

**TAVŞANLARDA İÇME SUYU İLE KRONİK Klorprifos ALIMININ
ELEKTROKARDİYOGRAFİK PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİSİ**
**Effect of Chronic Chlorpyrifos Intake Via Drinking Water on the
Electrocardiogram in Rabbits**

Nazmi ÇETİN¹, Gökhan ERASLAN², Ali BİLGİLİ³, Dinç EŞSİZ⁴

Özet : Bu çalışma, tavşanlarda içme suyu ile 125, 250 ve 375 ppm dozda klorprifos alımının bazı elektrokardiyografik parametreler üzerine etkisini incelemek amacıyla yapıldı. Araştırmada, 20 adet erkek Yeni Zelanda ırkı tavşan, biri kontrol olmak üzere dört eşit gruba ayrıldı. Kontrol grubuna 90 gün süreyle normal içme suyu verilirken deney gruplarına sırasıyla 125, 250 ve 375 ppm klorprifos içeren içme suyu verildi. Deneme sonunda hayvanların II. derivasyonları yazdırıldı. Elektrokardiyogramda 375 ppm klorprifos'un R ile T dalgası amplitüdünde ve T dalgası süresinde önemli bir artma, kalp atım sayısında ise önemli bir azalma oluşturduğu gözlemlendi. Ayrıca, aynı grupta sinus arrest tespit edildi. Diğer elektrokardiyografik parametrelerde ise önemli bir değişiklik belirlenmedi.

Sonuçlar, tavşanlarda oral yolla verilen klorprifos'un bazı elektrokardiyografik parametreleri değiştirebileceğini gösterdi.

Anahtar kelimeler: Elektrokardiyogram, klorprifos, tavşan

Organik fosforlu (OF) bileşikler, gerek tarımsal mücadelede, gerekse veteriner hekimlikte antelmantik ve insektisit olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Bunun sonucu hayvanlarda akut veya kronik nitelikte zehirlenmelere sebep olabilmektedirler (1).

Summary : The aim of this study is to investigate the effect of chronic chlorpyrifos intake through drinking water at the dosages of 125, 250 and 375 ppm of chlorpyrifos on the electrocardiogram in rabbits. In this study, 20 New Zealand male rabbits were divided equally into a control and three trial groups. For 90 days, the control group received normal drinking water and experimental groups were given drinking water containing 125, 250 and 375 ppm chlorpyrifos, respectively. At the end of the 90 days treatment period, lead II of animals was recorded.

It was observed that 375 ppm chlorpyrifos caused a significant increase ($p<0.05$) in the amplitude of R and T wave, the duration of T wave, and a significant decrease ($p<0.05$) in the heart rate on the electrocardiogram. In addition, the sinus arrest was determined in the same group. No statistically significant change was recorded in the other electrocardiographic parameters.

Our results show that oral chlorpyrifos may alter some electrocardiographic parameters in rabbits.

Key words: Chlorpyrifos, electrocardiogram, rabbit

Klorprifos, dünyada oldukça sık kullanılan geniş spektruma sahip organik fosforlu bir insektisittir (2). Klorprifos'un solunum, kardiyovasküler, immun, üreme ve özellikle sinir sistemi üzerine toksik etkileri bulunmaktadır. Klorprifos, asetilkolini parçalayan asetilkolin esteraz enzimini bağlamak suretiyle sinir uçlarında asetilkolinin birikmesine ve dolayısıyla muskarinik ve nikotinik reseptörlerin aşırı uyarılmasına neden olur. Bu reseptörlerin aşırı uyarılması sonucu, akut olarak zehirlenen hayvanlarda salivasyon, lakrimasyon,

¹ Yrd.Doç.Dr.Erc.Ün.Vet. Fak. Fizyoloji AD, Kayseri

² Yrd.Doç.Dr.Erc.Ün.Vet. Fak. Farma-Tok. AD, Kayseri

³ Prof.Dr.Ankara Ün.Vet. Fak. Farma-Tok. AD, Ankara

⁴ Yrd.Doç.Dr.Kafkas Ün.Vet. Fak. Farma-Tok. AD, Kars

defekasyon, ürinasyon, bradikardi, miyozis ve solunum bozukluğu gibi çeşitli zehirlenme belirtileri ortaya çıkar. Ancak, düşük dozlarda sürekli OF bileşikleri alan hayvanlarda salivasyon, lakrimasyon ve miyozis gibi kolinerjik semptomlara rastlanmaz (1, 3). Kardiyovasküler sistem klorpirifos ile zehirlenmelere karşı oldukça duyarlıdır (4). Yapılan araştırmalarda, organik fosforlu bazı ajanların kalpte bulunan muskarinik reseptörleri etkileyerek kardiyak fonksiyon bozukluklarına neden olabileceği ileri sürülmektedir (5-7).

