



**RATLARDA FENAMİFOS'UN SEBEP OLDUĞU İNCE BAĞIRSAK
TOKSİSİTESİ VE NARİNGENİN'İN KORUYUCU ETKİSİ**

Ayça ACUNGAN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ARALIK 2023

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Ayça ACUNGAN

22/12/2023

RATLARDA FENAMİFOS'UN SEBEP OLDUĞU İNCE BAĞIRSAK TOKSİSİTESİ VE
NARİNGENİN'İN KORUYUCU ETKİSİ
(Yüksek Lisans Tezi)

Ayça ACUNGAN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Aralık 2023

ÖZET

Pestisitler, zirai mücadelede çeşitli amaçlarla sıklıkla kullanılan kimyasal maddelerdir. Pestisitler, canlılarda sinir sistemi başta olmak üzere dolaşım, sindirim, boşaltım, endokrin ve üreme sistemi üzerine toksik etki göstermektedir. Fenamifos, renksiz mumsu katı organofosforlu bir pestisittir. Flavonoidlerin flavanon grubunda bulunan naringenin, insan sağlığı üzerinde olumlu etkiler oluşturmaktadır. Naringenin farmakolojik olarak potansiyel bir antioksidan olup antikanserojen, antiinflamatuvar, antimutajenik, hepatoprotektif ve nefroprotektif aktivitelerine sahip bir bileşiktir. Bu çalışmada, organofosfatlı bir pestisit olan fenamifosun, ratların ince bağırsağında oluşturduğu toksite üzerine naringenin koruyucu etkisi araştırılmıştır. Çalışmada, ratlar 4 gruba ayrılmıştır ve her grupta 6 rat bulunmaktadır. 1. Grup: Kontrol grubu, 2. grup: Naringenin (50 mg/kg v.a) uygulanan grup, 3. Grup: Fenamifos (0,76 mg/kg v.a) uygulanan grup, 4. Grup: Naringenin (50 mg/kg v.a) + fenamifos (0,76 mg/kg v.a) uygulanan grup. Deney hayvanlarına maddeler 28 gün boyunca günde bir defa gavaj yolu ile verilmiştir. Deney sonunda ratların ince bağırsak dokularında, lipid peroksidasyonun son ürünü olan malondialdehit (MDA), antioksidan enzim aktiviteleri [superoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon S transferaz (GST)] ve asetilkolin esterase enzim aktiviteleri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda, kontrol grubu ile fenamifos uygulanan grup MDA bakımından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir. Fenamifos+naringenin uygulanan grup ile fenamifos uygulanan grup karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Antioksidan enzim aktivitesi bakımından kontrol grubu ile fenamifos uygulanan grup karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenirken, fenamifos+ naringenin uygulanan grup ile fenamifos uygulanan grup karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir. Asetilkolin esterase bakımından kontrol grubu ile fenamifos grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenirken, fenamifos+naringenin grubu ile fenamifos grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir. Histopatolojik olarak fenamifos uygulanan grupta bağırsak dokusu üzerinde villus dejenerasyonu (kopma, dökülme ve kümeleşme), bazal laminada ayrılma ve nekroz gözlenmiştir. Sonuç olarak, naringenin ratların ince bağırsak dokularında fenamifos toksisitesini azaltmıştır.

Bilim Kodu : 20317
Anahtar Kelimeler : Pestisit, fenamifos, ince bağırsak, naringenin, antioksidanlar
Sayfa Adedi : 45
Danışman : Prof. Dr. YUSUF KALENDER

FENAMIPHOS-INDUCED SMALL INTESTINAL TOXICITY IN RATS AND THE
PROTECTIVE EFFECT OF NARINGENIN

(M. Sc. Thesis)

Ayça ACUNGAN

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

December 2023

ABSTRACT

Pesticides are chemical substances frequently used for various purposes in agricultural control. Pesticides have toxic effects on the circulatory, digestive, excretory, endocrine and reproductive systems of living things, especially the nervous system. Fenamiphos is a colorless waxy solid organophosphorus pesticide. Naringenin, located in the flavanone group of flavonoids, has positive effects on human health. Naringenin is a pharmacologically potential antioxidant and is a compound with anticarcinogenic, anti-inflammatory, antimutagenic, hepatoprotective and nephroprotective activities. In this study, the protective effect of naringenin on the toxicity of fenamiphos, an organophosphate pesticide, in the small intestine of rats was investigated. In the study, rats were divided into 4 groups and there were 6 rats in each group. 1st group: Control group, 2nd group: Naringenin (50 mg/kg b.w.) treated group, 3rd group: Fenamiphos (0.76 mg/kg b.w.) treated group, 4th group: Naringenin (50 mg/kg b.w.) plus fenamiphos (0.76 mg/kg b.w.) treated group. The substances were given to the experimental animals by gavage once a day for 28 days. At the end of the experiment, malondialdehyde (MDA), the end product of lipid peroxidation, antioxidant enzyme activities [superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione S transferase (GST)] and acetylcholine esterase enzyme activities were detected in the small intestine tissues of the rats. has been researched. As a result of the study, a statistically significant increase was observed when the control group and the fenamiphos-treated group were compared in terms of MDA level. A statistically significant decrease was observed when the fenamiphos plus naringenin treated group was compared with the fenamiphos treated group. In terms of antioxidant enzyme activity, a statistically significant decrease was observed when the control group was compared with the fenamiphos treated group, while a statistically significant increase was observed when the fenamiphos plus naringenin treated group was compared with the fenamiphos treated group. While a statistically significant decrease was observed in acetylcholine esterase when the control group was compared with the fenamiphos treated group, a statistically significant increase was observed when the fenamiphos plus naringenin treated group was compared with the fenamiphos treated group. Histopathologically, villus degeneration (rupture, shedding and aggregation) on the intestinal tissue, separation and necrosis in the basal lamina were observed in the fenamiphos-treated group. In conclusion, naringenin reduced the toxicity of fenamiphos in the small intestine tissues of rats.

Science Code : 20317

Keywords : Pesticide, fenamiphos, small intestine, naringenin, antioxidants

Page Number : 45

Supervisor : Prof. Dr. YUSUF KALENDER

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca değerli bilgi ve görüşleri ile bana destek olan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Yusuf KALENDER'e teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Fatma Gökçe APAYDIN, Dr. Öğr. Üyesi Çağlar ADIGÜZEL ve Dr. Öğr. Üyesi Hatice KARABUDAK'a teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca beni bugünlere getiren, maddi manevi destekleriyle her zaman yanımda olan bana sonsuz inanan kıymetli annem Birsen ÇELEBİ ve babam Metin ÇELEBİ'ye ve bütün bu süreci benimle birlikte yaşayan desteğini her daim hissettiğim sevgili eşim Muzaffer Cihat ACUNGAN'a çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	x
RESİMLERİN LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ	1
2. MATERYAL VE YÖNTEM	13
2.1. Deney Hayvanları	13
2.2. Kimyasallar	13
2.3. Hayvanlara Uygulama Planı	13
2.3.1. Kontrol grubu	13
2.3.2. Naringenin grubu	13
2.3.3. Fenamifos grubu	13
2.3.4. Naringenin + Fenamifos grubu	13
2.4. Dokuların Elde Edilmesi	14
2.5. MDA Seviyelerinin Belirlenmesi	14
2.6. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi	14
2.6.1. Süperoksit dismutaz (SOD) enzimi	14
2.6.2. Katalaz (CAT) enzimi	14
2.6.3. Glutatyon peroksidaz (GPx) enzimi	15
2.6.4. Glutatyon-S-transferaz (GST) enzimi	15

	Sayfa
2.8. Işık Mikroskobu İncelemeleri	15
2.7. Asetilkolin Esteraz Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi	15
2.9. Verilerin Değerlendirilmesi	16
3. ARAŞTIRMA BULGULARI	17
3.1. Malonildialdehit Miktarının Değerlendirilmesi	17
3.2. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Değerlendirilmesi	18
3.3. Işık Mikroskobu Bulgularının Değerlendirilmesi	23
4. SONUÇ VE ÖNERİLER	31
KAYNAKLAR	37
ÖZGEÇMİŞ	45

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 1.1. Pestisitlerin vücuda etkileri	3

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Fenamifos kimyasal formülü	4
Şekil 1.2. Naringenin kimyasal formülü	5
Şekil 3.1. Ratların ince bağırsak dokularındaki MDA seviyeleri. Sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir	17
Şekil 3.2. Ratların ince bağırsak dokularındaki SOD enzim aktiviteleri. Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasındaki anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir	18
Şekil 3.3. Ratların ince bağırsak dokularındaki CAT enzim aktiviteleri. Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasındaki anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir	19
Şekil 3.4. Ratların ince bağırsak dokularındaki GST enzim aktiviteleri. Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasındaki anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir	20
Şekil 3.5. Ratların ince bağırsak dokularındaki GPx enzim aktiviteleri. Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasındaki anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir	21
Şekil 3.6. Ratların ince bağırsak dokularındaki AChE enzim aktiviteleri. Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasındaki anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir	22

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Kontrol grubu ratların ince bağırsaklarının histolojik yapısı, H&E, X100. L: Lümen, ▲: Villus, ◀: Kas	23
Resim 3.2. Kontrol grubu ratların ince bağırsaklarının histolojik yapısı, H&E, X200. L: Lümen, ▲: Villus	24
Resim 3.3. Naringenin uygulanan ratların ince bağırsaklarının histolojik yapısı, H&E, X200. L: Lümen, ▲: Villus	24
Resim 3.4. Naringenin uygulanan ratların ince bağırsaklarının histolojik yapısı, H&E, X200. L: Lümen, ▲: Villus	25
Resim 3.5. Fenamifos uygulanan ratların ince bağırsak histolojik yapısı, H&E, X200. Kümeleşme, (→)	25
Resim 3.6. Fenamifos uygulanan ratların ince bağırsak histolojik yapısı, H&E, X400. Kümeleşme (➤, nekrotik alanlar (N)	26
Resim 3.7. Fenamifos uygulanan ratların ince bağırsak histolojik yapısı, H&E, X400. Villuslarında düzensizleşme ve bazal laminada b ozulma (➤.....	26
Resim 3.8. Fenamifos uygulanan ratların ince bağırsak histolojik yapısı, H&E, X200. Villuslarda kopmalar (Δ)	27
Resim 3.9. Fenamifos ve naringenin uygulanan ratların ince bağırsak dokularının histolojik yapısı, H&E, X200. L: Lümen, ▲: Villus	27
Resim 3.10. Fenamifos ve naringenin uygulanan ratların ince bağırsak dokularının histolojik yapısı, H&E, X200. L: Lümen, ▲: Villus	28
Resim 3.11. Fenamifos ve naringenin uygulanan ratların ince bağırsak dokularının histolojik yapısı, H&E, X400. L: Lümen, ▲: Villus	28
Resim 3.12. Fenamifos ve naringenin uygulanan ratların ince bağırsak dokularının histolojik yapısı, H&E, X400. ▲: Villus	29

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

μ

g

kg

LD₅₀

mg

mmol

U

Açıklamalar

Mikron

Gram

Kilogram

Letal doz 50

Miligram

Milimol

Unit

Kısaltmalar

ACh

AChE

CAT

CF

GPx

GSH

GST

IUPAC

LPO

MDA

NO

ROS

SOD

Açıklamalar

Asetilkolin

Asetilkolinesteraz

Katalaz

Karbofuranın

Glutasyon peroksidaz

Glutasyon

Glutatsiyon-S-transferaz

Uluslararası Temel ve

Uygulamalı Kimya Birliği

Lipid peroksidasyonu

Malonildialdehit

Nitrit oksit

Reaktif oksijen türleri

Süperoksit dismutaz

1. GİRİŞ

İnsanoğlu yaşayan, üreten ve tüketen bir popülasyondur. Temel besin maddesini topraktan uygun şartlar sağlayarak sağlıklı beslenmenin birçok komponentini karşılar. Sanayileşmenin ve sonrasında gelen insanoğlunun besin ihtiyacının artmasıyla birlikte üretim ivme kazanarak artmaya başladı. Üretim esnasında kullanılan bazı tarım ilaçları üründen alınacak verimi artırırken, negatif etkileri de beraberinde getirmiştir (Berkes, 1993). Tarım sektöründe pestisit bazlı ürünlerin kullanımı, gün geçtikçe fazlaşan insan popülasyonuna karşı yeterli olmayan tarım mahsullerini, zararlılardan koruyarak ürünlerden kazanılacak verime katkı sağlamıştır (Tudi ve diğerleri, 2021).

Pestisitler, kapalı yaşam alanlarında sivrisinek, kemiriciler ve böceklerle karşı kullanılarak insanın yaşam kalitesine de katkıda bulunmaktadır (Zhang vd.,2011). Zararlı ajanları öldürmek veya kontrol altına almak için kullanılan kimyasallar veya biyolojik maddelere pestisit denir. Pestisitler kullanım amaçlarına göre sınıflandırıldığında; insektisitler, fungusitler, herbisitler, rodentisitler, nematisitler, molluskisitler ve akarisitler şeklinde sınıflandırılmaktadır (Bernardes ve diğerleri, 2015).

Pestisitlerin bazıları sistemik olarak aktiftir. Bu nedenle bitki kütikulasına nüfuz eder ve bitki damar sistemi boyunca hareket ederler (Galloway ve Handy, 2003). Bu sistemik ajanlar sadece bitkileri saldırılardan korumakla kalmaz, aynı zamanda yerleşik enfeksiyonları önleyebilmektedir. Daha da ötesine geçip hastalık varlığında iyileştirebilmektedir. Bu sınıftaki pestisitler, hava koşullarından etkilenmezler ve ayrıca tüm yeni bitki büyümesine bağışıklık kazandırır (Muñoz-Quezada ve diğerleri, 2013).

Kimyasal yapıları bakımından pestisitler, organoklorlu, organofosforlu, karbamatlı ve piretroitli olmak üzere dört gruba ayrılır. Bunlar, organik, inorganik ve sentetik olmak üzere üç farklı grupta kategorize edilmektedir. İnorganik pestisitlerin yapısında karbon bulunmaz. Organik pestisitlerin yapısında karbon, hidrojen, oksijen, azot, fosfor veya sülfür bulunabilmektedir (Casida, 2017).

Pestisitler genel olarak hedef olmayan canlılar üzerine de etki etmeleri nedeniyle toksik grup içerisinde yer almaktadırlar. Birçoğu nörotoksik etki gösterirken canlılar üzerinde

sindirim, dolaşım, boşaltım, üreme sistemi başta olmak üzere birçok sistem üzerinde etkilidirler. Bir pestisitın kronik toksisitesi, test hayvanlarının aktif bileşene uzun süreli maruz bırakılmasıyla belirlenmektedir. Periyodik olarak ya da belli bir zaman boyunca tekrar eden minimal miktarlardan kaynaklanan negatif yan etkilere kronik ya da süregelen etkiler denir. Bazı pestisitlere maruz kalmanın olasılık niteliğindeki kronik etkileri, doğum kusurları, tümör üretiminin oluşması, kan bozuklukları ve nörotoksik etkileri ortaya çıkartmaktadır (Casida ve Durkin, 2017).

