alanında oldukça sık kullanılırlar. Oldukça toksik olup hayatı tehdit edebilirler. Organofosfat zehirlenmesinin ölüm oranı hayli yüksektir ve ölümler sıklıkla tanının gecikmesi veya uygunsuz tedaviyle ilişkilidir. Ülkemiz gibi gelişmekte olan ülkelerde en sık zehirlenme nedenlerinden birisidir (4-7).

Organofosfatlar fosforik asit ve fosfotioik asit türevleridir. Bileşiklerin toksikokinetik ve toksikodinamikleri yan zincirler tarafından belirlenmektedir. İki yüzün üzerinde organofosfat bileşiği vardır (3).

Son yıllarda yapılan birçok çalışmada, pestisid maruziyetiyle ilişkili akut veya kronik hastalıklarda artış olduğu bilinmektedir. Kanseri, kronik böbrek yetmezliği, immün sistemin baskılanması, infertilite, endokrin bozukluklar, nörolojik ve davranışsal bozukluklar kronik pestisid maruziyetiyle ilişkili bulunmuştur (5). Tüm bu sebeplerle uluslararası kuruluşlar, tüketici sağlığını korumak amacıyla, gıda maddelerindeki maksimum pestisid kalıntı miktarını sınırlandırmıştır. Avrupa Birliği, direktiflerinde sebze ve meyveler için pestisid kalıntılarının farklı maksimum seviyelerini belirlemiştir (8).

Organofosfat pestisidler, kolinerjik sinapslarda, impulsun iletilmesi için gerekli olan "Asetilkolin Esteraz" (AChE) enziminin inhibisyonu aracılığıyla farmakolojik ve toksik etki gösterirler. Son yıllarda yapılan birçok çalışma, OF'ların

mutajenik, karsinojenik, teratojenik, sitotoksik, genotoksik ve immunotoksik olabileceğini ve hematolojik etkiler yapabileceğini ispatlamıştır (9-13).

Zehirlenmeler, bu kimyasalların üretim, taşınma ve kullanım alanlarında, evde kaza sonucu ve intihar amaçlı meydana gelebilir. Yaygın olarak kullanılmakta olan bu kimyasal maddelerin yiyeceklere bulaşması ile kitlesel zehirlenme ihtimali de vardır. Organofosfatların absorpsiyonu solunum yolundan, sindirim sisteminden, konjonktivadan, deriden ve mukozalardan olabilmektedir (14). Bu ajanların neden olduğu kardiyak komplikasyonlar genellikle ağır ve ölümcül olabilir. Erken teşhis ve uygun tedavi ile organofosfat zehirlenmesine bağlı ölüm ve komplikasyonlar önlenebilir (15).

Organofosfatlar yan gruplarına göre sınıflandırılırlar. Bu yan gruplar, toksisitenin belirlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (16, 17).

1.1.1.2.Organofosfat Bileşiklerinin Tarihçesi

Fransız kimyagerler Jean Louis Lassaigne ve Philippe de Clermont tarafından 19.yy'da ilk olarak organofosfatların sentezi yapılmıştır. Kullanılmaları ise 20. yy ilk dönemlerinde Alman kimyacı Gerhard Schrader öncülüğünde olmuştur. Bu dönemlerde OF'lar insektisit olarak kullanımı haricinde kimyasal silah olarak da kullanılmaya başlanmıştır. Takip eden sonraki yıllarda ise yüzlerce organofosfat bileşiği sentezlenmiş olup bunlar özellikle insektisit olarak kullanılmak üzere farklı bir uygulama alanı bulmuştur (18, 19)

Organoklorlu insektisidlerden 1847 yılında ilk DDT üretilmiş olmakla beraber insektisid olarak kullanımı 1940'larda olmuştur. Sentetik olarak sentezlenen ilk organofosfat bileşiği tetraetil pirofosfat olup 1854 yılında Clermont tarafından sentezlenmiştir. Lange ve Krueger 1932 yılında dimetil ve dietil fosforofloridatların inhalasyonuna bağlı olarak nefes darlığı ve bulanık görmenin ortaya çıktığını bulmuşlardır. Bu buluş Schrader'i bu ajanları incelemeye yöneltmiş olup bu ajanların başlangıçta pestisid sonrasında ise savaş silahı olarak kullanılması yönünde fikirler oluşturmuştur. Bu çalışmalar boyunca Schrader'in ekibi yüzlerce bileşik sentezlemiştir (18, 19).

1.1.1.3. Organizmaya giriş yolları

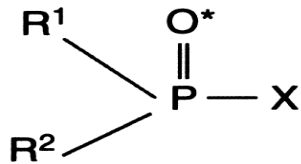
Organofosfat bileşikleri deri, göz, mukozalar, gastrointestinal sistem ve solunum sisteminden hızlıca emilebilirler. Solunum yolu ile zehirlenmelerde belirtiler hızlı başlamaktadır. Hastanın ortamdan uzaklaştırılması etkilenmeyi azaltabilmektedir. Deri yolu ile olan zehirlenmelerde ise emilim yavaş olup hastaneye daha geç geldiklerinden dolayı tablo daha ciddi olabilir (3, 16, 20).

Oral yol ile alımlar ise yanlışlıkla çocuk ve yaşlılar tarafından ya da intihar amacıyla alınması şeklinde oluşmaktadır. Bununla birlikte parenteral alımlar ile ilgili vakalar da bildirilmiştir. Parenteral alımlarda bulgular daha erken başlayıp daha ağır seyreder (3, 16, 20).

Organofosfat bileşikleri karaciğer, yağ dokusu ve böbreklere dağılır ve bu dokularda birikir. Bileşikler fosfat üzerinde mevcut olan atomlara göre sınıflandırılırlar. Dört atomu oksijen içeren bileşiklere fosfatlar, kükürt içerenlere fosfotioatlar, azot içerenlere fosforamidler, azot ve kükürt içerenlere fosforamidotionatlar, karbon içerenlere fosfonatlar, karbon ve kükürt içerenlere fosfonotionatlar denmektedir. Fosfotioatlar, fosfatlardan daha fazla lipofiliktir. Bundan dolayı yağ dokusunda daha fazla miktarda birikim gösterirler. Fosfotioatlar sitokrom P450'ye bağımlı meydana gelen oksidatif desülfürasyon ile aktif fosfatlara dönüşürler. Bundan dolayı bu gruptaki belirtiler daha geç oluşmaktadır. Bileşikler yağda çözünen veya metabolik aktivasyon gerektiren gruplardan birinde yer almıyorsa bulgular 12 saat içinde görülmektedir. Yağ dokusunda depolandıklarından dolayı organizmadan uzaklaştırılmaları daha yavaş olup daha fazla lipofilik olanlarda birkaç gün alabilir (3, 16, 20).

1.1.1.4. Kimyasal Özellikler

Organofosfatlı insektisitler normal olarak ester, tiol ester veya fosfor içeren asitlerden elde edilmiş olan asit-anhidritlerdir (3, 16, 20).



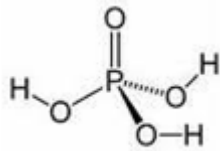
*or S

Şekil 1. Organofosfatların kimyasal yapısı

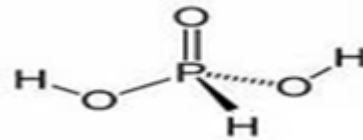
Organofosfatların tehlike düzeylerine göre sınıflandırılması Tablo 1’de gösterilmiştir (16, 20, 21). Kimyasal yapıları ise Şekil 1 ve Şekil 2’de gösterilmiştir (20, 22)

Tablo 1. Organofosfat bileşiklerinin tehlike düzeylerine göre sınıflandırılması

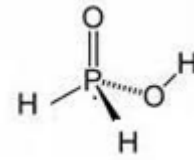
Sınıf Ia Aşırı tehlikeli	Sınıf Ib Çok tehlikeli	Sınıf II Orta derecede tehlikeli	Sınıf III Hafif tehlikeli	Sınıf IV Akut tehlike olasılığı yok
Chlorfenvinphost	Azinphos-ethyl	Chlorpyrifos	Acephate	Chlorphoxim
Coumaphos	Azinphos-methyl	Diazinon	Bromophos	Chlorpyrifos-methyl
Demeton	Bromophos-ethyl	Dichlofenthion	Malathion	Temephos
Disulfoton	Demeton-s-methyl	Dimethoate	Pirimiphos-methyl	
Ethoprophos	Dichlorvos	Ethion	Trichlorfon	Tetrachlorvinphos
Fenamiphos	Dicrotophos	Fenitrothion		
Fensulphothion	Fenthion	Phosmet		
Fonophos	İsofenphos	Phoxim		
Leptophos	Methamidophos	Profenofos		
Mephosfolan	Methidathion	Prothiofos		
Mevinphos	Monocrotophos	Sulprofos		
Parathion	Omethoate			
Parathion-methyl	Pirimphos-ethyl			
Phorate	Propetamphos			
Tricloronat	Thiometon			
Phosfamidon	Triazophos			
Prothate	Vamidothion			
Sulfotep				
TEPP				
Terbufos				
Fosfolan				



A) Fosforik asit



B) Fosfonik asit



C) Fosfinik asit

Şekil 2. Fosforik asit, Fosfonik asit, Fosfinik asit kimyasal yapısı

Organofosforlu bileşikler;

Grup 1: Bu gruptaki bileşikler X pozisyonunda kuvaterner nitrojen içermekte olup fosfokolinle sonlanırlar. Güçlü kolinesteraz inhibisyonu yapmalarına ilaveten kolinerjik reseptörleri direkt olarak uyarabilirler.

Grup 2: Bu bileşikler değişken grupta fluorin molekül içermelerinden dolayı florofosfatlar olarak adlandırılırlar. Grup 1 bileşiklerdeki gibi volatil ve yüksek toksiteye sahiptirler bu da onları kimyasal savaş için ideal kılmaktadır.

Grup 3: Bu bileşiklerin değişken grubunda siyanidin veya florinden farklı bir halojen vardır. Bu gruptaki en iyi bilinenler tabun gibi siyanofosfatlardır.

Grup 4: En kapsamlı gruptur. R1, R2 gruplarına bağlı olarak çeşitli alt gruplara ayrılmaktadırlar. Birçoğu dimethoxy veya diethoxy bileşikleri kategorisine girerler.

Günümüzde kullanılan insektisidlerin büyük kısmı bu gruba dahildir (18).

1.1.1.5. Vücutta Dağılımı

Organofosfatların çoğu yağda çözünürlüğü oldukça yüksek bileşiklerdir. Hızla tüm vücut dokularına dağılırlar. Karaciğer ve böbrekte en yüksek konsantrasyonda birikirler. Yağda çözünürlüğü daha yüksek olanlar kan-beyin bariyerini kolaylıkla geçerler ve bu nedenle merkezi sinir sistemine (MSS) etkilidirler. Bu bileşikler başlıca karaciğerde esteraz hidroliz ve konjugasyon ile yıkılırlar. Malathion ve parathionun oksidatif ürünleri (malaokson ve paraokson) etkili formlarıdır. Bu ürünler hidroliz ile etkisiz ürünlere dönüşürler. Organofosfatların ve ürünlerinin atılımı idrar, safra ve dışkı yolu ile olmaktadır (14, 23).

1.1.1.6. Farmakoloji ve Etki Mekanizmaları

Organofosforlu bileşikler, AchE enziminin asit transfer edici inhibitörleridir (23).

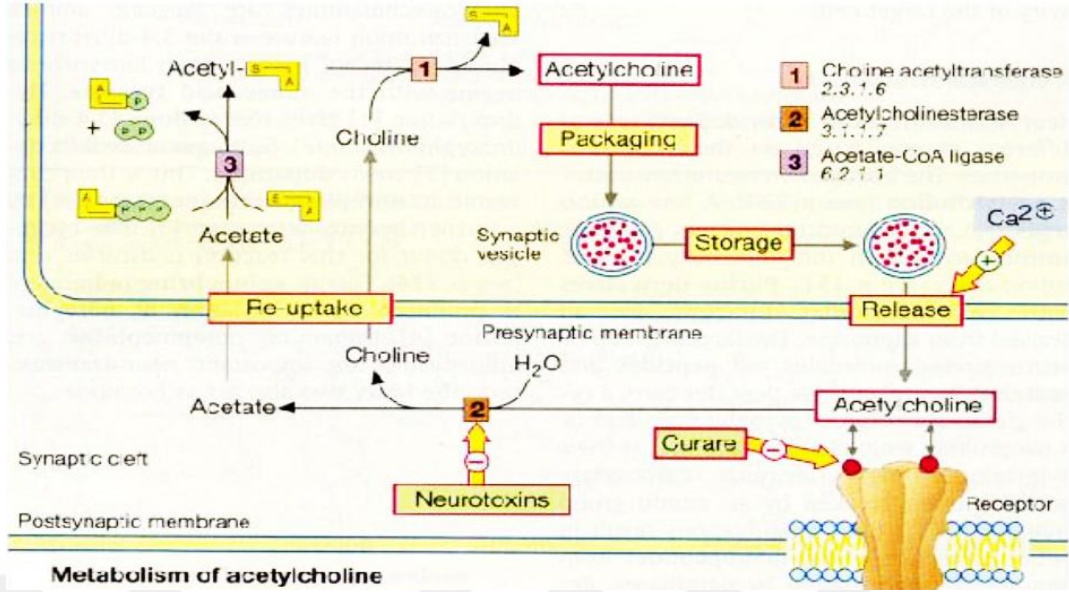
Asetilkolinesteraz (gerçek veya eritrosit AchE) başlıca eritrosit membranında, iskelet kasında ve sinir dokusunda bulunmaktadır. Serum kolinesteraz (psödokolinesteraz (PchE) veya bütiril kolinesteraz) serum, pankreas, karaciğer, beyin ve kalp dokularında bulunur. Kolinesteraz inhibisyonu, asetilkolin (Ach) reseptörlerinin daha fazla uyarılması ile sonuçlanan sinir sinapslarında ve nöromusküler kavşakta Ach birikimine sebep olur. Asetilkolin; merkezi, somatik ve

otonomik sinir sistemindeki majör nörotransmitterdir. Kolinesterazın görevi, Ach'yi aktif olmayan bileşenleri olan asetik asit ve koline hidrolize etmektir. Başlangıçta meydana gelen Ach'nin aşırı uyarılmasını MSS'nde, otonomik gangliyonlarda, parasempatik ve bazı sempatik sinir sonlarında ve somatik sinirlerde kolinerjik sinaptik iletimin paralizisi takip etmektedir (14, 23).

Asetilkolin artışı santral ve periferik klinik toksidrom olarak meydana gelen kolinerjik krize neden olur. Motor son plaklarda Ach birikimine bağlı olarak meydana gelen nikotik (sempatomimetik) etkiler; kas fasikülasyonları ile sonuçlanan iskelet kaslarının kalıcı depolarizasyonu, kas güçsüzlüğü, hipertansiyon ve taşikardidir. Düz kaslardaki potansiyel postganglionik parasempatik aktiviteye bağlı olarak ortaya çıkan muskarinik etkiler, tüm organlarda (örneğin göz, akciğer, mesane, gastrointestinal sistem, sekretuar bezler) düz kas kontraksiyonlarına ve bradikardiye sebep olur veya ventriküler disritmilerle sonuçlanan sinüs nodu ve atriyoventriküler nod iletiminin zayıflamasına neden olabilir. Zehirlenmelerdeki belirti ve bulgular nikotik ve muskarinik reseptörler arasındaki dengeye bağlıdır (14, 23).

Organofosfat-kolinesteraz bağı, farmakolojik müdahale olmazsa kendiliğinden geri dönmez ve 24-48 saatlik sürekli bağlanmada kolinesterazda irreversible yıkım oluşturur. Buna "yaşlanma" (aging) adı verilmektedir. Yaşlanma, enzimin spontan ya da oksime bağlı olarak aktive olamaması durumudur ve fosforil grubu enzime bağlı kalarak, kalıcı kimyasal değişikliklere neden olur. Yaşlanma, ajanlara göre değişik zamanlarda olur. Yaşlanmadan kurtuluş sadece yeni enzim üretimiyle sağlanır. Yaşlanma ne kadar hızlı olursa, reaktivasyon tedavileri de o kadar az etkin olur. Oksimlerin etkin olabilmesi için bu süreçten daha önce uygulanmaları gerekmektedir (14, 24).

Asetilkolin nörotransmitterinin döngüsü Şekil 3'de gösterilmiştir (25).



Şeki 3. Asetilkolin nörotransmitterinin döngüsü

Asetilkolinesteraz enziminin bir molekülü, dakikada 600.000 Ach molekülünü hidrolize etmektedir. Sinir sonlanmasını uyardığında salınan onbinlerce Ach molekülü 1 milisaniyeden daha kısa bir süre içinde bütünüyle yıkılır. Bu sayede postsinaptik membranın, ikinci impuls salıverme yapmadan önce temizlenerek desensitizasyonu önlenmiş olmaktadır (26).

Kolinerjik uyarıda görev alan AchE yapısal polimorfizm göstermektedir. Asetilkolinesteraz enziminin asimetrik ve globüler şekilleri bulunmaktadır. Asimetrik şekiller bir ya da daha fazla tetramerik katalitik subüniteden oluşmakta ve musküler bazal lamina gibi hücre dışı yapılara, kollajene benzeyen fibröz bir kuyruk ile bağlanmaktadır. Asimetrik şekil özellikle iskelet kası nöromusküler kavşakları ile kalp kası ve periferik ganglionlarda bulunmaktadır. Globüler şekiller ise monomerik, dimerik ve tetramerik şekillerde olup çözünebilir veya membrana bağlı şekilde bulunabilirler. Beyinde bulunan AchE'lerin büyük çoğunluğunu globüler formlar meydana getirmektedir (27, 28).

Li ve ark. (29) PchE'nin belirli alanlarda kolinerjik iletimin desteklenmesinde ve regülasyonunda AchE'a yedek görevi gören doğal fizyolojik bir işlevi olduğunu göstermişlerdir.

Dünya Sağlık Örgütü tarafından bu zehirler genellikle ratlarda oral veya deri yoluyla ÖD50 miktarlarının seviyesine göre Sınıf IA, Sınıf IB, Sınıf II, Sınıf III şeklinde sınıflandırılır (Tablo 2) (21).

Tablo 2. Zehirlerin oral/dermal ÖD₅₀ dozu açısından sınıflandırılması

Zehirlilik sınıfı	Sıçan, ÖD ₅₀ mg/kg			
	Ağız yoluyla		Deri yoluyla	
	Katı	Sıvı	Katı	Sıvı
Sınıf IA	≤5	≤20	≤10	≤40
Sınıf IB	5-50	20-200	10-100	40-400
Sınıf II	50-500	200-2000	100-1000	400-4000
Sınıf III	>500	>2000	>1000	>4000

ÖD₅₀: Uygulama sonrası maruz kalanların %50'sini öldüren doz

1.1.2. Klinik bulgular

Klinik bulgular, ajanlara, emilen miktara ve nasıl maruz kalındığına bağlıdır. Organofosfat çok miktarda alındıysa, bulgular dakikalar içinde ortaya çıkabilir. Birçok hasta alımdan 8-24 saat sonra semptom vermeye baslar. Yağda çözünürlüğü yüksek olan bileşiklerde yağ dokusundan yeniden dağılım nedeniyle başlangıç bulgularının ortaya çıkması gecikebilir. Başlangıç solunum yoluyla çok hızlı, ciltten emilimle en yavaştır. Fakat dermatit veya deride açıklıklar olması, transdermal emilimi hızlandırabilir (14).

Bileşiğin toksitesi arasındaki farklar, farklı OF'lu insektisitlerin özelliklerine ve onların AchE'ı inhibisyon etkilerine dayanmaktadır (20, 30).

Akut sistemik OF zehirlenmelerinde, değişik MSS, muskarinik, nikotinik ve somatik motor nöron bulguları oluşur. Akut OF zehirlenmelerinde akut kolinerjik sendrom, intermediate sendrom ve gecikmiş polinöropati olmak üzere üç ayrı tablo tariflenir (31).

Akut kolinerjik sendrom, sinir reseptör alanında Ach'nin birikimi ile oluşur. Klinik semptom ve bulgular muskarinik, nikotinik ve MSS bulgularıdır. Akut kolinerjik sendrom genellikle 24-48 saat sürer, takip ve tedavisi için yoğun bakım ünitesi gerektirir. Asetilkolinin **muskarinik** alanda birikmesi ile sekresyonlarda artış (bronkore, tükürük salgısında artış, terleme, gözyaşında artış), hava yollarında daralma (dispne, hırıltılı solunum), bradikardi, miyozis, bulanık görme, sık idrara çıkma, kusma, barsak hareketlerinde artış, karında gerginlik hissi ve ağrı oluşur. **Nikotinik** alanda Ach artmasına bağlı olarak depolarizasyon bloğuna bağlı kaslarda seğirme ve paralizisi ortaya çıkabilir. Nikotinik reseptör uyarısı ile hastalarda nadiren taşikardi ve

hipertansiyon olur. Kalp bulguları sıklıkla ciddidir ve ölümün sebebi olabilir (3, 14, 20, 31-35)

Elektrokardiyografik bulgular: Uzamış Q-T aralığı, ST segment yüksekliği, T dalga çöküklüğü ve PR süresinde uzamadır. Sinüs bradikardisi, ventriküler ekstrasistol, ventriküler taşikardi ve fibrilasyon gibi anormal ritimler de olabilir (3, 14, 20, 31-35).

Asetilkolinesterazın beyinde baskılanması: Baş ağrısı, uyuyamama, vertigo, konfüzyon ve uykuya meyile yol açar. Şiddetli olgularda konuşma bozukluğu, bilinç bozukluğu ve sonunda solunum depresyonuna yol açabilir. Ölüm akut kolinerjik sendrom dönemindeki kalp, solunum ve MSS etkilerine bağlıdır (3, 14, 20, 31-35).

İntermediate sendromda; solunum kaslarının yorulmasıyla solunum fonksiyonunun azalması veya kaybı ifade edilmektedir. Özellikle lipofilik özelliği yüksek bir OF teması sonrası görülmektedir (3, 14, 20, 31-35).

Gecikmiş polinöropati: Organofosfatların çok azında görülmektedir. Genellikle OF bileşiğine maruziyetin ardından 14-28. günler arasında görülmektedir. Doğru tedavi ile birçok hastada bu olay görülmemektedir. Periferik miyopati simetrik ve beraberinde duyuşal bozukluk bulunabilir. Motor bozukluğu duyu bozukluktan daha şiddetlidir. Bacak kaslarında keskin ağrılar, el ve ayaklarda seğirme, uyuşukluk ve karıncalanma erken sinir sistemi bulgularıdır. Ağrı ve kas güçsüzlüğü hızla yayılır, hastalar çalışamaz ve kendi dengelerini koruyamaz hale gelir. Derin tendon refleksleri baskılanır. Üst ekstremiteler de benzer biçimde birkaç gün içinde etkilenmeye başlar. Fizik muayenede baskın olarak motor polinöropatiye bağlı gevşek felç ve distal kaslarda güçsüzlük görülür. Bulgular şiddetli olgularda kuadriplejiye kadar gidebilir. Bazı işlevler zamanla iyileşebilir fakat piramidal ve merkezi nörolojik tutulumun çoğu kalıcıdır. Bu olaydan sinir dokusunda bulunan nöropati target esteraz enziminin fosforilasyonu sorumlu olabilir. Ancak fizyolojik fonksiyonu bilinmemektedir (3, 14, 20, 31-35).

1.1.2.1. Diğer sistemik bulgular:

Bağışıklık Sistemi: Parationun farelerde koyun eritrositlerine karşı IgM ve IgG cevabını baskıladığı görülmüştür. Organofosfata maruz kalan çalışanlarda nötrofil kemotaksisinin bozulduğu bulunmuştur. Ayrıca, grip benzeri bulgular OF

zehirlenmelerinde de bildirilmiştir. Lökosit düzeyinin normal olması veya takipte normale inmesi daha iyi prognoz işareti, lökosit düzeyinin yüksek olması veya takipte yükselmesi kötü prognoz işareti olarak bulunmuştur (36-38).

Metabolizma ve Endokrin Sistem: Hiperglisemi çok sık görülür. Pankreatit ve hiperpotasemi gelişimi gösterilmiştir. Adrenokortikotropik hormonun diürenal ritminde bozulma ve zehirlenme sonrasında seviyelerinde artma olduğu gösterilmiştir. Ratlarda malathiona bağlı T3 ve T4 düşüklüğü ve Tiroid Stimulan Hormon yüksekliği gösterilmiştir. Bu metabolik etkiler Ach'nin direkt etkileri veya OF bileşiğinin direkt etkileri olabileceği gibi strese bağlı da olabilir (36).

Üreme Sistemi: Hayvan çalışmalarında gebelik sırasında OF bileşiğine maruz kalmanın prenatal ve postnatal ölümlere ve konjenital anomalilere yol açtığı gösterilmiştir. Fakat gebeliğin ikinci trimesterinden sonra normal doğum olması daha sıktır (36, 39).

Kardiyovasküler Sistem: 3 faz tanımlanmıştır (23, 40);

Faz 1: Başlangıç dönemidir. Hipertansiyon ve sinus taşikardisi vardır. Kısa bir süre devam eder.

Bunlar nikotinik etkilere bağlanmaktadır, sempatik sistem kontrol altındadır ve Ach ile aktive edilen adrenal medulladan aşırı katekolamin salınması ile meydana gelen feokromasitoma benzeri bir durum nedeni ile olabilir (41).

Faz 2: Hipotansiyon ve sinus bradikardisinin ortaya çıktığı uzamış periyod. Aşırı parasempatik aktivite ile bu etkilerin meydana geldiği düşünülür. Sıklıkla ST-T segment değişiklikleri ve değişen derecelerde AV ileti bozuklukları görülmektedir.

Faz 3: QT uzaması, polimorfik taşikardi (Torsades de Pointes, TdP) ve ani kardiyak ölüm, bu aşamada görülmektedir.

1.1.3. Tanı

Organofosfat zehirlenmesi süphesinde iyi bir anamnez, anlamlı toksisite varlığı ve laboratuvar kolinesteraz düzeyleri ile tanı konur. Gerek akut gerekse kronik zehirlenmede klinik bulgular bazen belirsiz olduğu için, sadece klinik bulgulara göre tanı koymak zordur. Toksisite nonspesifik bir grip tablosu gibi görülebilir. Toksisitenin seviyesi spesifik bulguların varlığına dayanılarak hafif, orta ve şiddetli toksisite şeklinde sınıflandırılır. Hastadan petrol ya da sarımsak benzeri koku alınabilir fakat tanı koydurucu değildir, sadece tanıya yardımcıdır (14, 36, 42).