Çeşitli OF bileşiklere akut olarak maruz kalan insanlarda başlıca Q-T ve P-R aralığında uzama, S-T parçasında yükselme, sinus bradikardi ve taşikardi, ekstrasistol, ventriküler ve atriyal fibrilasyon, ventriküler taşikardi gibi çeşitli elektrokardiyografik bozukluklar saptanmıştır (8, 9).

Gordon ve Padnos (10), klorprifos uygulanan ratlarda, kalp atım sayısı değişmeksizin kan basıncında yükselme gözlemişlerdir. Öte yandan, akut olarak LD₅₀ dozu uygulanan diklorvos'un ratlarda P-R aralığında uzama, R dalgası potansiyelinde artış, S-T parçasında yükselme, 1., 2. ve 3. derece A-V bloklar oluşturduğu tespit edilmiştir (11). Öte yandan, bir asetilkolin esteraz inhibitörü olan soman sinir zehri de, ratlarda P dalgasında yükselme, P-Q aralığında ve QRS süresinde artma ile A-V bloklar oluşturmuştur (12). Benzer şekilde, başka bir çalışmada (13), soman ve sarin sinir zehirleri verilen ratlarda, kalp atım sayısı, QRS süresi ve P-R aralığında değişme kaydedilmezken, bazı ratlarda S-T parçasında değişiklikler ve A-V bloklar gözlenmiştir. Belirtilen çalışmada (13) histolojik olarak kalp kasında dejenerasyonlar da tespit edilmiştir.

Canlılar bu bileşiğe, doğrudan çeşitli dozlarda kısa veya uzun sürede alarak maruz kalabilecekleri gibi dolaylı olarak da söz konusu bileşiklerle bulaşmış besinleri tüketerek de maruz kalabilirler. Klorprifos yaygın bir şekilde kullanılmasına rağmen, ilacın uzun süreli alınması durumunda kalpte oluşturabileceği bozukluklar ile ilgili bilgilere rastlanmamıştır. Ayrıca, OF bileşiklerin kalp üzerine etkileri konusunda farklı bildirimler göze çarpmaktadır (8, 9, 14, 15).

Çalışmada, tavşanlara içme suyuna katılarak ağız yoluyla 125, 250 ve 375 ppm dozda 90 gün süreyle uygulanan klorprifos'un bazı elektrokardiyografik parametreler üzerine etkisi incelendi.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada, ortalama 2.5 ± 0.3 kg ağırlığında, yedi aylık, erkek Yeni Zelanda ırkı 20 tavşan kullanıldı. Tavşanlar, ilaç verilmeden önce ortama adapte olmaları için bir hafta bekletildi. Daha sonra hayvanlar 4 eşit gruba ayrıldı, kontrol grubuna normal su, deney gruplarına sırasıyla, 125, 250 ve 375 ppm klorprifos (Mostyn Chlorpyrifos 25 EC) katılan normal su 90 gün süreyle verildi. Tavşanların ortalama günlük su tüketimi 75 ± 5 ml/kg olarak hesaplandı. Tavşanlar ayrı kafeslerde barındırıldı, pelet yem ve su *ad libitum* verildi. Hayvanlar deney süresince 22- 24 °C'de ve 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda tutuldu.

Deney sonunda, kontrol ve deney grubu hayvanların elektrokardiyograf (Cardioline) ile II. derivasyonları yazdırıldı. Elektrotların yerleştirileceği bölgelere elektrot jeli sürüldü. Sonra timsah ağızlı küçük kısıp elektrotlar ön bacaklarda dirsek ekleminin, arka bacaklarda ise diz ekleminin biraz üzerine tutturuldu. Elektrokardiyograf cihazının hızı 50 mm/sn ve amplitütü ise 1 mV=10 mm olacak şekilde ayarlandı (16, 17). Yazdırılan EKG'lerin her birinde dalgaların şekli incelenerek P, R ve T dalgalarının amplitütleri, P, T ve QRS kompleksinin süreleri ve P-Q ve Q-T aralıklarının süreleri ile dakikadaki kalp atım sayıları belirlendi.