Organofosfatlı pestisitler, böcekleri ve memelileri öncelikle sinir uçlarında asetilkolin estera z enziminin fosforilasyonu ile zehirler. Enzim, sinir liflerinden kas ve bez hücrelerine ve ayrıca otonom gangliyonlardaki ve beyindeki diğer sinir hücrelerine sinir impuls iletiminin normal kontrolü için kritik öneme sahiptir (Vellingiri ve diğerleri, 2022).

Organofosfatlı pestisitler, inhalasyon, oral ve cilt penetrasyonu ile etkili bir şekilde emilir. Bir dereceye kadar zehirlenmenin meydana gelmesi, pestisitın emilim hızına bağlıdır. Parçalanma esas olarak karaciğerde hidroliz yoluyla gerçekleşir ve hidroliz oranları bir bileşikten diğerine büyük ölçüde değişir (Tudi, 2021).

Bazı organofosfatlı pestisitler, yağ dokusunda depolanmaya son derece yatkındır ve depolanan pestisit dolaşıma geri salındığı için panzehir ihtiyacını uzatmaktadır. Hayvan çalışmaları, iki veya daha fazla organofosfat aynı anda emildiğinde etkinin arttığını göstermiştir. Birinin bozulması için kritik olan enzimler diğeri tarafından inhibe edilir. Bu etkileşimin insan zehirlenmelerinde önemli bir faktör olup olmadığı bilinmemektedir (Adeyinka, 2023).

Pestisitler uygulandıkları alanlardan kimyasal özelliklerine bağlı olarak hava durumlarından etkilenerek çevre sorunlarına neden olmaktadır. Ayrıca pestisitler atmosferdeki gaz ve diğer partiküllerle tutunarak da toprak yüzeyinde birikir. Biriken bu pestisit kalıntıları yeraltı ve yerüstü sularına ulaşır. Pestisitlerin bir kısmı havaya karışarak bu durum buharlaşma sırasında oluşmaktadır. Sonucunda ise atmosfer tabakası üzerinde toksik madde birikimine kalıcı olarak sebep olabilmektedirler (Aktar ve diğerleri, 2009).

Diğer bir kısmında fotokimyasal yollar ile ayrışarak toksik maddelere dönüşmektedirler. Pestisitlerin diğer grupları toprak üzerinde bulunup toprak yüzey tabakasını kirli durum getirirler. Diğer kısım pestisitlerde topraktan sürüklenerek suları kirletmektedirler (Damalas ve diğerleri, 2011).

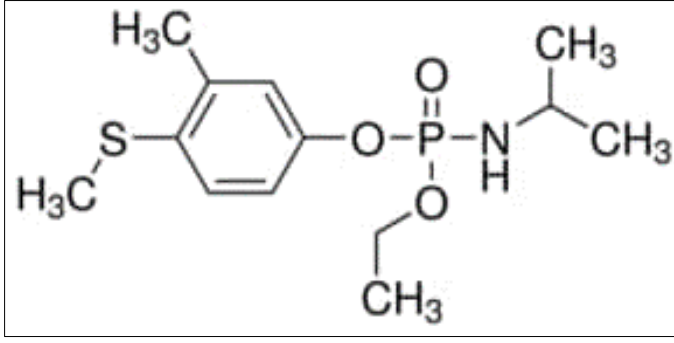
Ratlar üzerinde yapılan çalışmalarda pestisitlerin birçok toksik etkisi gözlenmiştir. Fungisitli pestisitlerin siroz, bağırsak, böbrek, tiroid ve sinir sisteminde olumsuz etkiler gösterdiği ifade edilmiştir (van den Bosch ve diğerleri, 2014).

İnseksitlerde ise sinir sistemi, sindirim sistemi ve nörotoksik etkilere yol açması; herbistlerde ise cilt ve Parkinson hastalığının ön plana çıktığı ifade edilmektedir (Zhu ve diğerleri, 2018). Bazı pestisitlerin canlılar üzerindeki etkisi Çizelge 1.1’de verilmiştir.

Çizelge 1.1. Pestisitlerin vücuda etkileri (Mostafalou & Abdollahi, 2017)

Pestisit türleri	Vücuda etkisi
Fungisit	
Benomyl	Siroz, karaciğer hasarı
Zineb	İshal, bağırsak sorunları
Dichloran	Böbrek ve mesane problemleri
Metiram	Tiroitbezlerisalgalanmasındasorunlr
Nabam	Sinir sistemi tahribatı
İnseksit	
Endosülfan	İshal, bağırsak sorunları
Dicofol	Baş ağrısı, uyuşukluk hali
Methoxyor	Sinir sistemi tahribatı
DDT	Kansorejenik etki
Dieldrin	Baş dönmesi ve sersemlik hissi
Herbisit	
Trifluralin	Cilt problemleri, dermatit
Dactral	Karaciğer hasarı
Glyphosate	Sinir sistemi tahribatı
Metribuzin	Organlarda yaşanan ağırlık kaybı problemleri
Sethoxydm	Parkinson hastalığı, multipl skleroz

Organofosfatlı bir insektisit olan fenamifos, (etil 4-metiltiyo-m-tolil izopropilfosforamidat) asetilkolinesteraz inhibitörü olarak tanımlanmaktadır (Şekil 1)(Bereda, 2022).



Şekil 1.1. Fenamifos kimyasal formülü

Fenamifos, seralarda sebze ve meyve yetiştiriciliğinde, otsu süs bitkilerinde, ambarlarda ve toprakta yaşayan nematodların, hem endo hem de ektoparazitlerine karşı kullanılmaktadır (Fenik ve diğerleri, 2011). Fenamifos'un yüksek çözünürlüğü ve hızlı oksidasyonu nedeniyle, topraktaki hedef olmayan organizmalar için büyük bir tehdit oluşturmaktadır (Gökalp ve diğerleri, 2003).

Fenamifos, oral, dermal ve inhalasyon maruziyetinden sonra oldukça toksik özelliklere sahip bir maddedir. Gözlerde tahribat, dermal bozukluklar ve solunum sistemi bozuklukları ve kolinesteraz inhibisyonuna neden olabilmektedir. Mide bulantısına, baş dönmesine ve çok yüksek maruziyetlerde solunum felcine ve ölüme neden olabilmektedir (Kalyabina ve diğerleri, 2021).

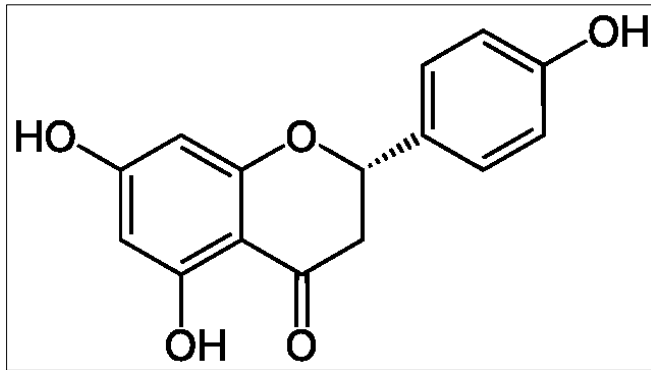
Fenamifos ve profenofos insektisitlerinin karşılaştırılmalı olarak kolinesteraz (ChE) inhibisyonu ile nörodavranışsal değişiklikler arasındaki ilişki incelendiğinde her iki insektisit de önemli miktarda kan kolinesteraz inhibisyonuna neden olduğu gözlenmiştir. Belirgin nörodavranışsal belirtiler fenamifos tarafından oluşturulurken profenofos tarafından oluşturulmamıştır. Tek bir oral dozdan sonra, her iki pestisit de kan ChE'sini büyük ölçüde inhibe ettiği, ancak tüm beyin ChE'si en yüksek dozlarda yalnızca %9-14 oranında inhibe edildiği gözlenmiştir. (McDaniel ve MosRoer, 2004).

Yapılan deneylerde köpek ırkının fenamifos için en hassas tür olduğu ifade edilmiştir. İnsan lenfositlerinde kromozomal aberasyon tahlilinde klastojenisite için pozitif sonuçlar gözlenmiştir (Čadež ve diğerleri, 2021).

Naringenin, üzüm, greyfurt ve narenciye gruplarında bulunan bir flavonoidir. Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC) kılavuzundan atanan ismi 5,7-dihidroksi-2-(4-hidroksifenil)-2,3-dihidroksikromen-4-ol olarak şeklindedir (Chen ve diğerleri, 2016). Kimyasal yapı görseli Şekil 1.2’de gösterilmiştir

Naringenin flavonoidinin, canlı organizmalara etkisi oldukça fazladır. Anti-nörotoksik, peptik ülser ve gastrik tedavilerinde pozitif etkileri, helikobakter enfeksiyonlarıyla mücadelede tedavi edici etkileri mevcuttur (Kueke, 2014).

Naringenin ile ilgili yapılan çalışmalarda nörotoksik etki ile mücadele edici yönü gözlenmektedir. Özellikle Alzheimer hastalığında, naringenin Alzheimer hastalığındaki toksik etkiyi gösteren amiloid beta proteininin (A β) indükleyici etki gösterdiği bilinmektedir. Bu sayede lipid peroksidasyonunu düşürür ve serbest radikal üretimini azaltmaktadır (Fuentealba ve diğerleri, 2004).



Şekil 1.2. Naringenin kimyasal formülü

Turunçgiller sınıfı iyi bir flavonoid kaynağı olarak tanımlanmaktadır. Naringin, naringenin, nobelitin, narirutin ve hesperidin flavonoidleri turunçgillerden izole edilen en önemlileri arasında yer almaktadır. Bu flavonoidlerin hem vitro hem de vivo olarak güçlü antioksidan ve anti-inflamatuar aktivitelere sahip olduğu bulunmuştur (Martin ve Appel, 2010).

Naringenin, güçlü bir flavonoid aynı zaman anti-inflamatuar etkiye sahiptir. 2010 yılında Jain ve Parmar’ın fareler üzerinde yaptığı çalışmada sıçanların hava keselerine referans naringenin, hesperin ve indometazin kullanılmıştır. Hava keseleri, sıçanların skapular bölgesine steril hava enjekte edilerek ve ardından karragenan (AP+C) uygulanarak

oluşturulmuştur. Sonuçlara bakıldığında, AP+C kısmında lipid peroksidasyonu (LPO), indirgenmiş glutatyon (GSH), TNF-a, katalaz (CAT) aktivitesi, total lökositler ve nötrofillerin yanı sıra doku ödemi ve inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunda artış göstermiştir. Naringenin kısmında ise tüm artan CAT, GSH ve TNF-a enzim aktivileri normale dönmüştür (Jain ve Parmar, 2010).

Naringenin, anti-kanserojenik ve anti-proliferatif etkileri açısından çalışmalarda yer almaktadır. 2023 yılında meme kanseri üzerinde yapılan bir çalışmada kültüre edilmiş meme hücrelerinin luminal epitelyal fenotipinin işaretleyici olan MCF7 ve mezenkimal fenotipin bir belirteci MDA-MB-231 hücreleri farklı konsantrasyonlarda kuarsetin ile tek tek ve naringenin ile kombinasyon halinde muamele edilmiş olup hücre canlılığını ve göçünü belirlemek için sırasıyla MTT testi ve scratch testi kullanılmıştır. Apoptoz genlerinin ekspresyonunu incelemek için gerçek zamanlı PCR kullanılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde kuarsetin ve kombinasyonlu naringenin halinde MCF7 ve MDA-MB-231 insan meme kanseri hücre hatlarında anti-proliferatif ve anti-kanserojenik aktivitelerini artırdığı gözlenilmiştir.

Kombinasyonlu naringenin ve kuarsetin hücre büyümesinin azaltılması, hücre göçün baskılanması ve apoptoz indüksiyonunda tekli tedavilere kıyasla önemli ölçüde daha etkili olduğu ortaya konmuştur (Sato ve diğerleri,2011).

2023 yılında karaciğer hücreleri üzerinde bosvelik asit, kurkumin, naringenin yüklü nanopartiküller nanopresipitasyon yöntemi kullanılarak hazırlanmıştır. İnsan karaciğer (HepG2) hücre hattı Dulbecco'nun modifiye Eagle ortamında (DMEM) kültüre edilen çalışmada, hücre büyümesi inhibisyonu ve sitotoksosite MTT testi ile değerlendirildi. Çalışma sonucunda ise bosvelik asit, kurkumin, naringenin ve bunların nanopresipitasyonla hazırlanan nanopartikülleri karaciğer hücrelerinin proliferasyonunu baskıladığı gözlenmiştir. Naringenin yapıları bu çalışmada yüksek olasılıkla anti-proliferatif etkisi olduğu gözlenmektedir (Elnawasany ve diğerleri, 2023).

Naringenin ve diğer turuncgil flavonoidlerinin bağırsaklarda pozitif etkilerini inceleyen çalışmalar mevcuttur. Yapılan çalışmalarda ilaç kullanımı sonrasında naringenin biyoyararlılığı üzerindeki etkilerini araştırılmış olup naringenin içeriği yüksek besinlerin

tüketimi; ek olarak probiyotik ilaveleri metabolitlerin atılım seviyeleri üzerindeki pozitif etkileri bildirilmiştir (Vallejo ve diğerleri,2010).

Naringenin, antibakteriyel etkisi yani sindirim sistemi için zararlı bakterileri inhibe etme özelliğine sahip olduğuna dair çalışmalar mevcuttur. Duda-Chodak naringenini 24 saatlik inkübasyondan sonra farklı bakteri türlerinin büyümesini inhibe ettiğini in vitro olarak göstermiştir (Parkar ve diğerleri, 2008; Duda-Chodak, 2012).

Metabolik sendrom özelliklerine sahip sağlıklı bireylerde yapılan insan çalışmalarında 12 hafta boyunca bir narenciye özütü (>%80 hesperidin-2S ve >%4 naringenin içeren) ile takviye, bağırsak iltihabının yaygın olarak kullanılan bir biyobelirteci olan fekal kalprotektin seviyelerini azaltma eğilimi gösterdiği görülmüştür. İn vitro ve hayvan çalışmalarından elde edilen bulgularla birlikte naringenin ve diğer turuncgil flavononlarının bağırsak iltihabı, artan bağırsak geçirgenliği ve mikrobiyal pertürbasyonlarla karakterize sindirim sistemi bozukluklarında tedavi niteliği taşıyabileceği düşünülmektedir (Azuma ve diğerleri, 2013).

Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin (ROS) ortaya çıkması ile antioksidan savunma sistemi arasındaki balansın farklılaşması olarak tanımlanabilir (Betteridge, 2000).

ROS reaksiyonları genellikle difüzyonla sınırlı olduğundan, hücre fonksiyonu üzerindeki büyük ölçüde etkilemektedir. Oksidatif stres ile endoplazmik retikulum (ER) stresi gibi diğer hücre stresi türleri arasında karmaşık etkileşimler olduğu bilinmektedir (Graham ve diğerleri, 2011).

Oksidatif stres, aşırı oksitlenme sonucu biyomoleküllere zarar vermektedir (Sies ve diğerleri, 2017). Reaktif oksijen türlerinin yani serbest radikallerin meydana gelmesinin önüne geçmek, oluşan maddelerin canlı organizmalarda yaratacağı yan etkileri engellemek ve detoksifikasyon mekanizmasını başlatmak üzere vücutta görev yapan savunma sistem bütünlüğüne “Antioksidan Enzim Sistemi” denilmektedir. Antioksidanlar endojen ve ekzojen antioksidanlar olarak ikiye ayrılırlar (Betteridge, 2000). Endojen antioksidanlar enzimatik ve enzimatik olmayan olarak iki bölüme ayrılmaktadır.