Anamnez zehirlenmeden şüphelenmek için ilk adım olmalıdır. Hastanın miyozis, sekresyonlarda artış, bradikardi gibi kolinerjik zehirlenme bulgularının olması tanı için oldukça anlamlıdır. Bazı olgularda nikotinik etkilerin muskarinik bulguları belirsizleştirebileceği unutulmamalıdır. Bazı mantarlar (amanita muskarina) ve karbamat zehirlenmelerinde de kolinerjik bulgular meydana gelebildiği için dikkatli olunmalıdır. Sekresyon artışı, miyozis ve bradikardi ile gelen hastada mutlaka kolinerjik zehirlenme akla gelmeli ve tanının ekarte edilmesi gerekmektedir. Hastaların kusmuğunda, mide yıkama sıvısında, nefesinde tipik OF'ların kokusunun duyulması önemlidir (43).

Laboratuvar testi olarak dokularda OF ve metabolitlerinin ölçülmesi kullanılabilir en güvenilir test olmakla birlikte, erken sonuç alınabilecek bir test değildir, ayrıca her laboratuvarda yapılamaması ve OF'ların birçoğunun toksik düzeylerinin bilinmemesi bu testin olumsuz yanlarıdır. Sinir dokusunda AchE enzim seviyesinin ölçmek başka bir testtir, MSS veya sinir doku biyopsisi gerektirir ve bu oldukça invazif ve pratik olmayan bir yöntemdir. Ayrıca kişisel bazal AchE seviyesinin bilinmesine de ihtiyaç duyulur (3, 43).

Serum kolinesterazı, bireysel varyasyonlar, karaciğer hastalıkları, böbrek hastalıkları, malnutrisyon, kanserler, tiroid hastalıkları, obesite, oral kontraseptif kullanımı nedeniyle salınımı etkilendiğinden serumda yüksek oranda dalgalanmalar gösterir. Bu da eğer önceki kan seviyesi bilinmiyorsa organofosfat zehirlenmesinde bu enzimin klinik tanıdaki değerini düşürür (44).

Pratikte plazma ve eritrositlerdeki kolinesteraz enzim aktivitesini ölçmek kullanılan tanı yöntemidir. Eritrosit kolinesterazı, gerçek kolinesteraz yani AchE olup, sinir dokusu ve bağ dokusunda da bulunur. Bu nedenle periferik dokular, kas ve beyindeki AchE enzim aktivitesini de göstermiş olur. Dolayısıyla bir plazma kolinesterazı olan PchE'nin serum düzeyine göre AchE seviyesi daha geçerli bir parametredir. Fonksiyonu tam olarak bilinmeyen plazma PchE karaciğer tarafından sentezlenir. Plazma, kalp ve beyinde bulunur ve bütirilkolinesteraz olarak da adlandırılmaktadır (27-29, 43, 44).

Eğer OF zehirlenmesinden şüpheleniliyor ve laboratuvar testleri yapılamıyorsa 1 mg atropin IV yapılır. Organofosfat zehirlenmesi varsa antikolinerjik bulgular gelişemez ve antikolinesteraz zehirlenmesi şüphesi

kuvvetlenir (20, 43). Bazı toksidromlar ve mnemonikler Tablo 3 ve Tablo 4’de özetlenmiştir (14)

Tablo 3. Toksik sendromlar, ajanlar, belirti ve bulgular

Toksidromlar	Neden Olan Ajanlar	Belirti ve Bulgular	Müdahale
Antikolinergic Sendrom	Trisiklik Antidepresanlar, Atropin, Skopolamin, Antihistaminikler, Nöroleptikler, Mantar	Bilinç değişikliği, kuru deri ve mukozalar, midriazis, taşikardi, hipertermi, idrar retansiyonu	Fizostigmin, benzodiazepin, soğutma
Kolinejik Sendrom (Muskarinik)	Organofosfatlar, Karbamatlar, Fizostigmin, Mantar	Miyozis, bradikardi, salivasyon, lakrimasyon, defekasyon, ürinasyon, kusma	Havayolu güvenliği, ventilasyon, atropin, pralidoksim
Kolinejik Sendrom (Nikotinik)	Karbamatlar, Nikotin	Taşikardi, hipertansiyon, fasikülasyonlar	Pralidoksim
Opioid	Eroin, Morfin, Fentanil, Metadon, Difenoksilat	Sedasyon, miyozis, hipotermi, bradikardi, solunum baskılanması	Ventilasyon, naloksan
Salisilatlar	Aspirin, Keklik üzümü yağı	Bilinç değişikliği, kulak çınlaması, taşipne, taşikardi, solunumsal alkaloz, metabolik asidoz	Multidoz aktif kömür, potasyum replasmanı ile üriner alkalinizasyon, hemodiyaliz
Sempatomimetik Sendrom	Kokain, Ainetamin, Kafein, Efedrin, Teofilin	Ajitasyon, midriyazis, terleme, taşikardi, ateş hipertansiyon	Soğutma, hidrasyon, benzodiazepin ile sedasyon
Serotoninerjik Sendrom	Meperidin, Selektif Serotonin Reuptake inhibitörleri, Mono Amino Oksidaz inhibitörleri	Bilinç değişikliği, ateş, refleks artışı, artmış kas tonusu	Soğutma, siproheptadin, benzodiazepin ile sedasyon
Ekstrapiramidal	Haloperidol, olanzapin, risperidon, fenotiazinler	Distoni, tortikollis, kas rijiditesi, tremor, nöbet, koreatetoz	Difenhidramin, benztropin, benzodiazepinler

Kardiyak komplikasyonlar ölümcül olabilir. Erken tanı ve uygun tedavi ile OF zehirlenmesine bağlı ölüm ve sakatlıklar önlenebilir (15).

Tablo 4. Mnemonikler

S	Salivasyon
L	Lakrimasyon
U	Ürinasyon
D	Defekasyon
G	Gastrointestinal bulgular
E	Kusma (Emezis)
D	Defekasyon, Diyare
U	Ürinasyon
M	Kas güçsüzlüğü (Muscle weakness), Miyozis
B	Bradikardi, bronkore, bronkospazm
E	Kusma (Emesis)
L	Lakrimasyon
S	Salivasyon
Ölümcül B'ler	Bradikardi, bronkore, bronkospazm

1.1.4. Tedavi

Tedavi; dekontaminasyon, absorpsiyonun engellenmesi, genel destek ile birlikte yoğun respiratuar destek tedavilerinin birleşiminden oluşur. Tedavide antidotların verilmesi, toksisitenin derecesi ile ilişkilidir. Tedavi etkinliği kolinesteraz düzeyleriyle korele olmayabilir (14).

Acil servise başvuran her hastada yapılması gerektiği gibi ilk olarak, Temel Yaşam Desteği ve hastanın stabilizasyonu (destekleyici ve semptomatik yaklaşım) gerçekleştirilmelidir. Öncelikli olan hastanın stabilize edilmesi ve havayolunun açılması, solunumun sağlanması ve dolaşımın idamesidir. Sonrasında ilk yapılması gereken toksik madde absorpsiyonunun engellenmesi, eliminasyonun artırılması, ve spesifik antidot tedavisidir. Monitörizasyon, mümkün olan tüm detaylarıyla sağlanmalıdır (14, 43, 45).

Hastanın solunum yolunun güvenliği sağlanmış olmalıdır. Gerekirse entübasyon ve mekanik ventilasyon uygulanmalıdır. Ancak solunum ağızdan ağıza yapılmamalıdır. Bu hastalarda kusma, vokal kord paralizi ve aspirasyon sık görülmektedir. Bu yüzden hastanın başı yüksek tutulmalıdır ve yan yatırılmalıdır. Organofosfat bileşikler deriden emilebilirler. Bundan dolayı deri yolu ile zehirlenenlerde veya oral alımda giysilerine kusma sonucu mide içeriği bulaşanlarda giysiler çıkarılmalı ve deri sabunlu su ile yıkanmalıdır. Eğer zehirlenme inhalasyon ile olmuşsa hasta bu ortamdan uzaklaştırılmalıdır. Yoğun bakım çalışanlarında OF zehirlenmelerini takip sırasında zehirlenme bulguları gelişebildiğinden ortam iyi havalandırılmalıdır. Bakım yapan personel eldiven kullanmalı ve ellerini bakım sonrası yıkamalıdır. Zehirlenme oral yoldan olmuş ise ilk dört saat içinde midenin yıkanması yararlı olabilir. Aktif kömür emilimi azaltmakta yardımcı olabilir. Hasta nöbet geçiriyorsa diazepamın yararı vardır. Sodyum bikarbonat, oligürik böbrek yetmezliği riskini azaltmak için verilebilir (4, 14, 20, 45, 46).

Genel yaklaşımların ardından etken madde ile hasta birbirinden uzaklaştırılmalıdır. Bu işlem maruziyet şekline göre gerçekleştirilmelidir. Uzaklaştırma yöntemlerinden birkaçı kontamine kıyafetlerin çıkarılarak, vücudun (bol sabunlu su ve daha sonra dilue etanol ile) yıkanması, gerekiyorsa saç, sakal gibi vücut kıllarının, tırnakların kesilmesidir. Lateks eldiven yerine neopren veya nitril eldiven kullanılmalıdır. Organofosfat vücuda girdikten sonra, tekrar cilt yolu ile

dışarı salınarak tekrar tekrar emilebilirler. Bu nedenle ciddi zehirlenmelerde yıkama işlemi, cilt yolu ile temas olmasa bile yapılmalıdır. Gastrik lavaj yapılarak aktif kömür (1g/kg) verilmesi de OF'ın absorpsiyonunu önlemeye yönelik tedavi yaklaşımlarıdır, ancak yararlılıkları kanıtlanamamıştır. Tedavi basamakları ve yararlılıkları Tablo 5'de gösterilmiştir (14).

Tablo 5. Organofosfat zehirlenmesinde tedavi

Dekontaminasyon	Sağlık çalışanlarının zehirlenmesini engellemek için koruyucu kıyafetler giyilmeli. Bütün kıyafetler tehlikeli atık olarak uzaklaştırılmalıdır. Hasta sabun ve su ile yıkanmalıdır. Yıkama atık suyu tehlikeli atık olarak yok edilmelidir.
Monitörizasyon	Kardiyak monitör, pulse oksimetre, % 100 oksijen
Mide yıkama	Yararı ispatlanmamış
Aktif kömür	Yararı ispatlanmamış
Üriner alkalizasyon	Yararı ispatlanmamış
Atropin (mg)	Yetişkinde IV 1 mg veya daha fazla veya çocuklarda IV 0.01-0.04 mg/kg (fakat asla <0.1mg değil). Her 5 dakikada bir trakeobronşiyal sekresyonlar azalana kadar tekrar edilir
Pralidoksim (gr)	Yetişkinlerde 1-2 gr veya çocuklarda 20-40 mg/kg (1 gr'a kadar) normal salin içerisinde 5-10 dakikada IV infüzyon
Nöbetler	Benzodiazepinler

Önemli kas güçsüzlüğü olanlarda ve zehirlenme sonucu bol salgısı olan hastalarda en iyi yöntem hastanın güvenli hava yolunun sürdürülmesi için erken entübasyon ve pozitif basınçlı solunum desteğidir. Nondepolarizan nöromuskuler blokörlerin kullanılmasında sakınca yoktur. Düşük PChE aktivitesinde süksinilkolin gibi depolarizan ajanların metabolizması uzayacak, sonuçta etkisi 24 saat ya da daha fazla sürecektir (14, 18).

Artmış muskarinik aktiviteyi kontrol altına almak tedavide ikinci önceliktir. Atropin sülfat, muskarinik reseptörlerde Ach'nin yarışmalı antagonistidir. Artmış salgı, miyozis, bronkospazm, kusma, ishal, terleme ve idrar kaçırma gibi semptomları geri çevirir. Atropin postsinaptik muskarinik reseptörde etkili olmasına rağmen nikotinik reseptörlerde etkili değildir. Kas güçsüzlüğü, pleji ve kolinesterazın yenilenmesi üzerine etkisi yoktur (14, 18, 43).

Karaciğerde esterazlar ile hemen hemen yarısı hidrolize edilirken, geri kalanı idrarla değişmeden atılmaktadır. Eliminasyon yarı ömrü 2-5 saat civarındadır. Taşikardi, hiperemi, cilt kuruluğu, midriazis, trakea ve bronş mukoza salgılarını inhibe etmek gibi antikolinergik etkileri mevcuttur. Santral sinir sisteminde halusasyonlar, deliryum ve komaya kadar bilinç ve davranış değişiklikleri meydana

getirebilir. Aynı zamanda solunum merkezini de baskılayabilir. Atropin tedavisinin etkili olduğunu gösteren esas bulgu trakeobronşial sekresyon artışının ortadan kalkmasıdır. Taşikardi, atropin için bir komplikasyon değildir. Ağır vakalarda yüzlerce miligram atropin kullanılabilir (43, 47).

Başlangıç dozu olarak hafif-orta zehirlenmelerde 1-2 mg IV ve şuuru kapalı ciddi zehirlenmelerde 3-5 mg IV önerilmektedir. Bu doz ihtiyaca göre her 3-5 dakikada bir iki katına çıkarılabilir (14, 43).

Çocuklarda tedaviye 0,05 mg/kg ile başlanır. Çünkü şiddetli OF zehirlenmelerinde hastaların yüzlerce mg atropine ihtiyacı olabileceği düşünülürse, başlangıç dozunu tekrarlamakla yeterli atropinizasyona ulaşmak saatler alabilmektedir. Onun için başlangıç dozu artırılarak devam edilmelidir. Şiddetli zehirlenmelerde amaç; en kısa sürede hastayı atropinize etmektir (14, 18, 47, 48).

Yeterli atropinizasyona ulaşıldıktan sonra etkisini sürdürmek için uygun dozda atropin infüzyonuna devam edilmesi gereklidir. Ancak hastanın durumuna göre doz bireyselleştirilmelidir, zira bireyler arasında atropin duyarlılığı değişiklik gösterir ki bu da toksisite ve yan etkiler açısından önemlidir. Down sendromlu hastaların atropine anormal duyarlıdır (4, 14, 20, 43, 49, 50).

Siklopleji oluşması ile yakını görme bozulu. Midriyatik etki sonucu, göz içi basıncın artmasına neden olabilmektedir, dar açılı glokomda kullanılmamalıdır (48).

Atropin verilmesinin ardından 3–5 dakika sonra kolinerjik zehirlenmenin beş parametresi kontrol edilmelidir (Tablo 6) (47).

Tablo 6. Organofosfat zehirlenmesi olan olgularda atropinizasyon bulguları

Oksültasyonda wheezing bulunmadan normal akciğer sesleri
Miyozisin geçmesi
Kalp hızının 80 atım/ dakikadan yüksek olması
Terlemenin geçmesi (kuru aksilla)
Sistolik kan basıncının 80 mmHg'dan yüksek olması

Atropin yüksek doz verildiğinde; ajitasyon, konfüzyon, üriner retansiyon, pireksi, ileus ve taşikardi görülür. Düzenli muayeneler esnasında bu bulgular gözden geçirilmelidir. Bulguların mevcut olması durumunda atropin verilmesi durdurulmalıdır. Bulgular ortadan kalkana kadar hastalar 30 dakika aralıklarla muayene edilmelidir. Sonrasında kolinerjik bulguların ortaya çıkışına izin vermeyecek şekilde atropine devam edilmelidir (47)

Glikopirolat: Periferik etkisi atropin kadar güçlü olmasına rağmen kan-beyin bariyerini geçişi iyi olmadığı için MSS etkileri için uygun değildir. Oral, IV veya IM kullanımları mevcuttur. Muskarinik etkiler ortaya çıkıncaya kadar her 10-15 dakikada bir 1 mg bolus olarak verilebilir. Gebelerde, plasentayı geçemediği için daha güvenilirdir. Periferik dokular için etkinliği atropinin 2 katı kadardır. Atropin alerjisi varlığında alternatif tedavidir (36, 50).

Skopolamin: Hem santral hem periferik etkilere sahip bir antimuskarinik ajandır. Kan-beyin bariyerini iyi geçer. Merkezi sinir sistemi bulguları olanlarda kullanılması gerekmektedir. Oral, dermal, IM, IV kullanılabilir (50).

Enzim reaktivatörleri ise AchE enzimini yenileyerek muskarinik, nikotinik ve santral sinir sistemi üzerine etkilerini gösterir. Asetilkolinesteraz enzimi moleküllerine bağlanarak onu çalışamaz hale getiren OF molekülüne bağlanıp yerinden koparılır, enzimi serbest hale getirirler, yani enzimi reaktif ederler (14, 18, 26, 43).

Pratik olarak kullanılabilir ilk oksim reaktivatörü 1955 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde Wilson ve Ginsburg tarafından hazırlanmıştır (51).

Oksimler, aldoksim ve buna bağlı kuaternar nitrojen grubu içeren bileşiklerdir. Kuaternar nitrojen grubu, baskılanmış AchE yenilenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Pralidoksim (PAM), tek kuaternar nitrojen grubu içerirken, obidoksim ve trimedoksim birbirine optimal 3 karbon uzunluğunda karbon zinciri ile bağlı iki kuaternar nitrojen grubu içerir. Tek kuaternar nitrojen grubu içeren bileşiklerle karşılaştırıldığında iki kuaternar nitrojen grubu içeren bileşiklerin OF ile baskılanmış AchE'a ilgisi daha fazladır (51).

Yenileyiciler olarak bilinen Oksimler, AchE-OF kompleks haline geldiğinde etkisizdir, yaşlanma oluşmadan zehirlenmenin ilk 24-48 saati içinde verilmelidir. (14, 43).

Gecikme, OF'in fosfor atomu ile enzimin esteratik noktası arasındaki bağlanmayı güçlendirir (aging) ve enzim reaktivatörlerinin etkinliğini azaltır. Enzim reaktivatörleri, zehire maruz kaldıktan 36 saat sonra çok az etkilidirler (18, 26).

Maruz kalımdan en fazla 24 saat sonra yararlı bir etkinin olduğunu bildiren yayınlar da vardır (52).

Oksim tedavisinin faydalı olduğunun göstergeleri, ventilatör ihtiyacının ortadan kalkması, hastane yatış süresinde azalma ve komplikasyonların sıklığında azalma beklenmelidir. İntermediate sendrom tedavisi için de oksim tedavisi verilmelidir (43, 49).

Erişkin hastada PAM IV infüzyon olarak 1-2 gr, 100 cc %09 NaCl içinde 15–30 dakika içinde vrya 30 mg/kg IV bolus olarak yükleme, bunu takiben klinik düzelme (örneğin atropin gereksiniminin kalmadığı ve hasta ekstübe edilene dek) sağlanıncaya kadar 8–10 mg/kg/saat dozunda (500mg/saat, en çok 12 gr/gün) sürekli infüzyon şeklinde uygulanır (18, 48).

Çocuklarda IV bolus olarak 20–40 mg/kg (en çok 1gr) 15–30 dakika boyunca 100 ml serum fizyolojik içinde uygulanır, idame olarak 10–20 mg/kg/saat dozunda 250 ml serum fizyolojik içinde IV infüzyon uygulanır (18, 48).

Başlangıç dozunun ven içine hızlı verilmesi taşikardi, hipertansiyon, kas rijiditesi ve laringospazma neden olabilir (48).

Organofosfat zehirlenmesinde oksimlerin klinik yararlarının yetersiz olduğunu savunan yazarlar da vardır (53, 54).

Organofosfat zehirlenmesi olan hastalar 48–72 saat gözlem altında tutulmalıdır. Zehirlenme belirtileri tekrar gözlenebilir ve bu durumda da tekrar tedavi gerekebilir. İlaç alımından 2–3 hafta sonra bile gecikmiş pik salınım nedeni ile sistemik toksisite gözlenen hasta bildirilmiştir. Bundan dolayı optimum tedavi edildiği düşünülen vakalarda bile relaps olabileceği bilinmelidir (55).

Postmortem incelemelerde, toksinin kanda ve vitröz humorda, organlardan ve yağ dokusundan daha düşük düzeyde olduğu gösterilmiştir (56).

Pralidoksimin dozunun düşük kalması (en düşük 4µg/ml olmalıdır), organizmadan hızlı atılabilmeleri (yüksek doz maruziyetlerde infüzyon tedavisi ile fayda sağlanabilir), tedavide gecikme veya tedavinin erken sonlandırılması veya hastada “D70G PchE” gibi bazı mutasyonların olması nedeniyle oksim tedavisi başarısız olabilir (20, 57, 58).

Oksim tedavisinin tek başına atropin kullanımına bir üstünlüğü olmadığı bildirilmiştir (59).

Konvülziyonların ve ajitasyonların tedavisinde benzodiazepinler kullanılır. Ajite hastaları yatağa bağlamak ölüm dahil komplikasyonların gelişimine neden olur

ve bu yanlış bir yaklaşımdır. Çünkü bu hastalar hipertermik kardiyak arreste neden olabilecek kadar ısı üretir. Haloperidolün sedatif etkisi yoktur, QT intervalının uzamasına ve santral termoregülasyonda bozulmaya neden olur. Aynı zamanda atropin alanlarda haloperidol daha yüksek dozlarda verilmelidir. Dolayısıyla bu hastalarda benzodiazepinler haloperidol yerine tercih edilmelidir (47).

Diazepam: Mekanizması tam olarak anlaşılacakla birlikte ağır olgularda antidot tedavisine eklenmesinin yararlı olduğu gösterilmiştir. Diğer antikonvülzanlardan daha etkilidir. Asetilkolin tarafından uyarılan sekonder Gama amino bütirik asit (GABA)-erjik yolun anti-GABA-erjik özelliğinden dolayı etkilendiği öne sürülmüştür. Diazepam istenmeyen bazı santral sinir sistemi olaylarında da etkili olabilir (20, 36).

Günlük rutin uygulamada çokca yer almasa da, klonidin, magnezyum sülfat (MgSO₄), sodyum florid, sodyum bikarbonat ve taze donmuş plazma, organofosfat bileşikleri (OB) ile zehirlenmelerde rapor edilmiş diğer uygulamalarıdır (2, 43, 60, 61).

Magnezyum (Mg) kardiyak hücrelerin elektriksel aktivitesinin intersellüler ve transmembranöz temel modülatörüdür. Hipomagnezeminin, hayati tehlike yaratan disritmiler oluşturduğu bilinmekte olup, Mg'un IV verilmesi ile disritmilerin engellendiği ve akut miyokard enfarktüsü sonrası survey üzerinde olumlu etkisi olduğu bilinmektedir (62).

Magnezyumun birincil etkisi end-plate potansiyelinin amplitüdünü azaltmaktır ve bunun motor sinir terminalinden Ach salınımının inhibisyonu ile olduğuna inanılmaktadır (63).

Magnezyum sülfat tedavisinin OF zehirlenmelerinde atropin gerekliliğinde ve oksimlerin dozunda bir değişmeye neden olmadığı ama sürpriz bir şekilde tedavi edilen hastalarda mortaliteyi %15 civarında azalttığı ve hastanede kalma süresini kısalttığı ileri sürülmektedir. Magnezyum sülfat etkileri; Ach salınımını motor terminallerden inhibe etme ve OF'ların etkilerini antagonize etme yetenekleri ile açıklanabilir. Başka bir sebep ise OF'ların Na-K-ATPaz üzerindeki inhibitör davranışının tersi bir etkiyi MgSO₄'ın gösterdiği düşünülmektedir. Tedavinin başlangıcından sonuna kadar 4gr/gün doz önerilmektedir (52, 64).

Sodyum bikarbonat ile tedavide, alkalinizasyon sonucu OF'n esteratik kısmının hidrolizi artar. Kontrolsüz çalışmalarla bikarbonat tedavisinin mortaliteyi %85 oranında azalttığı gösterilmiştir ve pH'daki her 1 ünitelik artışın OF'ların hidrolizini on kat arttırdığı belirtilmektedir (20).

Sodyum florid sempatik gangliyonlar ve nöromuskuler kavşaktaki nikotink reseptörlere karşı duyarlılığı artırarak (antidesensitizan etki) antidotal etki gösterdiği ileri sürülmüştür Sodyum florid verilmesinin atropinin etkisini artırdığı ifade edilmiştir (43, 65).

Klonidin verilmesinin OF zehirlenmesinin toksik bulgularına karşı koruyucu olduğu ve surveyi arttırabileceği, farelerde yapılan çalışmada gösterilmiştir. Bu koruyucu etki olasılıkla Ach salınımının ve postmuskarinik reseptörlerin blokajına ve AchE'nin yarışmasız olarak geçici inhibisyonuna bağlıdır (2, 66)

Taze donmuş plazma, kolinesteraz dahil olmak üzere bir çok plazma proteini ihtiva eder. Banka kanları ve taze donmuş insan plazmasının saklanma süresince yeterli kolinesteraz aktivitesine sahip olduğu gösterilmiştir (60, 67).

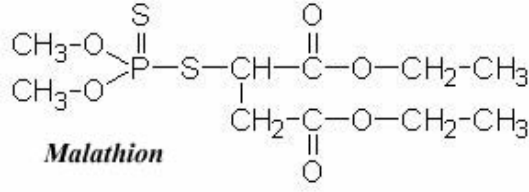
Organofosfat zehirlenmesi olan hastalarda taze donmuş plazma kullanımının kolinesteraz aktivitesi ile morbidite ve mortaliteyi azaltabileceği gösterilmiştir (60, 61).

Organofosfatlar adipoz dokudan yavaşça salındıklarından taze donmuş plazmanın da tekrarlayan dozlarda verilmesi gerekir. Ancak tekrarlayan dozlarla yeterli AchE düzeylerine ulaşmak mümkün olacaktır. Organofosfat zehirlenmelerinde mortalite ve morbiditenin önlenmesinde, insan plazması+atropin (PAM'la beraber veya değil) sadece atropinden (PAM'la beraber veya değil) daha etkin olabileceği ileri sürülmüştür (60).

Bir çalışmada, 460 ml insan plazması verilen hastalarda kolinesteraz yarı ömrünün 10 gün olduğu görülmüştür. Taze donmuş plazmanın kolinesteraz aktivitesini artırdığı ve özellikle oksim tedavisinin uygulanamadığı durumlarda verilebileceği rapor edilmiştir (60).