Her parametre için gruplar arasındaki farkı incelemek amacıyla tek yönlü varyans (One Way ANOVA) analizi yapıldı. Farkın anlamlı olduğu durumlarda Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verildi. Önemlilik düzeyi olarak $p < 0.05$ kabul edildi.

BULGULAR

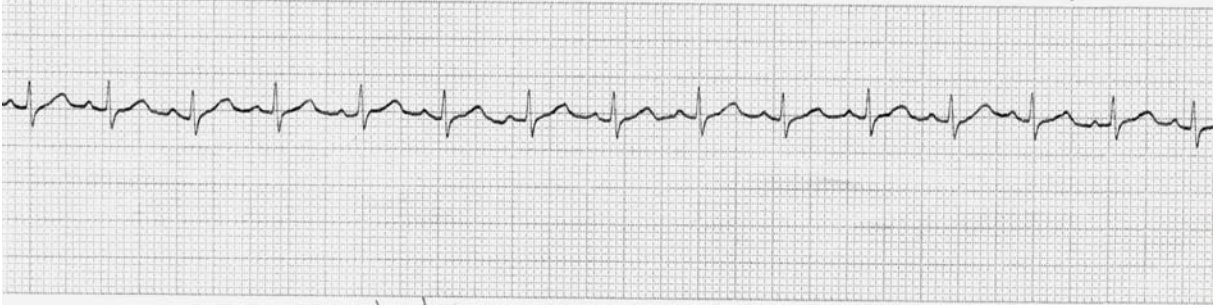
Klorprifos'un ağız yoluyla 125, 250 ve 375 ppm dozunda uygulandığı tavşanlardan kaydedilen II. derivasyona ait elektrokardiyografik ölçümler ile istatistiksel analiz sonuçları Tablo 1'de gösterildi. Diğer gruplara göre 375 ppm dozda klorprifos verilen grupta, R ve T dalgasının amplitüdü ile T dalgasının süresinde istatistiksel olarak önemli bir

artma ($p<0.05$), kalp atım sayısında ise önemli bir azalma ($p<0.05$) kaydedilirken, diğer parametreler arasında önemli bir fark tespit edilmedi. Kontrol grubu tavşanlardan yazdırılan normal bir EKG örneği Şekil 1'de, 375 ppm verilen grupta kaydedilen sinus aritmisi, R ve T dalgasında yükselme ile T dalgası süresinde uzama Şekil 2'de, yine 375 ppm ilaç verilen gruptaki üç hayvanda gözlenen sinus arrest Şekil 3'de gösterildi.

Tablo 1. Tavşanlarda ağız yoluyla çeşitli dozlarda Diklorvos uygulamasından 90 gün sonra kaydedilen II. derivasyona ait bazı elektrokardiyografik bulgular.

Parametreler	Kontrol (n=5)	125 ppm Diklorvos (n=5)	250 ppm Diklorvos (n=5)	375 ppm Diklorvos (n=5)	F	p
P dalgası amplitüdü (mV)	0,115 ± 0,011	0,100 ± 0,009	0,110 ± 0,011	0,115 ± 0,015	1,85	>0.05
P dalgası süresi (sn)	0,020 ± 0,001	0,022 ± 0,001	0,021 ± 0,003	0,020 ± 0,003	1,62	>0.05
P-Q aralığı süresi (sn)	0,060 ± 0,015	0,040 ± 0,010	0,060 ± 0,012	0,060 ± 0,001	2,40	>0.05
R dalgası amplitüdü (mV)	0,400 ± 0,021 ^a	0,400 ± 0,033 ^a	0,455 ± 0,082 ^a	0,650 ± 0,051 ^b	5,64	<0.05
QRS kompleksi süresi (sn)	0,040 ± 0,015	0,040 ± 0,010	0,035 ± 0,008	0,040 ± 0,003	2,13	>0.05
T dalgası amplitüdü (mV)	0,175 ± 0,045 ^a	0,215 ± 0,025 ^a	0,212 ± 0,112 ^a	0,320 ± 0,116 ^b	5,76	<0.05
T dalgası süresi (sn)	0,060 ± 0,015 ^a	0,075 ± 0,016 ^a	0,080 ± 0,010 ^a	0,100 ± 0,035 ^b	6,41	<0.05
Q-T aralığı süresi (sn)	0,140 ± 0,018	0,135 ± 0,018	0,140 ± 0,010	0,140 ± 0,017	2,37	>0.05
Dakika kalp atım sayısı	272,00 ± 31,15 ^a	250,00 ± 14,31 ^a	230,24 ± 28,55 ^a	176,21 ± 32,25 ^b	34,50	<0.05