Enzimatik olanlara örnek olarak, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon transferaz (GST) verilebilir (Pizzino ve diğerleri, 2017).

Süperoksit dismutaz, vücutta oksidatif strese karşı çok önemli bir antioksidan savunma oluşturur. Bu proteinler süperoksit anyonu serbest radikalinin moleküler oksijen ve hidrojen peroksit parçalanmasını katalize etmektedir. SOD, süperoksit radikalini uzaklaştırır ve serbest radikalden zarar gören vücut hücrelerini onarılmasında görev almaktadır. SOD, süperoksit anyonlarının hidrojen peroksit indirgenmesini katalize etmesinden sorumludur. SOD'un, peroksinitrit oluşturmak için nitrik oksiti (NO) etkisiz hale getiren süperoksit anyonu için NO ile mücadele içine girmektedir. Bunun sonucuyla SOD anyonlarını temizleyerek NO aktivitesini artırır (Chakraborty ve diğerleri, 2009).

Katalaz, en yüksek devir hızına sahip yaygın bir antioksidan enzimdir. Canlı dokularda bulunur. Hidrojen peroksitin su ve moleküler oksijene parçalanmasında rol oynayan önemli bir enzimdir (Brioukhanov ve Netrusov, 2004). Tüm oksijenli solunum yapan canlı organizmalarda mevcuttur (Mueller ve diğerleri, 1997).

Katalaz enziminin eksikliği ya da fonksiyon bozukluğu, tip-2 diyabet, deride pigment kaybı, kardiyovasküler hastalıklar, hipertansiyon, kansızlık, dermatolojik bozukluklar, Alzheimer hastalığı, bipolar bozukluk ve şizofreni gibi birçok hastalıklara yol açabilmektedir (Uchida, 2003). Yapılan bir çalışmada damar sertliği olarak bilinen ateroskleroz olan hastalarda düşük katalaz aktiviteleri bildirilmiştir (Al-Abrash ve diğerleri, 2000).

GPx, mitokondri içerisinde hidrojen peroksidi suya parçalayan önemli bir antioksidandır (Akerboom ve diğerleri, 1981). GPx, memeli hücrelerinin sitoplazmasında ve mitokondrisinde bulunan önemli bir hücresel antioksidan enzimdir. GPx, reaktif oksijen türlerinin gerekli ve zararlı seviyeleri arasındaki dengeyi sağlamaktadır (Rattanawong ve diğerleri, 2021). Genel olarak, GPx birçok kronik hastalığın gelişimi ve ilerlemesine karşı koruyucudur. GPx artışının, temel reaktif oksijen türlerini ortadan kaldırması nedeniyle hücresel işlev bozukluğunu ve hastalığı teşvik edebileceği bazı durumların göstergesi olduğu ifade edilmektedir (Biswas ve Rahman, 2008).

GST, esas olarak sitozolde bulunan başlıca faz II detoksifikasyon enzimidir. GST'lerin primer görevi arasında polar olmayan ksenobiyotik substratların elektrofilik sülfür, karbon ya da nitrojen atomlarına GSH tarafından nükleofilik saldırıyı katalize ederek ksenobiyotikleri detoksifiye etmektedir. Böylece önemli hücresel proteinler ve nükleik asitlerle etkileşimlerini önlenmekle görevlidirler. GST, sentetik enzimler olan gama-glutamil sistein sentetaz ve glutatyon sentetazdan gelen mevcut bir GSH kaynağının yanı sıra GSH konjugatlarını hücrelerden atmak için spesifik taşıyıcıların etkisine bağlıdır. GSH hücrelerin dışına taşınabilmektedir (Anderson ve diğerleri, 1980; Dickmann ve Kuzovkina, 2014). Pestisitlerin kullanımındaki doz aşımı, hedef olmayan konakçı bitkilerin büyümesini farklı şekillerde olumsuz etkileyebilir. Pestisitler, hücrelerde reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuna neden olmaktadır. Oksidatif strese yanıt olarak bitki, hem enzimatik hem de enzimatik olmayan bileşenlerden oluşan antioksidan savunma sistemini harekete geçirmekte olup yapılan çalışmalar mevcuttur (Banerjee ve diğerleri, 2001).

2018 yılında yapılan pestisitlerin domatestede oksidatif strese neden olma açısından değerlendirilmiştir. Bu pestisitlerin domates fidelerinin kök ve sürgün dokularında 1/4X, 1/2X, önerilen uygulama dozu (X), 2X ve 4X olmak üzere beş farklı konsantrasyonda neden olduğu oksidatif hasar değerlendirilmiştir. Verilerin analizi, daha yüksek konsantrasyonlarda pestisit uygulamasının ROS seviyelerini önemli ölçüde yükselttiğini hücre hasarını artırdığını ve hem kök hem de sürgün dokularında tedavi edilmeyen bitkilere kıyasla hücre canlılığını azalttığını ortaya koymuştur (Shakir ve diğerleri, 2018).

Organofosfatlar (OP'ler) dahil olmak üzere farklı pestisitlerin, serbest radikallerin oluşumu ve antioksidan savunma mekanizmalarındaki değişiklik nedeniyle oksidatif stresi tetiklediği bildirilmiştir (Peter ve diğerleri, 2014).

81 kişiden oluşan tarım işçisinden (pestisit püskürtücüleri) oluşan bir kohort, bir ilaçlama sezonu boyunca eritrosit antioksidan enzimlerindeki değişiklikler açısından iki kez değerlendirilmiştir. Asetilkolin esterase (AChE) referans biyomarker olarak kullanılmıştır. Kontrollere kıyasla daha düşük SOD ve glutatyon seviyeleri göstermiştir. Yüksek maruziyet döneminde SOD ve AChE arasında pozitif bir korelasyon gözlenmiş olup AChE'de %15'ten fazla azalma olan bireyler aynı dönemde daha düşük SOD ve CAT aktiviteleri sergilemiştir. GPx ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz maruz kalan popülasyonda etkilenmemiştir. Yapılan çalışmada azalmış enzim aktivitelerinin kronik pestisit

toksisitesiyle (oksidatif hasarın kanser veya nörodejeneratif bozukluklar gibi patofizyolojik bir rol oynadığı) ilgili olumsuz sağlık etkileriyle bağlantılı olup olmadığı, daha fazla araştırma gerektiren çekici bir hipotez olarak ortaya koymuştur (Alavanja ve diğerleri, 2004). Birçok pestisit, ROS oluşumu ve antioksidan veya serbest oksijen radikal temizleyici enzim sistemlerindeki değişiklikler yoluyla oksidatif stresin indüksiyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Sule ve diğerleri, 2022).

Amal ve diğerlerinin yaptığı çalışmada akut organofosfat toksisitesinin oksidatif biyobelirteçler üzerindeki etkileri incelenmiştir. Oksidatif stres ve hücrenin apoptozisi özellikle bakılmıştır. Akut organofosfattan etkilenen hastalarda indirgenmiş glutatyon ve katalaz seviyelerinde önemli düşüş ve malonildialdehit (MDA) (lipid peroksidasyonunun son ürünü) seviyesinde artış gözlenmiştir (Amal ve diğerleri, 2005).

2013 yılında yapılan bir çalışmada organofosfatlı pestisit ve çevresel kirleticilere maruz kalmanın kahverengi boğa balığı *Ictalurus nebulosus* ve midye *Mytilus galloprovincialis*'in farklı dokularında CAT aktivitelerinde önemli bir azalmaya neden olduğunu göstermiştir (Banaee, 2013).

Sucul ekosistemleri kirlüten bazı pestisitlerin balıklar üzerinde oksidatif stresi arttırdığına yönelik çalışmalar mevcuttur. Işık ve Çelik'in yaptığı çalışmada balıkların pestisite maruz kalan dokularında MDA içeriği artmıştır. Antioksidan sistemleri ile ilgili olarak; GST, SOD, GR aktiviteleri ve GSH seviyeleri, kontrollerle karşılaştırıldığında tüm uygulama gruplarında 24, 48 ve 72 saat sonra farklılaşmalar gözlenmiştir. Toplu sonuçlara bakıldığında balıkların pestisitlere maruz kalmasının, dalgalanan antioksidan sistemleri ile birlikte MDA'da bir artışa neden olduğunu göstermiştir (Işık ve Çelik, 2008).

Pestisitler üzerinde yapılan bir çalışmada, asetilkolinesteraz inhibitörü olan karbamata maruz kalmanın hücre içi GSH içeriğinin tükenmesine ve memeli CHO-K1 hücrelerinde GSH/GSSG oranında azalmaya neden olurken; GR ve GPx aktivitelerinin indüklendiğini göstermiştir. Bir karbamat pestisit olan karbofuranın (CF) tek bir subakut dozuna maruz kalan Wistar sıçanlarının RBC membranında CAT ve SOD aktivitelerinde ciddi bir artış ve GST aktivitesinde azalma gözlenmiştir (Gürsoy S. ve Gürsoy O., 2017). Pestisitlerin, beyin ve karaciğer üzerinde olası yan etkilerinin mevcut olduğunu gösteren bazı çalışmalar bulunmaktadır.

Sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada ROS üretimi, bir pestisit olan karbofuranın kronik oral uygulamasına bağlı olarak beyin ve akciğer rapor edilmiştir. Karbofuran uygulamasının sıçan beyinde lipid peroksidasyonunu (LPO) ve antioksidan enzimler olan SOD ve CAT aktivitelerini önemli ölçüde indüklemiştir (Tulok ve Matkovics, 2003). Pestisitlerin, kalp sağlığı üzerinde negatif etkilerinin mevcut olduğuna dair çalışmalar vurgulanmıştır. Klorlu hidrokarbon insektisit ve akarisit olan endosülfan maddesi üzerinde çalışan bir araştırmada, endosulfanın sıçan kalbinde oksidatif stresi indüklediği bildirilmiştir. Ancak çalışmada E vitamininin antioksidan olarak kullanılmasıyla SOD, GPx ve CAT aktivitelerinde önlenebilecek önemli bir artış olmuştur (Jalili ve diğerleri, 2007).

Pestisitlerin, akciğer üzerinde negatif etkilerinin gösterildiği bir araştırma çalışmasında, endotelin dönüştürücü enzim inhibitörü olan fosforamidon ve böcek ilacı olan dieldrin kullanılmıştır. Çalışmada bu iki ürünün neden olduğu genotoksisiteye karşı savunmada antioksidan enzimlerin (CAT ve GPx) katılımı birincil fare akciğer fibroblast kültürlerinde gösterilmiştir.

Sonuçlar incelendiğinde iki pestisit, ROS üretimi yoluyla DNA'ya zarar vermiş ve dolayısıyla oksidatif stres üretmiştir. CAT enzim aktivitesi sadece fosfamidon tarafından indüklenen hasarda azalırken; GPx hem fosfamidon hem de dieldrin tarafından indüklenen hasara karşı koruma sağlamıştır (Rosadele ve Gabriella, 2003).

Tüm yapılan çalışmalar ışığında, kimyasal pestisitlerin doğru dozlarda uygulanmaması çeşitli çevresel tehlikelere ve sağlıkla ilgili sorunlara neden olmaktadır. İnsanlarda veya hayvanlarda yapılan tüm çalışmalar, pestisitlerin ROS üretimine bağlı olarak oksidatif stresi

indüklediğini ve bunun da birçok hastalığın farklı patofizyolojik koşullarının gelişmesine yol açtığını desteklemektedir (Gill ve Tuteja, 2010).

Mekanik ve kimyasal olarak midede parçalanan besinler ince bağırsakta enzimatik değişime uğrayarak absorbe olmaktadır. Bu nedenle ince bağırsakta bulunan epitel hücrelerinin apikal yüzeyinde mikrovilluslar vardır (Arıncı, 2006).

İnce bağırsak duodenum, jejunum ve ileum olmak üzere üç kısımdan oluşmaktadır. Duodenum makrobesin elementlerinin sindiriminin ve emiliminin yapıldığı yerdir. (Arıncı 2006). İnce bağırsağın lümene bakan yüzeylerinde silindirik epitel hücresi, Brunner bezleri ve goblet hücresi içermektedir. Duodenum, jejunum bölgesi ile devam eder ve bu bölgenin submukoza bez içermez. İleum ise ince bağırsağın distal bölümüdür. (Ross ve Pawlina 2010). İnce bağırsak histolojik olarak tunika mukoza, tunika submukoza, tunika seroza ve tunika muskularis olmak üzere dört bölgeden oluşur.

Tunika mukoza ise kendi içerisinde lamina epitelyalis, lamina propriya ve lamina muskularis olmak üzere üç kısımdan meydana gelmektedir. Tunika Submukoza, mukozanın altında bulunan ve gevşek bağ dokusudur. Tunika Muskularis, besin maddelerinin iletilmesinden sorumlu olan kas tabakasıdır. Tunika Serosa, bağ dokusundan oluşmaktadır. (Erdoğan ve diğerleri, 1996). Bu tez çalışmasında bir insektisit olan fenamifosun rat bağırsak dokusu üzerindeki toksik etkisi ve naringenin koruyucu rolü araştırılmıştır.

Araştırmada bağırsak dokusundaki antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, CAT, GPx, GST), MDA seviyesi, asetilkolin esterase aktivitesi ve ince bağırsak dokusundaki histopatolojik değişiklikler araştırılmıştır.

2. MATERİYAL VE YÖNTEM

2.1. Deney Hayvanları

Hayvan deneyleri için Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden izin alınmıştır (G.Ü.ET- 22.011). Deneylerde 24 adet erkek Wistar rat kullanılmış ve her grupta 6 deney hayvanı olacak şekilde dört grup oluşturulmuştur. Ratlar, su ve standart laboratuvar diyeti ile beslenmiş olup 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık fotoperiyodu uygulanmış, oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

2.2. Kimyasallar

Deneysel çalışmada kullanılan fenamifos ve naringenin sigma-aldrich tarafından temin edilmişti.

2.3. Hayvanlara Uygulama Planı

2.3.1. Kontrol grubu

Ratlara 1 ml/kg distile su gavaj yoluyla verilmiştir.

2.3.2. Naringenin grubu

Naringenin (50 mg/kg) uygulanarak gavaj yoluyla verilmiştir.

2.3.3. Fenamifos grubu

Fenamifos (1/25 LD₅₀ :0,76 mg/kg) uygulanarak gavaj yoluyla verilmiştir.

2.3.4. Naringenin + Fenamifos grubu

Fenamifos (0,76 mg/kg) ve Naringenin (50 mg/kg) gavaj yoluyla verilmiştir.

Uygulama günde bir defa olmak üzere toplam 28 gün sürmüştür. Maddelerin uygulandığı ilk gün deneyin 0. günü olarak kabul edilmiş, uygulamalar 28 gün devam etmiştir. Deneysel sürecinin sonunda ratlar, intramuskular yolla ketamin ve ksilazin kombinasyonu ile anestezi altında dişte edilerek ince bağırsak dokuları incelenmiştir.

2.4. Dokuların Elde Edilmesi

Ratlardan alınan ince bağırsak dokuları fosfat tamponu (pH 7.2) ile yıkandı ve homojenizatör (Heidolph Silent Crusher M) kullanılarak homojenize edilmiştir. Homojenatlar antioksidan enzim aktiviteleri ve MDA miktarının tayini için hazırlanmıştır.

