



**Deneyel Etilen Glikol Zehirlenmesi Oluşturulan Ratlarda Myokardiyal Etkilerin Araştırılması\*\*\***

Burak DOĞAN<sup>1</sup>, Vehbi GÜNEŞ<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Tarım İl Müdürlüğü, Sivas-TÜRKİYE

<sup>2</sup>Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları ABD, Kayseri-TÜRKİYE

<sup>3</sup>Erciyes Üniversitesi, Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi (DEKAM), Kayseri-TÜRKİYE

**Sorumlu yazar:** Vehbi GÜNEŞ; E-posta: vgunes@erciyes.edu.tr; ORCID: 0000 0002 4047 4409

**Atif yapmak için:** Doğan B, Güneş V. Deneyel etilen glikol zehirlenmesi oluşturulan ratlarda myokardiyal etkilerin araştırılması. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2020; 17(3):275-282.

**Özet:** Bu çalışmada etilen glikol (EG) toksikasyonunun ratlarda kalp kası üzerindeki muhtemel etkilerinin araştırılması amaçlandı. Sprague Dawley cinsi 30 adet erkek ve dişi rat çalışma materyalini oluşturdu. Tüm ratlar rastgele eşit sayıda üç gruba ayrıldı. Birinci ve ikinci gruba gastrik gavaj ile EG (%99.5 saflıkta) verilmek suretiyle akut toksikasyon oluşturuldu. Birinci gruba 3 ml/kg EG serum fizyolojikle (SF) sulandırılarak verilirken, ikinci gruba 6 ml/kg EG verildi. Üçüncü gruba ise kontrol amacıyla yalnız SF verildi. Kan örnekleri 0 ve 72. ve 96. saatlerde kuyruk venasından alındı. Toksikasyonun klinik belirtileri görülen ratlardan EKG kayıtları alındı. İdrar sediment muayenesinde Ca-oksalat kristalleri tespit edildi. Ayrıca deneme sonunda nekropsi yapılarak ratların kalpleri histopatolojik analizler için alındı. Ortalama kan üre (BUN), laktat dehidrogenaz (LDH), glukoz ve kreatinin düzeylerinin toksikasyon oluşturulan ratlarda önemli oranda arttığı, kalsiyum düzeylerinin ise azaldığı görüldü. Ortalama kardiyak troponin T (cTn-T) ve kreatin-kinaz myokardiyal band (CK-MB) seviyelerinin toksikasyon oluşturulan gruplarda 0. saatler ve kontrol grubuna göre yüksek olduğu görüldü. Ancak cTn-I seviyelerinde ise bir farklılık belirlenmedi. İdrar analizlerinde Ca-oksalat kristalleri belirlendi. Nekropsi bulgularında; epikardiyal kanama ve histopatolojide; nekroz alanlarını çevreleyen mononükleer hücreler, subendokard bölgesinde hücrel infiltrasyon odakları, dejenerasyon ve interstisyel ödem saptandı. Bu çalışmada verilen doza bağlı olarak elektrokardiyografi (EKG), biyokimya ve histopatoloji bulgularında önemli değişikliklerin görülmesi nedeniyle, EG zehirlenmesinde toksik miyokardiyal hasarının oluştuğu sonucuna varılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Ca-oksalat, etilen glikol, miyokard, rat, toksikasyon

**Investigation of Myocardial Effects in Rats Subjected to Experimental Ethylene Glycol Toxicity**

**Summary:** The aim of this study was to investigate possible effects of experimental ethylene glycol (EG) toxication on the heart muscle in rats. Thirty male and female rats of Sprague Dawley formed the study material. All rats were randomly divided into three groups and gastric gavage method were used for the experimental toxication with EG (99.5% purity). 3 ml/kg EG diluted with saline (Serum Physiologic, SF) was given to the first group and 6 ml/kg EG diluted with SF to the second group, only SF same volume with EG was given to third group as control. Blood samples were taken from the tail vein at the 0 (before EG application) and 72th hour and at the 96th hour after EG application. ECG measurements were performed to the rats showing clinical symptoms of the toxication. ECG recordings were obtained from rats with clinical signs of toxicity. Urine samples were taken and their sediments were analyzed. In addition, necropsy was performed at post experiment and the hearts of the rats were taken for cardiac histopathology. In biochemical analyzes, it was observed that blood urea (BUN), lactate dehydrogenase (LDH), glucose and creatinine levels increased and calcium levels decreased significantly. Mean cardiac troponin T (cTnT) and creatine-kinase myocardial band (CK-MB) levels were found to be different in groups that formed toxicity compared to control group. However, there was no difference in cTn-I levels. In addition, Ca-oxalate crystals were detected in urine analysis. In necropsy, epicardial bleeding and in histopathology mononuclear cells surrounding the necrosis areas, cellular infiltration foci in the subendocardium, degeneration and interstitial edema were detected. In the light of the findings obtained in this study, electrocardiography (ECG) and histopathological findings showed that a toxic myocardial injury also occurred in EG poisoning.

**Key words:** Ca-oxalate, ethylene glycol, myocardium, rat, toxication

**Giriş**

İnsanların ihtiyaçları için üretilen bazı kimyasal mad-

delerin bilinçsizce kullanılması çevreyi, insan ve hayvan sağlığını tehdit etmektedir. Bu kimyasal maddelerden birisi buz çözücü olarak kullanılan ve EG içeren antifiriz solüsyonlarıdır. Antifirizin insanlar tarafından kazara ya da bilerek içilmesi ile hayvanlarda ise çevreye atılan antifirizin yalanması veya içilmesi ile çoğunlukla akut zehirlenmelere neden olur. İçerisinde bulunan konsantrite EG (>%90) ile doğrudan temas eden ve bu maddeyi özellikle oral yolla alan kedi,

*Geliş Tarihi/Submission Date* : 26.08.2020

*Kabul Tarihi/Accepted Date* : 29.09.2020

\*Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından TYL-2018-8340 nolu proje kodu ile desteklenmiştir.