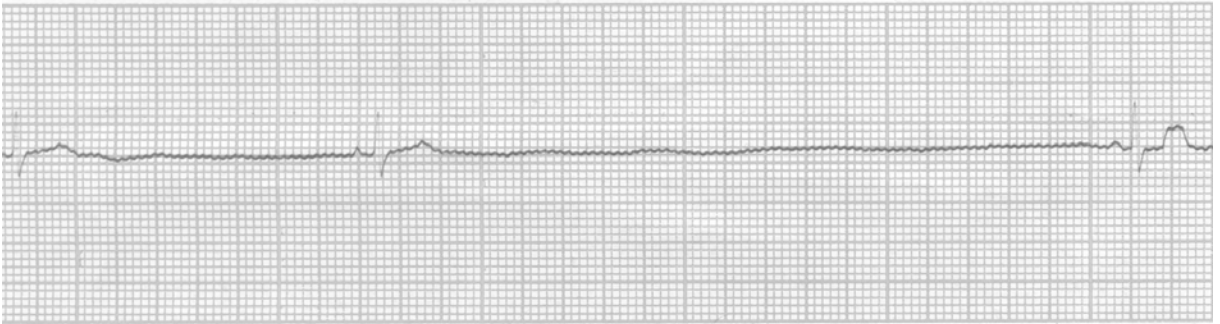
a, b: Satırlarda farklı küçük harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır ($p<0.05$). Değerler $X \pm SD$ olarak verilmiştir.



Şekil 1. Tavşanlarda klorprifos uygulanmadan önce kaydedilen normal (Kontrol) elektrokardiyogram (50 mm/sn, 10 mm: 1mV).



Şekil 2. Tavşanlarda ağız yoluyla klorprifos (375 ppm) uygulamasından 90 gün sonra gözlemlenen sinus aritmisi, R ve T dalgasının amplitüdü ile T dalgasının süresinde artma (1 mV= 10 mm, 50 mm/ sn).



Şekil 3. Ağız yoluyla klorprifos (375 ppm) uygulamasından 90 gün sonra bazı tavşanlarda gözlemlenen sinus arrest. (1 mV= 10 mm, 50 mm/ sn).

TARTIŞMA

Oral yolla çeşitli dozlarda kronik olarak tavşanlara verilen klorprifos'un EKG üzerine etkisinin incelendiği bu çalışmada kalp atım sayısında azalma tespit edilmiş olup bu bulgu Gordon ve Padnos (10)'un bildirimleri ile ve OF başka bir bileşik olan diklorvosun ratlarda kalp atım sayısında azalmaya ve kardiyak arreste neden olduğu yönündeki bildirimler (11) ile uyum içindedir. Normal sinus ritminde, P-P aralığı eşittir, sinus arrest olarak adlandırılan sinus ritim bozukluğunda ise P-P aralığı normalin iki katı veya daha fazla uzar (18). Sinus arrest genellikle aşırı vagal uyarımlar sonucu görülür, sinus düğümü uyarım yaratamaz, dolayısıyla kulakçık ve karıncıklar depolarize olamaz (19). Çalışmamızda belirlenen kalp atım sayısındaki azalmanın ve sinus arrestin nedeninin ilacın asetilkolin esteraz enzimini inhibe etmesi sonucu aşırı biriken asetilkolinin oluşturduğu kolinerjik bozukluklar olabileceği düşünülmüştür. İnsanlarda ve deney hayvanlarında OF bileşiklerin kalp atım sayısını artırdığı veya azalttığı yönünde farklı bildirimler vardır (8, 9, 14, 15). İnsanlarda gözlenen bu farklı etkilerin, pestisit'in dozu, maruz kalanın yaşı veya çevresel faktörlerden, hayvanlarda tespit edilen farklı bulguların ise kullanılan anestezi madde-lerden veya uygulanan yöntemlerden kaynaklanabileceği ileri sürülmektedir (10). OF bileşiklerin kalp üzerine etkilerinin kısa süreli bir sempatik tonus artışı, uzun süreli parasempatik aktivite artışı ve Q-T aralığının uzamasını takip eden polimorfik ventriküler aritmi olmak üzere üç aşamada gerçekleştiği ve en son olarak da ventriküler fibrilasyon görüldüğü bildirilmektedir (20). Karki ve ark (8), OF bileşiklerin kardiyovasküler sistem üzerine etkileri konusunda birden fazla mekanizmanın işe karıştığını ve olası etki mekanizmalarının sempatik ve parasempatik sistemin aşırı uyarılması, hipoksemi, asidoz, elektrolit bozuklukları veya miyokart hasarı olabileceğini ileri sürmektedirler. Zoltani ve Baskin ise (21) kavşaklarda asetilkolinin aşırı birikmesinin, sinus düğümünün aktivitesini baskılayarak kalp atımını yavaşlattığını ve aynı zamanda pürkinje ipliklerinde impuls iletim bozukluklarına neden olduğunu belirtmektedirler. Anılan araştırmacılar, asetilkolinin etki mekanizması ile ilgili olarak, M2 muskarinik reseptörlere bağlanan