Hazırlanan materyal spektrofotometrede (Shimadzu UV 1700, Kyoto, Japan) ölçülmüştür. Protein konsantrasyonu Lowry vd., (1951)'nin belirlediği metoda göre yapılmıştır.

2.5. MDA Seviyelerinin Belirlenmesi

MDA miktarının belirlenmesi için Ohkawa ve ark., (1979)'nin belirlediği metoda göre yapılmıştır. 532 nm'de spektrofotometrede MDA miktarı ölçülmüştür ve sonuçlar nmol/mg protein olarak verilmiştir.

2.6. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

2.6.1. Süperoksit dismutaz (SOD) enzimi

SOD enzim aktivitesinin total olarak belirlenmesinde Marklund S. ve Marklund, G. (1974) geliştirdiği yöntem kullanılmıştır. Absorbans spektrofotometrede ölçülmüş ve pyrogallol'un otooksidasyonunun %50 inhibiyonuna sebep olan protein miktarı toplam SOD aktivitesi olarak hesaplanmış ve 1 mg protein başına toplam SOD aktivitesi U/mg protein olarak verilmiştir.

2.6.2. Katalaz (CAT) enzimi

CAT antioksidan enzim aktivitesi Aebi'nin (1984) geliştirdiği yöntemine göre ölçülmüştür. Peroksizomlardaki katalaz %1'lik Triton X-100 ilave edilerek açığa çıkartılmıştır. Hidrojen

peroksid enzimatik reaksiyonun başlatılması için kullanıldı ve 1 dakika boyunca 240 nm dalga boyunda H_2O_2 'in parçalandığını gösteren azalan absorbans ölçülmüş ve mmol/mg protein olarak ifade edilmiştir.

2.6.3 Glutasyon peroksidaz (GPx) enzimi

GPx enzim aktivitesinin belirlenmesinde Paglia ve Valentine (1987) tarafından belirlenen yöntem kullanılmıştır. Enzimin spektrofotometrede 340 nm'de absorbans ölçümü yapılmıştır. Enzimin spesifik aktivitesi nmol/mg protein olarak ifade edilmiştir.

2.6.4. Glutasyon-S-transferaz (GST) enzimi

GST enzim aktivitesinin ölçülmesinde Habig, Pabst ve Jakoby (1974) tarafından geliştirilen yöntem kullanılmıştır. Enzimin 340 nm'de spektrofotometrede absorbans ölçümü yapılmıştır. Spesifik enzim aktivitesi μ mol/mg protein olarak ifade edilmiştir.

2.7. Asetilkolin Esteraz Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

Moleküler damgalı polimer ile enzim inkübe edildikten sonra eppendorf santrifüj cihazında santrifüjlendi. Daha sonra pH 8 tamponuyla 2 kere yıkandı. Daha sonra süpernatant ve yıkama sularında Ellman metodu kullanılarak aktivite tayini yapıldı (Ellman vd., 1961) Ellman metodunda kullanılan maddelerin miktarlarını kendi enzimimize uygun olarak modifiye ederek aktivite ölçüldü. Buna göre asetilkolin esteraz enzimi 50 mM fosfat tamponunda (pH 8) çözöldü. 39,6 mg ditiyobisnitrobenzoik asit (DTNB) 10 ml fosfat tamponunda (pH 7) çözöldü ve 15 mg sodyum bikarbonat eklendi ve 2 mM'a seyreltildi. Asetiltiyokolin iyodür, kullanılacak miktarda 0,1 mM olarak ayarlandı. Karışımlar 1 dakika boyunca inkübasyondan hemen sonra 412 nm'de (Shimadzu UV-1601 spektrofotometre) aktivite ölçümü yapıldı.

2.8. Işık Mikroskobu İncelemeleri

İnce bağırsak dokusunun histopatolojik incelemeleri için ratların diseke edilmesinin ardından alınan ince bağırsak dokuları %10'luk nötral formalin içinde tespit edilmiştir. Daha sonra dokular yükselen alkol serilerinden geçirilip dehidre edilerek parafin blok

haline getirilmiştir. Parafin bloklardan 4-6 µ kalınlığında kesitler alınıp hematoksilen-eozin boyası ile boyanarak entellan ile daimî preparat haline getirildi. Boyanmış kesitler, Olympus BX-51 ışık mikroskobu ile incelenerek Olympus-E-330 kamera ile fotoğrafları çekilmiştir.

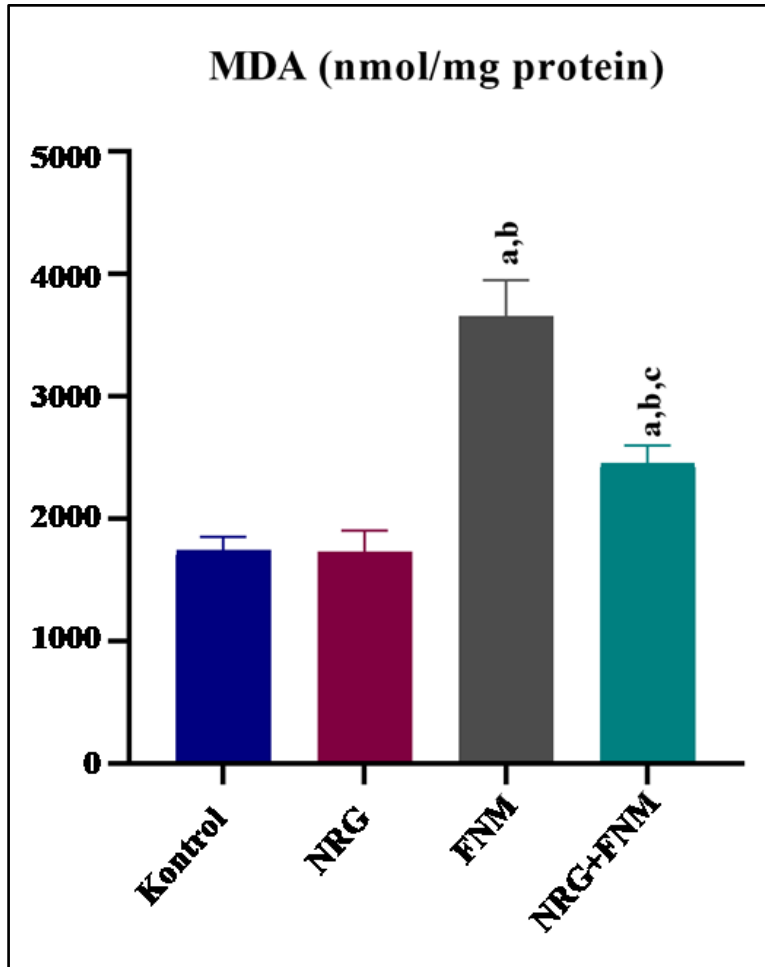
2.9. Verilerin Değerlendirilmesi

Tezde kullanılan istatistiksel veriler Windows SPSS 25.0 bilgisayar programında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey testi kullanılarak değerlendirilmiştir.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1. Malonildialdehit Miktarının Değerlendirilmesi

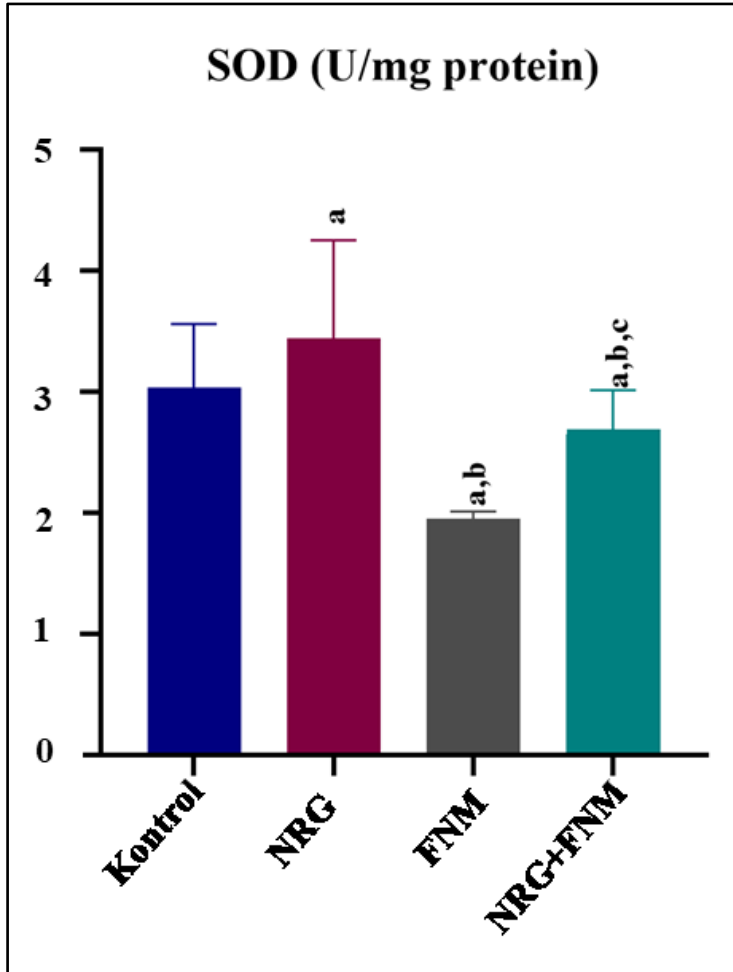
Kontrol ve naringenin uygulanan gruplar MDA seviyesi bakımından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bildirilmemiştir. Fenamifos ve fenamifos+naringenin uygulanan gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında MDA seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi. Fenamifos+naringenin muameleli grup, fenamifos uygulanan grupla karşılaştırıldığında, ince bağırsak dokularındaki MDA seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma meydana gelmiştir ($P<0.05$), (Şekil 3.1).



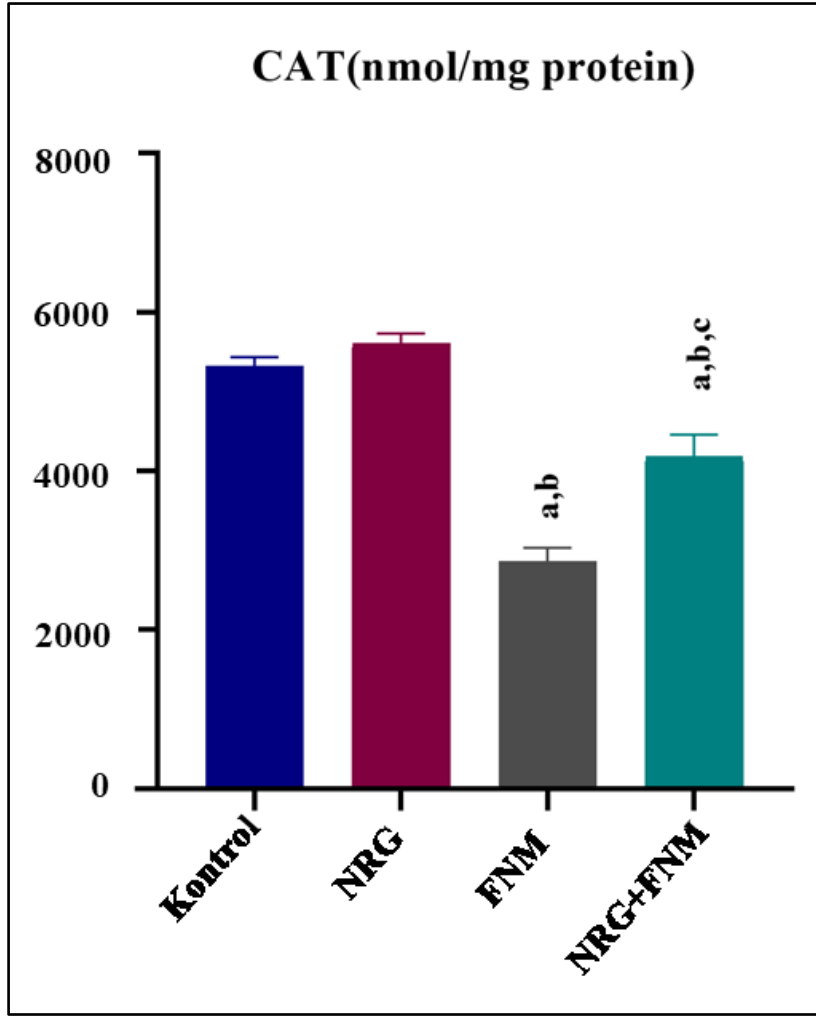
Şekil 3.1. Ratların ince bağırsak dokularındaki MDA seviyeleri. Sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir

3.2. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

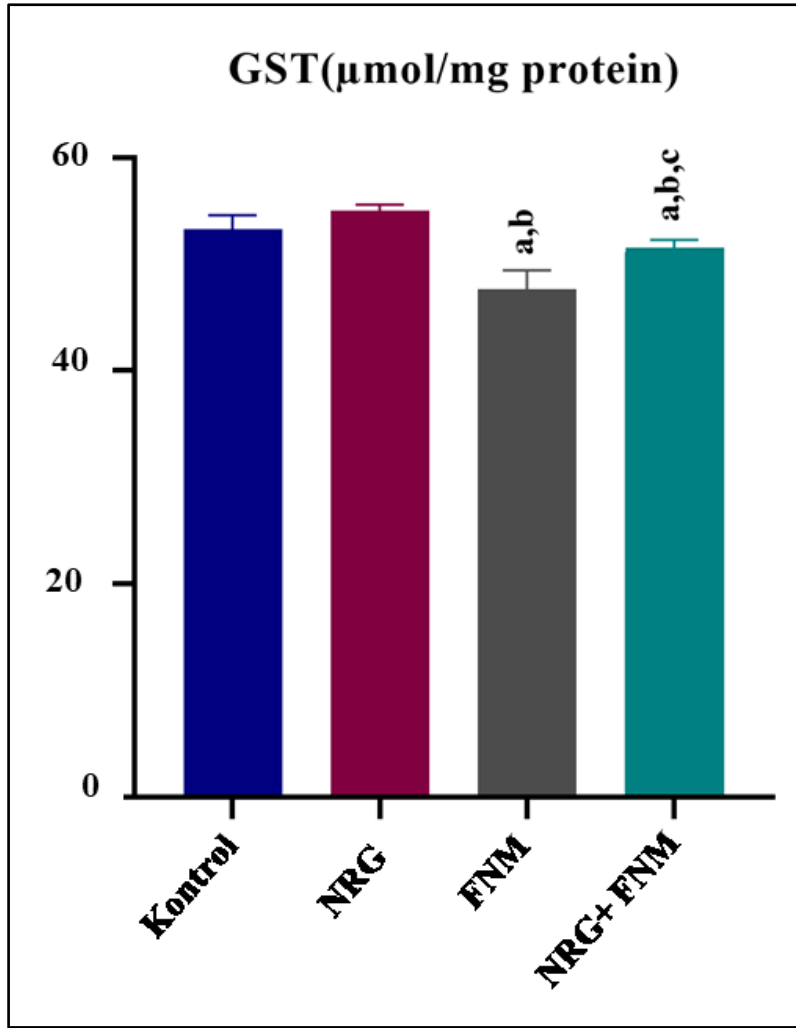
SOD, CAT, GPx ve GST enzim aktiviteleri bakımından, kontrol ve naringenin muameleli grupların ince bağırsak dokularında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Kontrol grubu ile fenamifos ve fenamifos+naringenin muameleli gruplar karşılaştırıldığında, bağırsak dokularındaki SOD, CAT, GPx ve GST enzim aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma meydana gelmiştir. Fenamifos muameleli grup ile fenamifos + naringenin muameleli grup karşılaştırıldığında SOD, CAT, GPx ve GST enzim aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($P<0.05$), (Şekil 3.2-3.5).