1.2. Malathion

Bir OF insektisiddir. "O,O-dimethyl dithiophosphate diethyl of mercaptosuccinate" olarak adlandırılmıştır (Şekil 4). En ilk tarımda kullanılmak üzere, 1956 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde tanımlanmıştır (68-70).



Şekil 4. Malathionun açık formülü

1.2.1. Fiziksel ve kimyasal özellikler

Malathion renksiz veya kehribar rengi bir sıvıdır ve sarımsak gibi ya da kokarca gibi kokusu vardır. Suda çözünürlüğü çok azdır, sudaki çözünürlüğü 145 mg/L'dir. Molekül ağırlığı 330,4 g/mol'dür (68).

Malathion, ev ve tarım kullanımı için uygun, geniş spektrumlu bir insektisiddir. Gıda, yem ve süs bitkileri ve sivrisinek, pamuk biti ve meyve sineği eradikasyon programlarında kullanım için onaylanmıştır. Baş biti tedavisinde kullanılmak üzere pek çok şampuanın içeriğinde bulunur (68, 70).

Malathion cilt teması yoluyla, ağızdan almayla ve inhalasyonla toksik etkilerini gösterir. Diğer OF'lar gibi sinaptik aralıkta AchE'ı bağlayarak etki ederler. Malathionun aktif metaboliti olan malaokson tarafından AchE bağlanınca sinir kavşağında Ach birikir ve sinir ucunda aşırı stimülasyona sebep olur (68).

Karaciğerde, birincil olarak sitokrom P450 enzimi aracılığıyla biyoaktivasyona uğrar ve sonrasında oksidatif sülfürasyon yoluyla aktif metaboliti olan malaokson oluşur. Malaokson, malathiondan 22 (akut, oral) ila 33 kez (kısa ve orta süreli maruziyet, tüm yollar) daha toksiktir (68)

Memelilerde ve böceklerde malathion gibi OF'ların alımı ve metabolizması benzerdir. Yüksek omurgalılarda malathionun detoksifikasyonu ve atılımı daha çabuk olur ve bu sebeple memeli ve kuşlarda göreceli olarak daha düşük toksisiteye sahiptir. Bakteri ve benzeri mikroorganizmalar, malathionu karbon ve fosfor kaynağı olarak kullanabilirler (68).

1.2.2. Akut Toksikite

Malathion sindirim sistemi aracılığıyla alındığında çok düşük bir toksisiteye sahiptir ve ratlar için 5400 mg/kg (erkek) ila 5700 mg/kg (dişi) (1000 ila 12500 mg/kg arasında değişir), fareler için 400 ila 4000 mg/kg'lık akut toksisite LD50

değerleri tespit edilmiştir. Temas yolu ve toksisite derecesine ilişkin LD₅₀ değerleri Tablo 7’de gösterilmiştir (17, 68).

Tablo 7. Malathion’un toksisite sınıflandırılması

	Yüksek toksisite	İlmlı (orta) toksisite	Düşük toksisite	Çok düşük toksisite
Akut oral LD₅₀	≤50mg/kg	>50 -500mg/kg	>500-5000mg/kg	>5000 mg/kg
İnhalasyon LC₅₀	≤0,05mg/L (aerosol)	>0,05 -0,50mg/L	>0,5-2,0mg/L	>2,0mg/L
Dermal LD₅₀	≤200mg/kg	>200-2000m/kg	>2000-5000mg/kg	>5000mg/kg
Göz iritasyonu	Koroziv (oküler dokunun irreversibl destrüksiyonu) veya 21 günden daha uzun süren dirençli iritasyon veya korneal etkilenim	Korneal etkilenim veya 8-21 günde temizlenebilen diğer göz iritasyonu	Korneal etkilenim veya 7 gün veya daha kısa sürede temizlenebilen diğer göz iritasyonu	24 saatten daha kısa sürede temizlenebilen minimal etkilenim
Cilt iritasyonu	Koroziv maruziyeti (doku destrüksiyonu, skarlı iyileşme)	Ciddi eritem veya ödemin eşlik ettiği 72 saatte ciddi iritasyon	İlmlı eritem (72 saatlik hafif iritasyon)	72 saatte çok hafif İritasyon (eritem yok)

Tablo, [www.http.epa.gov/oppfead1/labeling/lrm/chap-07.pdf](http://www.epa.gov/oppfead1/labeling/lrm/chap-07.pdf) ‘den alınmıştır.

LD₅₀ (LC₅₀) : Maruz kalanların yarısında ölüme sebep olan doz (konsantrasyon)

Hava teması ve güneş ışığında hızla parçalanır. Malathion, topraktan hızla buharlaşır. Diğer insektisitlere göre doğada kalıcılığı daha kısadır. Kalıcı etkisi kısa olan bir OF olan malathionun topraktaki parçalanma süresi 1-17 gün arasında değişir. Sudaki yarı ömrü 1,5 gün (pH:8,16) ila 17 gün (pH:6) arasında değişir. Tuzlu sularda parçalanma hızı artarken, göl sularında bir hafta, damıtık sularda üç hafta gibi bir yarılanma ömrü vardır. Vücuttan idrar, safra ve solunum yoluyla atılır. Yarı ömrü sıçanlarda 8 saattir (68, 71).

Malathionun kanserojen etkinliği ispatlanmış değildir. Yapılan çalışmalar sonucunda kanserojen olduğu düşünülmeyle birlikte elde edilen verilere dayanarak, Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı tarafından “karsinojenite açısından anlamlı kanıtları olmasına rağmen insanda karsinojenik potansiyelini değerlendirme açısından yeterli değildir” şeklinde ifade edilmektedir (68, 70).

Dişi ratlar ve fareler üzerinde yapılan bazı çalışmalarda yüksek miktarda malathion, karaciğer tümör oluşumuna neden olmuş ve devam eden dozlarda nadiren oral ve nazal tümörler izlenmiştir. Non-Hodgkin lenfomayla ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür. (68, 70).

1.3. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, hücrelerin lipid peroksidasyonuna neden olan serbest radikallerin üretimi ve antioksidan mekanizmalar aracılığıyla organizmanın kendini savunması arasındaki dengenin bozulması olarak da tanımlanabilir (72).

Serbest radikallerin yararlı ve zararlı etkileri arasındaki hassas denge, organizmaların canlılığı açısından çok önemlidir ve redoks regülasyonu olarak adlandırılan mekanizmayla elde edilir. Dengenin bozulması, çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasında, kanser oluşumunda, diabette, iskemi-reperfüzyon hasarlarında, inflamatuvar rahatsızlıklarda, nörodejeneratif hastalıklarda ve yaşlanmanın etiopatogenezinde rol oynamaktadır (72, 73).

Serbest radikaller, moleküler veya atomik orbitallerinde bir veya daha fazla çiftlenmemiş elektron içeren molekül veya molekül parçacıkları olarak tanımlanabilir. Tek elektronların transferlerini içeren biyolojik redoks tepkimelerinin sık görülen ürünleridirler (73).

Bütün hücelere rahatlıkla giren ve çok kullanılan O_2 , yapısı gereği radikal olmaya çok uygundur ve serbest radikal denince aslında serbest oksijen radikalleri, daha genel bir anlatımla “Reaktif Oksijen Türleri” (ROT) ifade edilmektedir. Organizmada, normal şartlar altında sürekli olarak oluşan ROT ve serbest radikaller, biyolojik sistemlerde en sık tek elektron transferi ile oluşurlar (73-75).

Süperoksit, oksijenin indirgenme sürecinin ilk radikalidir. Oksijen bir elektron transferi ile indirgenir ve süperoksit (O_2^-) oluşur. Sonra bir elektron daha alarak tekrar indirgenir ve hidrojen peroksit (H_2O_2) meydana gelir. Bütün elektronları çiftlenmiş olan H_2O_2 esasen bir radikal değildir. Sonrasında bir elektron daha alarak hidroksil (OH^-) anyonuna dönüşmesi nedeni ile önemlidir. Hidroksil radikali güçlü bir kimyasal aktiviteye sahiptir (73-75)

Oksijen radikalleri, yeterince temizlenememeleri halinde nükleik asitler, lipidler, karbonhidratlar ve glikoproteinler dahil tüm biyolojik materyallerle reaksiyona girerek reversibl veya irreversibl değişikliklere yol açarlar. Bu değişiklikler; hücre proteinlerinin zarar görmesi, enzimlerin inaktivasyonu, membran ve serum lipitleri peroksidasyonu, yüzey reseptörlerinde değişiklik, Na^+ - K^+ ATPaz, Ca^{+2} ATPaz gibi hücre iyon transport proteinlerinin hasarlanması, DNA

harabiyeti, bağ dokusunda bozulma, kollajenaz ve bazı proteazların da dahil olduğu katalitik enzimlerin aktivasyonudur (72).

Endojen kaynaklı serbest radikaller, fizyolojik olarak “indirgenme-yükseltgenme” (redoks) tepkimelerinde; nükleer, mitokondriyal ve endoplazmik elektron transport sistemlerinde (sitokrom P-450), peroksizomlarda ve monosit ve nötrofillerin fagositoz faaliyetleri gibi metabolik olaylar sırasında bol miktarda üretilirler. Ayrıca bu serbest radikaller, hücre içerisinde ultraviyole veya X ışınları gibi radyan enerjinin emilmesi, hava kirliliği, sigara dumanı, solventler ve ilaç kullanımı (parasetamol, nitrofurantoin vs) gibi çevresel faktörlerin etkisiyle eksojen kaynaklı olarak da oluşabilirler (72-77).

1.4. Antioksidanlar

Fizyolojik koşullarda; antioksidanlar, ROT tarafından oluşturulabilecek hasarları önlemek için üretilen süpürücü moleküllerdir. İnsanlarda, enzimatik ve non-enzimatik antioksidan olmak üzere iki tip antioksidan savunma sistemi mevcuttur (73).

Antioksidan savunma sistemleri; süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz gibi antioksidan enzimler ile glutatyon (GSH), vitamin A, C ve E gibi enzim olmayan maddelerden oluşurlar (73).

Organizmada, oksidan maddelerin oluşumu ve yıkımı arasındaki denge, hücre ve dokunun biyolojik bütünlüğünün korunması ve idamesinde önemlidir (73).

Antioksidanlar, oksidanları etkisizleştirmek için dört ayrı mekanizma kullanırlar:

1. Süpürücü etki (Scavenging): Reaktif oksijen türlerini yakalama veya daha zayıf bir moleküle çevirme işlemidir. Antioksidan enzimler bu mekanizmayla etkisizleştirirler.

2. Bastırıcı etki (Quencher): Serbest radikallere bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya onları inaktif forma dönüştürme şeklinde bir etkilemedir. Vitaminler, flavonoidler ve trimetazidin bu mekanizmayı kullanırlar.

3. Tamir edici etki (Repair): Bu grupta DNA tamir enzimleri, metiyonin sülfoksit redüktaz sayılabilir.

4. Zincir kırıcı etki (Chain breaking): Serbest radikalleri bağlayıp zincir yapılarını kırarak fonksiyonlarını bozarlar. Hemoglobin, seruloplazmin, E vitamini ve mineraller böyle etki ederler (73, 78, 79).

1.5. N- Asetil Sistein

N-asetil-L-sistein, doğal bir aminoasit olan L-sisteinin N-asetillenmiş formudur. Sistein, antioksidan etkisi olan az sayıda aminoasitten biridir. N-asetil sistein karaciğerde metabolize olur ve yarılanma ömrü 5-6 saattir. %30 kadarı böbrekten atılır. Tiyol içeren bir antioksidan olan NAS, GSH sentezi için sistein kaynağı olur. Canlı organizmalardan üretilen ve doğal sülfürlü aminoasit türevi olan NAS, güçlü bir antioksidan olarak kabul edilmektedir (80, 81).

N- asetil sistein, hücre içinde redükte GSH konsantrasyonunu artırır ve doğal antioksidan savunmaya katkı sağlar. N- asetil sistein, detoksifikasyon amacıyla zehirlenmelerde (ağır metaller, asetaminofen, herbisitler, CCl₄, aflatoksin), mukolitik ve antioksidan özelliği nedeniyle akciğer hastalıklarının tedavisinde, kanser ve AIDS tedavisinde ve Lipoprotein A düzeyinin azaltılması amacıyla kardiyovasküler alanda kullanılabilir (80, 81).

Günümüzde akciğer hastalıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmasına rağmen, nörolojik hastalıklardaki rolü henüz kesin olarak bilinmemektedir (82).

Antioksidan özelliğini, GSH seviyelerini düzenleyerek, radikalleri temizleyerek, nötrofil aktivitesini ve tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- α) üretimini baskılayarak göstermektedir (83, 84).

N- asetil sisteinin, hem invivo hem de invitro ortamda T hücrelerinin antitümör aktivitesini arttırdığı tespit edilmiştir. N-asetil sistein, TNF- α duyarlı kanser hücrelerine uygulandığında antitümör potansiyeline sahip olduğu gösterilmiştir (85).

N-asetil sistein ve GSH özellikle akciğerde, enfeksiyöz süreçlerde, nötrofillerin oluşturduğu serbest radikallerin yanı sıra sigara dumanı ve diğer zararlı maddelerin solunmasıyla oluşan serbest radikalleri de bağlar. Böylece sitoprotektif etki gösterir. N-asetil sistein, deneysel sepsis modelinde, DNA' nın oksidatif stresle hasar görmesiyle bir dizi reaksiyon sonucu oluşan malondialdehid (MDA) düzeylerini düşürdüğü tespit edilmiştir (83, 86).

Sülfürlü gıdaların, detoksifikasyon özelliklerine ait bilgi oldukça eskidir. N-Asetil sistein, yapısındaki sülfhidril grubuyla doğrudan ağır metallerle etkileşime girer ve dolaylı olarak sitokrom P-450 sistemini etkiler. Asetaminofen zehirlenmesinde karaciğer hasarını engeller. N-asetil sisteinin, doxorubicin, ifosfamide, valproik asit gibi ilaçların ve alkolün yan etkilerini azalttığını bildiren yayınlar yapılmıştır (84).

N-asetil sistein hücrelere kolaylıkla girer ve GSH oluşumunda öncül rol oynar. N-asetil sisteinin yapısında yer alan serbest tiyol grupları sayesinde doğrudan antioksidan etki gösterdiği gibi oksidan moleküller ile (hidroksil radikali, hipokloröz asit ve hidrojen peroksit) etkileşerek radikal toplayıcı etki gösterdiği bildirilmiştir (83, 84, 87, 88).

N-asetil sistein, farelerde, düşük dozlarda oksidatif hasara karşı koruyucu rol oynarken, yüksek dozlarda uygulandığında akciğer hasarına ve ölüme neden olabilmektedir (89, 90).

N-asetil sistein, mukolitik bir ilaç olarak ise 25 yılı aşkın bir zamandır kullanılmaktadır. Mukusun disülfid bağlarını kırarak, mukoproteinleri parçalar ve mukusun akışkanlığını artırır. N-asetil sistein, oral, IV ve inhalasyon yoluyla uygulanabilmektedir. Zaman içinde ilacın hücre içinde sistein miktarını arttırarak GSH üretimi yolu ile antioksidan özellik gösterdiği keşfedilmiştir (80-82, 91).

1.6. Transient Reseptör Potansiyel Kanalları

Transient Reseptör Potansiyel (TRP) kanalları üst ailesi, memelilerde bulunan kalsiyum (Ca^{+2}), sodyum (Na^{+}) ve potasyum (K^{+}) için geçirgen olduğu bilinen katyon kanallarıdır. Transient Reseptör Potansiyel proteini, Drosophila Melanogaster türü sirke sineğinde fotoreseptörler üzerine yapılan araştırmalarda keşfedilmiştir (92-94).

Normal TRP proteinine sahip sirke sineklerinin elektroretinogramlarında sürekli aydınlatmaya karşı hücrelerden alınan cevapların da sürekli olduğu gözlenmiştir (93).

Ancak TRP proteinini kodlayan gende meydana gelen spontan bir mutasyon sonucu; sürekli aydınlatmaya karşı sürekli voltaj cevabı yerine 'transient' yani geçici bir voltaj cevabı ve sonuçta görsel defekt olduğu saptanmıştır (93-95).

Kalsiyum sinyali iletiminde TRP kanalları, iyon kanalları için yeni bir sınıfın öncü üyeleridir. Transient reseptör potansiyel kanallarının, omurgalılarda yaygın olarak bulunan voltaj kapılı Ca^{+2} kanallarıyla yapısal olarak benzerlikleri gösterilmiştir (93-96).

Transient reseptör potansiyel kanalları, dokunma, işitme, tat alma, görme, ısı gibi duyuların algılanmasında çok önemli bir rol oynarlar (97-100). Genel olarak TRP kanalları, N-terminal bölge, transmembran bölgesi ve C-terminal bölge olmak üzere 3 bölge ihtiva ederler (101, 102). Katyon kanalları, farklı uyarılara karşı cevap oluştururlar (103). Kimyasal uyarı ve sıcaklık değişimi, osmotik stres ve mekanik uyarı gibi fiziki uyarılara karşı direkt cevap oluşturulabileceği gibi dolaylı yoldan Fosfolipaz C aracılığıyla reseptörlerin uyarılmasının ardından da cevap oluşturabilirler (103).

Transient reseptör potansiyel kanalları, farklı yapı (kimyasal veya fiziksel) ve farklı kaynaklardaki (intraseküler veya ekstraseküler) uyarıların etkileşimi ile aktive olur (100-104).

1.6.1. Transient Reseptör Potansiyel Kanalları Üst Ailesi

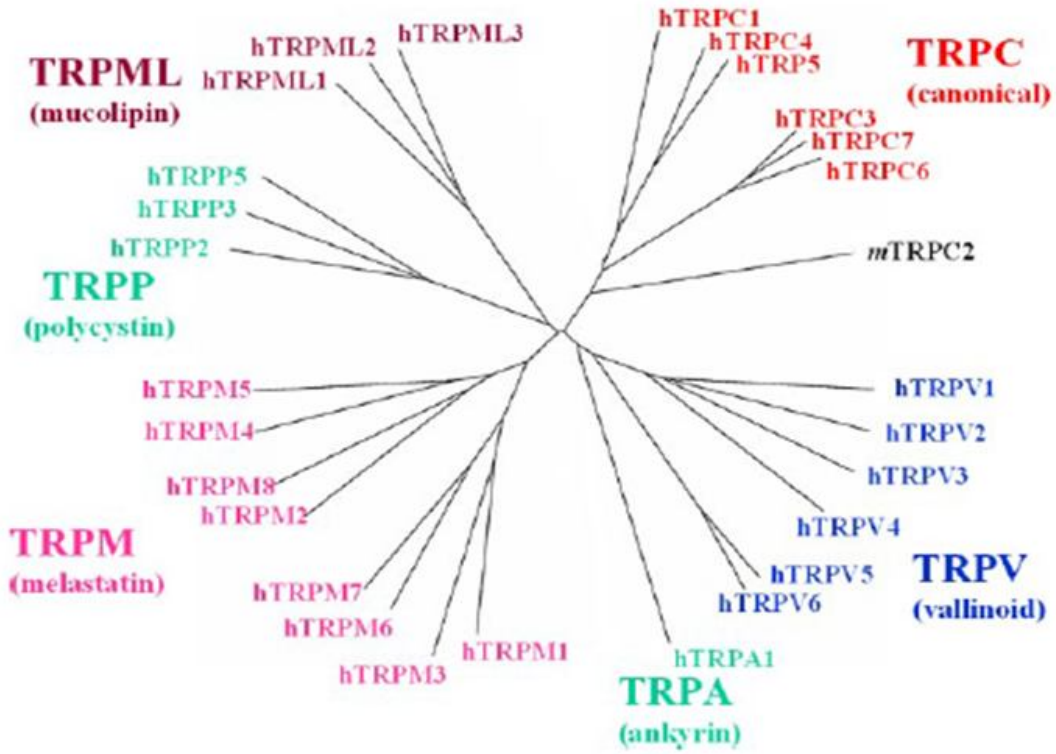
Transient Reseptör Potansiyel katyon kanalları üst ailesi, voltaja duyarlı, Ca^{+2} 'a geçirgen katyon kanallarının geniş bir ailesidir. 28 memeliye ait TRP kanalları, yedi alt grupta toplanmıştır. Transient reseptör potansiyel conancial (TRPC) 7, TRP vanilloid (TRPV) 6, TRP melastatin (TRPM) 8, TRP polycystein (TRPP) 3, TRP mucolipin (TRPML) 3 ve TRP ankyrin (TRPA) 1 alt gruptan oluşmaktadır. Transient reseptör potansiyel kanalları halen tam olarak karakterize edilememesine rağmen, birçok hastalık ilişkileri ortaya çıktığından bu alana ilgi gün geçtikçe artmaktadır. Kanalin 5. ve 6. segmentleri arasında bulunan bir iletken iyon etrafında homo veya heterotetramerik yapılarıyla TRP kanalları, voltaj kapılı potasyum kanallarına benzeyen basit bir yapıya sahiptir (94-97, 103).

Transient reseptör potansiyel ve TRPM kanallarının 6. Segmentlerinin, C terminalinde TRP alanı mevcuttur. TRPM2 kanalarında iyon akışı 5. ve 6. segmentler arasında olmaktadır. Transient reseptör potansiyel kanallarının sahip olduğu çok yönlü düzenleyici protein etkileşim alanları, Protein Kinaz A ve Protein Kinaz C fosforilasyon alan fonksiyonları tanımlanmış ve kısmen test edilmiştir (105).

Transient reseptör potansiyel kanalları ya doğrudan hücre zarındaki Ca^{+2} giriş kanalları gibi davranır ya da Ca^{+2} giriş kanallarının modülasyonunda rol alan zar potansiyelini değiştiren sitozolik serbest Ca^{+2} kanallarında değişime yardımcı olurlar. Karakterize edilmiş tüm fonksiyonel TRP kanalları (TRPM4 ve TRPM5 kanalları dışında) Ca^{+2} 'a geçirgendirler. Bu durum sadece monovalent katyonlar için değil, aynı zamanda Ca^{+2} ve Mg için de geçerlidir (103, 106).

1.6.2. Transient Reseptör Potansiyel Melastatin Alt Ailesi

Transient reseptör potansiyel melastatin alt ailesi 8 üyeden oluşur ve bunlar 4 grup içerisinde yer alırlar. Bunlar; TRPM1/TRPM3, TRPM4/TRPM5, TRPM6/TRPM7 ve TRPM2/TRPM8'dir (Şekil 5) (103).



Şekil 5. TRPM kanalları

Transient reseptör potansiyel melastatin 2, Adenozin di-fosfat Riboz (ADPR) pirofosfataz faaliyeti gösteren fonksiyonel NUDT9 homoloji alanı içerir. Kalsiyum geçirgenliği, çok geçirenden (TRPM6/TRPM7 ve TRPM3 'ün ek yerine kadar) Ca^{+2} 'u hiç geçirmeyene kadar (TRPM4 ve TRPM5) farklılıklar gösterir (103,106).

1.6.3. Transient Reseptör Potansiyel Melastatin 2 Kanalları

Transient Reseptör Potansiyel Melastatin kanallarından biri TRPM olarak adlandırılmıştır. Çünkü kurucu üyesi olan TRPM1, ilk olarak metastatik melanomlarda (kanserli dokularda) tanımlanmıştır (106).

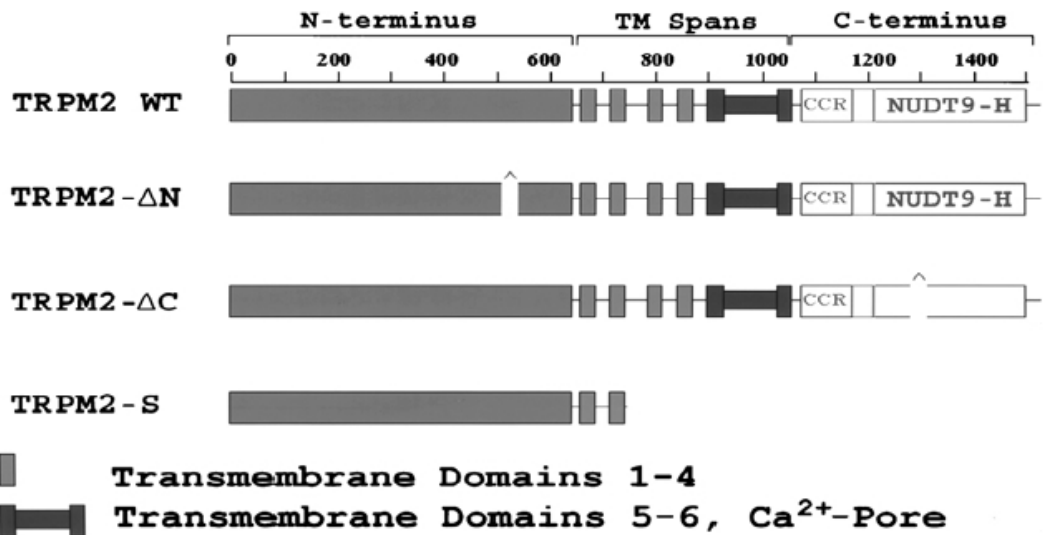
Transient reseptör potansiyel melastatin 2 kanalları; beyin, kemik iliği, akciğer, kalp, pankreas beta hücreleri, lökositler ve vasküler endotelyum gibi dokularda tespit edilmiştir (107).

Bu kanallar Na^+ ve K^+ 'a da geçirgendirler ancak esasen hücreye Ca^{2+} 'un girişinde rol oynarlar (93, 103-106).

Transient reseptör potansiyel melastatin 2 ailesinin 8 üyesinin de ya fare modellerindeki fonksiyonel çalışmalarda ya da genetik kanıtlarla hastalıklarla ilişkili olduğu bildirilmiştir (106).