\*\*Bu çalışma 06-08 Ağustos 2019 tarihleri arasında Prag/ÇEKYA'da düzenlenen "X. Uluslararası Multidisipliner Avrasya Kongresinde" sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

köpek, ruminant ve kanatlılarda EG zehirlenmelerine sıklıkla rastlanılmaktadır (Çelebi ve ark., 1999; Güneş, 1999; Thrall ve ark. 2008). Oral yolla alınan EG, sindirim sisteminden emildikten 2-3 saat sonra kanda en yüksek düzeylere ulaşmaktadır. Daha sonra karaciğer tarafından karbondioksit ve suya kadar parçalanır. Alkol dehidrogenaz enzimi yardımı ile glikolik asite metabolize edilerek bir kısmı da değişikliğe uğramadan böbrekler tarafından atılmaktadır (Thrall ve ark., 2008). Toksikasyona maruz kalan hayvanlarda klinik bulgular; genellikle ataksi ve koma gibi merkezi sinir sistemi (MSS) depresyonu, kusmanın görüldüğü gastrointestinal sistem (GIS) ve tubuler nekroze bağlı böbreklerin fonksiyon bozuklukları ile karakterizedir. Toksikasyonun prognozu, EG alındıktan sonra geçen süreye ve EG'ün dozuna bağlı olarak değişebilmekte, erken müdahale edilmediğinde ise çoğunlukla ölümlü sonuçlanmaktadır (Alkan ve ark., 1995). İnsan ve hayvanlarda EG'ün Ca-oksalat kristallerinin başlıca proksimal tubüllerde meydana getirdiği tahribata bağlı akut nöbrek yetmezliğinin yanısıra anyon gap metabolik asidozis ve MSS bozuklukları gelişebilmektedir. Ca-oksalat depolanması ise tetani ve nöbetlerle seyreden hipokalsemiye neden olabilir (Ng ve ark., 2018; Kraut ve Mullins 2018). Zehirlenme sonucunda etkilenebilecek bir diğer sistem de kardiyovasküler sistemdir. Kardiyopulmoner toksisiteye ve EKG'de QT aralığında uzama, ST segment yüksekliği gibi bazı etkilerin gelişebildiği belirtilmesine rağmen, EG'ün farklı dozlarda kalp kası hasarı ve dolaşım sisteminde yaptığı etkiler hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır (Güneş, 1999; Cavender, 2012, Dibajnia ve ark., 2020). Sonuç olarak EG zehirlenmelerinde oluşabilecek kardiyolojik değişikliklerin gerçek patogenezi ve oluşum mekanizmalarının açıklanmasına klinik olgulara doğru yaklaşım açısından ihtiyaç bulunmaktadır. Antifriz zehirlenmesi sonrası deney hayvanlarında, kalp kası hasarı oluşumunun histopatolojik bulgular ile kalp kası biyobelirteçleri düzeylerinin (cTnI, cTnT ve CK-MB) ve EKG parametrelerinin akut zehirlenmelerin prognozu ve patogenezinin katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle EG zehirlenmelerinde daha az bilinen muhtemel miyokardiyal etkilerin araştırılması bu çalışmada amaçlanmıştır.

### Gereç ve Yöntem

Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi (DEKAM) bünyesinde yer alan çalışma ünitelerinde yürütüldü. Hayvanlar, "Deneysel ve diğer bilimsel amaçlar için kullanılan hayvanların refah ve korunmasına dair yönetmeliğe" uygun olarak barındırıldı. Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun çalışma izni ile (Tarih:13.04.2016 Karar No:16/075) çalışmanın yürütülmesi onaylandı.

Çalışmada sağlıklı, 12 haftalık *Sprague Dawley* cinsi ratlar kullanıldı. Hayvanlar merkezi havalandırma

sistemi bulunan, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık bir fotoperiyot sağlanan, %40-%60 nisbi nem oranına ve 20-23°C oda sıcaklığına sahip çalışma odasında barındırıldı. Her bir rat paslanmaz çelik tel kapaklı polikarbon konvansiyonel kafeslere bireysel olarak yerleştirildi. On beş erkek ve 15 dişi toplam 30 adet rat her grupta 10 adet rat olacak şekilde rastgele 3 gruba ayrıldı. *Ad libitum* standart rat yemi ile besleme yapıldı. Bireysel polikarbon suluklarda *ad libitum* musluk suyu almaları sağlandı. Çalışmada kullanılan ratların ortalama ağırlıkları Grup I'de 328.5±39.4 gr Grup II'de 492.72±28.9 gr; Grup III'de 393.00±28.05 gr. idi. Ortalama yaşları; Grup I'de 4.00±0.33 Grup II'de 5.45±0.28 Grup III'de 4.9±0.34 ay idi.

Birinci gruba (Grup I) 3 ml/kg, ikinci gruba (Grup II) 6 ml/kg SF ile sulandırılarak gastrik gavaj yöntemi ile medikal %99.5 safılıkta EG (Zag Kimya, Türkiye) verilerek deneysel akut toksikasyon oluşturulması sağlandı. Son gruba (Grup III) ise kontrol olarak gastrik gavaj yöntemi ile yaklaşık aynı hacimde serum fizyolojik verildi. Her gruptaki ratların EG verilmeden önce sağlık kontrolleri yapıldı. Ayrıca SF ve EG verildikten sonraki ilk 5 saat ratlar gözlenmiş, 5. saatten sonra ise her 2 saatte genel fiziksel muayeneler yapılarak gerekli numuneler toplanmış veriler kayıt altına alınmıştır. Çalışmada EG verilmeden önce (0. saat) ve verildikten sonra 72. ve 96. saatlerde kan örnekleri kuyruk veninden toplanmıştır. Daha sonra hayvanlar servikal dislokasyonla ötenazi edilmiş ve nekropsileri gerçekleştirilmiştir.