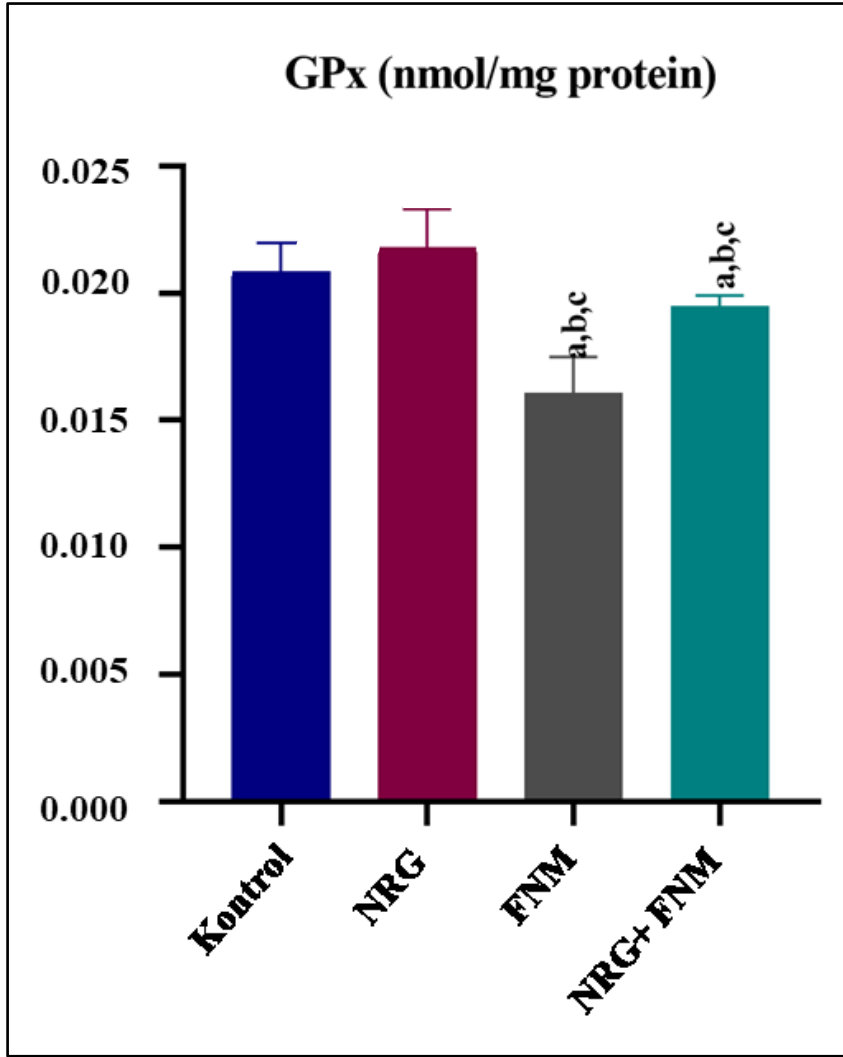
Şekil 3.2. Ratların ince bağırsak dokularındaki SOD enzim aktiviteleri. Sütunler üzerindeki harfler gruplar arasındaki anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir



Şekil 3.3. Ratların ince bağırsak dokularındaki CAT enzim aktiviteleri. Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasındaki anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir



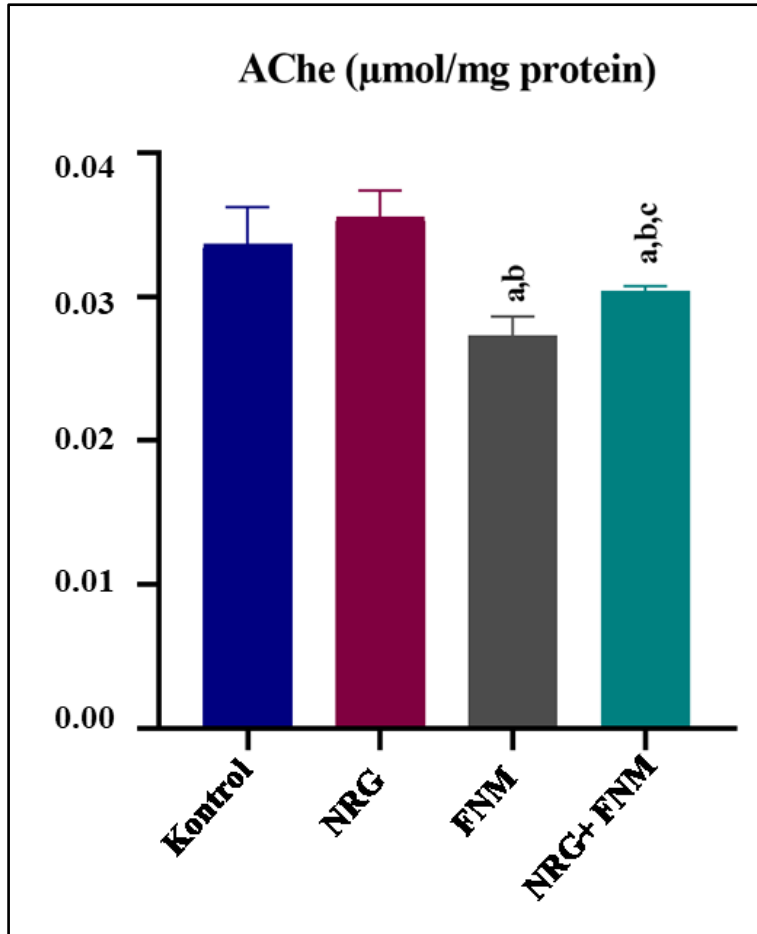
Şekil 3.4. Ratların ince bağırsak dokularındaki GST enzim aktiviteleri. Sütunler üzerindeki harfler gruplar arasındaki anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir



Şekil 3.5. Ratların ince bağırsak dokularındaki GPx enzim aktiviteleri. Sütunler üzerindeki harfler gruplar arasındaki anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir

Asetilkolin esteraz enzim aktivitelerinin değerlendirilmesi

Asetilkolin esteraz enzim aktiviteleri bakımından, kontrol ve naringenin muameleli grupların ince bağırsak dokularında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Kontrol grubu ile fenamifos ve fenamifos+naringenin muameleli gruplar karşılaştırıldığında, bağırsak dokularındaki asetilkolin esteraz aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma meydana gelmiştir. Fenamifos muameleli grup ile fenamifos + naringenin muameleli grup karşılaştırıldığında asetilkolin enzim aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($P<0.05$), Şekil 3.6).



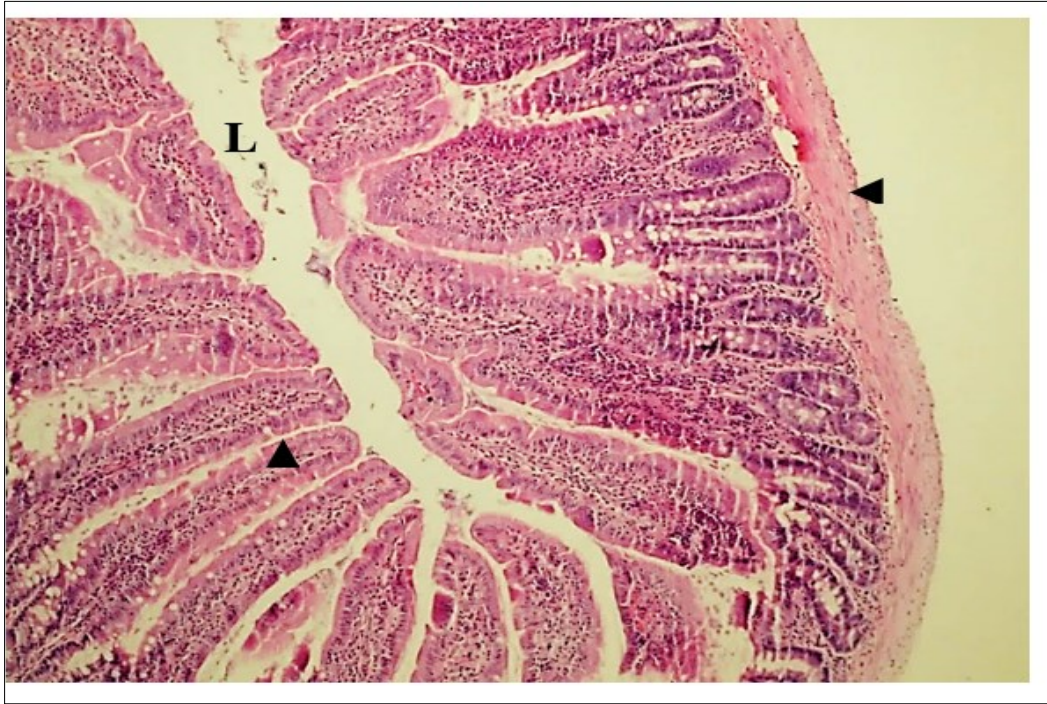
Şekil 3.6. Ratların ince bağırsak dokularındaki AChE enzim aktiviteleri. Sütunler üzerindeki harfler gruplar arasındaki anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir

3.3. Işık Mikroskobu Bulgularının Değerlendirilmesi

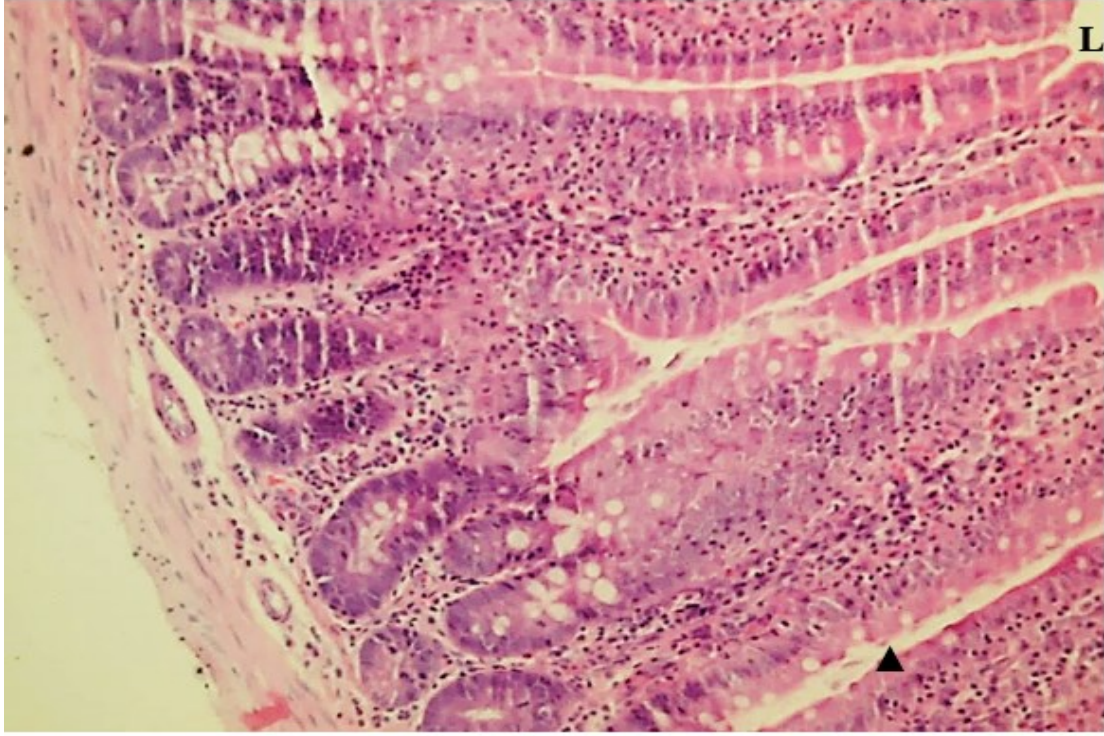
Deneyin 4. haftasının sonunda kontrol grubu ve naringenin uygulanan gruptaki ratların ince bağırsak dokuları normal histolojik yapıda olup ince bağırsağı astarlayan villuslar ile bu yapıların üzerindeki epitel hücrelerinin normal yapıda olduğu gözlenmiştir (Resim 3.1-3.4).

Fenamifos muamelesinden 4 hafta sonra ratların ince bağırsak dokusunda villuslarda nekrotik alanlar ve villus dejenerasyonu tespit edilmiştir (Resim 3.5-3.8).

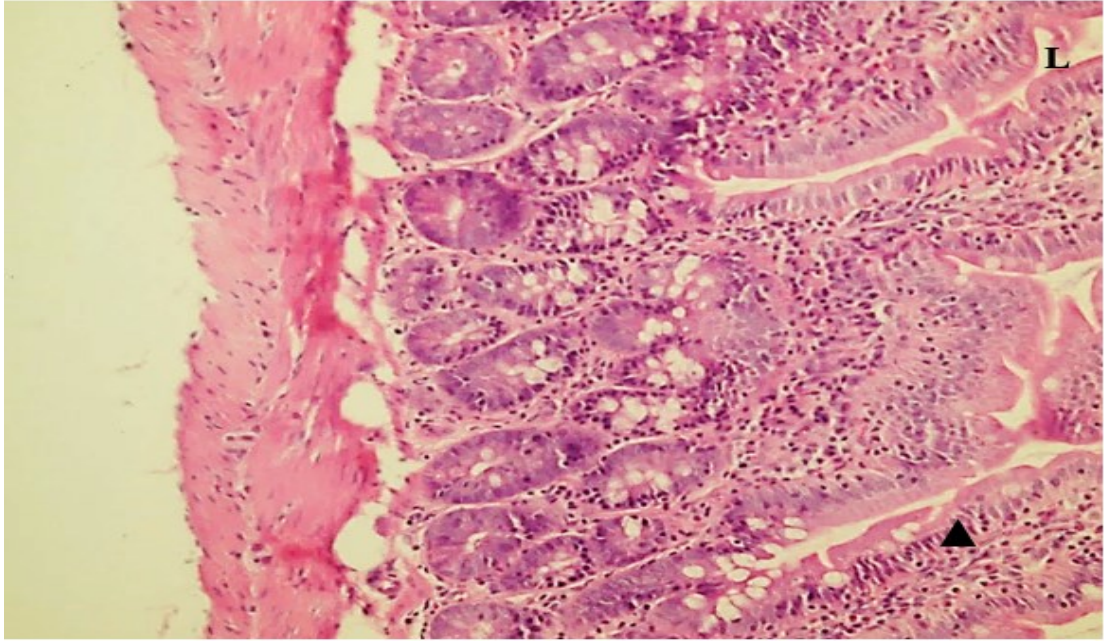
Naringenin+ fenamifos grubundaki ratların ince bağırsak dokusundaki histopatolojik değişikliklerde azalmalar gözlenmiştir (Resim 3.9-3.12).