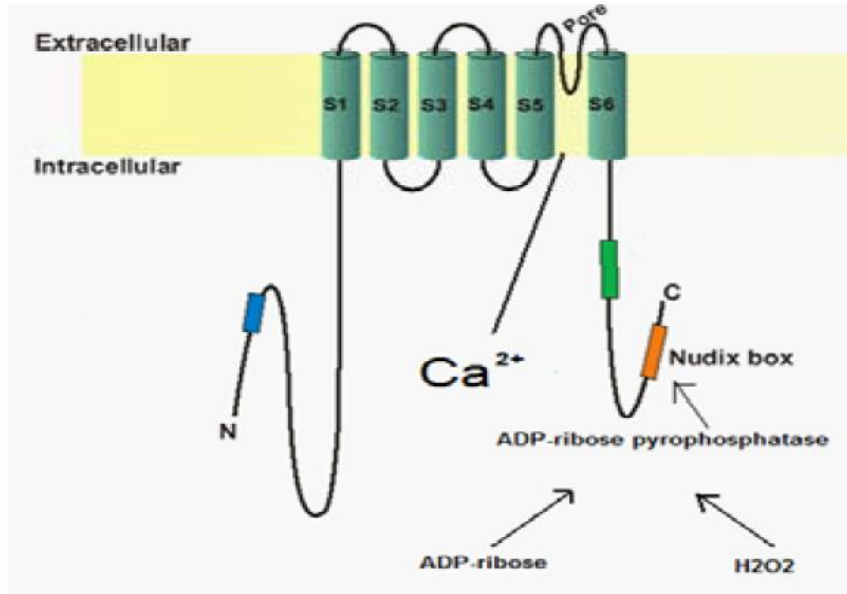
Aktif TRPM2 katyon kanallarının açılması üzerinde etkili üç hücre dışı etken; oksidatif stres, ADPR / Nikotinamid adenin dinükleotid (NAD^+) metabolizması ve $\text{TNF-}\alpha$ 'dır (108). Vücut ısısının, endojen bir ko-faktör gibi davranması sebebiyle TRPM2 kanallarının ısıya duyarlı olabileceği düşünülmektedir (109).

Transient reseptör potansiyel melastatin 2, C terminal sitozolik kuyruğunda "Nudix Alanı" olarak bilinen karakteristik bir yapısal özelliğe sahiptir ve alt tipleri vardır (Şekil 6, Şekil 7) (110, 111).



Şekil 6. TRPM2 alt tipleri

Transient reseptör potansiyel melastatin 2, TRPM6 ve TRPM7, C terminali itibariyle, bilinen kanallar arasında benzersiz özelliklere sahiptirler. Transient reseptör potansiyel melastatin 2 iyon kanallarının N terminali, diğer Nudix Hidrolaz enzimleri kadar etkin olmamakla birlikte, Adenozin di-fosfat (ADP) ve ADPR bağlayabilen bir Nudix Hidrolaz türüdür (106, 110).



Şekil 7. TRPM2 kation kanallarının moleküler yapısı

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, NAS'ın deneysel malathion uygulanan sıçan böbrek ve karaciğer dokularında TRPM2 kanallarına etkilerinin incelenmesi amaçlandı.

Bu çalışma Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun 06.05.2015 tarih ve 99 Sayılı kararı ile etik yönden uygun bulunarak Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜDAM) biriminde ve Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji laboratuvarında yapıldı.

2.1. Deney Hayvanları Ve Beslenmeleri

Deneylede kullanılan 42 adet 8-10 haftalık erişkin Wistar albino cinsi erkek sıçanlar, FÜDAM biriminden temin edildi. Hayvanlar, FÜDAM hayvan laboratuvarında buldukları ortamın sıcaklığı 22–25°C arasında sabit tutularak, 12 saat ışıktaki (07:00-19:00) ve 12 saat (19:00- 07:00) karanlıkta takip edildi. Sıçanlar özel olarak yaptırılan kafeslerde beslendi ve altları temizlendi. Tüm hayvanlara aynı standart sıçan yemi verilerek addlibitum su ve yiyecek alımları sağlandı. Yemler; çelik kaplarda ve su ise cam biberonlarda normal çeşme suyu olarak verildi. Hayvan yemleri Elazığ Yem Sanayi Anonim Şirketi Yem Fabrikası'nda hazırlandı. Yemlerin terkibi Tablo 8'de gösterildi.

Tablo 8. Deney Hayvanlarına Verilen Sıçan Yeminin Terkibi

Sıçan Yeminin Terkibi	%
Buğday	15
Mısır	10
Arpa	27
Kepek	8
Soya	29,4
Balık Unu	8
Tuz	0,6
Kavimix VM 23-Z*	0,2
Methionin	0,2
DCP **	1,6

*1 gramında: 4800 IU A, 960 IU D₃, 12 mg E, 0,8 mg K₃, 0,8 mg B₁, 2,4 mg B₂, 1,2 mg B₆, 0,006 mg B₁₂ vitaminleri, 16 mg Nicotinamid, 3,2 mg Cal. D. Panth. 0,32 mg Folicacid, 0,02 mg D-Biotin, 50 mg CholinChloride, 20 mg ZincBacitracin, 32 mg Mn, 16 mg Fe, 24 mg Zn, 2 mg Cu, 0,8 mg I, 0,2 mg Co, 0,06 mg Se, 4 mg Antioksidan ve 200 mg Ca.** % 18 fosfor, % 25 kalsiyum, % 0,2 flor'dan oluşur

2.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Ağırlıkları 200-220 gr arasında değişen 8-10 haftalık 42 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçanlar her grupta 6 hayvan olacak şekilde 7 eşit gruba ayrıldı:

Grup I (Kontrol grubu); Deney süresi olan 24 saat boyunca herhangi bir işlem yapılmadı.

Grup II (NAS grubu); NAS i.p. 100 mg/kg olarak tek doz uygulandı.

Grup III (PAM+Atropin grubu); PAM 40 mg/kg i.p., Atropin 2 mg/ kg i.p. olarak uygulandı.

Grup IV (Malathion grubu); mısır yağında çözülmüş tek doz malathion LD₅₀ (1375 mg/kg) /3 miktarında orogastrik olarak uygulandı.

Grup V (Malathion+PAM+Atropin grubu); mısır yağında çözülmüş tek doz malathion LD₅₀ (1375 mg/kg) /3 miktarında orogastrik olarak uygulanmasını takiben PAM 40 mg/kg i.p, ardından Atropin 2 mg/kg i.p. olarak uygulandı.

Grup VI (Malathion+PAM+Atropin+NAS grubu); mısır yağında çözülmüş tek doz malathion LD₅₀ (1375 mg/kg) /3 miktarında orogastrik olarak uygulanmasını takiben PAM 40 mg/kg i.p, ardından Atropin 2 mg/kg i.p. ve NAS 100 mg/kg i.p. tek doz olarak uygulandı.

Grup VII (Malathion+NAS grubu); mısır yağında çözülmüş tek doz malathion LD₅₀ (1375 mg/kg) /3 miktarında orogastrik olarak uygulanmasını takiben NAS 100 mg/kg i.p. olarak tek doz uygulandı.

2.3. Doku Örneklerinin Alınması

Deneyin sonunda tüm gruplardaki sıçanlar ketamin (75mg/kg)+ xylazine (10mg/kg) i.p. uygulanarak anestezi altında dekapite edildi. Dekapitasyonun ardından sıçanların böbrek ve karaciğer dokuları hızla çıkarıldı. Dokular MDA düzeyleri için çalışmanın sonuna kadar – 80°C de saklandı. Histolojik çalışma için her gruptan alınan böbrek ve karaciğer dokuları formol solüsyonunda tespit edildikten sonra rutin histolojik takip serilerinden (Tablo 9) geçirilerek dehidrate edildi. Dokular daha sonra ksilolde parlatılıp parafin bloklara gömüldü.

Tablo 9. Histolojik Takip Serileri

1	%70 Alkol	2 saat
2	%80 Alkol	1,5 saat
3	%96 Alkol I	30 dakika
4	% 96 Alkol II	30 dakika
5	%100 Alkol I	30 dakika
6	%100 Alkol II	30 dakika
7	Alkol + Xylol	15 dakika
8	Xylol I	15 dakika
9	Xylol II	15 dakika
10	Yumuşak parafin + Xylol	45 dakika
11	Yumuşak parafin	1 saat
12	Yumuşak parafin + Sert parafin	1,5 saat
13	Sert parafin	3 saat
14	Gömme	

2.4. Malondialdehid Çalışması

0.42 gr Tris-Base + 1.43 gr Tris-HCl + 3 gr KCl ve 0.5 ml Tween 20, 250 ml distile suda hazırlandı. Hazırlanan bu tampon örneklerin homojenatında kullanıldı. X gr doku üzerine 5 ml tampon ilave edildi ve parçalandı. Homojenat 5000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi ve süpernatant kısımdan 1 ml başka bir tüpe alındı. Alınan 1ml örnek üzerine 1ml %10'luk TCA (10 gr TCA 100 ml distile suda hazırlandı) ilave edildi. Üzerine 1ml %0.6 TBA (0.6 gr TBA 100 ml distile suda hazırlanıp, hazırlanan TBA +4 en fazla bir gün saklanabilir) ilave edildi. Üzerine 1ml distile su ilave edildikten sonra, son olarak 0.5 ml %4 HCl ilave edildi. (4ml HCl 100 ml distile suda hazırlanıp, asit ve su şiddetli reaksiyona girdiği için mümkünse asit damlalar şeklinde suya ilave edilmelidir). Hazırlanan karışım 90-95°C de 120 dk inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası tüpler oda sıcaklığında soğutuldu ve üzerine 3 ml bütanol ilave edilip vortekslendi. Daha sonra tüpler 5 dk 5000 rpm'de santrifüj edildi ve oluşan (bütanol faz) süpernatanttaki kırmızı-pembe renk spektro küvetine pipet yardımıyla alındı ve bütanole karşı 532 nm'de okundu. Okunan absorbans değeri x: $(okunan_{ABS} + 0.0344) / 0.0492$ formülüyle hesaplandı. Bulunan değer 5 ile çarpıldı (nedeni doku homojenatı 5ml tamponda hazırlandı) çıkan sonuç homojenatta kullanılan doku ağırlığı kadardır.

2.5. TUNEL Metodu

Parafin bloklardan 5-6 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda ApopTag Plus Peroxidase InSitu Apoptosis Detection Kit (Chemicon, catno: S7101, USA) kullanılarak apoptoza giden hücreler belirlendi.

Xylene ile deparafinize edilen dokular, dereceli alkol serilerinden geçirilerek phosphate buffered saline (PBS) ile yıkandı. 0.05%'lik proteinase K ile 10 dakika inkübe edilen dokular, endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için % 3 hydrogenperoxide ile 5 dakika inkübe edildi. Phosphate buffered saline ile dokular yıkandıktan sonra, 6 dakika Equilibration Buffer ile inkübe edilip, 37°C'de nemli ortamda çalışma solüsyonu (%70 µl Reaction Buffer+%30 TdTEnzyme) ile 60 dakika inkübe edildi. Stop/Wash Buffer da 10 dakika bekletilen dokular, Anti-Digoxigenin-Perosidaz ile 30 dakika muamele edildi. Diaminobenzidine (DAB) substratı ile apoptotik hücreler görüntülendi. Harris hematoksilen ile zıt boyası yapılan kesitler uygun kapatma solüsyonu ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Novel N-800M mikroskobunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. TUNEL boyamanın değerlendirilmesinde Harris hematoksilen ile maviye boyanmış çekirdekler normal, kahverengi nükleer boyanma gösteren hücreler apoptotik olarak değerlendirildi. Kesitlerde 10'luk büyütmede rastgele seçilen alanlarda, normal ve apoptotik en az 500 hücre sayıldı. Apoptotik hücrelerin, toplam (normal+apoptotik) hücrelere oranlanması ile Apoptotik İndeksi hesaplanarak istatistiksel analizleri yapıldı. Boyama metodu aşağıdaki tabloda ayrıntılı olarak verilmiştir (Tablo 10).

Tablo 10. TUNEL Boyama Prosedürü.

	İşlem	Süre
1	60°C etüv	Bir gece
2	Xylol	3X15
3	%100, %96, %80, %70 etil alkol	3'er dakika
4	PBS	5 dakika
5	Kesitlerin çevreleri sınırlayıcı kalem ile çizilir.
6	1:500 dilüsyondaki Protinaz K solüsyonu	20 dakika
7	PBS	3X5 dakika
8	Endojen peroksit blokajı (% 3 H ₂ O ₂)	3 dakika
9	PBS	3X5
10	Equilibration tampon solüsyonu	10 dakika
11	Çalışma solüsyonu (%70 µl Reaction Buffer + %30 TdT Enzyme) 37°C'de	60 dakika
12	Stop/WashBuffer (2ml) +Distile su (68ml) Oda sıcaklığında	10 dakika
13	Anti-Digoxigenin-Peroxidase	30 dakika
14	PBS	3X5
15	DAB Dilution Buffer + DAB Substrate	5-10
16	PBS	3X5
17	Distile su	5 dakika
18	Harris hematoksilen	1-5 dakika
19	Distile su	5 dakika
20	%80, %96 ve %100 etil alkol	1'er dakika
21	Xylol	2X5
22	Kapatma medyumunu kullanılarak lamel ile kapatma.

H₂O₂: Hidrojen Peroksit, PBS: Phosphate buffered saline, DAB: Diaminobenzidine

2.6. İmmünohistokimyasal İnceleme

Böbrek ve karaciğer dokusunda TRPM2 immünreaktivitesinin belirlenmesi için Avidin-Biotin-Peroksidaz kompleksi yöntemi uygulandı (Tablo 8).

Parafin bloklardan 5–6 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için H₂O₂ ile muamele edildi. Deparafinize edilen dokular dereceli alkol serilerinden geçirilip antigen retrieval için sitrat tampon solüsyonunda pH:6'da mikrodalga fırında (750W) 12 dakika kaynatıldı. Zemin boyasını engellemek için Ultra V Block (TA-125-UB, LabVision Corporation, USA) solüsyonu ile 5 dakika muameleden sonra primer antikor (Rabbit Anti-TRPM2 antibody, ab101738, Abcam, Cambridge, UK) ile 60 dakika inkübe edildi. Dokular, primer antikor uygulanmasından sonra sekonder antikor (biotinylated Goat Anti-Poliyvalent (anti-mouse/rabbit IgG), TP-125-BN, LabVision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi.

Sekonder antikor uygulanmasından sonra Streptavidin Alkaline Phosphatase (TS-060-AP, LabVision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildikten sonra distile su içerisine alındı. Dokulara Fast Red Substrate System (TA-125-AF, LabVision Corporation, USA) solusyonu damlatılıp ışık mikroskopunda görüntü sinyali alındıktan sonra eş zamanlı olarak distile su ile yıkamaya alındı. Mayer's hematoksilen ile zıt boyaması yapılan dokular distile sudan geçirilerek uygun kapatma solusyonu (Large Volume Vision Mount, TA-125-UG, LabVision Corporation, USA) ile kapatıldı. Pozitif kontrol için, meme dokusu ile karşılaştırıldı. Negatif kontrol için hazırlanan dokularda primer antikor yerine PBS kullanıldı, diğer basamaklar aynı şekilde uygulandı. Hazırlanan preparatlar Novel N-800M mikroskopunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. İmmünohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesinde; immünreaktivitenin yaygınlığı (0.1: <%25, 0.4:%26-50, 0.6:%51-75, 0.9:%76-100) ve şiddeti (0:yok, +0.5: çok az, +1: az, +2: orta, +3: şiddetli) esas alınarak histoskor oluşturuldu. (Histoskor= yaygınlık x şiddet) (Tablo 11).

Tablo 11. İmmünohistokimyasal boyama prosedürü

Sıra	İşlem	Süre
1	Xylol I	10 dakika
2	Xylol II	10 dakika
3	Xylol	10 dakika
4	% 100 Alkol	10 dakika
5	% 96 Alkol	10 dakika
6	% 80 Alkol	10 dakika
7	Distile su	5 dakika
8	Mikrodalga	7+5 dakika
9	Oda ısısında soğutma	20 dakika
10	PhosphateBufferedSaline (PBS)	3X5 dakika
11	Hidrojen Perokside (H ₂ O ₂)	10 dakika
12	PBS	3X5 dakika
13	Normal blok solüsyonu	5 dakika
14	Primer antikor	60 dakika
15	PBS	3X5 dakika
16	Sekonder antikor	30 dakika
17	PBS	3X5 dakika
18	Streptavidin Alkaline Phosphatase	20 dakika
19	PBS	3X5 dakika
20	Fast Red Substrate	5 dakika
21	Distilesu	5 dakika
22	Zıt boyaolarak Mayer's hematoksilen	10 saniye
23	Akarsu	5 dakika
24	Özel kapatma maddesi ile kapatma

2.7. İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler ortalama \pm standart sapma olarak belirlendi. İstatistiksel analiz için SPSS version 22 programı kullanıldı. Gruplar arası değerlendirme One-way ANOVA ve Posthoc Tukey testi ile yapıldı. $p < 0.05$ değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



3. BULGULAR

3.1. Malondialdehid düzeyleri

Böbrek dokusunda MDA düzeyleri; Kontrol, NAS ve PAM+Atropin gruplarında benzerdi. Kontrol grubuyla kıyaslandığında Malathion ve Malathion+NAS gruplarında MDA düzeylerinin anlamlı olarak arttığı tespit edildi ($p<0.05$). Malathion grubuyla kıyaslandığında ise Malathion+PAM+Atropin, Malathion+PAM+Atropin+NAS ve Malathion+NAS grubunda MDA düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı tespit edildi ($p<0.05$). Malathion+PAM +Atropin grubuyla kıyaslandığında Malathion+PAM+Atropin+NAS grubunda MDA düzeyleri anlamlı olarak azalmış iken Malathion+NAS grubunda artmış olduğu tespit edildi.

Karaciğer dokusunda MDA düzeyleri tüm gruplarda benzer olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi ($p>0,05$) (Tablo 12).

Tablo 12. Doku MDA değerleri

GRUP	MDA (nmol/g protein)	
	Böbrek	Karaciğer
Kontrol	84.36±2.58	53.19±9.36
NAS	86.66±3.52	48.08±7.01
PAM+Atropin	90.33±2.60	44.49±6.23
Malathion	245.59±6.49 ^a	60.01±21.02
Malathion + PAM +Atropin	105.75±10.91 ^b	49.01±6.01
Malathion + PAM +Atropin+NAS	73.87±12.80 ^{bc}	53.57±13.96
Malathion +NAS	180.64±9.47 ^{abc}	56.22±6.75

NAS: N-Asetil Sistein, PAM: Pralidoksim

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^aKontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^bMalathion grubuna göre karşılaştırıldığında,

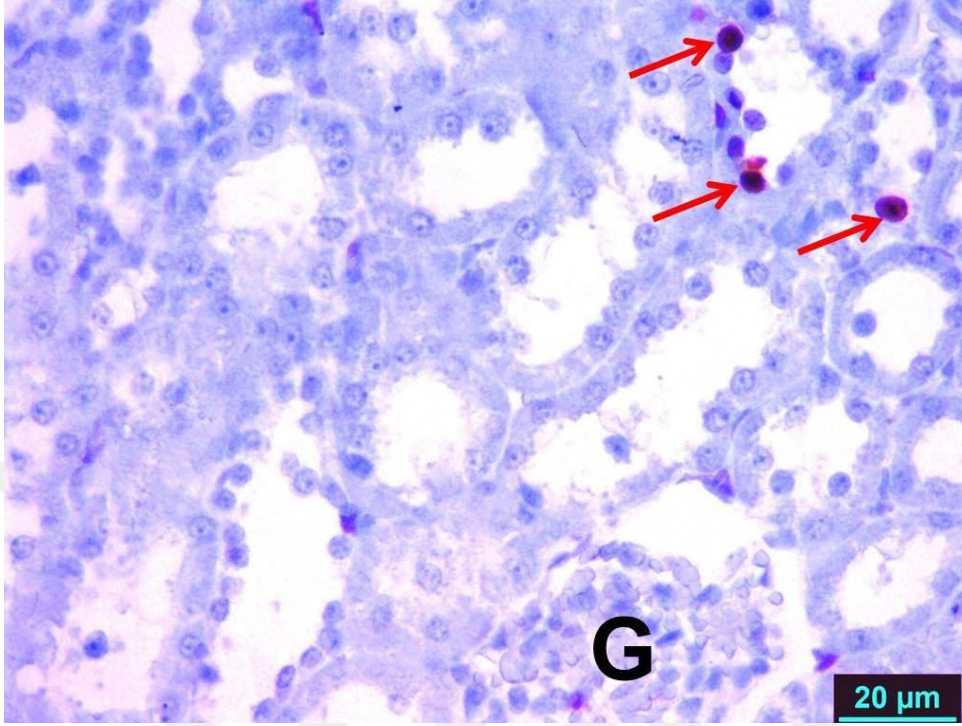
^cMalathion + PAM +Atropin ($p<0.05$).

3.2. TUNEL Bulgular

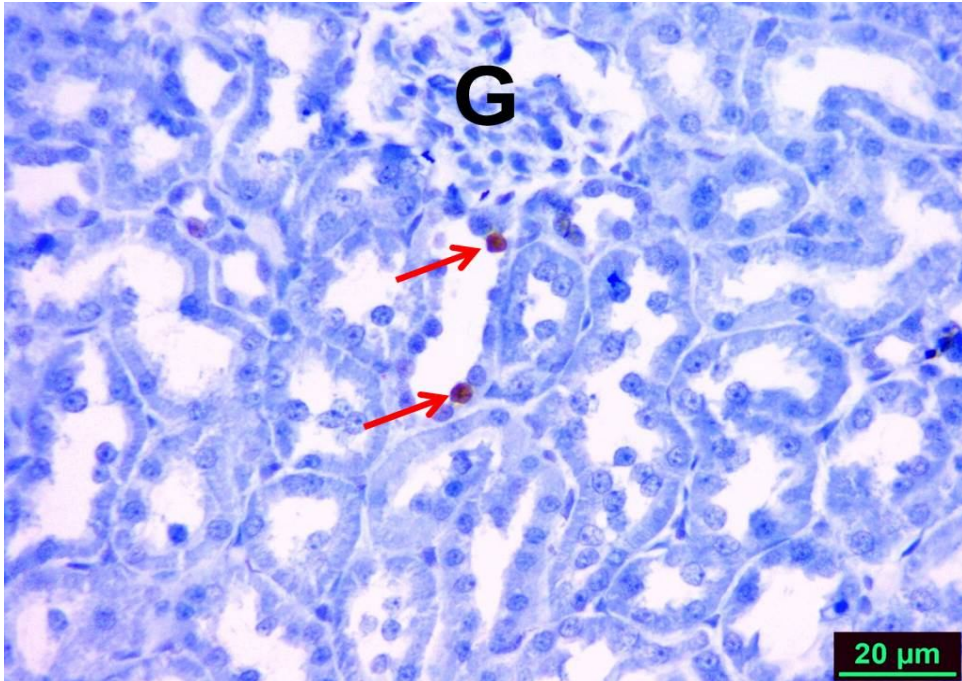
Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için yapılan TUNEL boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; TUNEL pozitifliği karaciğerde Kupffer hücrelerinde izlenirken böbrekte tübül hücrelerinde (kırmızı ok) gözlemlendi.

Böbrek dokusunda TUNEL pozitifliği; Kontrol (Şekil 8), NAS (Şekil 9) ve PAM+Atropin (Şekil 10) gruplarında benzerdi. Kontrol grubuyla kıyaslandığında Malathion (Şekil 11) ve Malathion+NAS (Şekil 12) gruplarında TUNEL pozitifliği anlamlı olarak arttığı tespit edildi ($p<0.05$). Malathion grubuyla kıyaslandığında ise Malathion + PAM + Atropin (Şekil 11) ve Malathion + PAM + Atropin + NAS

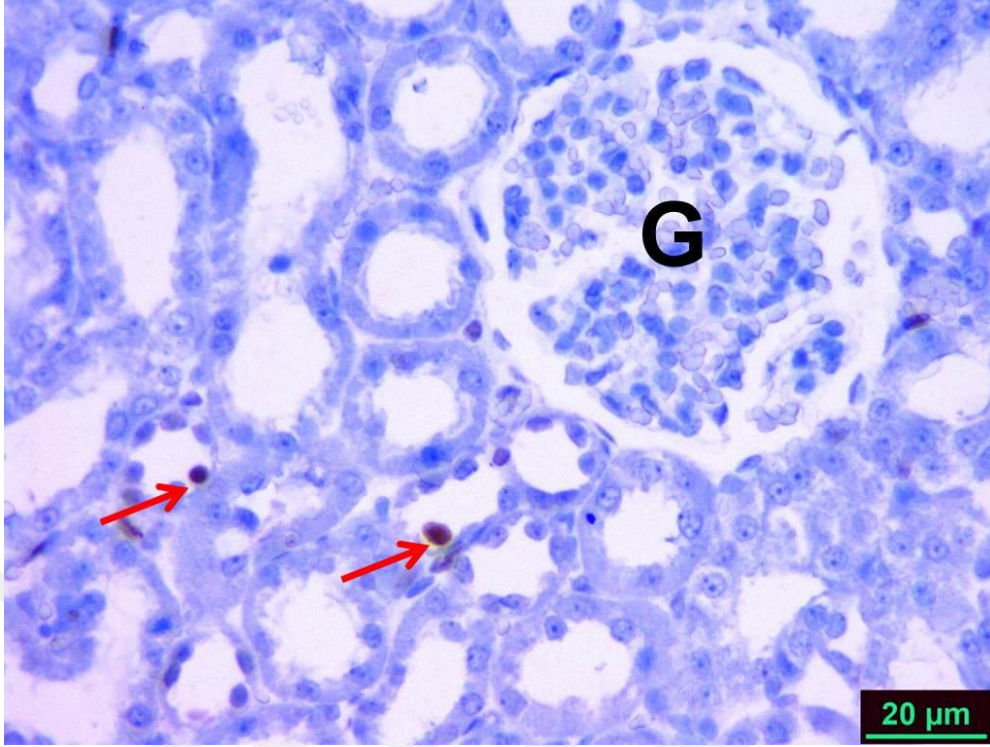
(Şekil 13) gruplarında TUNEL pozitifliği azalmış olarak tespit edildi ($p<0.05$) (Tablo 13).