asetilkolinin, G proteinini aktive ederek cAMP oluşumunu engellediğini ve dolayısıyla sinus düğümünün depolarizasyonunda rol oynayan kalsiyum akışını durdurduğunu belirtmişlerdir.

Yapılan literatür taramalarında klorprifos'un elektrokardiyografik parametrelere üzerine etkisi ile ilgili her hangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak, akut olarak ratlara uygulanan organik fosforlu bir bileşik olan diklorvos'un R dalgası potansiyelinde artmaya neden olduğu yönündeki bildirimler (11) bulgularımızla paralellik gösterirken, anılan araştırmada kaydedilen P-R aralığında uzama, S-T parçasında yükselme, 1., 2. ve 3. derece A-V bloklar çalışmamızda gözlenmemiştir. Ayrıca, bazı araştırmacılar (8, 9) tarafından akut olarak OF bileşiklere maruz kalma durumlarında bildirilen Q-T ve P-R aralığında uzama, S-T parçasında yükselme, sinus taşikardi, ekstrasistol, ventriküler ve atriyal fibrilasyon, ventriküler taşikardinin klorprifos ile oluşmadığı saptanmıştır. Bu farklılığın, bileşiğin türü, dozu, maruz kalma süresi veya hayvan ırkından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Sunulan çalışmada saptanan T dalgası amplitüdünde yükselme ve süresinde artma Karki ve ark (8)'nın kaydettikleri ters T dalgası bulgusu ile örtüşmemektedir. T dalgası amplitüdü ve süresindeki artma klorprifosun ventriküllerin repolarizasyonunda oluşturduğu değişikliklere (21) bağlanabilir.

Organik fosforlu bileşiklerle zehirlenmelerde gözlemlenen kardiyak bozuklukların nedeni henüz tam anlaşılamamıştır (8). Kronik alımlarda klorprifos lipofilik özelliğe sahip olduğu için vücutta yağ dokuda depolanır ve salınırken daha toksik metabolite (klorprifos-oxon) dönüşerek uzun süre etkisini gösterir (22). Çalışmada kaydedilen elektrokardiyografik değişiklikler ilacın metabolitinin etkisinden de kaynaklanabilir. Düşük dozlarda oral veya deri yoluyla dört ay boyunca klorprifosa maruz kalan tavuklarda (23), kedilerde ve insanlarda (22) gecikmiş nöropatinin şekillendiği bildirilmiştir. Organik fosforlu bileşiklerin kalpte oluşturduğu farklı etkiler; ilacın dozu ve tipi, yaş, kullanılan anestezi ve çevresel koşullar gibi çeşitli faktörlerin neden olduğu kolinerjik stimülasyonun kardiyovasküler cevabı değiştirmesinden kaynaklanabilir. Organik fosforlu bileşiklerin zehirliliğini

etkileyen güneş ışığı, su, alkali ortam, mikroorganizmalar, ortam ısısı, demir ve bakır gibi bazı metal iyonlar ile hayvanın ırkı, cinsiyeti, yaşı, gibi birçok faktörlerin olduğu da göz önünde bulundurulmalıdır (1).