Gruplardaki ratlardan 0, 72 ve 96. saatlerde biyokimyasal parametreler için alınan kan serumu örneklerinde biyokimyasal analizlerden; glukoz, kan üre (BUN), kreatinin, gamma glutamil transferaz (GGT), laktat dehidrogenaz (LDH), alanin amino transferaz (ALT), alkalen fosfataz (ALP), aspartat amino transferaz (AST), Na, Cl ve K analizleri ile hematolojik parametrelerin analizleri yapılmıştır. Biyokimyasal analizler serum örneklerinde, Randox RX Monaco (Birleşik Krallık) tam otomatik biyokimya cihazında analiz edildi. Kalp kasına özgü biyobelirteçlerdeki değişimleri belirlemek amacıyla elde edilen serum örneklerinde CK-MB ve cTn-T analizleri ERÜ Merkez Biyokimya laboratuvarında hizmet alımı ile yaptırılmıştır. Kardiyak Tn-I analizleri Sunred Marka ticari Rat ELISA kitleri ile Biotek ELX 800 marka ELISA okuyucusunda 450 nm dalga boyunda kitin prosedürüne uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Hematolojik analizler Exigo (İsveç) marka tam kan sayım cihazında örnek hacimlerindeki yetersizlik nedeniyle yalnız 96. saatte alınan EDTA'lı kan örneklerinde analiz edilmiştir.

Her gruptan rastgele 5'er rattan masaj yöntemi ile yaklaşık 1 ml idrar numuneleri klinik belirtilerin görülmeye başladığı 5. saatten itibaren ependorflara alındı. Bu örnekler, 2000 rpm'de 10 dk. santrifüje edildikten sonra, idrar sedimentinde mikroskop altında Ca-oksalat kristalleri aranmıştır.

Gruplardan eşit sayıda ve rastgele deneklerden 24 saat sonra bipolar ekstremite derivasyonları yöntemi ile klinik belirti ortaya çıkan ve EG toksikasyonunun etkisi altındaki hayvanlardan EKG kayıtları Carewell 1101g Vet marka EKG cihazında alınmıştır. EKG değerlendirmeleri II. derivasyonlarda yapılmıştır.

Birinci gruptan rastgele seçilen 5 adet ve grup II'de ölen tüm ratlardan 96. saatte anestezi altında servikal dislokasyondan sonra nekropsi altında kalp örnekleri alındı. Örnekler %10'luk tamponlu formalinde tespit edildikten sonra rutin doku takibi işlemleri uygulandı. Mikrotom ile 5–6 mikron kalınlığında seri kesitler alındıktan sonra kesitler Hematoksilen-Eosin (HE) ile boyandı. Tüm preparatlar, dijital bir kamera (Olympus DP71) ve mikroskop (BX-51, Olympus) (x10, x40 ve x100 hedefleri kullanılarak en az 4 alan içeren) dijital programlayıcılar (DP Controller ve DP Manager) ile fotoğraflandı.

### İstatistiksel analizler

Laboratuvar analizlerinden elde edilen verilerin istatistiksel analizleri SPSS 13.0 (2000) paket programı ile bilgisayar ortamında yapıldı. Analizler için tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Deneme süresince alınan değerleri karşılaştırmak için Dunnett testi, farklı grupların eş zamanlı verilerini karşılaştırmak için Tukey testi uygulandı. Gruplar arası farklılığın ve zamana göre değişimlerin önem derecesi  $P < 0.05$  düzeyinde değerlendirilmiştir.

### Bulgular

Çalışma gruplarında EG verilmesinden sonra oluşan klinik semptomlar Tablo 1'de gösterilmiştir. Grup I ve II'de Tablo 1'de belirtildiği gibi EG verildikten sonra çeşitli derecelerde klinik toksikasyona ait klinik belirtiler ortaya konulmuştur. Gruplar arasında verilen EG konsantrasyonuna bağlı olarak sarhoşluk benzeri durum dışında diğer klinik semptomlar Grup I de daha az sayıda ratta gözlenmiştir (Tablo 1). Grup I de 3 rat 23-26. saatler arasında, Grup II de 6 rat 22. saat civarında ölmüştür. Yapılan nekropsilerde ödematöz böbrekler ve akciğerlerde hafif ödem görülmüştür.

Çalışma gruplarının CK-MB, cTn-T, cTn-I değerleri

**Tablo 1.** Klinik belirtilere göre hayvan sayılarının dağılımı

Semptomlar	Grup I (n=10)	Grup II (n=10)
Sarhoşluk benzeri durum	10	10
Depresyon	7	9
Koma	4	7
Sallantılı yürüyüş	7	10
Poliüri	4	6
Dehidrasyon	5	8
Anoreksi	6	9
Pelvik inkoordinasyon	5	8
Ölüm sayısı	3	6

GI (n=10) (Düşük doz grubu): 3 ml/kg uygulanan grup. GII (n=10) (Yüksek doz grubu): 6 ml/kg uygulanan grup.

Tablo 2'de verilmiştir.

Elde edilen ortalama cTn-T ve CK-MB düzeylerinde kontrol grubunda önemli değişimler görülmedi, fakat EG verilen çalışma gruplarında 72 ve 96. saatlerdeki farklılıklar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Ortalama CK-MB düzeyleri sırasıyla; Grup I'de:  $532.75 \pm 17.15$  IU/L,  $688.12 \pm 319.09$  IU/L,  $554.25 \pm 112.44$  IU/L ve grup II'de  $542.66 \pm 11.26$  IU/L,  $587.66 \pm 55.44$  IU/L,  $877.5 \pm 27.56$  IU/L idi. Ortalama cTnT düzeyleri sırasıyla; grup I'de:  $0.040 \pm 0.003$  ng/ml,  $0.155 \pm 0.028$  ng/ml,  $0.866 \pm 0.225$  ng/ml, ve grup II'de  $0.013 \pm 0.002$  ng/ml,  $0.041 \pm 0.025$  ng/ml,  $0.578 \pm 0.006$  ng/ml idi.

Bununla birlikte ortalama cTn-I seviyelerinin tüm gruplarda EG verildikten sonraki saatlerde istatistiksel açıdan önemli oranda değişmediği ve bu değerlerin birbirinden farklı olmadığı belirlenmiştir. Bu değerler sırasıyla; Grup I'de:  $0.037 \pm 0.003$  ng/ml,  $0.032 \pm 0.003$  ng/ml,  $0.031 \pm 0.002$  ng/ml, ve Grup II'de  $0.032 \pm 0.004$  ng/ml,  $0.036 \pm 0.006$  ng/ml,  $0.029 \pm 0.006$  ng/ml idi.