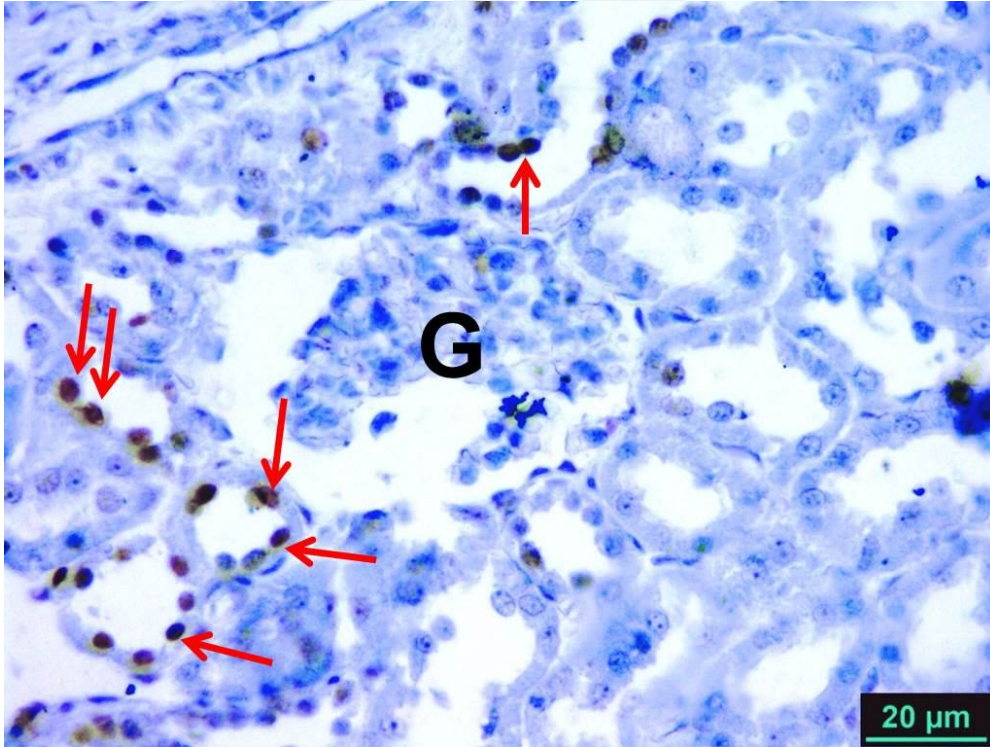
Şekil 8. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler.
Glomerül (G).



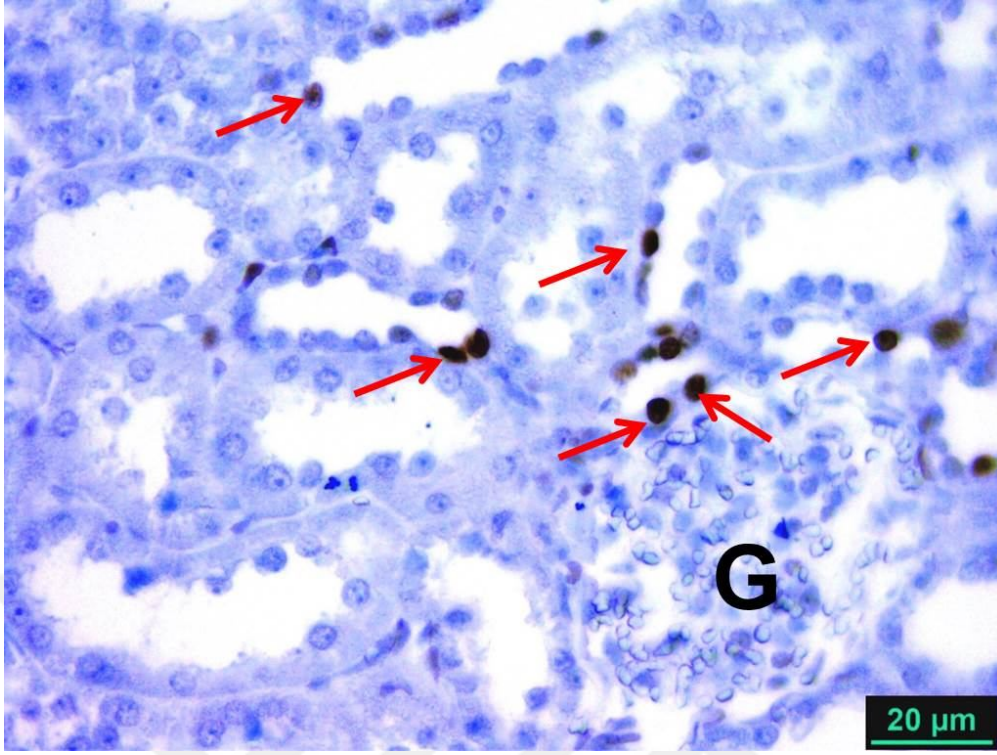
Şekil 9. NAS grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler.



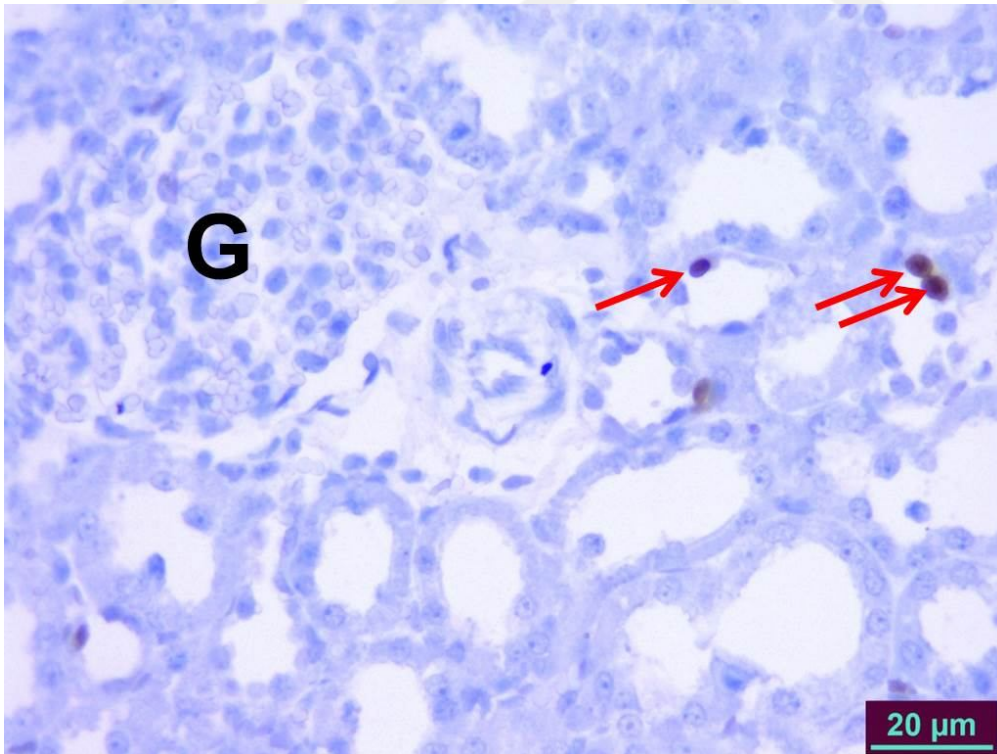
Şekil 10. PAM+Atropin grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler.



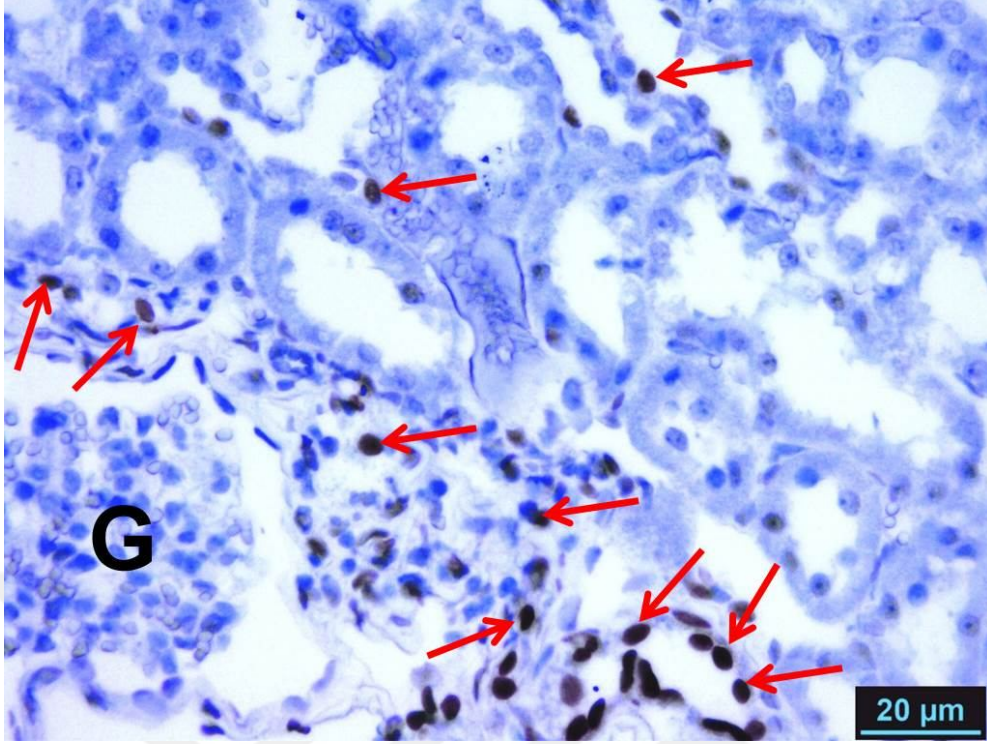
Şekil 11. Malathion grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler.



Şekil 12. Malathion + PAM + Atropin grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler.

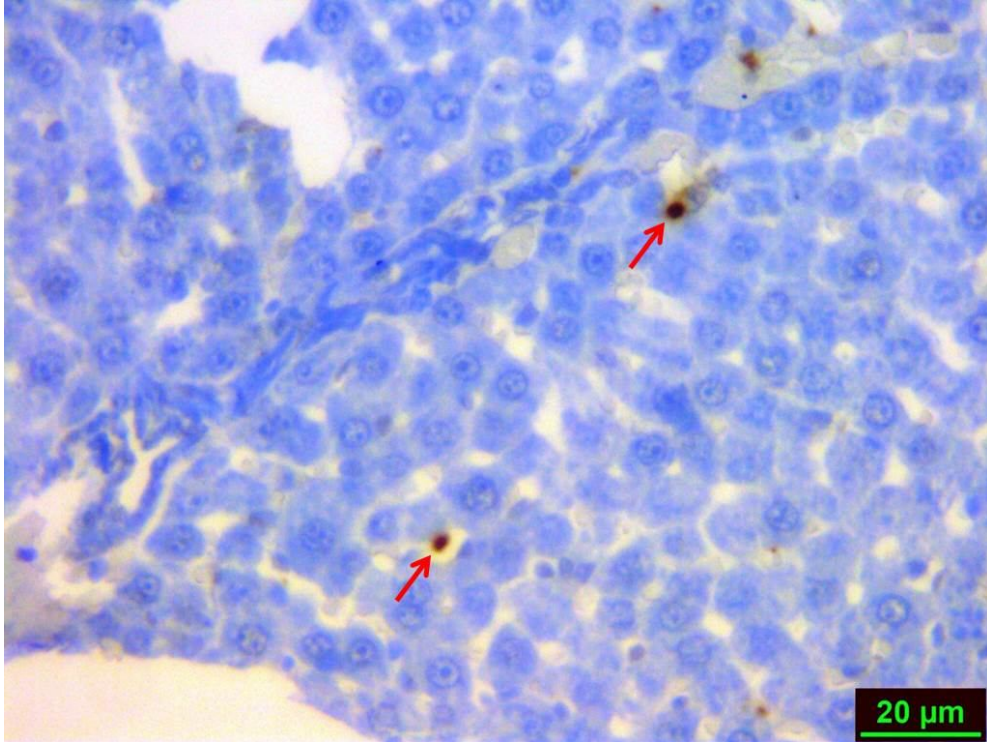


Şekil 13. Malathion + PAM + Atropin + NAS grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler.

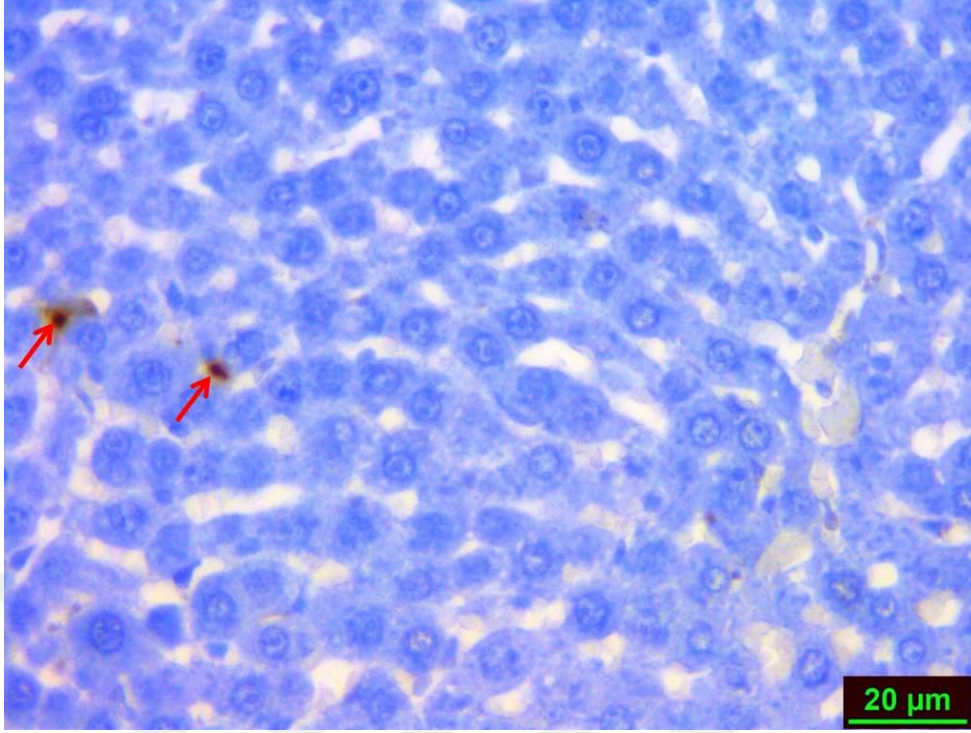


Şekil 14. Malathion+NAS grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler.

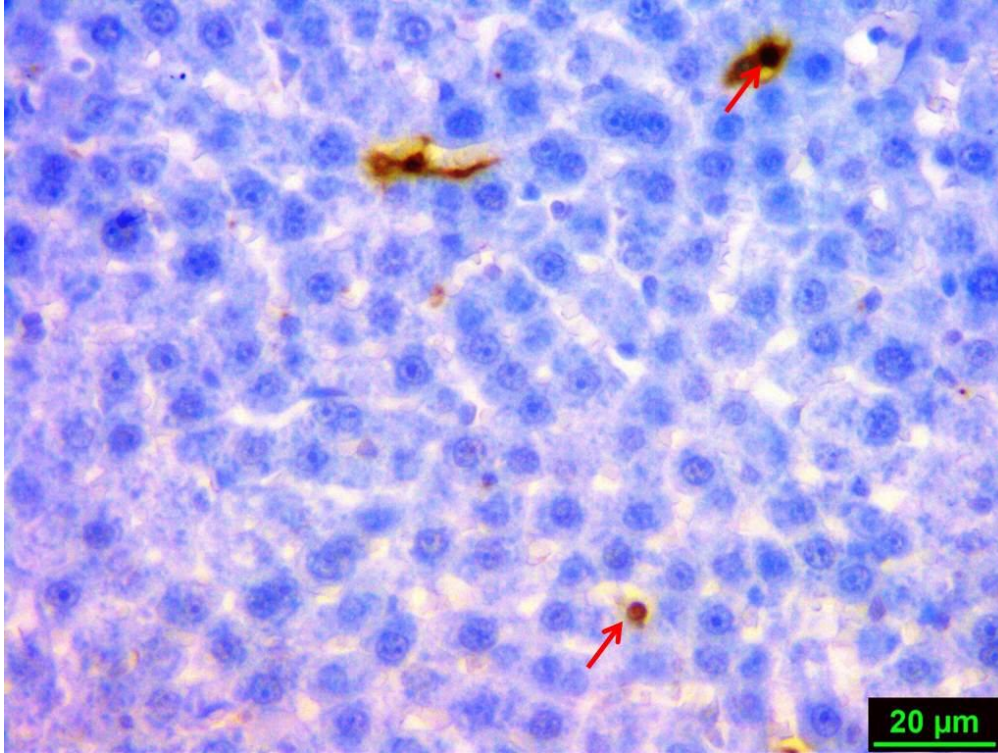
Karaciğer dokusunda TUNEL pozitifliği tüm gruplarda (Şekil 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21) benzer olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi ($p>0,05$).



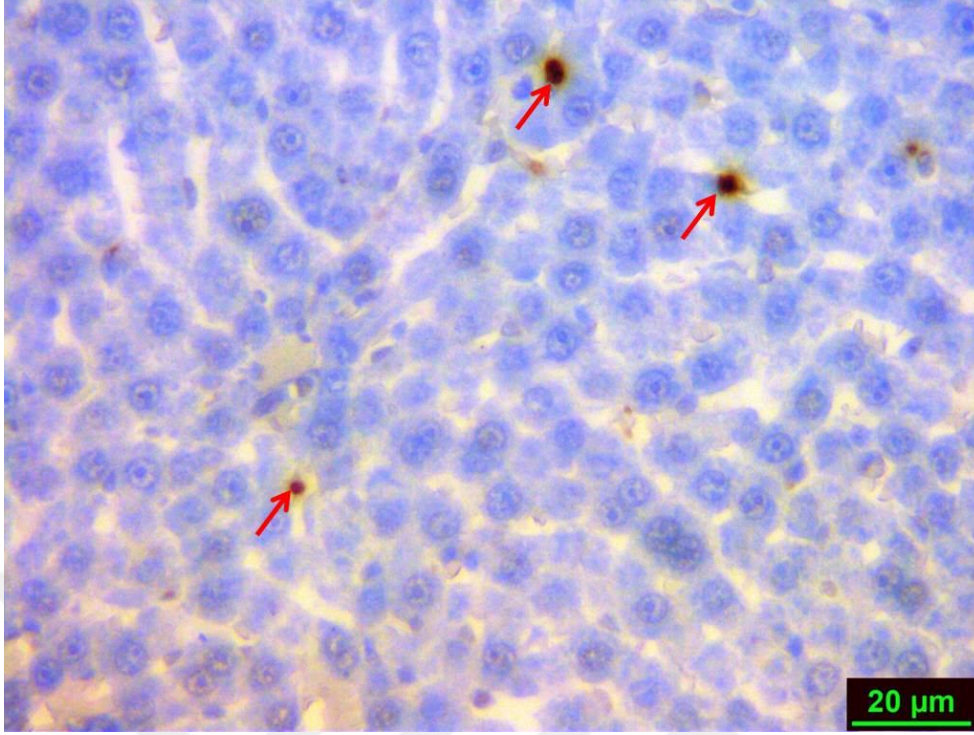
Şekil 15. Kontrol grubuna ait karaciğer dokusunda TUNEL pozitif hücreler.



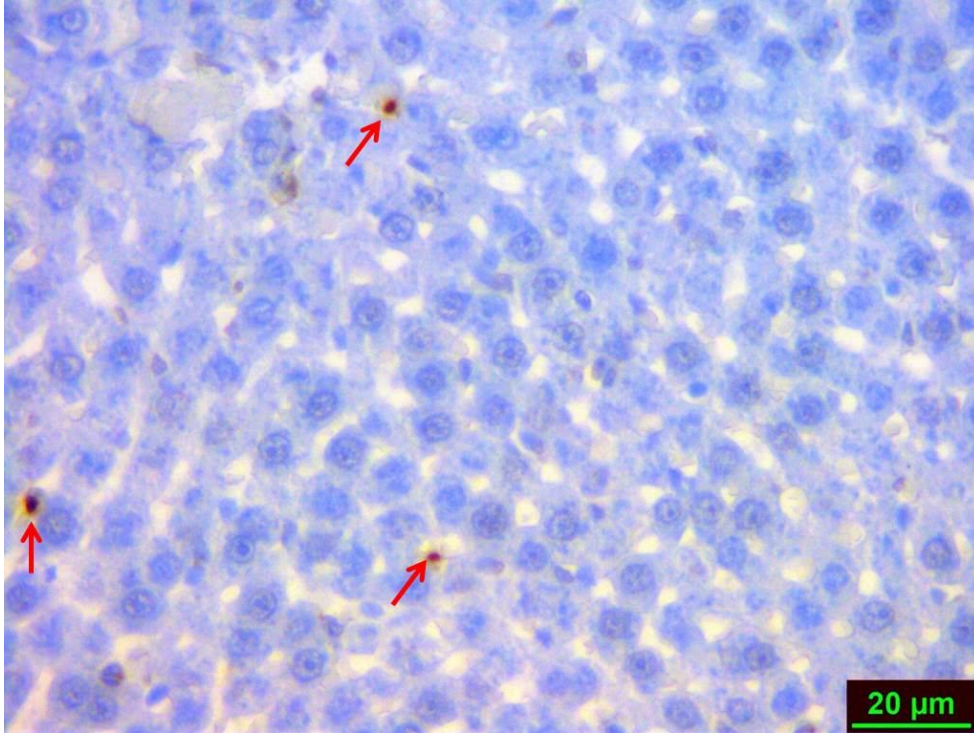
Şekil 16. NAS grubuna ait karaciğer dokusunda TUNEL pozitif hücreler.



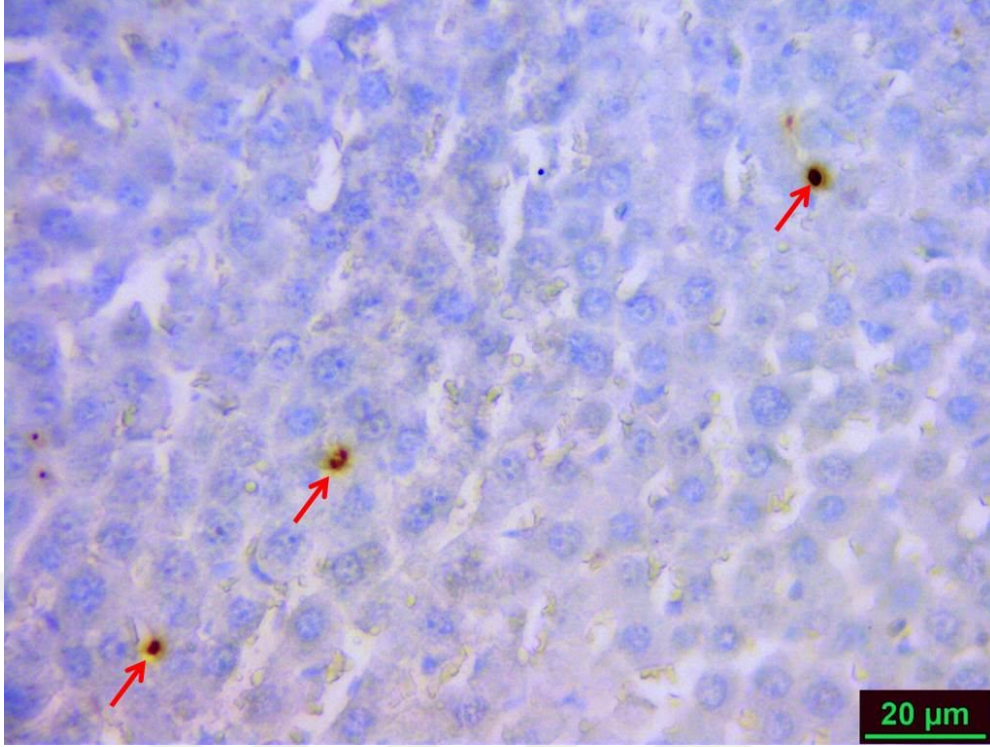
Şekil 17. PAM+Atropin grubuna ait karaciğer dokusunda TUNEL pozitif hücreler.



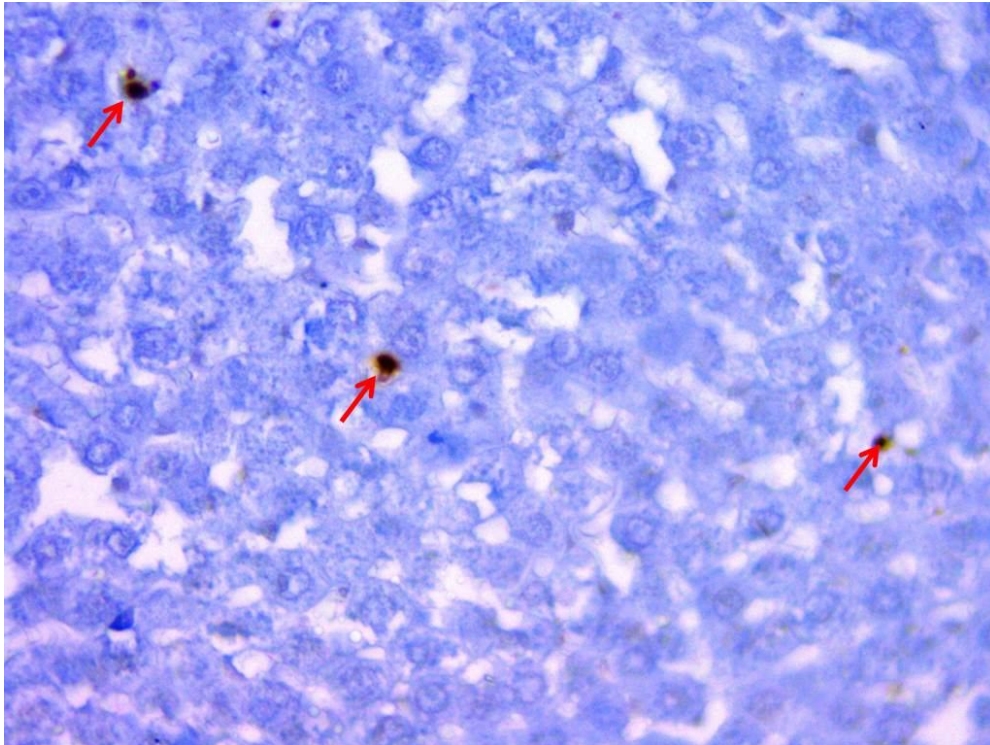
Şekil 18. Malathion grubuna ait karaciğer dokusunda TUNEL pozitif hücreler.



Şekil 19. Malathion + PAM + Atropin grubuna ait karaciğer dokusunda TUNEL pozitif hücreler.



Şekil 20. Malathion + PAM + Atropin + NAS grubuna ait karaciğer dokusunda TUNEL pozitif hücreler.



Şekil 21. Malathion+NAS grubuna ait karaciğer dokusunda TUNEL pozitif hücreler.