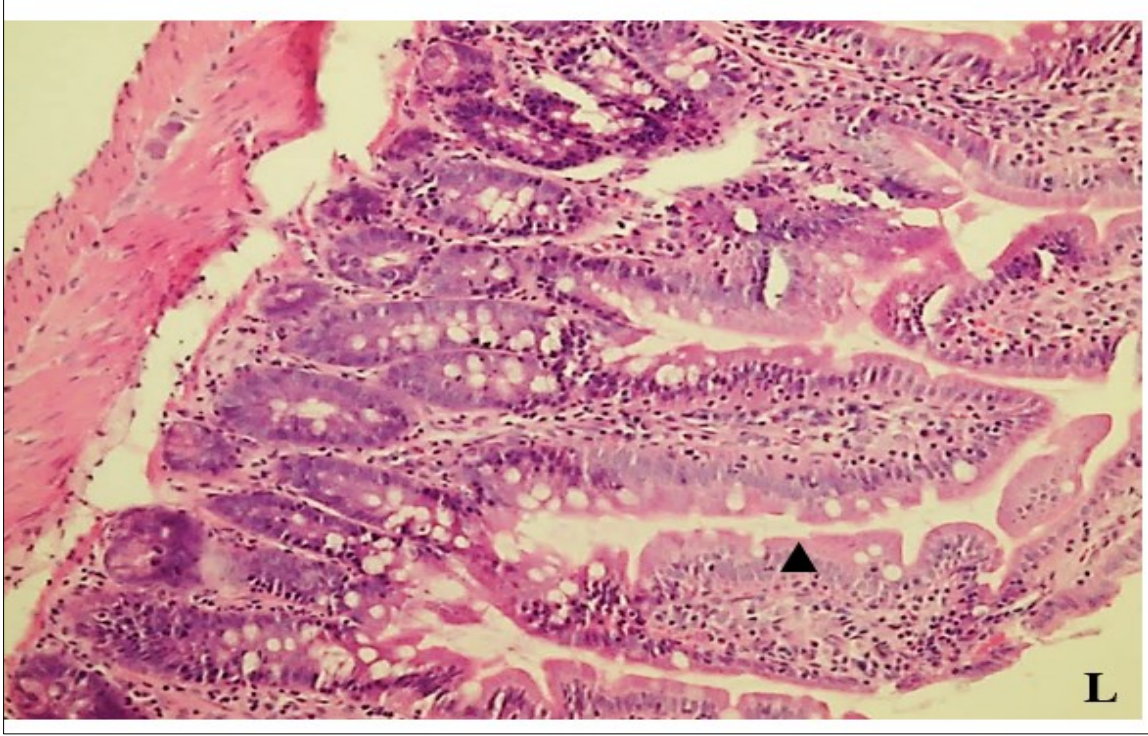
Resim 3.1. Kontrol grubu ratların ince bağırsaklarının histolojik yapısı, H&E, X100. L: Lümen, ▲: Villus, ◄: Kas



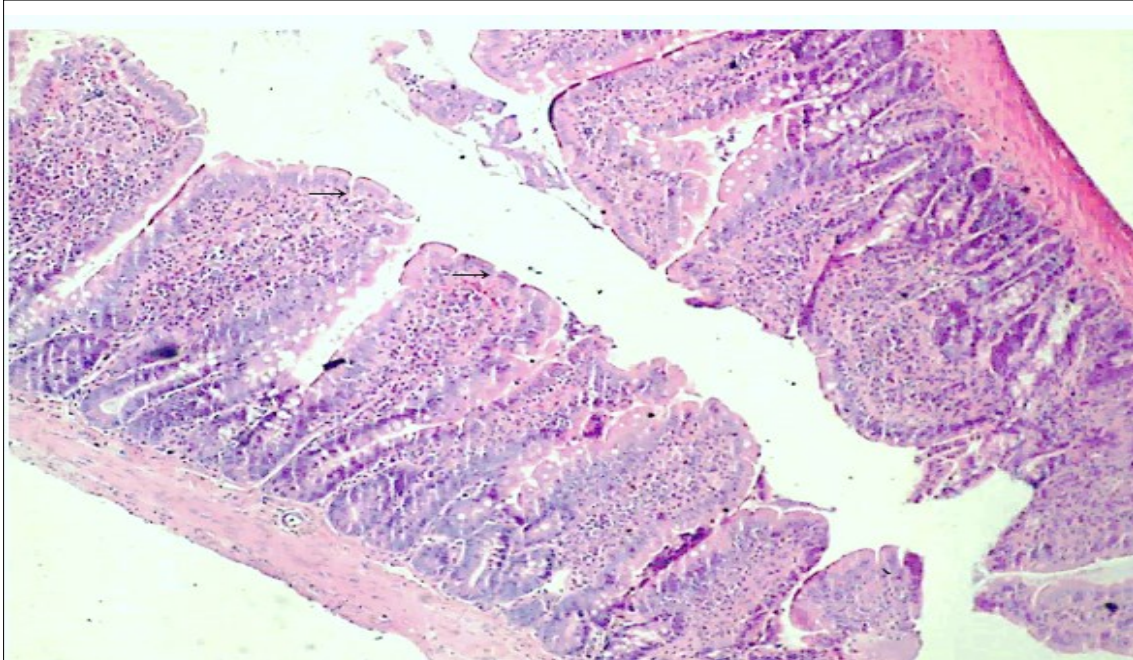
Resim 3.2. Kontrol grubu ratların ince bağırsaklarının histolojik yapısı, H&E, X200. L: Lümen, ▲: Villus



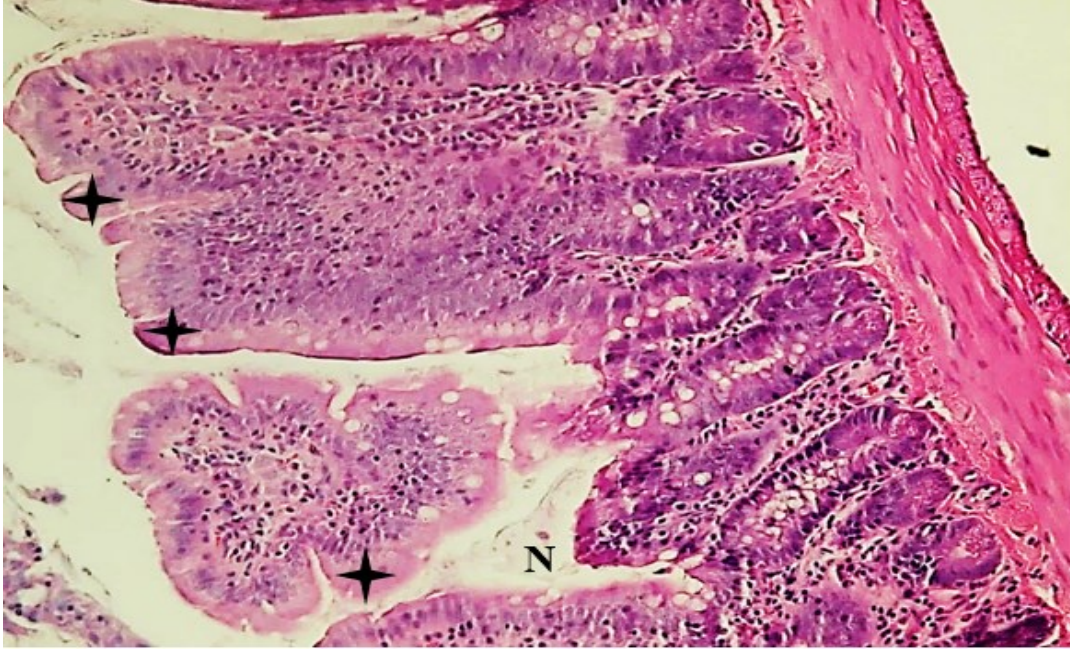
Resim 3.3. Naringenin uygulanan ratların ince bağırsaklarının histolojik yapısı, H&E, X200. L: Lümen, ▲: Villus



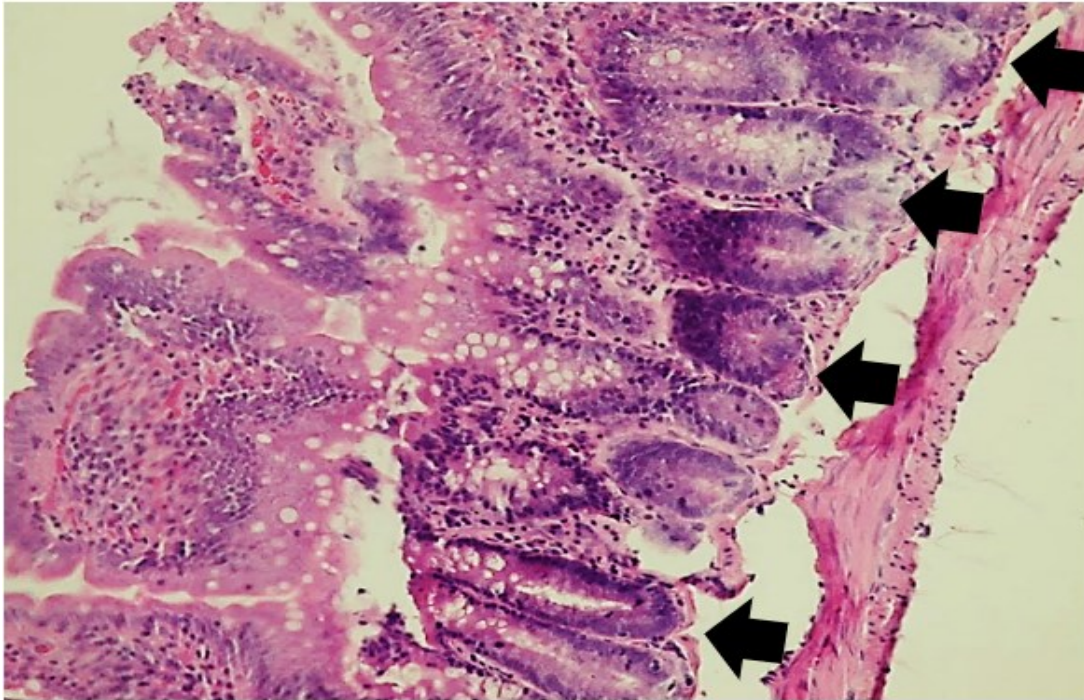
Resim 3.4. Naringenin uygulanan ratların ince bağırsaklarının histolojik yapısı, H&E, X200. L: Lümen, ▲: Villus



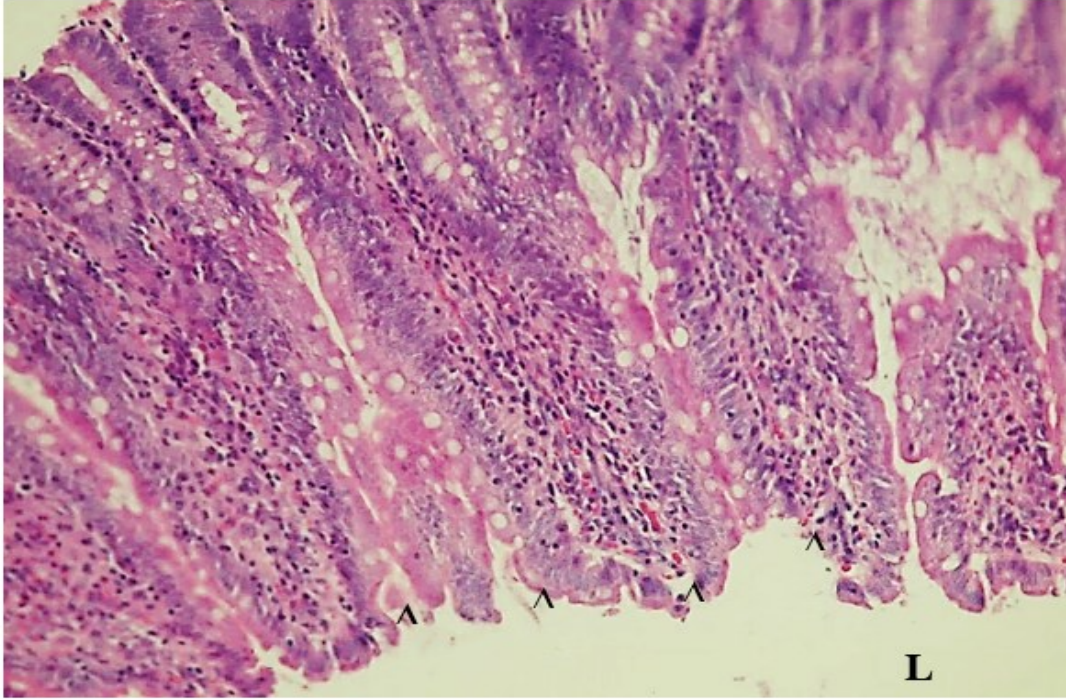
Resim 3.5. Fenamifos uygulanan ratların ince bağırsak histolojik yapısı, H&E, X200. Kümelenme, (→)



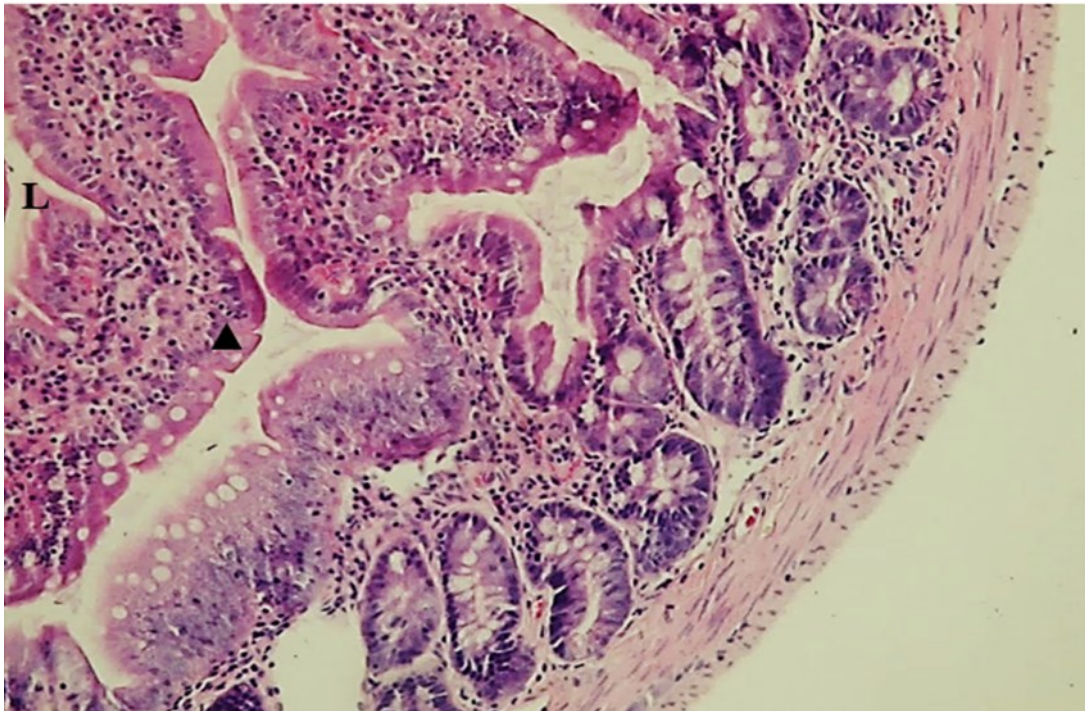
Resim 3.6. Fenamifos uygulanan ratların ince bağırsak histolojik yapısı, H&E, X400. Kümeleşme (✱), nekrotik alanlar (N)