Ortalama cTn-T düzeylerinin 72. ve 96. saatte kontrol grubuna göre çalışma gruplarından önemli düzeyde farklı olduğu gözlemlendi ( $P < 0.05$ ). Aynı değerler çalışma gruplarında 72. ve 96. saatlerde EG verilmeden önceki düzeylerden de anlamlı oranda yüksek olduğu belirlendi. Ortalama CK-MB düzeyleri ise Grup I'de 96. saatte Grup II'de ise 72. saatte 0. saatten anlamlı düzeyde yüksek olduğu, gruplar arasında ise yine aynı saatlerdeki kontrol grubunun ortalamalarından önemli düzeyde farklı olduğu bulundu. Çalışma gruplarından 96. saat sonunda nekropsi işlemi ile alınan kalp kası örneklerinden elde edilen histopatolojik bulgular örnekleri Şekil 1'de gösterilmektedir. Bu çalışmada farklı dozlarda EG verilen ratlarda bazı ortak ve yaygın biyokimyasal bulgular da elde edilmiştir. Kalp kası biyobelirteçleri dışında kalsiyum, potasyum, BUN, LDH, kreatinin ve glukoz düzeylerinde gerek gruplar arasında gerekse grup içi 0. saat verilerine göre istatistiksel açıdan birtakım anlamlı değişimler de gözlemlendi (Tablo 3). Etilen glikol verilen heriki grupta hipokalsemi, hiperkalemi gözlenirken, BUN ve kreatinin düzeylerinde kontrol grubuna göre ve EG verilmeden önceki değerlere göre istatistiksel açıdan önemli

**Tablo 2.** Gruplardaki ortalama kardiyak biyobelirteç düzeyleri ve istatistiksel karşılaştırmaları

Parametreler	Gruplar	n*	Toksikasyon Saatleri		
			0. X±Sh	72. X±Sh	96. X±Sh
CK-MB (IU/L)	Grup I	7	532.75±17.15 Aa	688.12±319.09 Ba	554.25±112.44 Ba
	Grup II	4	542.66±11.26 Aa	587.66±55.44 Aa	877.5±27.56 Ab
	Grup III	10	609±7.45 Aa	560±5.77 Ab	567.5±12.29 Bb
cTnT (ng/mL)	Grup I	7	0.040±0.003 Aa	0.155±0.028 Bb	0.866±0.225 Ac
	Grup II	4	0.013±0.002 Aa	0.041±0.025 Aa	0.578±0.006 Ab
	Grup III	10	0.031±0.003 Aa	0.019±0.001 Cb	0.068±0.004 Bc
cTnI (ng/mL)	Grup I	7	0.037±0.003 Aa	0.032±0.003 Aa	0.031±0.002 Aa
	Grup II	4	0.032±0.004 Aa	0.036±0.006 Aa	0.029±0.006 Aa
	Grup III	10	0.028±0.002 Ba	0.047±0.005 Bb	0.037±0.005 Ab

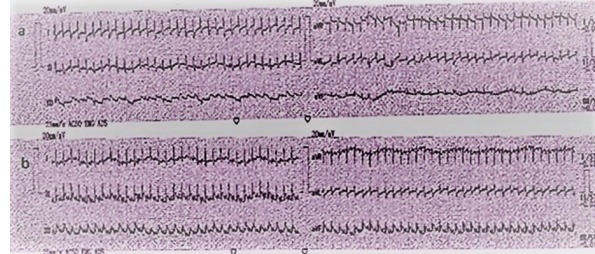
GI (n=10) (Düşük doz grubu): 3 ml/kg uygulanan grup. GII (n=10) (Yüksek doz grubu): 6 ml/kg uygulanan grup. GIII (n=10) (Kontrol grubu): Diğerleriyle aynı hacimde SF uygulanan grup \*Büyük harfler (A.B.C) gruplar arası saatlerdeki farkı, küçük harfler (a.b.c) aynı grup içerisindeki farklı saatler arası farkı ifade etmektedir. (\*n sayıları 72. ve 96. saatlerde hayatta kalan rat sayılarına göre verilmiştir).

oranda ( $P<0.05$ ) artışlar izlenmiştir. Ortalama BUN düzeyleri sırasıyla; Grup I'de:  $45\pm 1.55$  mg/dl,  $278.75\pm 7.75$  mg/dl,  $385.33\pm 132.80$  mg/dl, ve Grup II'de  $25.6\pm 0.62$  mg/dl,  $90\pm 0.57$  mg/dl,  $93\pm 21$  mg/dl idi. Ortalama kreatinin düzeyleri sırasıyla; Grup I'de:  $1.60\pm 0.62$  mg/dl,  $2.24\pm 0.04$  mg/dl,  $3.65\pm 1.21$  mg/dl, ve Grup II'de  $0.76\pm 0.02$  mg/dl,  $1.75\pm 0.28$  mg/dl,  $1.64\pm 0.21$  mg/dl olduğu belirlendi. Grup I ve II'de ortalama glukoz düzeyleri EG verilmesinden sonra önemli oranda artmıştır ( $P<0.05$ ). Ortalama glukoz düzeyleri sırasıyla; Grup I'de:  $138.67\pm 8.7$  mg/dl,  $337.08\pm 14.07$  mg/dl,  $223.05\pm 42.37$  mg/dl, ve Grup II'de  $118.59\pm 4.49$  mg/dl,  $159.58\pm 0.24$  mg/dl,  $213.01\pm 13.53$  mg/dl olduğu belirlendi (Tablo 3).

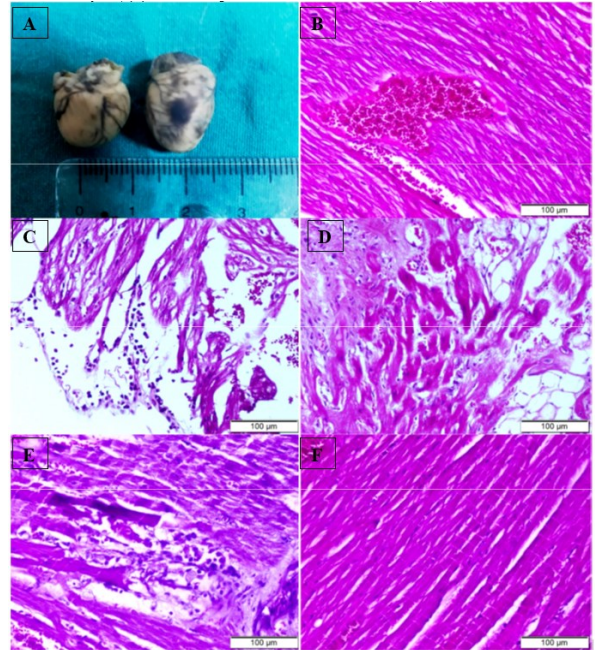
Hematolojik analiz bulgularında kontrol grubu ve çalışma gruplarından elde edilen örneklerde istatistiksel açıdan herhangi anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir.