Tablo 13. Apoptotik indeks

GRUP	Apoptotik indeks (%)	
	Böbrek	Karaciğer
Kontrol	2.83±0.41	1.83±0.40
NAS	2.66±0.51	2.33±0.51
PAM+Atropin	2.16±0.98	1.66±0.81
Malathion	9.83±1.83 ^a	2.16±1.16
Malathion + PAM + Atropin	4.16±0.40 ^b	2.00±1.67
Malathion + PAM + Atropin + NAS	3.66±0.51 ^b	1.21±0.49
Malathion + NAS	9.50±0.83 ^a	2.16±0.75

NAS: N-Asetil Sistein, PAM: Pralidoksim

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^aKontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^bMalathion grubuna göre karşılaştırıldığında (p<0.05).

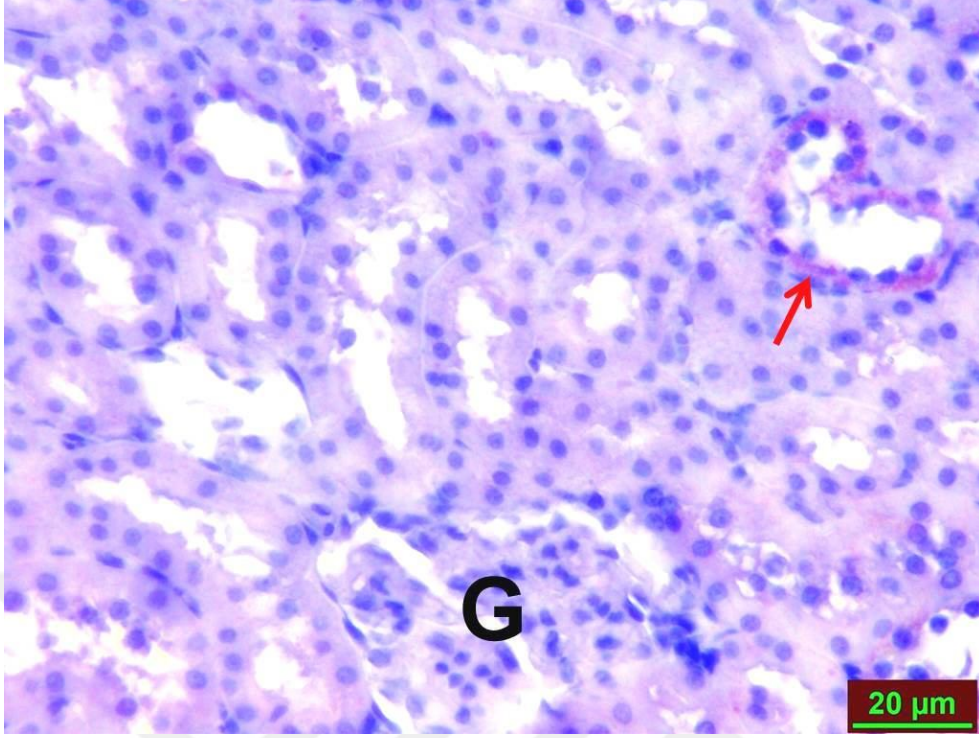
3.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

3.3.1. TRPM2 İmmünreaktivitesi

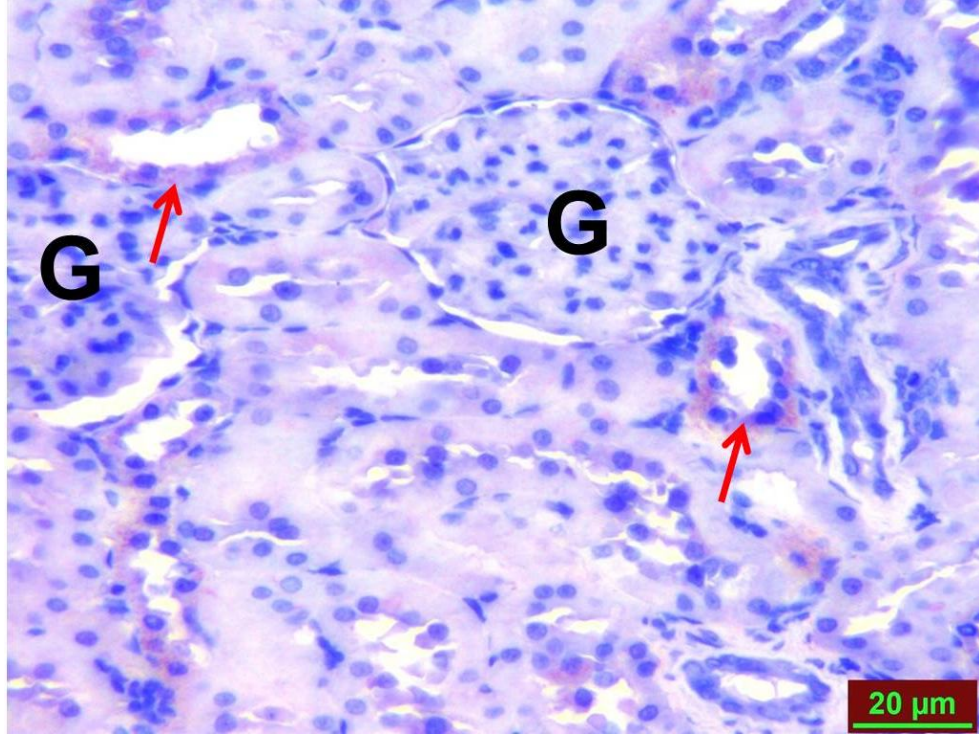
Transient reseptör potansiyel melastatin 2 immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskopu altında incelenmesi sonucu; TRPM2 immünreaktivitesi karaciğer dokusunda hepatosit sitoplazmasında izlenirken böbrek dokusunda tübül hücrelerinin sitoplazmalarında (kırmızı ok) gözlemlendi.

Böbrek dokusunda TRPM2 immünreaktivitesi, Kontrol (Şekil 22), NAS (Şekil 23) ve PAM+Atropin (Şekil 24) gruplarında benzerdi. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında Malathion (Şekil 25) ve Malathion+NAS (Şekil 26) gruplarında TRPM2 immünreaktivitesi anlamlı artmış olarak tespit edildi (p<0.05).

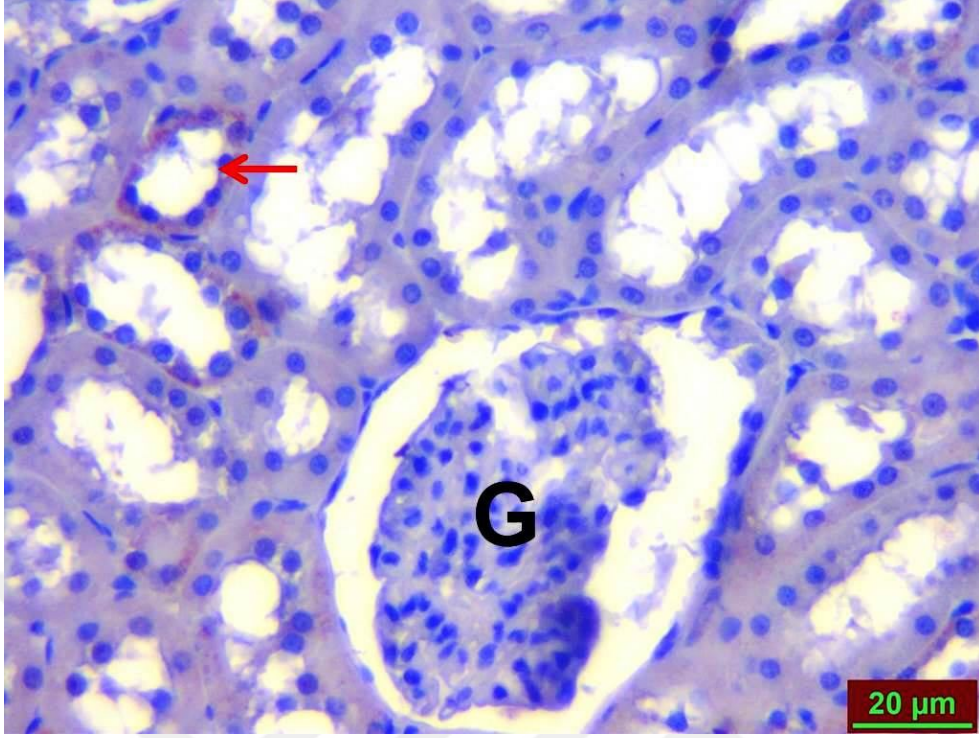
Malathion grubuyla kıyaslandığında ise Malathion+PAM+Atropin (Şekil 23) ve Malathion+PAM+Atropin+NAS (Şekil 28) gruplarında TRPM2 immünreaktivitesi anlamlı azalmış olarak tespit edildi (p<0.05) (Tablo 14) .



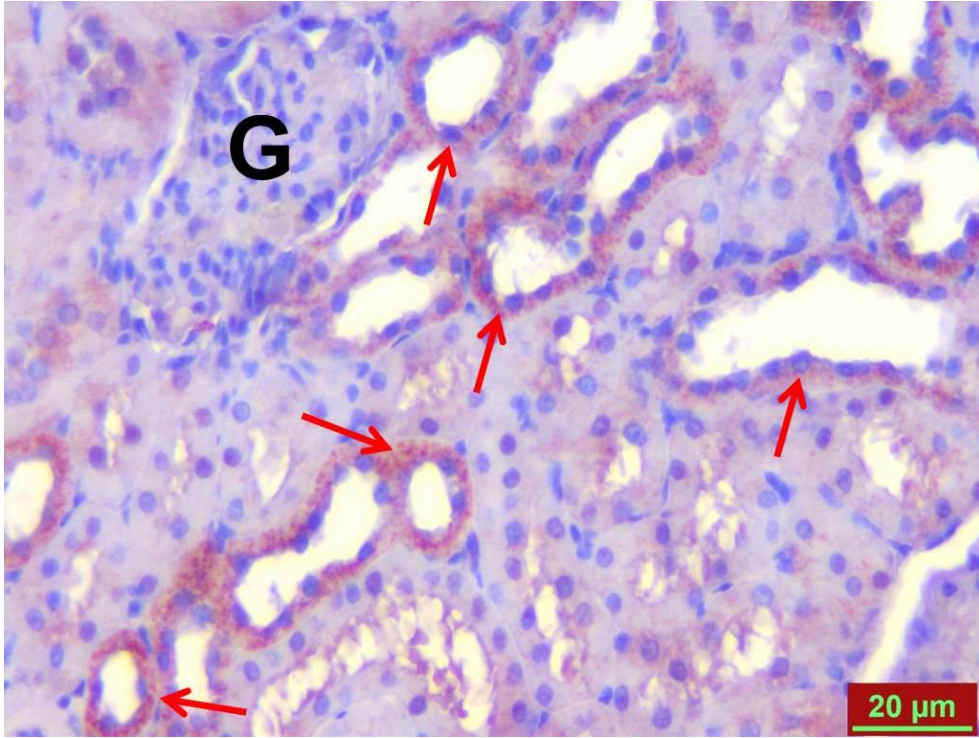
Şekil 22. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi.
Glomerül (G)



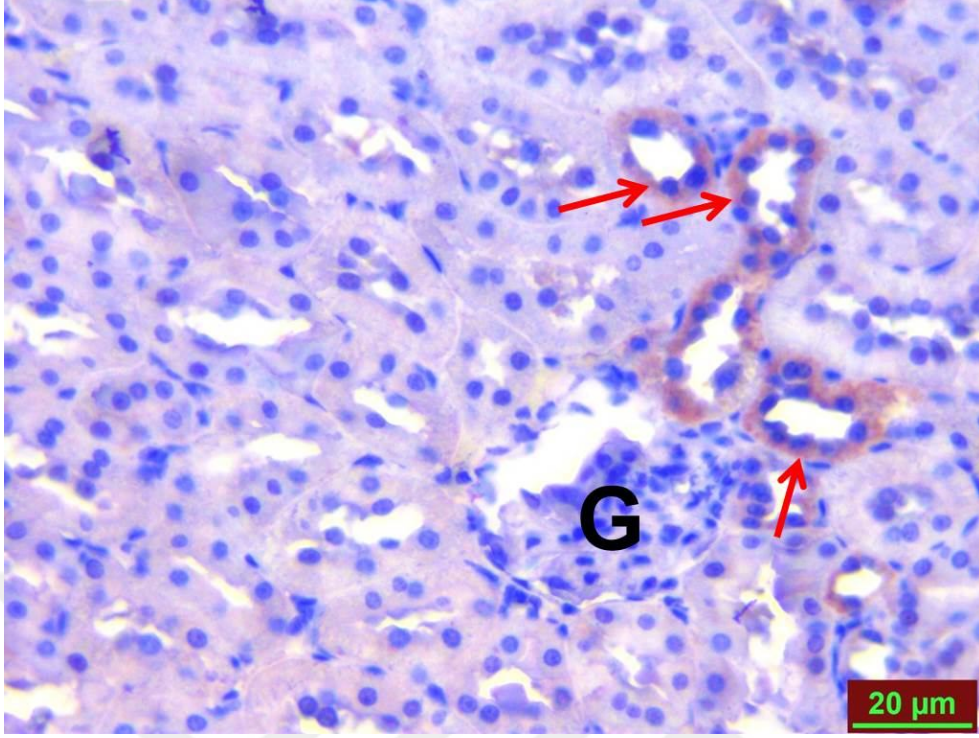
Şekil 23. NAS grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi



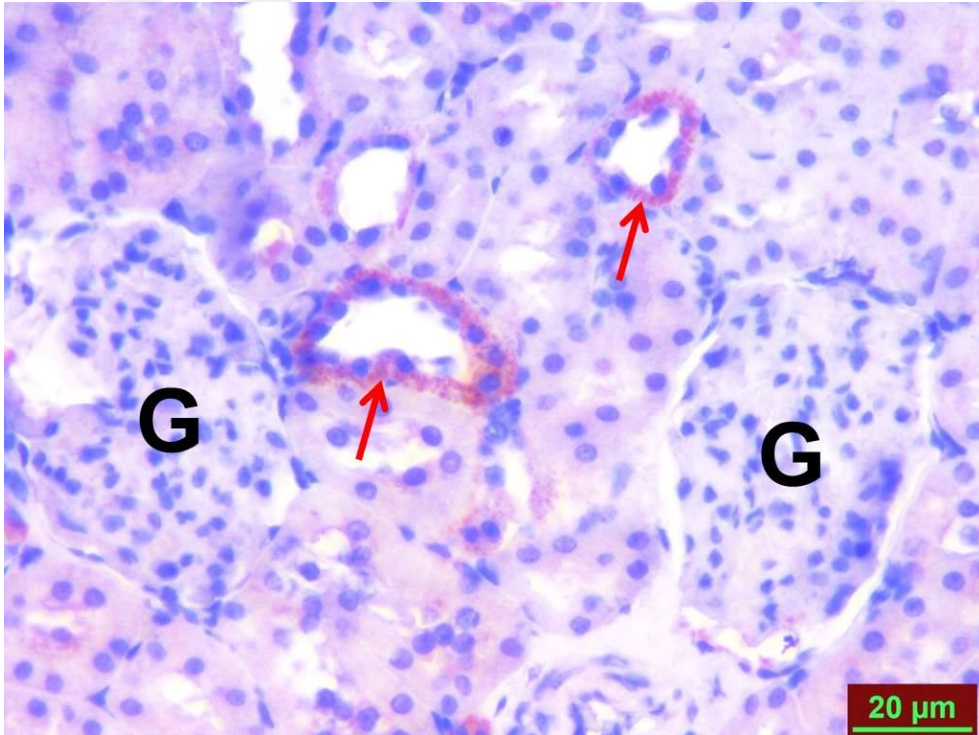
Şekil 24. PAM+Atropin grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi



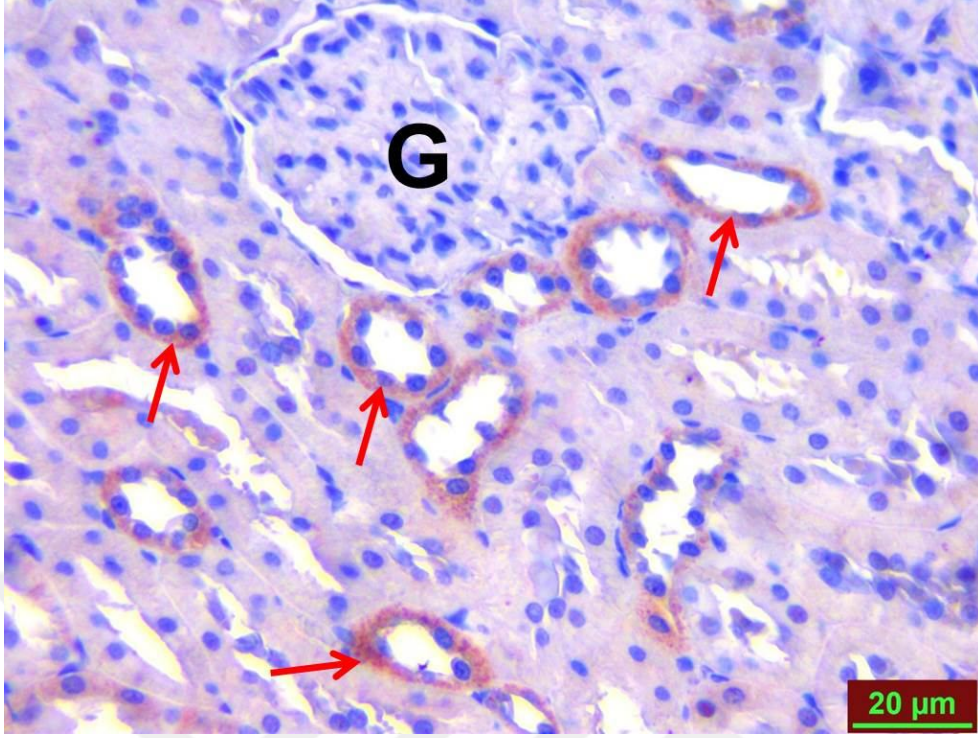
Şekil 25. Malathion grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi



Şekil 26. Malathion + PAM + Atropin grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi

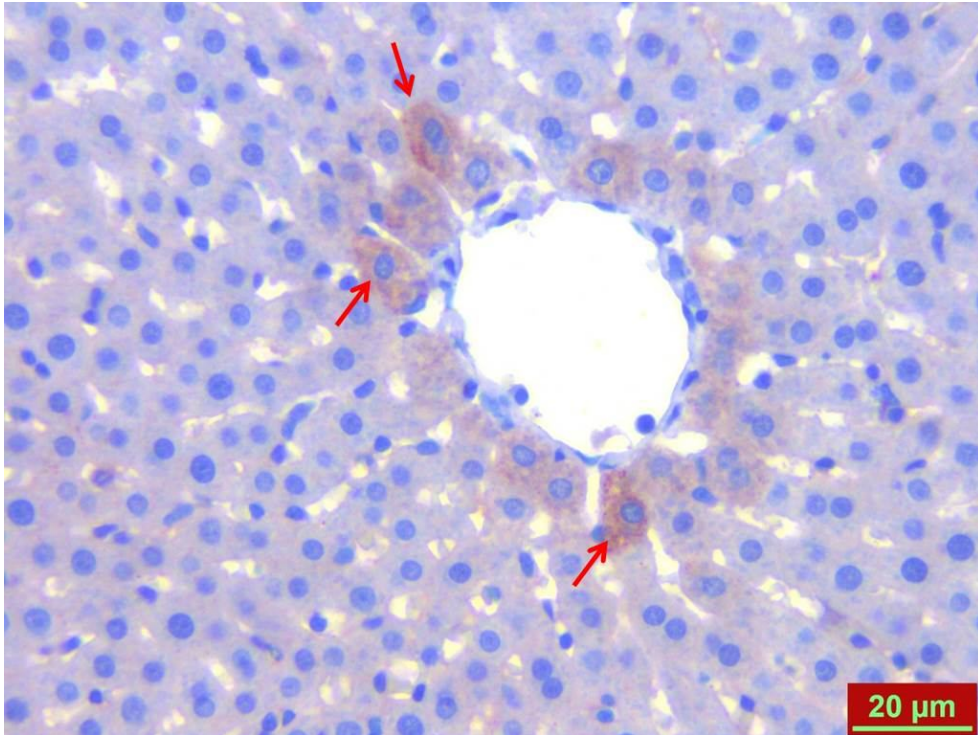


Şekil 27. Malathion + PAM + Atropin + NAS grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi

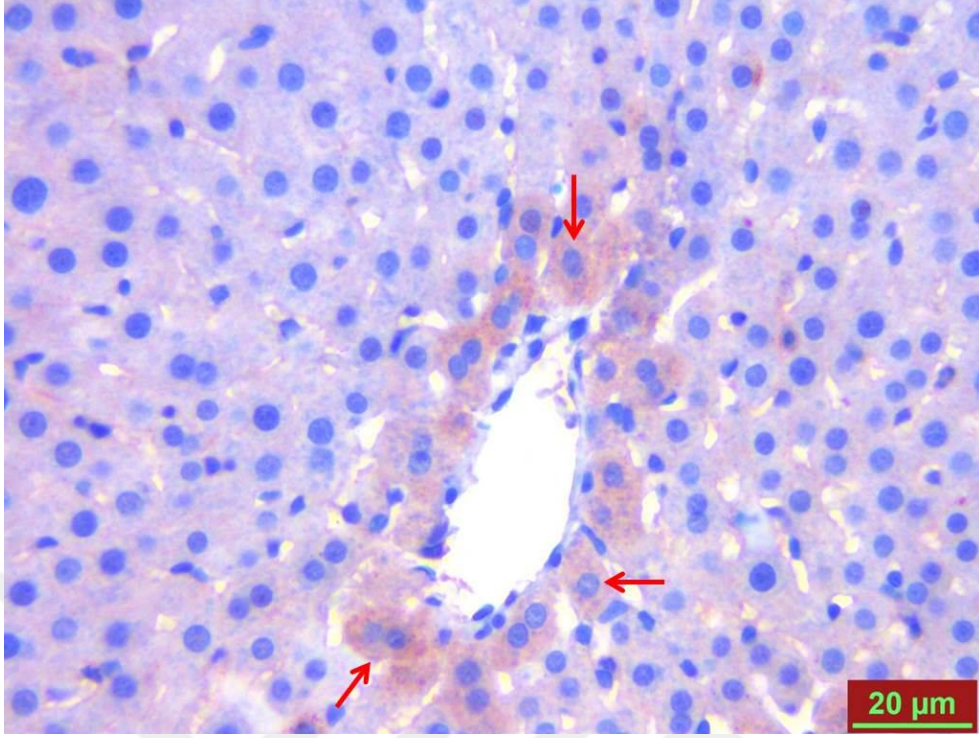


Şekil 28. Malathion+NAS grubuna ait böbrek dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi

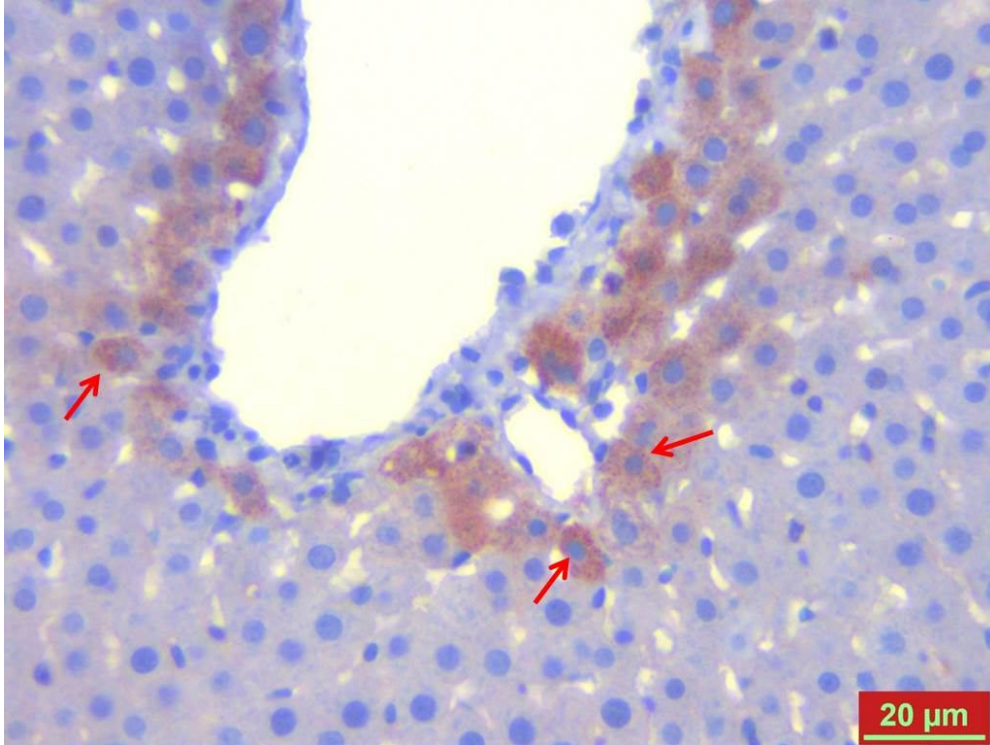
Karaciğer dokusunda TRPM2 (Şekil 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36) immünreaktivitesi tüm gruplarda benzer olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi ($p>0,05$) (Tablo 14).