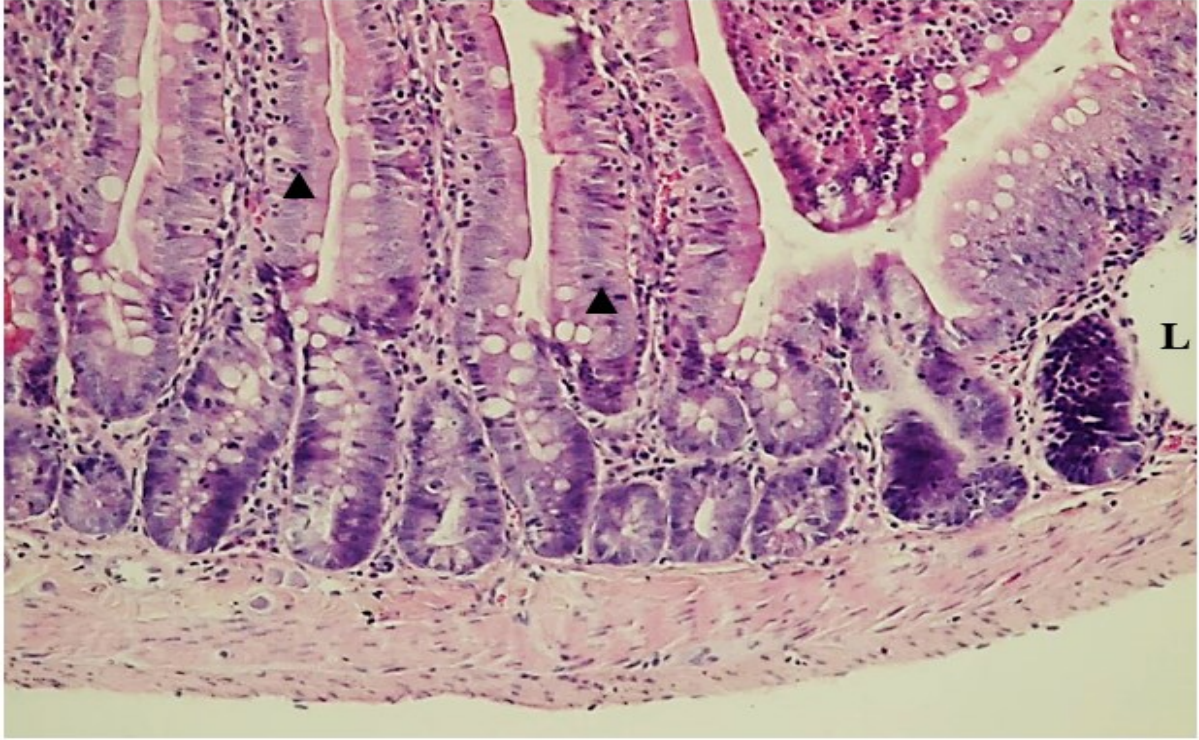
Resim 3.7. Fenamifos uygulanan ratların ince bağırsak histolojik yapısı, H&E, X400. Villuslarında düzensizleşme ve bazal laminada b ozulma (➡)



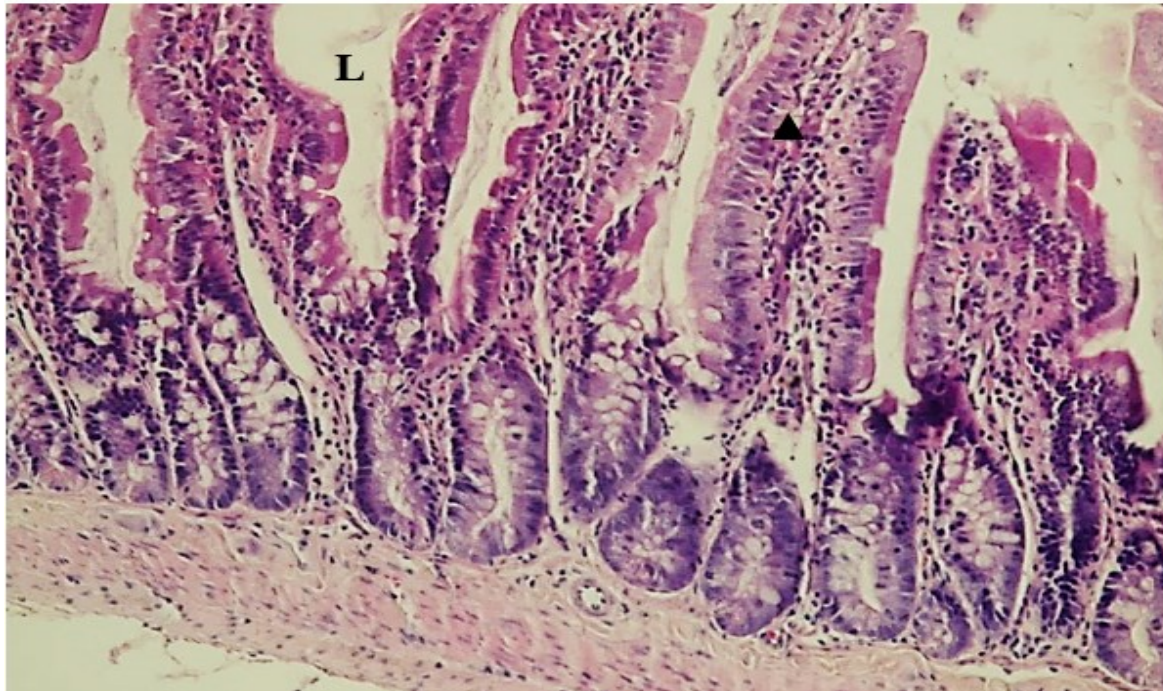
Resim 3.8. Fenamifos uygulanan ratların ince bağırsak histolojik yapısı, H&E, X200. Villuslarda kopmalar (Δ)



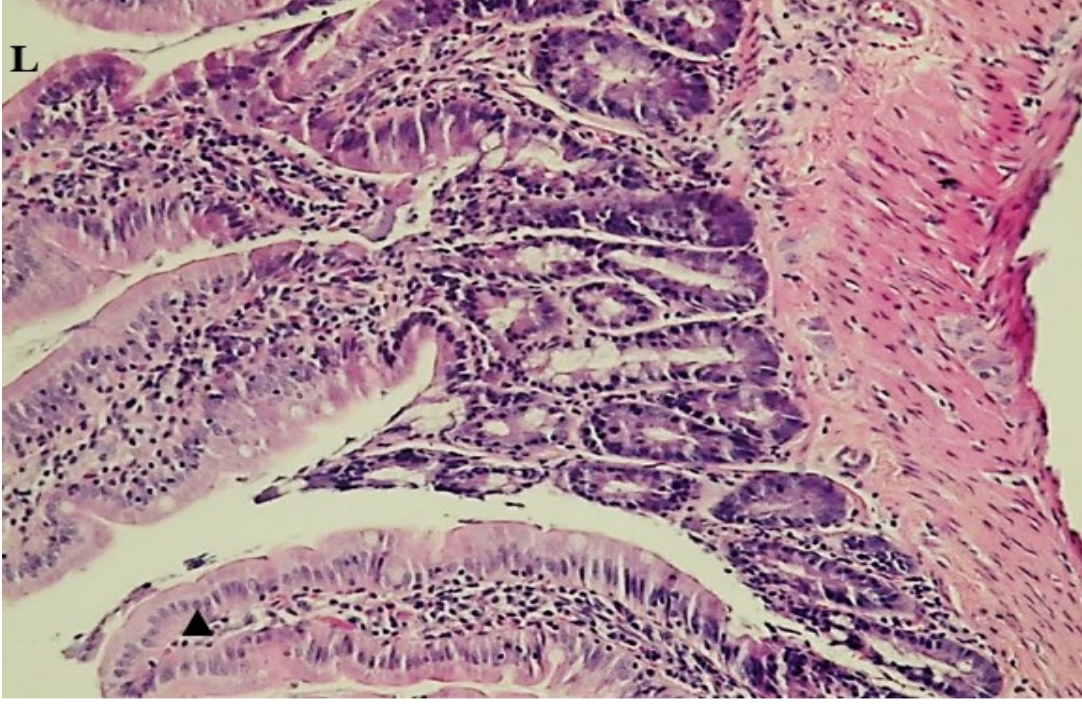
Resim 3.9. Fenamifos ve naringenin uygulanan ratların ince bağırsak dokularının histolojik yapısı, H&E, X200. L: Lümen, ▲: Villus



Resim 3.10. Fenamifos ve naringenin uygulanan ratların ince bağırsak dokularının histolojik yapısı, H&E, X200. L: Lümen, ▲: Villus



Resim 3.11. Fenamifos ve naringenin uygulanan ratların ince bağırsak dokularının histolojik yapısı, H&E, X400. L: Lümen, ▲: Villus



Resim 3.12. Fenamifos ve naringenin uygulanan ratların ince bağırsak dokularının histolojik yapısı, H&E, X400. ▲ : Villus

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Organofosfatlı bileşikler asetilkolin esteraz inhibitörleridir. Bu bileşikler bir pestisit olarak kullanıldığında maruz kalma miktarına göre canlı organizmalarda toksisite oluşturma potansiyeline sahiptir. Yaygın kullanımı nedeniyle organofosfatlar dünyada tarımsal, kazara veya intihar amaçlı maruziyetten kaynaklanan zehirlenmelerin en yaygın nedenlerinden biridir. Organofosfatlara maruz kalmak kafa karışıklığı, baş ağrısı ve hafıza bozukluğu gibi semptomlara neden olabilir ve tekrarlanan maruziyetlerde nörotoksik etkileri olabilmektedir (Colović ve diğerleri, 2013).

Fenamifos, asetilkolinesteraz enzimini bloke edici, gıda ve gıda dışı ürünlerde nematodların ve emici böceklerin kontrolü ve çimdeki nematodların kontrolü için kullanılan bir organofosfatlı insektisit ve nematisittir (Karpouzas vd., 2004). Meyve ve sebze yetiştiriciliği, süs bitkilerinin büyümesinde ortamda bulunarak ürünün kalitesinin korunması açısından majör bir etkiye sahiptir. Zaman içerisinde yapılan çalışmalar doğrultusunda fenamifosun; oral, dermal ve inhalasyon maruziyetinden sonra oldukça toksik etki gösterdiğine dair bulgular bildirilmiştir (Lekaashree ve diğerleri, 2020).

Fenamifos kullanım dozlarına göre canlı organizmalar üzerinde akut ve kronik etkileri bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada dişi ratlarda oral LD₅₀ 2 ila 19 mg/kg arasında değişirken, erkek ratlarda 2 ila 15 mg/kg arasında değişmektedir. Klinik bulgular arasında titreme, göz yaşarması, ishal, apati, palmospazmlar, nefes darlığı ön planda olarak sıralanmıştır (Kimmerle ve Lorke, 1967).

Pestisit hasarlarının incelendiği diğer bir çalışma sırasında meydana gelen ölümlerin zatürree, hipotonisite ve ince bağırsağın atonisine neden olabileceği bildirilmiştir. Çalışmanın sonunda sıçanlarda hafif ila şiddetli pnömoni, kronik nefrit ve testis atrofisi gözlenmiştir (Pauluhn ve Mohr, 2001).

Bu tez çalışmasında 1/25 LD₅₀ dozu deney hayvanlarına uygulanmış olup dozu 19 mg/kg olarak hesaplanmıştır (Singh ve diğerleri, 2006). Uygulamalar 28 gün sürmüş olup fenomifosun ratlar üzerindeki etkisi histopatolojik olarak villuslarda dejenerasyonu, bazal laminada ayrılma ve nekroza neden olmuştur.

Organofosforlu bileşiklere maruz kalma hem in vitro hem de in vivo oksidatif strese neden olduğuna dair çalışmalar mevcut olup organofosforlu bileşiklerin hücre modellerinde in vitro inkübasyonunun, ROS üretimini artırdığı ve endojen antioksidan enzimlerde değişikliklere neden olarak serbest radikal aracılı lipid peroksidasyonuna yol açtığı gösterilmiştir (Gultekin ve diğerleri, 2000).

Antioksidan enzimler arasında SOD, CAT, GPx ve GSH olmak üzere hücre içi oksidatif stresin giderilmesinde önemli enzim ajanlarıdır.

Hücre savunma sisteminin oluşması ve hücre hasarından canlı mekanizmaları korumak amaçlı işlevleri mevcuttur. Birincil savunma hattını oluşturan bu ajanlar, oksijenin kısmen indirgenmesi ile oluşur. Kısa ömürlü ve güçlü oksidan özellikte oksijen metabolitleridir (Matés ve diğerleri, 1999).

Savunma sisteminin bazı durumlarda doğru çalışmaması sonucu oluşan lipid peroksidasyonu, yağ asidi zincirlerinden hidrojen atomlarının koparılması sonucunda yağ asidi zincirinin bir lipid radikali niteliğini kazanmasıyla başlamaktadır. Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan malonildialdehit, çoklu doymamış yağ asididir. Hücre içerisinde inflamasyonun artmasıyla dokudaki miktarı artmaktadır. Yapılan birçok çalışmada MDA seviyelerinin artması, oksidatif stresi artmasıyla korelasyon gösterdiği için iyi bir gösterge olarak kullanılmaktadır (Ayala ve diğerleri, 2014).

Melatonin maddesinin koruyucu etkisinin kanıtlandığı bir çalışmada kullanılan pestisit ile ratlarda jejunum ve diğer dokularda MDA seviyelerinin arttığını, buna bağlı olarak lipid peroksidasyonunun olduğu bildirilmiştir. Melatonin uygulaması sonrasında MDA seviyesinin düştüğü SOD, CAT, GPx ve GST antioksidan enzimlerinin arttığı gözlenmiştir (Buyukokuroglu ve diğerleri, 2008). Yapılan bu tez çalışmasında ise fenamifos uygulaması sonrası ince bağırsak dokusundan fenamifosun MDA düzeylerini arttığı sonuç olarak da SOD, CAT, GPx ve GST antioksidan enzimlerinin düzeylerini azalttığı gözlenmektedir.

Organofosfatlı bir pestisit olan dichlorvos ile vitamin C ve E vitaminin ince bağırsak dokuları üzerindeki etkisinin araştırıldığı çalışmada düşük doz dichlorvos ratların ince bağırsak dokularında patolojik değişikliklerin oluşmasına sebep olduğu gözlenmektedir.

Vitamin C ve E'nin, dichlorvosun ince bağırsak dokusunda meydana getirdiği patolojik değişiklikleri önleyemediği tespit edilmiştir (Çetin ve diğerleri, 2008).

2007 yılında yapılan bir diğer çalışmada ise E vitamininin diyabetik sıçanların ince bağırsağındaki oksidatif stres durumu üzerindeki etkisini araştırılmıştır. Yapılan çalışmada E vitamini ile tedavi lipid peroksidasyonunu ve protein oksidasyonunu önemli ölçüde azalttığı ve ayrıca CAT aktivitesini ve SOD' yi arttırdığı sonuçlanmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen veriler doğrultusunda, diyabetik sıçanların ince bağırsağında pestisit etkisinin, oksidatif stres oluştuğu ortaya koymuştur (Shirpoor ve diğerleri, 2007).