EKG kayıtlarının II. derivasyon bulgularına göre yapılan analizlerde, Pamp (mV), PR (sn), T (mV) ve ST (sn) değerlerinde grup I ve II arasında farklılıklar belirlendi ( $p<0.05$ ). Grup II'deki bu değerlerin sırasıyla;  $0.15\pm 0.02$  mV,  $0.07\pm 0.01$  sn,  $0.12\pm 0.02$  mV ve  $0.06\pm 0.02$  sn olduğu ve anlamlı oranda Grup I'den daha yüksek olduğu belirlendi (Tablo 4). EKG yorumlamasında genel olarak Grup I ratlarında ortalama 2 mm ST elevasyonu; Grup II ratlarda bazı vakalarda ise ST değişiklikleri ve bir hayvanda akut koroner sendrom benzeri tablo görülmüştür (Şekil 1).

Grup I ve Grup II ratlarına ait iki adet EKG örnekleri Şekil 1'de verilmiştir. Grup I ratlarında yapılan makroskopik muayenede epikardiyal kanama gözlemlendi. Ayrıca kalp kasında nekroz alanlarını çevreleyen mononükleer hücreler subendokard bölgesinde hücreli infiltrasyon odakları, dejenerasyon, interstisyel ödem saptandı (Şekil 2A-D). Grup II ratlarda ise hafif mononükleer hücre infiltrasyonu gözlemlendi (Şekil 2E). Kontrol grubunu oluşturan ratlarda herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı (Şekil 2F).



**Şekil 1.** Grup I ve Grup II'deki ratlara ait EKG örnekleri (25 mm/sn ve 20 mm/mV)  
a. Grup I, I, II, aVR ve aVL derivasyonlarında ST yükselmesi örneği  
b. Grup II, akut koroner sendrom örneği



**Şekil 2.** Rat, Kalp Biyopsi. (Hematoksilen-Eosin boyama x100). (A-D) Yüksek doz grubu, (A-B) Kalp kasında kanama, (C) Kalp kasında interstisyel ödem, dejenerasyon, yangısal hücre infiltrasyonu, (E) Düşük doz grubunda mononükleer hücreler. (F) Kontrol

**Tablo 3.** Gruplardaki ortalama biyokimyasal parametreler

Parametreler	Gruplar	n*	Toksikasyon Saatleri		
			0. X±Sh	72. X±Sh	96. X±Sh
BUN (mg/dL)	Grup I	7	45±1.55 Aa	278.75±7.75 Ab	385.33±132.80 Bb
	Grup II	4	25.6±0.62 Aa	90±0.57Ab	93±21 Ab
	Grup III	10	49.9±0.18 Ba	45.6±0.98 Ab	49.55±1.36 Aa
LDH (U/L)	Grup I	7	1404.4±111 Aa	3340.55±373.95 Ba	1278.08±215.87 Aa
	Grup II	4	1420.12±72.79 Aa	1810.4±28 Aa	1916.4±302.3 Ab
	Grup III	10	1370.37±66.09 Aa	1404.93±54.80 Aa	1459±42 Aa
GGT (U/L)	Grup I	7	8.167±5.4 Aa	3±1.53 Ba	22±6.40 Ba
	Grup II	4	2.5±0.29 Aa	1.5±0.2 Ab	1±0.05 Ab
	Grup III	10	1.75±0.36 Aa	2±0.28 Aa	1.5±0.16 Aa
GLUKOZ (mg/dL)	Grup I	7	138.67±8.7 Aa	337.08±14.07 Ab	223.05±42.37 Ab
	Grup II	4	118.59±4.49 Aa	159.58±0.24 Ab	213.01±13.53Ac
	Grup III	10	124.89±20.31 Aa	115.66±5.33 Ba	138.52±29.29 Ba
KREATİNİN (mg/dL)	Grup I	7	1.60±0.62 Aa	2.24±0.04 Bb	3.65±1.21 Aa
	Grup II	4	0.76±0.02 Aa	1.75±0.28 Ab	1.64±0.21 Ab
	Grup III	10	1.18±0.12 Aa	0.71±0.03 Bb	0.84±0.11 Bb
KALSİYUM (mg/dL)	Grup I	7	10.65±0.46 Aa	9.63±0.73 Aa	7.65±1.08 Ab
	Grup II	4	11.64±0.35 Aa	10.58±1.65 Ab	8.92±1.52 Ab
	Grup III	10	11.56±0.44 Aa	11.37±0.43 Ba	10.32±0.06 Bb
ALT (U/L)	Grup I	7	107.84±15.65Ba	89.3±5.87 Aa	165.85±58.55 Aa
	Grup II	4	68.85±2.24 Aa	88.3±3.64 Aa	59.36±19.26 Aa
	Grup III	10	69.05±5.81 Aa	74.18±0.80 Aa	69.64±4.37 Aa
AST (U/L)	Grup I	7	159.98±21.75 Aa	460.1±92.9 Bb	319.71±81.40 Bb
	Grup II	4	119.45±12.33 Aa	180.4±9.66 Ab	113.2±7.9 Aa
	Grup III	10	121.84±4.48 Aa	141.5±4.71 Ab	153.71±12.49 Cb
ALP (U/L)	Grup I	7	227±19.61 Aa	267.25±23.75 Ba	345.83±55.41 Ba
	Grup II	4	210.33±27.44 Aa	118±11.32 Ab	158±41 Aa
	Grup III	10	215.33±33.12 Aa	291.22±5.74 Bb	219.6±17.69 Ca
Na (mEq/l)	Grup I	7	163±12.35 Ba	180±11 Ba	136±9.55 Ba
	Grup II	4	156.5±2.02 Aa	147.5±7.5 Aa	151±7 Aa
	Grup III	10	145±9.6 Ba	150±12.3 Ba	140±7.68 Ba
K (mEq/l)	Grup I	7	7.1±0.8 Ba	8.3±0.7 Bb	7.2±0.56 Ba
	Grup II	4	6.56±0.29 Aa	5.83±0.28 Aa	6±0.3 Aa
	Grup III	10	5.9±0.4 Ca	5.8±0.5 Ba	5±0.3 Ca
Cl (mEq/l)	Grup I	7	125±4.7 Ba	127±5.4 Ba	91±6 Ba
	Grup II	4	116.33±1.476 Aa	112.33±3.84 Aa	116.66±4.33 Aa
	Grup III	10	107±6.9 Ca	110±8.6 Ba	100±9.1 Cb