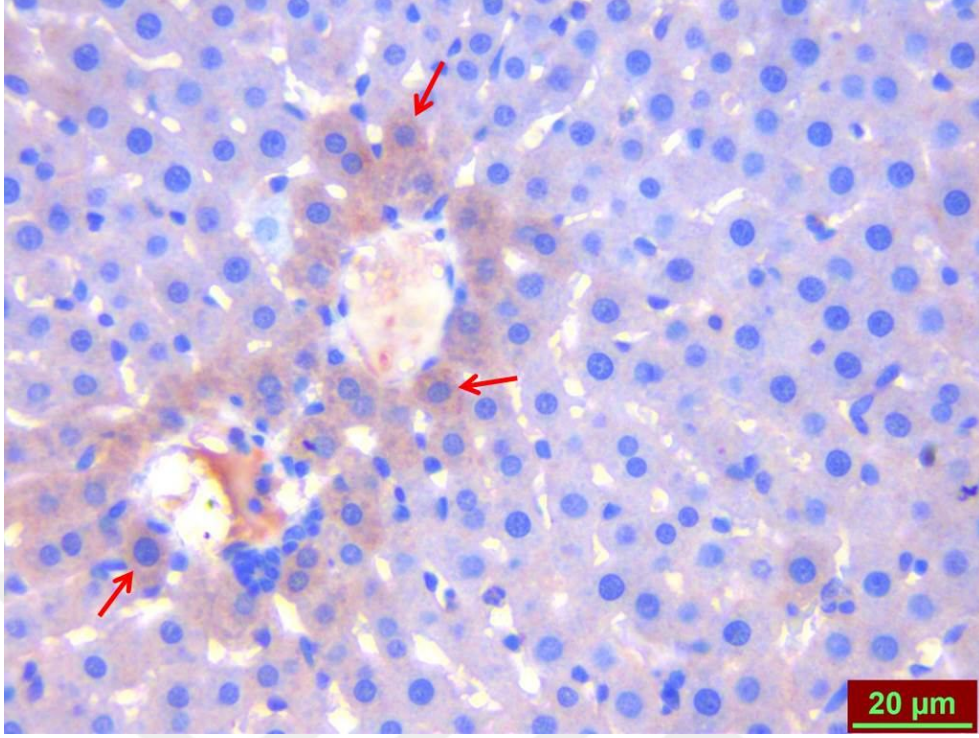
Şekil 29. Kontrol grubuna ait karaciğer dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi



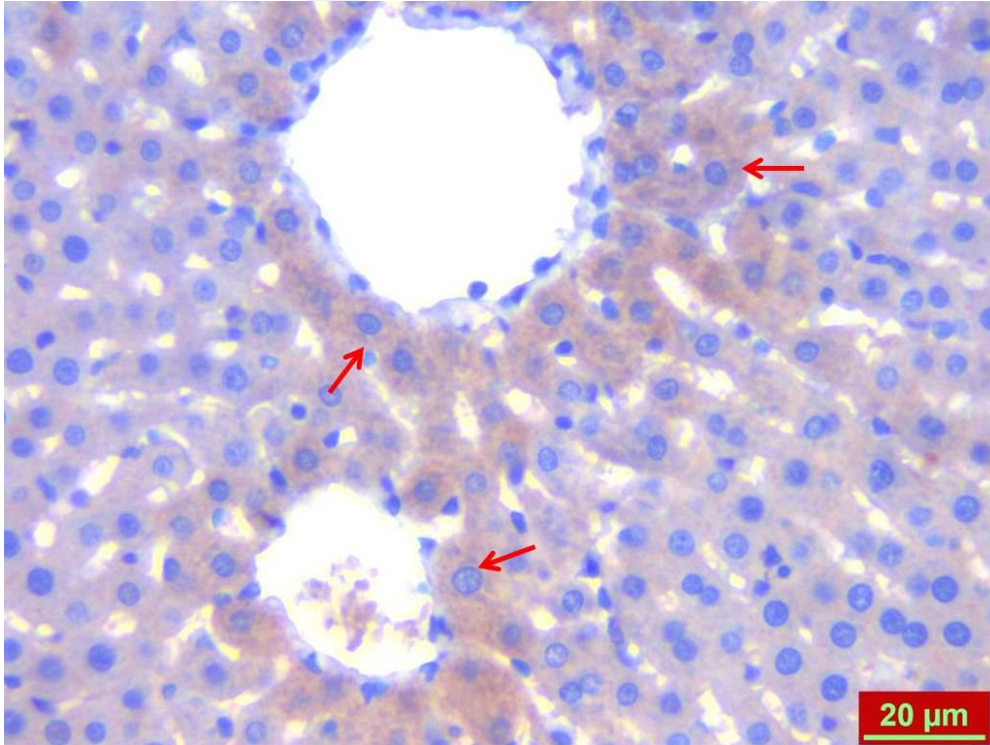
Şekil 30. NAS grubuna ait karaciğer dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi



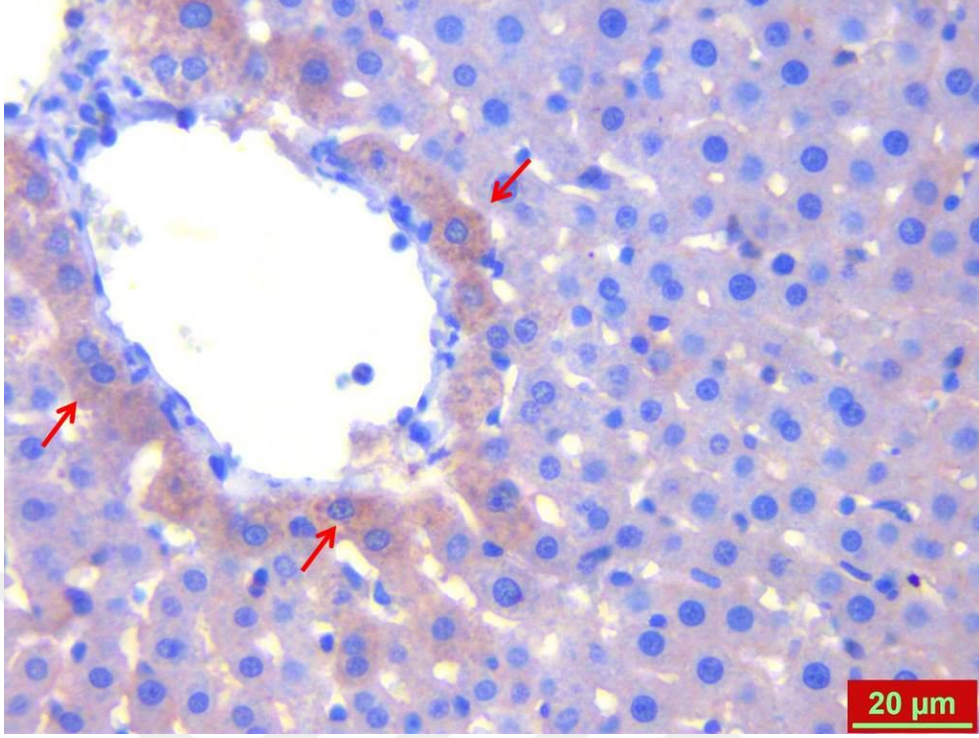
Şekil 31. PAM+Atropin grubuna ait karaciğer dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi



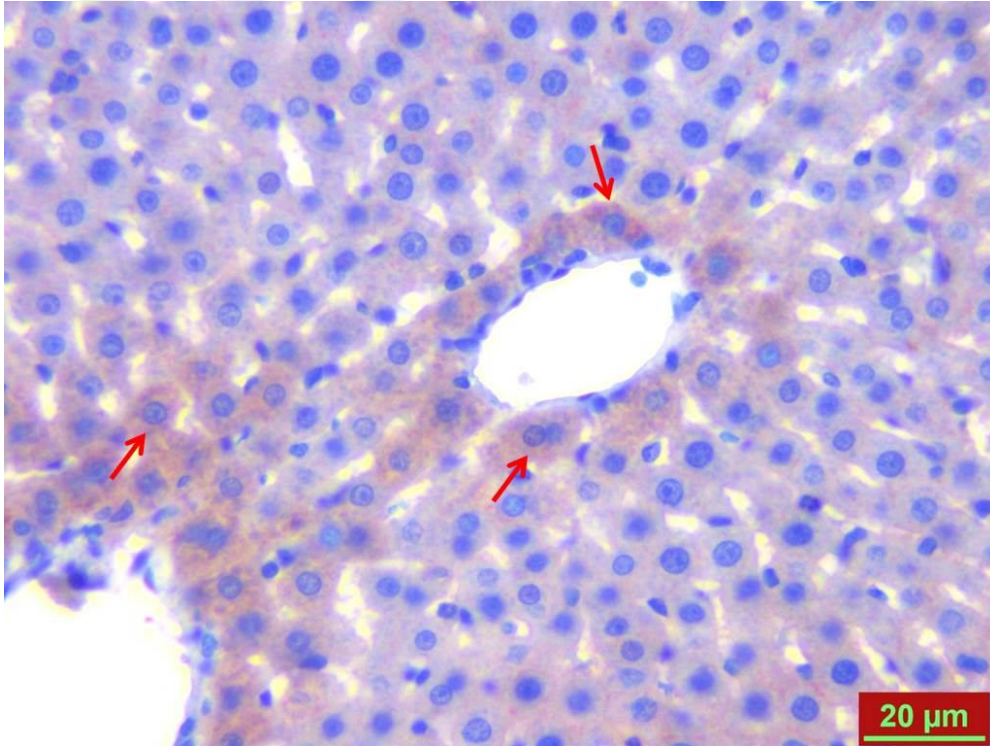
Şekil 32. Malathion grubuna ait karaciğer dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi



Şekil 33. Malathion+PAM+Atropin grubuna ait karaciğer dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi



Şekil 34. Malathion+PAM+Atropin+NAS grubuna ait karaciğer dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi



Şekil 35. Malathion+NAS grubuna ait karaciğer dokusunda TRPM2 immunreaktivitesi

Tablo 14.TRPM2 histoskor

GRUP	Histoskor	
	Böbrek	Karaciğer
Kontrol	0.26±0.08	0.23±0.08
NAS	0.33±0.30	0.21±0.40
PAM + Atropin	0.25±0.05	0.25±0.08
Malathion	2.10±0.46 ^a	0.21±0.41
Malathion + PAM + Atropin	0.50±0.21 ^b	0.26±0.16
Malathion + PAM + Atropin + NAS	0.36±0.26 ^b	0.31±0.24
Malathion + NAS	1.81±0.53 ^a	0.26±0.17

NAS: N-Asetil Sistein, PAM: Pralidoksim

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^aKontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^bMalathion grubuna göre karşılaştırıldığında, (p<0.05).

4. TARTIŞMA

Organofosfatlar fosforik asit ve fosfotioik asit türevleridir. Bileşiklerin toksikokinetik ve toksikodinamikleri yan zincirler tarafından belirlenmektedir. İki yüzün üzerinde organofosfat bileşiği mevcuttur (3).

Organofosfatların çoğu yağda çözünürlüğü oldukça yüksek bileşiklerdir. Hızla dokulara dağılırlar. Karaciğer ve böbrekte yüksek konsantrasyonlarda birikirler. Yağda çözünürlüğü daha yüksek olanlar kan-beyin bariyerini kolaylıkla geçerler ve bu nedenle MSS'ne etkilidirler. Bu bileşikler başlıca karaciğerde esteraz hidroliz ve konjugasyon ile yıkılırlar. Organofosfatların ve ürünlerinin atılımı idrar, safra ve dışkı yolu ile olmaktadır (14, 23).

Zehirlenmeler bu ilaçların üretimi, taşınması ve kullanım alanlarında, evde kaza sonucu ve intihar amaçlı meydana gelebilir. Yaygın olarak kullanılan bu ilaçların alınan gıdalarla bulaşması ile kitlesel zehirlenme ihtimali de söz konusudur. OB'lerinin emilimi solunum yolu, sindirim sistemi, konjonktiva, deri ve mukozalardan olabilmektedir (14).

Akut sistemik OF zehirlenmelerinde, değişik MSS, muskarinik, nikotinik ve somatik motor nöron bulguları oluşur. Akut OF zehirlenmelerinde akut kolinerjik sendrom, intermediate sendrom ve gecikmiş polinöropati olmak üzere üç ayrı tablo tariflenir (14, 23).

Organofosfatlar, merkezi ve otonom sinir sisteminde, nöromuskuler kavşakta ve eritrositlerde AchE enzimine geri dönüşümsüz olarak bağlanıp dokularda Ach birikimine yol açar. Asetilkolin birikimine bağlı olarak da muskarinik ve nikotinik reseptörlerin aşırı uyarılması sonucu kolinerjik etkileri ortaya çıkmaktadır. Bu şekilde meydana gelen nörotoksik etkiye bağlı olarak akut veya kronik zehirlenmeler oluşmaktadır (14, 23, 112, 113).

Malathion intoksikasyonunun en önemli özelliği, geri dönüşümsüz şekilde kan AchE enziminin inhibisyonuna neden olmasıdır (114, 115).

Organofosfat zehirlenmelerinde atropin ve oksim rutin tedavide yer almaktadır. Atropin bronşların genişlemesine neden olduğundan bu anlamda oldukça yararlıdır. Atropin ACh'nin spesifik bir antagonistidir (14, 15, 23).

Oksim tedavisinin tek başına atropin kullanımına bir üstünlüğü olmadığı bildirilmiştir (59).

Organofosfat zehirlenmelerinin, hücrel proliferasyon (115) ve immünotoksik (116) etkiler gibi farklı mekanizmalar aracılığıyla olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Bununla birlikte OF toksisitesinin en önemli hücrel mekanizmalarından birinin lipid peroksidasyonu olduğunu belirtmişlerdir. Zira, son zamanlarda yapılan çalışmalar ile OF'ların, oksidatif hasara, serbest radikal üretimine ve antioksidan belirteçlerin seviyelerinde çeşitli farklılıklara neden olduğu gösterilmiştir (117, 118).

Oksidatif stres, hücrelerin lipid peroksidasyonuna neden olan serbest radikallerin üretimi ve antioksidan mekanizmalar aracılığıyla organizmanın kendini savunması arasındaki dengenin bozulması olarak tanımlanabilir (72).

Organizmada, oksidan maddelerin oluşumu ve yıkımı arasındaki denge, hücre ve dokunun biyolojik bütünlüğünün korunması ve idamesinde önemlidir (75-78).

Milatovic ve ark. (119) ise ROT oluşumunu, AchE inhibisyonu ve eksituar süreç esnasında oksidatif fosforilasyonun inhibisyonuyla ikiye katlanan yüksek düzeydeki ATP tüketimi olduğunu belirtmişleridir. Zira yüksek enerji tüketimi ile hücrelerin enerji düzeylerini koruma kabiliyetleri baskılanarak farklı organlarda belirgin miktarda ROT üretilebilir.

Transient Reseptör Potansiyel Melastatin 2 kanalları oksidatif stres ile aktive olduğu için, son zamanlarda, diyabet, inflamasyon, miyokardiyal enfarktüs ve nörodejeneratif hastalıklar da dahil olmak üzere, oksidatif stresin aracı olabildiği hastalıklarla ilgili olarak potansiyel bir terapötik hedef olarak görülmektedir (106, 120).

Lipit peroksidasyonun en önemli ürünü malondialdehit (MDA) olup, hücre zarından iyon alışverişine etki ederek zardaki bileşenlerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliği ve enzim aktivitelerinde değişimler yaparak olumsuz sonuçlara neden olabilir. MDA, DNA'nın nitrojen bazları ile tepkimeye girebilir ve bundan dolayı mutajenik, genotoksik ve karsinojenik özellikler gösterebilir (121, 122).

Bu çalışmada, N-Asetil Sisteinin deneysel malathion uygulanan sıçan böbrek ve karaciğer dokularında transient reseptör potansiyel melastatin 2 (TRPM2) kanallarına etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda, karaciğer dokusunda MDA düzeyleri, apoptozis ve TRPM2 immünreaktivitesi açısından tüm gruplar benzer olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi.

Çalışmamızda bakılan parametreler açısından, karaciğer dokusunda gruplar arası bir farklılığın olmamasının, birçok deneysel çalışmayla zıtlık oluşturduğu söylenebilir. Ancak bu deneysel çalışmalarla bizim çalışmamız arasındaki en önemli fark olarak deney sürelerinin uzun olması söylenebilir. Zira Lasram ve ark. (123), 28 günlük deney süresi sonunda karaciğerde MDA artışı ve antioksidan seviyelerde azalma olduğunu bildirmiş olup çalışmamıza benzer şekilde tedavi olarak verilen NAS'ın ise MDA seviyelerini azalttığını göstermişlerdir.

Yine Akhgari ve ark. (124), 4 haftalık malathion uygulaması sonucunda rat karaciğer dokularında MDA artışı olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmaya benzer şekilde, 2015 yılında Selmi ve ark. (125) 30 gün boyunca 200 mg/kg dozunda malathion vererek yaptıkları çalışmalarında, malathionun böbrek ve karaciğerde MDA artışına sebep olduğunu göstermişlerdir.

Böbrek dokusunda ise; kontrol grubuyla karşılaştırıldığında Malathion ve Malathion+NAS gruplarında MDA düzeyleri, apoptozis ve TRPM2 immünreaktivitesi anlamlı olarak artmış bulundu. Malathion grubuyla kıyaslandığında ise Malathion + PAM +Atropin ve Malathion + PAM +Atropin+NAS gruplarında MDA düzeyleri, apoptozis ve TRPM2 immünreaktivitesi anlamlı olarak azalmış izlendi. Malathion +NAS grubunda ise apoptozis ve TRPM2 immünreaktivitesi açısından anlamlı bir fark gözlenmedi.

Alp ve ark. (126) yaptıkları deneysel çalışmalarında, malathion uygulanmasının böbrek ve karaciğer dokularında MDA seviyelerini arttırıp antioksidan belirteçleri azalttığını bildirmişlerdir.

Lee ve ark. (127) organofosfatlar tarafından indüklenen serbest oksijen radikali üretimine sekonder olarak artış gösteren MDA düzeylerinde, NAS kullanımı ile anlamlı düzeyde azalma olduğunu bildirmişlerdir. Sarıcaoğlu ve ark. (83) düşük doz NAS infüzyonu ile erken reperfüzyon periyodu esnasında üretilen plazma MDA

düzelelerini azalttığını bildirmişlerdir. Nagasaki ve ark. (128) iskemik reperfüzyon hasarından sonra glutasyonu tükenmiş karaciğerde, NAS'ın iskemik hasarı engellediğini göstermişlerdir. Çankayalı ve ark. (129) organofosfat intoksikasyonunda NAS'ın lipid peroksidasyonunun artışıını engellediği ve klasik tedavilere ilaveten antioksidan etkili ilaçların organofosfat intoksikasyonunda ümit verici olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda benzer olarak klasik organofosfat zehirlenmesi tedavisine ilaveten NAS verilmesinin MDA değerlerinde anlamlı bir azalma olduğu tespit edildi.

Böbrekler, yapılan deneysel çalışmalarda, Organofosfat'lar tarafından hedef organ olarak seçilmiştir (130).

Zira araştırmacılar oral olarak alınan malathionun, %90'dan fazlasının 24 saat içerisinde üriner yolla atıldıklarını rapor etmişlerdir (131).

Vücuda girdikten sonra hızla tüm dokulara dağılan OF'ların, en yüksek konsantrasyonda karaciğer ve böbrekte bulunduğu bildirilmiştir (23).

Birçok pestisit, böbrek dokusunda bazı toksik ve yan etkilere neden olmaktadır. Yapılan deneysel çalışmalarda, pestisidlerin böbrek üzerine glomeruler skleroz, vasküler konjesyon, fibrozis, fokal tübüler nekroz gibi etkileri histopatolojik olarak gösterilmiştir (132-134).

Possamai ve ark. (135) ise malathion ile yaptıkları deneysel çalışmalarında, böbrek dokusundaki antioksidan enzim aktivitelerindeki farklılıkları göstermişlerdir.

Ayrıca Poovala ve ark. (136) ise, OF toksisitesi ile birlikte gelişen akut tubuler nekrozun, ROT ve lipid peroksidasyonu ile ilgili olduğunu göstermişlerdir. Akut insan OF zehirlenmesi sonrasında böbreklerde bulunan OF düzeyi kandaki düzeyinden daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Bu renal disfonksiyonun, inhibe edilen AChE'nin baskılanma derecesi ile korele olmadığı da ifade edilmiştir.

Çalışmamızda, malathion uygulanan grupta böbrek dokusunda artan apoptozis ve TRPM2 immünreaktivitesinin, lipid peroksidasyonun göstergesi olan MDA değerlerinin artışı ile ilişkili olduğunu düşünmekteyiz. Bununla birlikte Malathion + PAM + Atropin grubundaki böbrek dokusunda, MDA değerlerinde azalma olması ise oldukça ilgi çekicidir. Pralidoksim ve atropinin antioksidan bir etki göstermesinin muhtemel sebebi, her iki ajanın da sülfat grubu taşıması olduğunu düşünmekteyiz. Zira bu ajanlardaki sülfat grupları, antioksidan özellik göstermekte

olup bu yolla lipid peroksidasyonunu engellediğinden, MDA değerleri düşük bulunmuş olabilir. 2005 yılında Qi ve ark. (137), çalışmalarında, sülfat içeren farklı ajanların antioksidan etkileri olduğunu göstermişlerdir. Çalışmamız bu açıdan, ismi geçen çalışmadaki PAM ve atropinin antioksidan etkilerinin, sülfat grubundan kaynaklanabileceği düşüncesini desteklemektedir.

İntraselüler elektron dengesinin bozulması, oksidatif stres, antioksidan enzim sisteminin yetersiz kalması, apoptozis oluşumunu başlatabilmektedir (138).

Transient Reseptör Potansiyel Melastatin 2, Ca^{+2} iyonuna geçirgen, seçici olmayan çok işlevsel katyon kanalıdır. Oksidatif stres, hidrojen peroksid ve TNF- α ile TRPM2 kanallarında Ca^{+2} akışının indüklendiği, birçok çalışmada rapor edilmiştir (139).

Transient Reseptör Potansiyel Melastatin 2'nin, hücre ölümünde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Çünkü apoptozda etkili olan kaspazın aktive olabilmesi için Ca^{+2} sinyali gerekmektedir (140).

Özgül ve Nazıroğlu (141); ratlarda dorsal kök ganglionlarında TRPM2 kanalları aracılığıyla oluşan kalsiyum akışı üzerinde intraselüler glutatyon düzeyinin azalmasının aktivatör rol oynadığı ve NAS'ın bu kalsiyum akışı üzerinde rolü olabileceği bildirmişlerdir. Oksidatif stres durumlarında NAS'ın koruyucu amaçlı potansiyel terapötik yaklaşımda kullanılmasını önermişlerdir. Çalışmamızda benzer olarak organofosfat intoksikasyonu klasik tedavisine ek olarak NAS verilmesi ile TRPM2 düzeylerinde azalma olduğu ve apoptotik indeksi olumlu yönde etkilediği tespit edildi.

Metabolik süreç sonucu oluşan H_2O_2 'nin hücre içine girmesine bağlı olarak TRPM2 kanalları aktifleşir. Bu kanalların aktif olması sonucunda hücre içine Ca^{+2} iyonu girişinin arttığı düşünülmektedir (140, 142).

Hücre içinde artan Ca^{+2} , hücrenin yapısal ve fonksiyonel özelliklerinin bozulmasına, hücre hasara ve hücre ölümüne kadar varabilen farklı patofizyolojik bir dizi olayların başlamasına neden olmaktadır. Apoptotik hadise ise mitokondrial membran hasarı, sitokrom C'nin ortaya çıkması ve kaspaz-3 bağımlı kromatin yoğunlaşması/ayırışması ile sonuçlanan mitokondriyal Na^+ ve Ca^{+2} 'un fazla yüklenmesini içeren klotrimazol-sensitif NAD⁺/ADPR/poli ADPR polimeraz

bağımlı TRPM2 kanallarının aktivasyonu sonucunda meydana gelmektedir (140, 143).

Sonuç;

-Deneysel malathion uygulanmasının sıçan karaciğer dokusunda akut dönemde, MDA, apoptozis ve TRPM2 immünreaktivitesini etkilemediği,

-Organofosfat zehirlenmelerinde hedef organ olarak düşünülen böbrek dokusunda ise malathion uygulanmasına bağlı olarak MDA, apoptozis ve TRPM2 immünreaktivitesini anlamlı olarak arttırdığı,

-Malathion verilmesini takiben PAM ve Atropin uygulamasının böbrek dokusunda bu parametreleri anlamlı olarak azalttığı, PAM ve Atropin uygulamasına ek olarak verilen NAS'ın MDA değerlerini kontrol grubuna eşdeğer seviyeye getirdiği,

-Malathion verilmesini takiben PAM ve Atropin uygulanmayan ve sadece NAS verilen grupta NAS'ın tek başına bir etkisinin olmadığı,

-Organofosfat zehirlenmelerinde böbrek dokusunda TRPM2 kanallarının önemli bir rol oynadığı ve gelecekte yapılacak daha kapsamlı çalışmalarla klinik olarak TRPM2 ile ilgili tedavi seçeneklerinin gündeme gelebileceği,

-Organofosfatların böbrek dokusunu etkilemesinin patofizyolojisindeki rolünün aydınlatılabilmesi için gelecekte farklı süre ve dozlarla yapılacak deneysel çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaatine varılmıştır.

5. KAYNAKLAR

1. Sogorb MA, Vilanova E, Carrera V. Future applications of phosphotriesterases in the prophylaxis and treatment of organophosphorus insecticide and nerve agent poisonings. *Toxicology Letters*, 2004;151:219-33
2. Sivagnanam S. Potential therapeutic agents in management of organophosphorus poisoning. *Crit Care* 2002; 6: 260-261.
3. Kwong TC. Organophosphate pesticides: biochemistry and clinical toxicology. *Ther Drug Monit* 2002; 24: 144-149.
4. Sungur M, Guven M. Intensive care management of organophosphate insecticide poisoning. *Crit Care* 2001; 5: 211-215.
5. Gupta P.K. Pesticide exposure-Indian Scene. *Toxicology* 2004; 198: 83-90.
6. Bai Y, Zhou L, Wang J. Organophosphorus pesticide residues in market foods in Shaanxi area. *Food Chemistry* 2006; 98: 240-242.
7. Wang L, Liang Y, Jiang X. Analysis of eight organophosphorus pesticide residues in fresh vegetables retailed in agricultural product markets of Nanjing. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 2008; 81: 377-382.
8. Camino-Sanchez FJ, Zafra-Gomez A, Ruiz-Garcia J, Bermudez-Peinado R, Ballesteros O, Navalon A. UNE-EN ISO/IEC 17025: 2005 accredited method for the determination of 121 pesticide residues in fruits and vegetables by gas chromatography tandem mass spectrometry. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 2010; 27: 1532-1544.
9. Chen F, Zeng L, Zhang Y, Liao X, Ge Y, Hu X. Degradation behaviour of methamidophos and chlorpyrifos in apple juice treated with pulsed electric fields. *Food Chemistry* 2009; 112, 956-961.
10. Giordano G, Afsharinejad Z, Guizzetti M, Vitalone A, Kavanagh TG, Costa LG. Organophosphorus insecticides chlorpyrifos and diazinon and oxidative

stress in neuronal cells in a genetic model of glutathione deficiency. *Toxicol App Pharmacol* 2007; 219: 181–189.