Sonuç olarak, tavşanlarda çeşitli dozlarda kronik olarak verilen klorprifos'un bazı elektrokardiyografik parametrelerde değişiklikler oluşturabileceği tespit edildi. Yüksek dozlarda verilen klorprifosun kalpte önemli iletim bozukluklarına neden olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Kaya S . Pestisitler. In: Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A. (eds). Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. Medisan yayın evi, Ankara, 1998 pp 221-339.
2. Odenkirchen EW, Eisler R. Chlorpyrifos hazards to fish, wildlife, intervertebrates: A synoptic review. http://www.pwrc.usgs.gov/infobase/eisler/CHR_13_Chlorpyrifos.pdf. (Erişim tarihi: 12.10.2005).
3. Ray DE, Richards PG. The potential for toxic effects of chronic, low-dose exposure to organophosphates. *Toxicol Let* 2001, 120: 343-351.
4. Gordon C J. Thermoregulation in laboratory mammals and humans exposed to anticholinesterase agents. *Neurotoxicol Terat* 1994, 16: 427-453.
5. Hovard MD, Pope CN. In vitro effects of chlorpyrifos, parathion, methyl parathion and their oxons on cardiac muscarinic receptor binding in neonatal and adult rats. *Toxicology* 2002, 170: 1-10.
6. Ward TR, Ferris DJ, Tilson HA, Mundy WR. Correlation of the anticholinesterase activity of a series of organophosphates with their ability to compete with agonist binding to muscarinic receptors. *Toxicol Appl Pharmacol* 1993, 55: 124-132.
7. Silveira CI, Eldefrawi A, Eldefrai ME. Putative M2 muscarinic receptors of heart have high affinity for organophosphorus anticholinesterase. *Toxicol Appl Pharmacol* 1990, 103: 474-481.
8. Karki P, Ansari A, Bhandary S. Cardiac and electrocardiographical manifestations of acute organophosphate poisoning. *Singapore Med J* 2004, 45: 385-389.
9. Saadeh AM, Farsakh NA, Al-Ali MK. Cardiac manifestations of acute carbamate and organophosphate poisoning. *Heart* 1997, 77: 461-464.
10. Gordon CJ, Padnos BK. Prolonged elevation in blood pressure in the unrestrained rat exposed to chlorpyrifos. *Toxicology*, 2000, 146: 1-13.
11. Naidu KA, Visvanatha S, Krishnakumari MK. Cardiotoxic effects of dichlorvos in albino rats. *Ind J Physiol Pharmac* 1986, 31: 19-24.
12. Zoltani CK, Baskin SI. Simulation of acetylcholine cardiac overload caused by soman, a cholinesterase inhibitor. *Comp Cardiol* 2000, 27: 243-246.
13. Abraham S, Oz N, Sahar R, Kadar T. QT prolongation and cardiac lesions following acute organophosphate poisoning in rats. *Proc West Pharmacol Soc* 2001, 44: 185-186.
14. Aiuto LA, Pavlakis SG, Boxer RA. Life-threatening organophosphate induced delayed polyneuropathy in a child after accidental chlorpyrifos ingestion. *J Pediatr* 1993, 122: 658- 660.
15. Tafuri J, Roberts J. Organophosphate poisoning. *Ann Emerg Med* 1987, 16: 193-202.
16. Çetin N, Emre B. Anestezi edilmemiş tavşanlarda levamisol hidroklorit'in elektrokardiyogram üzerine etkileri. *E Ü Sağ Bil Derg* 2003, 12: 39-45
17. Rezekhani A, Rezaian G. Clinical electrocardiogram of laboratory White New

- Zealand Rabbits. *J Appl Anim Res* 1995, 7: 63-68.
18. Edward NJ. *Bolton's Handbook of canine and feline electrocardiography* WB Saunders, Philadelphia 1987, pp 76-80.
 19. Burch GE. *A primer of electrocardiography*. Lea & Febiger, Philadelphia 1960, pp 70- 81.
 20. Ludomirsky A, Klein H, Sarelli P. Q-T prolongation and polymorhous (torsade de pointes) ventricular arrhythmias associated with organophosphorus insecticide poisoning. *Am J Cardiol* 1982, 49: 1654-1658.
 21. Zoltani CK, Baskin SI. Organophosphate-modulated cardiac membrane currents: Computer study of the genesis of LQTS. *Comp Cardiol* 2002, 29: 693-696.
 22. Caroline C. *Journal of Pesticide Reform*. Chlorpyrifos. <http://www.pesticide.org/chlorpyrifos.pdf>. 1994 (Erişim tarihi: 13.12.2005).
 23. Francic BM, Metcalf MR, Hansen LG. Toxicity of organophosphorus esters to laying hens after oral and dermal administration. *J Environ Sci Health B* 1985, 20:73-95.