GI (n=10) (Düşük doz grubu): 3 ml/kg uygulanan grup. GII (n=10) (Yüksek doz grubu): 6 ml/kg uygulanan grup. GIII (n=10) (Kontrol grubu): Diğerleriyle aynı hacimde SF uygulanan grup \*Büyük harfler(A.B.C) gruplar arası aynı saatlerdeki farkı, küçük harfler (a.b.c) aynı grup içerisindeki farklı saatler arası farkı ifade etmektedir. (\*n sayıları 72. ve 96. saatlerde hayatta kalan rat sayılarına göre verilmiştir) .

**Tablo 4.** EKG kayıtlarında II. derivasyon bulguları (25 mm/sn ve 20mm/mV)

Gruplar	EKG Parametreleri					
	Pamp (mV)	PR (sn)	R (mV)	QRS (sn)	T (mV)	ST (sn)
Grup I (n=5)	0.11±0.01 <sup>a</sup>	0.04±0.01 <sup>a</sup>	0.7±0.1	0.04±0.01	0.08±0.01 <sup>a</sup>	1.0±0.1 <sup>a</sup>
Grup II (n=5)	0.15±0.02 <sup>b</sup>	0.07±0.01 <sup>b</sup>	0.73±0.08	0.04±0.01	0.12±0.02 <sup>b</sup>	0.06±0.02 <sup>b</sup>

Pamp: P dalga yüksekliği, PR: PR aralığı, R: R dalga yüksekliği, QRS: QRS aralığı, T: T dalga yüksekliği, ST: ST aralığı, a,b: farklı harfler istatistiksel farkı göstermektedir (P<0.05).

## Tartışma ve Sonuç

Antifiriz ya da EG zehirlenmelerine bağlı bazı vaka ve deneysel kontrollü çalışmalarında, diğer sistemlerdeki değişikliklerle birlikte birlikte kardiyovasküler bozuklukların da oluşabildiği belirtilmektedir (Cavender, 2012; Sarıtaş ve ark., 2015, Dibajnia ve ark. 2020). Bununla birlikte, böbrek fonksiyonları ve MSS etkileri detaylı belirlenmesine rağmen kardiyolojik etkiler tam olarak ortaya konulmamıştır (Kim ve ark., 2010). Bazı vaka raporlarında tekrarlayan kardiyak aritmiler ve şokun gelişebildiği, miyokarditisin görülebildiği rapor edilmiştir (Dibajnia ve ark. 2020). Ayrıca EG'ün akut alımını takiben ölen kişilerde yapılan otopside miyokardit tablosu da gözlenen bulgulardan bir diğeridir (Friedman ve ark. 1962). Bu çalışmada EG ile deneysel oluşturulan muhtemel kardiyak hasarın göstergesi olabilecek CK-MB ve kardiyak troponin düzeylerinde bir takım değişimler belirlenmiştir. Bu biyokimyasal değişiklikler histopatoloji ve EKG bulgularıyla doğrulanmıştır.

Ratlarda CK ve LDH enzimlerinin erken dönem miyokard hasarının tespiti için çok belirleyici olmadıkları belirtilmektedir. Kardiyak troponinler-I (cTnI) ve -T (cTnT)'in ise yüksek duyarlılığa sahip oldukları ve miyokard hücre hasarının spesifik belirteçleri oldukları gösterilmiştir (Adams 3rd ve ark., 1993; Burlina ve ark., 1994). Son araştırmalar insana özgü cTnI ve cTnT'nin çeşitli hayvan türlerine ait cTn ile çapraz reaktivitesini ortaya koymuştur (Katus ve ark., 1992; O'Brien ve ark., 1997a,b). Fakat farklı dozlarda EG zehirlenmesine maruz bırakılan ratlarda cTnI ve

cTnT'de gözlenen artışlar olup olmadığı ve bu kardiyak parametrelerin EG toksikasyon modelinde sıçan kalplerinde histolojik bulgular arasındaki ilişki hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. İzoprenalin verilen ratlarda, cTnI ve cTnT seviyelerinin erken dönemde yükseldiği tesbit edilmiş ve benzer şekilde, kontrol grupları ile karşılaştırıldığında izoprenalin enjeksiyonundan 24 saat sonra cTnT'nin daha yüksek anlamlılık düzeyinde daha uzun süre arttığı gösterilmiştir (Bertsch ve ark., 1997). Bu sonuçlar, cTnI ile karşılaştırıldığında cTnT'nin daha uzun bir süre ile kan serumunda yüksek düzeylerde kaldığını bildiren insanlardaki cTnT ve cTnI kinetiği ile uyumlu bulunmuştur (Mair, 1997). Bu çalışmadan elde edilen cTnI ve cTnT düzeyleri değerlendirildiğinde, EG verildikten sonra 72 ve 96. saatlerde cTnT düzeyleri çalışma gruplarında zamana bağlı bir artış göstermiş, fakat cTnI düzeylerinin çalışma süresince tüm gruplarda değişmediği belirlenmiştir. Çalışmanın cTnT bulgularının, Bertsch ve ark. (1997) tarafından yapılan ve 24 saat sonraki cTnT sonuçlarının kontrol grubuna göre cTnI'dan daha yüksek olduğunu belirledikleri çalışmanın bulgularıyla uyumludur. Zira çalışma gruplarında cTnI sonuçlarının değişmediği 72. ve 96. saatlerdeki düzeylerin hem 0. saate göre hem de kontrol grubunun aynı saatlerdeki düzeylerinden anlamlı oranda