11. Cakir S, Sarikaya R. Genotoxicity testing of some organophosphate insecticides in the *Drosophila* wing spot test. *Food Chem Toxicol* 2005; 43: 443–450.
12. Kang HG, Jeong SH, Cho JH, Kim DG, Park JM, Cho MH. Chlorpyrifos-methyl shows anti-androgenic activity without estrogenic activity in rats. *Toxicology* 2004; 199: 219–230.
13. Yeh SP, Sung TG, Chang CC, Cheng W, Kuo CM. Effects of an organophosphorus insecticide, trichlorfon, on hematological parameters of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Aquaculture* 2005; 243: 383–392.
14. Tintinalli JE, Ma, Stapczynsky JS, Cline MD. Insecticides, herbicides, rodenticides. *Emergency Medicine*. 7th ed. New York: McGraw-Hill Co, 2010:3504-3528. www.accessemergencymedicine.com Erişim tarihi: 11.10.2015.
15. Saadeh AM, Farsakh NA, Al-Ali MK. Cardiac manifestations of acute carbamate and organophosphate poisoning. *Heart* 1997; 77: 461-464.
16. Guven M, Sungur M. Organophosphorus poisoning and future directions. *Current Topics in Toxicol* 2005; 2: 57-65.
17. Gallo MA, Lawryk NJ. Organic Phosphorus Pesticides. *Handbook of Pesticide Toxicology. Classes of Pesticides* 1991; 2: 917–1123.
18. Clark RF. Insecticides: organic phosphorus compounds and carbamates. Goldfrank LR, Flomenbaum NE, Lewin NA, Nelson LS (eds). *Goldfrank's Toxicologic Emergencies*. 8th ed. Stamford: Appleton & Lange, 2006: 1497–1512.
19. Özkaya G, Çeliker A, Koçer GB. Insektisit zehirlenmeleri ve Türkiye'deki durumun değerlendirilmesi. *Turk Hij Den Biyol Derg* 2013; 70: 75-102.

20. Johnson MK, Jacobsen D, Meredith TJ, Eyer P, Heath AJ, Lintenstein AD, et al. Evaluation of antidotes for poisoning by organophosphorus pesticides. *Emerg Med* 2000; 12; 22-37.
21. WHO. The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification 2000-2002 (WHO/PCS/01.5). International Programme on Chemical Safety, Geneva, 2001.
22. Terry AV. Functional consequences of repeated organophosphate exposure: Potential non-cholinergic mechanisms. *Pharmacology & Therapeutics*, 2012; 134: 355–365.
23. Joshi S, Biswas B, Malla G. Management of organophosphorus poisoning. *Update in Anaesthesia* 2005; 19: 31-35.
24. Worek F, Kirchner T, Backer M, Szinicz L. Reactivation by various oximes of human erythrocyte acetylcholinesterase inhibited by different organophosphorus compounds. *Arch Toxicol* 1996; 70: 497-503.
25. <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/89-2-19.pdf>. Erişim tarihi: 12.10.2015.
26. Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 10. Baskı, Feryal Matbaa, 2002:1081–1093.
27. Lockridge O, Bartels CF, Vaughan TA. Complete amino acid sequence of the man serum cholinesterases. *J Biol Chem* 1987; 262: 549–557.
28. Massoulie J, Pezzement L, Bon S. Molecular and cellular biology of cholinesterases. *Prog Neurobiol* 1993; 41: 31–91.
29. Li B, Stribley JA, Ticu A. Abundant tissue butyrylcholinesterase and its possible function in the acetylcholinesterase knockout mouse. *J Neurochem* 2000; 75: 1320–1331.

30. Yang D, Lu X, Zhang W, He F. Biochemical changes in primary culture of skeletal muscle cells following dimethoate exposure. *Toxicology* 2002; 174: 79-85.
31. Nishijima DK. Toxicity, organic phosphorous compounds and carbamates. ArticleLast Updated. <http://www.emedicine.com/EMERG/topic346.htm>
Erişim tarihi: 20.10. 2015
32. Jayawardane P, Senanayake N, Dawson A. Electrophysiological correlates of intermediate syndrome following acute organophosphate poisoning. *Clin Toxicol* 2009; 47: 193-205.
33. Jamil H. Organophosphorus insecticide poisoning. *J Pak Med Assoc* 1989; 39: 27 -31.
34. Ehrich M, Correll L, Veronesi B. Acetylcholinesterase and neuropathy target esterase inhibitions in neuroblastoma cells to distinguish organophosphorus compounds causing acute and delayed neurotoxicity. *Fundam Appl Toxicol* 1997; 38: 55-63.
35. Eyer P. Neuropsychopathological changes by organophosphorus compounds-a review. *Hum Exp Toxicol* 1995; 14: 857-866.
36. Karalliedde L. Organophosphorus poisoning and anaesthesia. *Anaesthesia* 1999; 54: 1073-1088.
37. Casale GP, Cohen SD, DiCapua RA. The effects of organophosphate-induced cholinergic stimulation on the antibody response to sheep erythrocytes in inbred mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 1983; 68: 198-205.
38. Guven M, Dogukan A, Taskapan H, Çetin M. Leucocytosis as a parameter in management of organophosphate intoxication. *Turkish Journal of Medical Sciences* 2000; 30: 499-500.
39. Karalliedde L, Senanayake N, Ariaratnam A. Acute organophosphorus insecticide poisoning during pregnancy. *Hum Toxicol* 1988; 7: 363-364.

40. Ludomirsky A, Klein H, Sarelli P, Becker B, Hoffman S, Taitelman U, et al. Q-T prolongation and polymorphous (torsade de pointes) ventricular arrhythmias associated with organophosphorus insecticide poisoning. *Am J Cardiol* 1982; 49: 1654-1658.
41. Petroianu G, Toomes LM, Petroianu A, Bergler W, Rufer R. Control of blood pressure, heart rate and haematocrit during high-dose intravenous paraoxon exposure in mini pigs. *J Appl Toxicol* 1998; 18: 293-298.
42. Aygün D. Diagnosis in an acute organophosphate poisoning: report of three interesting cases and review of the literature. *Eur J Emerg Med* 2005; 12: 102–103.
43. Yılmaz M, Sebe A, Ay M, Gürger M. Organophosphate poisoning and intermediate sendrom. *Archive Med Rev J* 2016; 25: 70-83.
44. Bissbort SH, Vermaak WJ, Elias J, Bester MJ, Dhatt GS, Pum JK. Novel test and its automation for the determination of erythrocyte acetylcholinesterase and its application to organophosphate exposure. *Clin Chim Acta* 2001; 303: 139-145.
45. Weinbroum AA. Pathophysiological and clinical aspects of combat anticholinesterase poisoning. *Br Med Bull* 2005; 72: 119–133.
46. Guven M, Sungur M, Tanrıverdi M, Eser B, Kekec Z. Evaluation of the patients with acute intoxication. *Turkish Journal of Medical Sciences* 2002; 32: 169-172.
47. Eddleston M, Dawson A, Karalliedde L, Dissanayake W, Hittarage A, Azher S, Buckley NA. Early management after self-poisoning with an organophosphorus or carbamate pesticide; A treatment protocol for junior doctors. *Crit Care* 2004; 8: 391-397.
48. T.C. Sağlık Bakanlığı Birinci basamağa yönelik zehirlenmeler tanı ve tedavi rehberleri. Saha uygulaması çalışması, 2006.

49. Balali-Mood M, Shariat M. Treatment of organophosphate poisoning. Experience of nerve agents and acute pesticide poisoning on the effects of oximes. *J Physiol Paris* 1998; 92: 375-378.
50. Robenshtok E, Luria S, Tashma Z, Hourvitz A. Adverse reaction to atropine and the treatment of organophosphate intoxication. *Isr Med Assoc J* 2002; 4: 535-539.
51. Patocha J, Cabal J, Kuca K, Jun D. Oxime reactivation of acetylcholinesterase inhibited by toxic phosphorus esters: in vitro kinetics and thermodynamics. *Journal of Applied Biomedicine* 2005; 3: 91-99.
52. Pajoumand A, Shadnia S, Rezaie A. Benefits of magnesium sulfate in the management of acute human poisoning by organophosphorus insecticides. *Human & Experimental Toxicology* 2004; 23: 565-569.
53. Peter JV, Moran JL, Graham P. Oxime therapy and outcomes in human organophosphate poisoning: an evaluation using metaanalytic techniques. *Crit Car Med* 2006; 34: 502-510.
54. Roja R, Shekoufeh N, Mohammad A. Increased morbidity and mortality in acute human organophosphate-poisoned patients treated by oximes: a meta-analysis of clinical trials. *Hum Exp Toxicol* 2006; 25: 57-62.
55. Buckley NA, Dawson AH, Whyte IM. OP poisoning: Peripheral vasculer resistans-a measure of adequate atropinisation. *J Toxicol Clin Toxicol* 1994; 32: 61-68.
56. Tsatsakis AM, Aquiridakis P, Michalodimitrakis MN. Experiences with acute OP poisonings in Crete. *Vet Hum Toxicol* 1996; 38: 101-107.
57. Masson P, Froment MT, Bartels CF. Importance of aspartate-70 in organophosphate inhibition, oxime re-activation and aging of human butyrylcholinesterase. *Biochem J* 1997; 325: 53-61.

58. Kassa J. Review of oximes in the antidotal treatment of poisoning by organophosphorus nerve agents. *J Toxicol Clin Toxicol* 2002; 40: 803-816.
59. De Silva HJ, Wijewickrema R. Does pralidoxime affect outcome of management in acute organophosphorus poisoning? *Lancet* 1992; 339: 1136-1138.
60. Guven M, Sungur M, Eser B. The effects of fresh frozen plasma on cholinesterase levels and outcomes in patients with organophosphate poisonings. *J Toxicol Clin Toxicol* 2004; 42: 612-623.
61. Yılmaz M, Sebe A, Ay MO. Effectiveness of therapeutic plasma exchange in patients with intermediate syndrome due to organophosphate intoxication. *American J of Emergency Med* 2013; 31: 953-957.
62. Parikka H, Toivonen T, Naukkarinen V. Decreases by magnesium of QT dispersion and ventricular arrhythmias in patients with acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 1999; 20: 111-120.
63. Singh G, Avasthi G, Khurana D. Neurophysiological monitoring of pharmacological manipulation in acute organophosphate poisoning: the effects of pralidoxime, magnesium sulphate and pancuronium. *Electroen Clin Neuro* 1998; 107: 140-148.
64. Kiss Z, Fazekas T. Organophosphates and torsade de pointes ventricular tachycardia. *J Roy Soc Med* 1983; 76: 983-984.
65. Clement JG, Filbert M. Antidote effect of sodium fluoride against organophosphate poisoning in mice. *Life Sci* 1983; 32: 1803-1810.
66. Buccafusco JJ, Aronstam RS. Clonidine protection from the toxicity of soman, an organophosphate acetylcholinesterase inhibitor, in the mouse. *J Pharmacol Exp Ther* 1986; 239: 43-47.
67. Epstein HM, Jarzemy D, Zuckerman L. Plasma cholinesterase activity in bank blood. *Anesth Analg* 1980; 59: 211-214.

68. Malathion Technical Fact Sheet. National Pesticide Information Center (NPIC) <http://npic.orst.edu/factsheets/archive/malatech.html>. Erişim tarihi:15.11.2015.
69. Contreras HR, Bustos-Obregon E. Morphological Alterations in Mouse Testis by a Single Dose of Malathion. *J Exp Zool* 1999; 284: 355-359
70. Bonner MR, Coble J, Blair A. Malathion exposure and the incidence of cancer in the agricultural health study. *AJE* 2007; 166: 1023–1034.
71. Kaya S, Pirinçci İ, Bilgili A. Pestisitler. Veteriner hekimliğinde toksikoloji. 2. Baskı, Ankara: Medisan Yayınları, 2002; 385-401.
72. Gordon CA, Himmelfarb J. Antioxidant therapy in uremia. *Evidence-Based medicine Seminars in Dialysis* 2004; 17: 327-332.
73. Valko M, Leibfritz D, Mancol J, Cronin. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochemistry & Cell Biology* 2007; 39: 44-84.
74. Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J* 1984; 219:1-14.
75. Seifried HE, Anderson DE, Fisher EI, Milner JA. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. *J Nutr Biochem* 2007; 18: 567-579.
76. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease curiosity, cause, or consequence? *The Lancet* 1994; 344:721-725.
77. Valko M, İzakovic M, Mazur M. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem* 2004; 266; 37-56.
78. Pinchuk I, Lichtenberg D. The mechanism of action of antioxidants against lipoprotein peroxidation, evaluation based on kinetic experiments. *Prog Lipid Res* 2002; 41: 279-314.

79. Klouche K, Morena M, Canaud B, Descomps B, Beraud JJ, Cristol JP. Mechanism of in vitro heme-induced LDL oxidation: effects of antioxidants. *Eur J Clin Invest* 2004; 34: 619-625.
80. Samuni Y. The chemistry and biological activities of N-acetylcysteine. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1830: 4117-4129.
81. Arakawa M, Ito Y. N-acetylcysteine and neurodegenerative diseases: Basic and clinical pharmacology. *Cerebellum* 2007; 19: 1-7.
82. Welin D, Novikova LN, Wiberg M, Kellerth JO, Novikov LN. Effects of N-acetyl-cysteine on the survival and regeneration of sural sensory neurons in adult rats. *Brain Res* 2009; 1287: 58-66.
83. Saricaoglu F, Dal D, Salman AE. Effect of low-dose N-acetyl-cysteine infusion on tourniquet-induced ischaemia-reperfusion injury in arthroscopic knee surgery. *Acta Anaesthesiol Scand* 2005; 49: 847-851.
84. Koçkar MC, Nazıroğlu M, Celik O, Tola HT, Bayram D, Koyu A. N-acetylcysteine modulates doxorubicin-induced oxidative stress and antioxidant vitamin concentrations in liver of rats. *Cell Biochem Funct* 2010; 28: 673-677.
85. Delneste Y. N-acetyl-L-cysteine exhibits antitumoral activity by increasing tumor necrosis factor alpha-dependent T-cell cytotoxicity. *Blood* 1997; 90: 1124-1132.
86. Van Surell C, Boczkowski J, Pasquier C, Du Y, Franzini E, Aubier M. Effects of N-acetylcysteine on diaphragmatic function and malondialdehyde content in *Escherichia coli* endotoxemic rats. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146: 730-734.
87. Sener G, Tosun O, Sehirli AO, Kacmaz A, Arbak S, Ersoy Y. Melatonin and N-Acetylcysteine have beneficial effects during hepatic ischemia and reperfusion. *Life Sci* 2003, 72: 2707-2718.
88. Zafarullah M, Li WQ, Sylvester J, Ahmad M. Molecular mechanisms of N-Acetylcysteine actions. *Cell Mol Life Sci* 2003; 60: 6-20.

89. Sprong RC, Winkelhuyzen-Janssen AM, Aarsman CJ, Van Oirschot JF, Van Der Bruggen T, Van Asbeck BS. Low dose N-Acetylcysteine protects rats against endotoxin-mediated oxidative stress, but high-dose increases mortality. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 1283–1293.
90. Wang AL, Wang JP, Wang H, Chen YH, Zhao L, Wang LS, et al. A dual effect of N-Acetylcysteine on acute ethanol-induced liver damage in mice. *Hepatol Res* 2006; 34: 199–206.
91. Jones AL, Jarvie DR, Simpson D. Pharmacokinetics of N-acetylcysteine are altered in patients with chronic liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 1997; 11: 787-791.
92. Mobasheri A, Barrett-Jolley R. Transient receptor potential channels: Emerging roles in health and disease. *Vet J* 2011; 187: 145-146.
93. Minke B. The history of the Drosophila TRP channel: the birth of a new channel superfamily. *J Neurogenet* 2010; 24: 216-233.
94. Clapham DE, Runnels LW, Strübing C. The TRP ion channel family. *Nat Rev Neurosci* 2001; 2: 387-396.
95. Clapham DE. TRP channels as cellular sensors. *Nature* 2003; 426: 517-524.
96. Montell C. Physiology, phylogeny, and functions of the TRP superfamily of cation channels. *Sci STKE* 2001; 90: 1-2.
97. Montell C. The TRP superfamily of cation channels. *Sci STKE* 2005; 22: 2-3.
98. Hardie RC, Minke B. The *trp* gene is essential for a light-activated Ca²⁺ channel in Drosophila photoreceptors. *Neuron* 1992; 8: 643 -651.
99. Montell C. TRP channels in Drosophila photoreceptor cells. *J Physiol* 2005; 567: 45-51.
100. Venkatachalam K, Montell C. TRP channels. *Annu Rev Biochem* 2007; 76: 387-417.

101. Voets T, Nilius B. Modulation of TRPs by PIPs. *J Physiol* 2007; 582: 939-944.
102. Nazıroğlu M. TRPM2 cation channels, oxidative stress and neurological diseases: where are we now? *Neurochem Res* 2011; 36: 355-366.
103. Nilius B. TRP channels in disease. *Biochem Biophys Acta* 2007; 1772: 805-812.
104. Clapham DE. Calcium signaling. *Cell* 2007; 131: 1047-1058.
105. Watanabe H, Murakami M, Ohba T, Takahashi Y, Ito H. TRP Channel and cardiovascular disease. *Pharmacol Therap* 2008; 118:337-351.
106. Nilius B, Owsianik G, Voets T, Peters JA. Transient Receptor Potential cation channels in disease. *PhysiolRev* 2007; 87: 165–217.
107. Hecquet CM, Malik AB. Role of H₂O₂-activated TRPM2 calcium channel in oxidant-induced endothelial injury. *Thromb Haemost* 2009; 101: 619-625.
108. Hara Y, Wakamori M, Ishii M, Maeno E, Nishida M, Yoshida T, et al. LTRPC2 Ca²⁺ permeable channel activated by changes in redox status confers susceptibility to cell death. *Mol Cell* 2002; 9: 163-173.
109. Togashi K, Hara Y, Tominaga T, Higashi T, Konishi Y, Mori Y, Tominaga M. TRPM2 activation by cyclic ADP-ribose at body temperature is involved in insulin secretion. *EMBO J* 2006; 25: 1804-1815.
110. Perraud AL, Fleig A, Dunn CA, Bagley LA, Launay P, Schmitz C, et al. ADP-ribose gating of the calcium-permeable LTRPC2 channel revealed by Nudix motif homology. *Nature* 2001; 411: 595-599.
111. Miller BA. The role of TRP channels in oxidative stress-induced cell death. *J Membr Biol* 2006; 209: 31-41.
112. Jayawardane P, Dawson AH, Weerasinghe V, Karalliedde L, Buckley NA, Senanayake N. The spectrum of intermediate syndrome following acute

- organophosphate poisoning: a prospective cohort study from. PLo S Med 2008; 5: 147.
- 113.** İstanbulluoğlu H, Oğur R, Güleç M. Pestisit maruziyeti ve nörolojik bozukluklar. Genel Tıp Derg 2009; 19: 187-195.
- 114.** Neishabouri EZ, Hassan ZM, Azizi E, Ostad SN. Evaluation of immunotoxicity induced by diazinon in C57bl/6 mice. Toxicology 2004; 196: 173–179.
- 115.** Cabello G, Valenzuela M, Vilaxa A. A rat mammary tumor model induced by the organophosphorous pesticides parathion and malathion, possibly through acetylcholinesterase inhibition. Environ Health Perspect 2001; 109: 471-479.
- 116.** Galloway T, Handy R. Immunotoxicity of organophosphorous pesticides. Ecotoxicology 2003; 12: 345-363.
- 117.** Ahmed RS, Sehit V, Pash ST, Banerjee BD. Influence of dietary ginger (*Zingiber officinales* Rosc) on oxidative stress induced by malathion rats. Food Chem Toxicol 2000; 38: 443–450.
- 118.** Sutcu R, Altuntas I, Buyukvanli B, Akturk O, Ozturk O, Koylu H, Delibas N. The effects of diazinon on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat erythrocytes: role of vitamins E and C. Toxicol Ind Health 2007; 23: 13–17.
- 119.** Milatovic D, Gupta RC, Aschner M. Anticholinesterase toxicity and oxidative stress. Sci World J 2006; 6: 295-310.
- 120.** Takahashi N, Kozai D, Kobayashi R, Ebert M, Mori Y. Roles of TRPM2 in oxidative stress. Cell Calcium 2011; 50: 279–287.
- 121.** Barrera G, Gentile F, Pizzimenti S, Canuto RA, Daga M, Arcaro A, et al. Mitochondrial Dysfunction in Cancer and Neurodegenerative Diseases: Spotlight on Fatty Acid Oxidation and Lipoperoxidation Products. Antioxidants 2016; 5: 7.

122. Mansour SA, Mossa AH. Lipid peroxidation and oxidative stress in rat erythrocytes induced by chlorpyrifos and the protective effect of zinc. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2009; 93: 34-39.
123. Lasram MM, Lamine AJ, Dhouib IB, Bouzid K, Annabi A, Belhadjmidia N, et al. Antioxidant and anti-inflammatory effects of N-acetylcysteine against malathion-induced liver damages and immunotoxicity in rats. *Life Sci* 2014; 107: 50-58.
124. Akhgari M, Abdollahi M, Kebryaezadeh A, Hosseini R, Sabzevari O. Biochemical evidence for free radical-induced lipid peroxidation as a mechanism for subchronic toxicity of malathion in blood and liver of rats. *Hum Exp Toxicol* 2003; 22: 205-11.
125. Selmi S, Jallouli M, Gharbi N, Marzouki L. Hepatoprotective and renoprotective effects of lavender (*Lavandula stoechas L.*) essential oils against malathion-induced oxidative stress in young male mice. *J Med Food* 2015. [Epub ahead of print]
126. Alp H, Aytakin İ, Atakişi O, Ogü M. Ratlarda akut malathion toksisitesinin neden olduğu oksidatif stres üzerine kafeik asit fenetil ester ve elajik asit'in etkileri. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg* 2011; 6: 117-124.
127. Lee JE, Lim MS, Park JH, Park CH, Koh HC. Nuclear NF-kB contributes to chlorpyrifos-induced apoptosis through p53 signaling in human neural precursor cells. *NeuroToxicology*, 2014; 42: 58-70.
128. Nagasaki H, Nakano H, Boudjema K. Efficacy of preconditioning with N-acetylcysteine against reperfusion injury after prolonged cold ischemia in rats liver in which glutathione had been reduced by buthionine sulphoximine. *Eur J Surg* 1998; 164: 139-146.
129. Cankayali I, Demirag K, Eris O, Ersoz B, Moral AR. The effects of N-acetylcysteine on oxidative stress in organophosphate poisoning model. *Adv Ther* 2005; 22: 107-116.

130. Sivapiriya V, Jayanthisakthisekaran J, Venkatraman S. Effects of dimethoate (o,odimethyl S-methyl carbamoyl methyl phosphorodithioate) and ethanol in antioxidant status of liver and kidney of experimental mice. *Pestic Biochem Phys* 2006; 85: 115-121.
131. Zeid MM, El-Barouty G, Adbdel-Reheim E, Blancato J, Dary C, El-Sebae AH, Saleh M. Malathion's disposition in dermally and orally treated rats and its impact on the blood serum acetylcholine esterase and protein profile. *J Environ Sci Health* 1993; 28: 413-430.
132. Kalender S, Kalender Y, Durak D, Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Cevrimli BS, Yildirim M. Methyl parathion induced nephrotoxicity in male rats and protective role of vitamins C and E. *Pestic Biochem Phys* 2007; 88: 213–218.
133. Elhalwagy MEA, Darwish NS, Zaher EM. Prophylactic effect of green tea polyphenols against liver and kidney injury induced by fenitrothion insecticide. *Pestic Biochem Phys* 2008; 91: 81-89.
134. Sulak O, Altuntas I, Karahan N, Yildirim B, Akturk O, Yilmaz HR, Delibas N. Nephrotoxicity in rats induced by organophosphate insecticide methidathion and ameliorating effects of vitamins E and C. *Pestic Biochem Phys* 2005; 82: 21-28.
135. Possamai FP, Fortunato JJ, Feier G, Agostinho FR, Quevedo J, Wilhelm FD, Dal-Pizzol F. Oxidative stress after acute and sub-chronic malathion intoxication in Wistar rats. *Environ Toxicol Pharm* 2007; 23: 198-204.
136. Poovala VS, Huang H, Salahudeen AK. Role of reactive oxygen metabolites in organophosphate-induced renal tubular cytotoxicity. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 1746–1752.
137. Qi H, Zhang Q, Zhao T, Chen R, Zhang H, Niu X, Li Z. Antioxidant activity of different sulfate content derivatives of polysaccharide extracted from *Ulva pertusa* (Chlorophyta) in vitro. *Int J Biol Macromol* 2005; 37: 195-199.

138. Oren M, Rotter V. Introduction: p53 the first twenty years. *Cell Mol Life Sci* 1999; 55: 9-11.
139. Tong Q. Regulation of the transient receptor potential channel TRPM2 by the Ca²⁺ sensor calmodulin. *J Biol Chem* 2006; 90: 76-85.
140. Zhang W. TRPM2 is an ion channel that modulates hematopoietic cell death through activation of caspases and PARP cleavage. *Am J Physiol Cell Physiol C* 2006; 11: 46-49
141. Özgül C, Nazıroğlu M. TRPM2 channel protective properties of N-acetylcysteine on cytosolic glutathione depletion dependent oxidative stress and Ca²⁺ influx in rat dorsal root ganglion. *Physiology & Behavior* 2012; 116: 122-128.
142. Hardie RC, Minke B. The trp gene is essential for a light-activated Ca²⁺ channel in *Drosophila* photoreceptors. *Neuron* 1992; 8: 643-651.
143. Saygın M, Nazıroğlu M. Kalpteki moleküler Ca²⁺ sinyali üzerinde TRPM katyon kanallarının rolü. *DeneySEL ve Klinik Tıp Dergisi* 2012; 29: 83-90.

6. ÖZGEÇMİŞ

14.05.1973 yılında Elazığ-Hankendi’de doğdum, ilk, orta ve lise tahsilimi Elazığ’da tamamladıktan sonra, 1990-1991 eğitim-öğretim yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesine girdim. 1997 yılında buradan mezun oldum ve Sağlık Bakanlığına bağlı değişik kurumlarda görev yaptım. 2011 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalında uzmanlık eğitimime başladım ve halen devam etmekteyim. Evliyim ve 4 çocuk babasıyım.