yüksek olması nedeniyle aynı yargıya varılmıştır. Elde edilen özellikle cTnT verilerinin, miyokard hasarlarının CK-MB salınımına yol açmasa dahi troponin düzeylerindeki yükselmelerin hassas olduğunu belirten klinik raporlardan elde edilen bulgularla iyi bir uyum içinde olduğu görülmüştür (Adams ve ark., 1993; Burlina ve ark., 1994; Gerhardt ve ark., 1991; Hamm ve ark., 1992; Wu ve ark., 1995). Her iki gruptan alınan EKG bulguları ile bu değişiklikler de doğrulanmıştır. Kreatin kinaz (MB)'deki farklılığın ise muhtemelen mikroinfarktüsün saptanmasındaki CK duyarlılığının ve özgünlüğünün azalmasından kaynaklanmaktadır. cTnI normalde kan dolaşımında yok denecek kadar az olduğu ve miyokardiyumda da ağırlık bazında CK-MB 'den daha fazla olduğu için, cTnI çok düşük düzeylerdeki kardiyak nekrozun saptanması için çok daha uygundur (Antman ve ark., 1996). Nitekim Bleuel ve ark. (1995) tarafından yapılan çalışmada olduğu gibi kullanılan ratlarda kontrollele karşılaştırıldığında EG verilmiş sıçanlarda CK'da anlamlı bir artış bulunmamıştır. Normal CK-MB ile birlikte veya yalnız başına kardiyak troponinlerin yükselmesi, hafif derecede veya en düşük dereceli miyokardiyal hasarı yansıtabilir (Imazio ve Trinchero, 2007). Ayrıca diğer parametrelerden, CK-MB izoenzimi, mutlak kalbe özgü bir belirteç değildir (Adams ve ark., 1993) ve iskelet kası yaralanması var ise hayvanlarda etkisiz olabilir (O'Brien ve ark., 1997b). Ayrıca, plazmadaki CK-MB'nin etkinliği, bir türden diğerine göre farklılık gösterir. Çalışmamızda CK-MB bulguları Grup I'de 72 ve 96. saatlerde zehirlenme öncesine göre artış göstermesi anlamlı olmakla birlikte daha yüksek doza maruz kalan Grup II de ise sadece 72. saat düzeyinin aynı grubun diğer saatlerde alınan değerlerinden yüksek olması CK (MB) aktivitelerinin kalp kası hasarlarında değerlendirilmesini sınırlandırabilir.

Çalışma gruplarındaki ratlarda yapılan genel nekropsisi değerlendirilmesinde elde edilen bulgular ölen iki adet hayvanda makroskobik açıdan kalp kasında epikardiyal kanamalar ve solgun böbrekler tarzında gelişen bulgular bir vaka raporu ile benzerlik göstermektedir. Bu raporda ölen bir erkek zehirlenme vaka-sında nekropsisi yapılmış ve histopatoloji bulgularında kalpte -coronaro-myocardiosclerosis belirlenmiştir (Judea-Pusta ve ark., 2018). Bu çalışmada, deneyin sonlandırıldığı 96. saatte alınan kalp örneklerinde bir takım değişikliklerin oluşabildiği gözlenmiştir. Bu değişiklikler, yüksek dozda EG verilen ratlarda intersitisyel ödem, dejenerasyon, sub-endokard bölgesinde hücrel infiltrasyon, nekroz alanlarını çevreleyen mononükleer hücreler; düşük doz grubu ratlarda ise hafif mononükleer hücre infiltrasyonu olarak gözlenmiştir. Çalışma gruplarındaki histopatolojik ve kalp kasına özgü biyokimyasal parametrelerdeki değişimler, EKG kayıtlarında elde edilen ST segmenti yükselmesi ve akut koroner sendrom nedeniyle EG toksikasyonunun ratlarda kalp kasında bir hasar oluştur-

duğunun delilleri olarak değerlendirilmiştir. Bu bulguları destekler özellikle, Dibajnia ve ark. (2020) tarafından rapor edilen vaka raporunda, 37 yaşında EG zehirlenmesine maruz kalan bir hasta da cTnI düzeyinde yükselme ve koroner kalp yetmezliğine ait herhangi bir bulgu olmamasına rağmen, EG alımından 87 saat sonra EKG bulgularında I., aVL ve aVR derivasyonlarında ST segmenti yükselmesi belirlenmiştir.

Bu çalışmada CK-MB ve cTnT'nin, sıçanlarda EG kaynaklı taşikardi sonrası miyokard hasarı teshisinde, geleneksel cTnI, CK ve LDH biyobelirteçlerine göre daha önemli biyobelirteçler olduğu gözlenmiştir. Ortalama cTnT düzeyleri ve CK-MB aktivitelerindeki yükselmeler ile histopatolojik bulgular arasındaki ilişkinin analizi, bilhassa artan cTnT düzeyi ile miyofibriller dejenerasyonunun derecesi arasında iyi bir uyumluluk olduğunu ortaya koydu. Bununla birlikte, analizlerin çeşitli troponin-I ve T formlarına verdiği tepkiler nedeniyle cTnI ve cTnT analizleriyle elde edilen mutlak değerlerde farklılıklar vardı. Biyokimyasal parametrelerden CK-MB, cTnT ile EKG ve histopatolojik bulgular ışığında 6 ml/kg dozda EG verilen ratlarda önemli düzeyde, 3 ml/kg dozda EG verilen ratlarda ise düşük düzeylerde bir toksik myokard hasarının oluşacağı, ölümlerde miyokard hasarının katkısının olabileceği, EG toksikasyonunda hastalara yapılacak monitörizasyonda ve gerçekleştirilecek tedavinin düzenlenmesinde kardiyak hasarın da dikkatle değerlendirilmesi gerekliliğini ortaya koymuştur.

Sonuç olarak; biyokimyasal kardiyak parametrelerde elde edilen değişimler, histopatoloji bulguları ve EKG sonuçlarına göre, EG zehirlenmesinde oluşan miyokarditisin, hücrel metabolizmaları bozan glikoaldehyt metabolitlerinden kaynaklandığı ve bunların lokal doku hasarına yol açarak belli oranlarda toksik miyokarditise de neden olabileceği kanaatine varılmıştır.

### Teşekkür

Bu tez çalışmasının yapılmasındaki katkılarından dolayı Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne ve kalp dokularının histopatolojik işlemlerini yürüten ve sonuçlarının değerlendirilmesini sağlayan Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Latife ÇAKIR BAYRAM'a teşekkür ederiz.

### Kaynaklar

- Adams3rd JE, Bodor GS, Davila-Roman VG, Delmez JA, Apple FS, Ledenson JH, Jaffe AS. Cardiac troponin I. A marker with high specificity for cardiac injury. *Circulation* 1993; 88: 101-6.
- Adams3rd JE, Abendschein DR, Jaffe AS. Biochemical markers of myocardial injury. Is MB creatine kinase the choice for the 1990s? *Circulation* 1993; 88: 750-63.

Alkan Z, Seker Y, Kurtdere A, Sarıca A, Bumin A. Köpeklerde deneysel etilen glikol zehirlenmesinde ultrasonografik tanı ve bazı kan parametrelerinde değişiklikler. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 1995; 42: 473-8.

Antman EM, Tanasijevic MJ, Thompson B, Schactman M. Cardiac specific troponin I levels to predict the risk of mortality in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 1996; 335 (18): 1342-9.

Bertsch T, Bleuel H, Aufenanger J, Rebel W. Comparison of cardiac troponin T and cardiac troponin I concentrations in peripheral blood during orciprenaline induced tachycardia in rats. *Exp Toxicol Pathol* 1997; 49(6): 467-8.

Bleuel H, Deschl U, Bertsch T, Bolz G, Rebel W. Diagnostic efficiency of troponin T measurements in rats with experimental myocardial damage. *Exp Toxicol Pathol* 1995; 47(2-3): 121-7.

Burlina A, Zaninotto M, Secchiero S, Rubin D, Accorci F. Troponin T as a marker of ischemic myocardial injury. *Clin Biochem* 1994; 27(2): 113-21.

Cavender FL. Glycols, Bingham E, Cohn B, eds. *Patty's Toxicology. Sixth Edition.* New York: John Wiley and Sons, 2012; p. 595.

Çelebi F, Güneş V, Uzun M, Doğan A. Deneysel akut etilen glikol toksikasyonu oluşturulan köpeklerde elektrokardiyogram bulguları ve plazma Na, K, Ca ve Cl düzeyleri. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 1999; 5(2): 171-8.

Dibajnia P, Sivilotti MLA, Juurlink D, Shurrab M. ST-elevation in ethylene glycol toxicity mimicking myocardial infarction. *J Electrocardiol* 2020; 58: 128-31.

Friedman EA, Greenberg JB, Merrill JP, Dammin GJ. Consequences of ethylene glycol poisoning. *Am J Med* 1962; 32(6): 891-902.

Gerhardt W, Katus HA, Ravkilde J, Hamm C, Jørgensen PJ, Peheim E, Ljungdahl L, Löfdahl P. S-Troponin T in suspected ischemic myocardial injury compared with mass and catalytic concentrations of S-creatin kinase isoenzyme MB. *Clin Chem* 1991; 37(8): 1405-11.

Güneş V, Köpeklerde ethylene glycol ile oluşturulan akut toksikasyonların değişik alkol türevleri ile tedavi denemeleri, Doktora Tezi, Kafkas Üniv Sağ Bil Ens, Kars 1999; s. 126.

Hamm CW, Ravkilde J, Gerhardt W, Jørgensen P. The prognostic value of serum troponin T in unstable angina. *N Engl J Med* 1992; 327: 146-50.

- Imazio M, Trincherò R. Triage and management of acute pericarditis. *Int J Cardiol* 2007; 118(3): 286-94.
- Judea-Pusta CT, Mutiu G, Pascalau AV. The importance of the histopathological examination in lethal acute intoxication with ethylene glycol. Case report. *Rom J Morphol Embryol* 2018; 59(3): 965-9.
- Katus HA, Looser S, Hallermayer K, Pempis A, Scheffold T, Borgya A, Essig U, Geuss U. Development and in vitro characterization of a new immunoassay of cardiac troponin T. *Clin Chem* 1992; 38(3): 386-93.
- Kim KJ, Park JG, Ryu HJ. A case of uremic pericarditis and cardiac tamponade that developed after ethylene glycol poisoning: A case report. *Korean J Crit Care Med* 2010; 25(3): 176-81.
- Kraut JA, Mullins ME. Toxic alcohols. *N Engl J Med* 2018; 378(3): 270-80.
- Mair J. Cardiac troponin I and troponin T: Are enzymes still relevant markers? *Clin Chim Acta* 1997; 257(1): 99-115.
- Ng PCY, Long BJ, Davis WT, Sessions DJ, Koyfman A. Toxic alcohol diagnosis and management: An emergency medicine review. *Intern Emerg Med* 2018; 13(3): 375-83.
- O'Brien PJ, Dameron GW, Beck ML, Kang YJ, Erickson BK, Di Battista THI, Miller KE, Jackson KN, Scott M. Cardiac troponin T is a sensitive, specific biomarker of cardiac injury in laboratory animals. *Lab Anim Sci* 1997; 47(5): 486-95.
- O'Brien PJ, Landt Y, Ladenson JH. Differential reactivity of cardiac and skeletal muscle from various species in a cardiac troponin I immunoassay. *Clin Chem* 1997; 43(12): 2333-8.
- Sarıtaş A, Sarıtaş PU, Kurnaz MM. Antifiriz (etilen glikol) zehirlenmesine bağlı akut böbrek yetmezliği. *Türkiye Klin Derg* 2015; 23(4): 366-9.
- Thrall MA, Grauer GF, Dial SM. Etilen Glikol Toksikitesi. Osweiler GD. eds. In: *The 5 Minute Veterinary Consult Canine and Feline*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi Ltd. Sti. 2008; s. 624-5.
- Wu AHB, Abbas SA, Green S, Pearsoll BS, Dhakam S, Azar R, Onoroski M, Senaie A, McKay RG, Waters D. Prognostic value of cardiac troponin T in unstable angina pectoris. *Am J Cardiol* 1995; 76(12): 970-2.