Yapılan bu tez çalışmasında C vitamin açısından zengin olan naringenin, ince bağırsak üzerinde oksidatif stresi azaltıcı etkiye sahip olabileceği vurgulanmıştır.

Asetilkolin estera (AChE) öncelikle postsinaptik nöromusküler bölümler, özellikle kaslarda ve sinirlerde bulunan kolinerjik enzimdir. Asetilkolin (ACh), doğal olarak oluşan bir nörotransmitter ve görevleri arasında asetik asit ve koline parçalamaktadır (Silman ve Sussman, 2008).

AChE'nin birincil rolü, ACh dağılımını ve yakındaki reseptörlerin aktivasyonunu önlemek için sinapslar arasındaki nöronal iletimi ve sinyali sonlandırmaktır. Organofosfatlar AChE'yi inhibe eder. Pestisitlerin ve sinir ajanlarının önemli bir bileşenidirler (Trang ve Khandhar, 2023). Bu tez üzerinde asetilkolin estera fenamifos grubunda az aktifken kontrol ve naringeninde fazlayken, fenamifos+naringenin uygulama yapılan gruba ise kontrole yakın olduğu bildirilmiştir.

2010 yılında yapılan bir çalışmada, organofosfatlı bir pestisit olan klorprifos'un ratların ince bağırsakları üzerine olumsuz etkileri ve kuersetin ve kateşin'in bağırsakları koruyucu özelliği araştırılmıştır. Klorprifos uygulanan ratların ince bağırsak dokusunda villuslarda atrofi, nekroz ve muskular mukozada ödem gözlenmiş olup kateşin, klorprifos ve kuersetin uygulanan gruplarda mikroskobik bulguların atrofisinin hafif olduğu gözlenmiştir. Çalışma sonucunda olarak kateşin ve kuersetinin, klorprifosun meydana getirdiği hasarı azalttığı tespit edilmiştir (Özmen ve diğerleri, 2010). Bu tez çalışmasında organofosfatlı bir pestisit olan fenamifosun ince bağırsak üzerinde doku hasarına sebep olmuştur. Naringenin uygulaması sonucunda dokudaki hasarın azaldığı bildirilmiştir.

Antioksidan açısından zengin olan nar kabuğu tozunun sıçanların ince bağırsağında dekstran sülfat sodyum (DSS) ile indüklenen lipid peroksidasyonuna karşı önleyici etkisini araştırdığı çalışmada; ince bağırsak ve karaciğerde glutatyon/glutatyon disülfid (GSH/GSSG) redoks durumu ve antioksidan enzim aktivitelerini, nar tozunun GSH/GSSG redoks potansiyelini artırarak ince bağırsağı DSS kaynaklı lipid peroksidasyonuna karşı koruduğunu göstermiştir (Al-Gubory ve diğerleri, 2021).

Yapılan bir diğer çalışmada punisik asit (PuA) gibi konjuge linolenik asitlerin ana kaynağı olan nar çekirdeği yağı (PSO), güçlü anti-inflamatuar özelliklerinin nekrotizan enterokolit (NEK), şiddetli ve aşırı bağırsak iltihabı üzerindeki etkisi çalışılmıştır. Uygulama sonucunda nar çekirdeği yağı yenidoğan rat modelinde NEK'e karşı koruma sağlamıştır. Bu koruyucu etki, bağırsak epitel homeostazının iyileşmesi ve PSO'nun gelişen bağırsak mukozası üzerindeki güçlü anti-inflamatuar etkisi ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Coursodon-Boydiddle ve diğerleri, 2012).

Alkolik karaciğer hastalığı ve nar ekstratının (POM) aşırı alkolün neden olduğu bağırsak sızıntısı, endotoksemi ve inflammatuar karaciğer hasarına karşı koruma sağlayıp sağlamadığını araştırdığı bir çalışmada, aşırı alkole maruz kalma durumunda proteinlerinin seviyelerini artırdığı gözlenmiştir. Bu artış, önemli ölçüde yükselmiş plazma endotoksini ve inflammatuar yağlı karaciğer ile sızdıran bağırsağa neden olmuştur. Nar ön uygulaması, yüksek oksidatif ve nitrat stres belirteç proteinlerini inhibe ederek alkole bağlı bağırsak bariyeri disfonksiyonunu, plazma endotoksini ve inflammatuar karaciğer hastalığını önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (Cho ve diğerleri, 2018). Bu tez çalışmasında ise fenamifosun ince bağırsakta yarattığı hasarda naringenin iyileştirici bir etki göstermiştir.

Yapılan bu tez çalışmasında fenamifosun ince bağırsak dokusu üzerinde toksisitesi üzerine antioksidan özelliğe sahip naringenin koruyucu özelliği bildirilmiştir. Naringenin, fenamifosun ince bağırsak dokusunda oluşturduğu oksidatif stresi azaltmıştır.

Fenamifosla birlikte naringenin uygulanan grup, fenamifos uygulanan grupla karşılaştırıldığında, ratların ince bağırsaklarında MDA seviyesinde anlamlı bir azalma gözlenirken, antioksidan enzim (SOD, CAT, GPx ve GST) aktivitelerinde de anlamlı bir artış gözlenmiştir. Fakat fenamifos ile birlikte naringenin uygulanan grup, kontrol grubu ile

karşılaştırıldığında antioksidan enzim aktivitelerinde bir artış olsa bile istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Yapılan bu subakut çalışmadaki kantitatif analizlere dayanarak, naringenin fenamifosla yol açtığı ince bağırsak toksisitesini azalttığını söylemek mümkündür. Çalışmada kullanılan düşük doz fenamifosun ratların ince bağırsak dokusu üzerinde ciddi olumsuz değişikliklere yol açmıştır. Naringenin koruyucu özelliği olduğu bu tez çalışmasında gösterilmiştir. Ancak naringenin koruyucu özelliğini tam olarak göstermesi için belki daha uzun bir zamana daha uzun kronik veya subkronik çalışmalara ihtiyacı olabilir ya da ratlara uygulanan naringenin dozunu artırmak gerekebilir. Bu yüzden pestisit toksisitesine karşı naringenin antioksidan özelliğini araştıran bu tez çalışması naringenin yapılacak olan diğer çalışmalar ve özellikle kronik veya subkronik çalışmalara ışık tutacaktır.

KAYNAKLAR

- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126.
- Adeyinka A, Muco E. and Pierre L. (2023). *Organophosphates*. StatPearls Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. İnternet erişim adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499860/>
- Akerboom T.P.M. and Sies H. (1981). Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples. *Methods in Enzymology*, 77, 373-382.
- Aktar, M. W., Sengupta, D. and Chowdhury, A. (2009). Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. *Interdisciplinary Toxicology*, 2(1), 1-12.
- Alavanja, M. C., Hoppin, J. A. and Kamel, F. (2004). Health effects of chronic pesticide exposure: cancer and neurotoxicity. *Annual Review of Public Health*, 25, 155-197.
- Al-Abrash, A. S., Al-Quobaili, F. A. and Al-Akhras, G. N. (2000). Catalase evaluation in different human diseases associated with oxidative stress. *Saudi Medical Journal*, 21(9), 826-830.
- Al-Gubory, K. H., Laher, I. and Garrel, C. (2021). Pomegranate peel attenuates dextran sulfate sodium-induced lipid peroxidation in rat small intestine by enhancing the glutathione/glutathione disulfide redox potential. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(10), 4278-4287.
- Amal, A., Mashali, Howaida, A., Nounou, Gihan, M. S., Manal, H. and Abdel, A., (2005), Role of oxidative stress and apoptosis into acute organophosphorus intoxicated patients. *Journal Medicine Research Institutional*, 26, 255-263.
- Anderson M.E., and Bridges R.J, et. al., (1980). Direct evidence for inter-organ transport of glutathione and that the non-filtration renal mechanism for glutathione utilization involves g-glutamyl transpeptidase. *Biochemical Biophysical Research Community*, 96(2), 848-853.
- Arıncı, K. ve Elhan, A. (2014). *Anatomi*, 5. Baskı, Güneş Kitabevi, Ankara.
- Ayala, A., Muñoz, M. F. and Argüelles, S. (2014). Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 360-438.
- Azuma, T., Shigeshiro, M., Kodama, M., Tanabe, S. and Suzuki, T. (2013). Supplemental naringenin prevents intestinal barrier defects and inflammation in colitic mice. *The Journal of Nutrition*, 143(6), 827-834.
- Banaee, M. (2013). Physiological Dysfunction in Fish After Insecticides Exposure. InTech.
- Banerjee, B. D., Seth, V. and Ahmed, R. S. (2001). Pesticide-induced oxidative stress: perspectives and trends. *Reviews on Environmental Health*, 16(1), 1-40.

- Bereda G. (2022). Poisoning by Organophosphate Pesticides: A Case Report. *Cureus*, 14(10), e29842.
- Berkes F. (1993). *Traditional ecological knowledge in perspective. Traditional Ecological Knowledge: Concepts and Cases, Canadian: Museum of Nature/International Development Research Centre, International Program on Traditional Ecological Knowledge International Development Research Center: 1-9. ISBN 1-895926-00-9. <https://library.um.edu.mo/ebooks/b10756577a.pdf> adresinden erişilmiştir.* Erişim tarihi: 10.10.23
- Bernardes, M. F. F., Pazin, M., Pereira, L. C. and Dorta, D. J. (2015). Impact of Pesticides on Environmental and Human Health. *In Toxicology Studies - Cells, Drugs and Environment*.
- Biswas, S. K. and Rahman, I. (2009). Environmental toxicity, redox signaling and lung inflammation: the role of glutathione. *Molecular Aspects of Medicine*, 30(1-2), 60–76.
- Buyukokuroglu, M.E., Cemek M. and Yurumez, Y. *et al.* (2008). Antioxidative role of melatonin in organophosphate toxicity in rats. *Cell Biology of Toxicology*, 24, 151–158.
- Betteridge D. J. (2000). What is oxidative stress? *Metabolism*, 49(2), 3–8.
- Brioukhanov, A. L. and Netrusov, A. I. (2004). Catalase and superoxide dismutase: distribution, properties, and physiological role in cells of strict anaerobes. *Biochemistry*, 69(9), 949–962.
- Čadež, T., Kolić, D., Šinko, G. and Kovarik, Z. (2021). Assessment of four organophosphorus pesticides as inhibitors of human acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. *Scientific Reports*, 11(1), 21486.
- Casida J.E and Bryant R. J. (2017). The ABCs of pesticide toxicology: amounts, biology, and chemistry. *Toxicology Research*, 6(6), 755-763.
- Casida, J. E. and Durkin, K. A. (2017). Pesticide Chemical Research in Toxicology: Lessons from Nature. *Chemical Research in Toxicology*, 30(1), 94–104.
- Colović, M. B., Krstić, D. Z., Lazarević-Pašti, T. D., Bondžić, A. M. and Vasić, V. M. (2013). Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology. *Current Neuropharmacology*, 11(3), 315–335.
- Coursodon-Boyiddle, C. F., Snarrenberg, C. L., Adkins-Rieck, C. K., Bassaganya-Riera, J., Hontecillas, R., Lawrence, P., Brenna, J. T., Jouni, Z. E. and Dvorak, B. (2012). Pomegranate seed oil reduces intestinal damage in a rat model of necrotizing enterocolitis. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, 303(6), 744–751.
- Chen, R., Qi, Q. L., Wang, M. T. and Li, Q. Y. (2016). Therapeutic potential of naringin: an overview. *Pharmaceutical Biology*, 54(12), 3203–3210.

- Chakraborty P, Kumar S, Dutta D. and Gupta V. (2009). Role of antioxidants in common health diseases. *Resource Journal Pharmacy Technology*, 2(2), 238–244.
- Cho, Y. E. and Song, B. J. (2018). Pomegranate prevents binge alcohol-induced gut leakiness and hepatic inflammation by suppressing oxidative and nitrative stress. *Redox Biology*, 18, 266–278.
- Çetin, A., Ulusoy, Y., Öğütücü, A., Uzun, F.G. and Demir, F. (2008). Dichlorvos'un ratların ince bağırsak dokusu üzerine etkisi ve vitamin C ve E'nin koruyucu rolü . *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 19, 47-52.
- Damalas, C. A. and Eleftherohorinos, I. G. (2011). Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 8(5), 1402–1419.
- Dickmann, D. and Kuzovkina, Yulia. (2014). *Poplars and Willows in the World*. (First edition) USA, 8-91.
- Duda-Chodak, A. (2012). The inhibitory effect of polyphenols on human gut microbiota. *Journal of Physiological Pharmacology*, 63(5), 497-503.
- Elnawasany, S., Haggag, Y. A., Shalaby, S. M., Soliman, N. A., El Saadany, A. A., Ibrahim, M. A. A. and Badria, F. (2023). Anti-cancer effect of nano-encapsulated boswellic acids, curcumin and naringenin against HepG-2 cell line. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 23(1), 270.
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V., Jr. and Feather-stone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*. 7, 88–95.
- Erdoğan, D., Görgün, M., Hatiboğlu, T. ve Ilgaz, C. (1996). *Özel Histoloji*. Ankara: Sbad Yayınları. 85-91.
- Fenik, J., Tankiewicz, M. and Biziuk, M. (2011). Properties and determination of pesticides in fruits and vegetables. *Trends in Analytical Chemistry*, 30(6), 814–826.
- Fuentealba, R. A., Farias, G., Scheu, J., Bronfman, M., Marzolo, M. P. and Inestrosa, N. C. (2004). Signal transduction during amyloid-beta-peptide neurotoxicity: role in Alzheimer disease. *Brain Research Reviews*, 47(1-3), 275–289.
- Galloway, T. and Handy, R. (2003). Immunotoxicity of organophosphorous pesticides. *Ecotoxicology*, 12, 345-363.
- Gill, S. S. and Tuteja, N., (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48, 909-930.
- Gökalp, O., Mollaoglu, H., Yılmaz, H., Ramazan ve Altuntas, Irfan. (2003). Organofosfat insektisit Fenthion'un rat amilaz ve lipaz enzimleri üzerine etkisi: Vitamin E ve C'nin rolü. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 10, 21-23.

- Gultekin, F., Ozturk, M. and Akdogan, M. (2000). The effect of organophosphate insecticide chlorpyrifos-ethyl on lipid peroxidation and antioxidant enzymes (in vitro). *Archives of Toxicology*, 74(9), 533–538.
- Gürsoy, S. and Gursoy, O. (2017). Pestisit Analizlerinde Asetilkolinesteraz İnhibisyonuna Dayalı İletken Polimer Esaslı Biyosensörler. *Akademik Gıda*, 15, 426-435.
- Graham J. B. and Eric J. (2011). Oxidative stress. *Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*, 25(3), 287-299.
- Habig, W.H., Pabst, M.J. and Jakoby, W.B. (1974). Glutathione-S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *The Journal of Biological Chemistry*, 249, 7130-7139.
- Isik, I. ve Celik, I., (2008). Acute effects of methyl parathion and diazinon as inducers for oxidative stress on certain biomarkers in various tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 92, 38–42.
- İnternet: National Center for Biotechnology Information (2023). PubChem Compound CID 439246, Naringenin URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Naringenin>. Son Erişim Tarihi: 12.09.2023.
- İnternet: National Center for Biotechnology Information (2023). PubChem Compound CID 31070, Fenamiphos. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Fenamiphos> Son Erişim Tarihi: 16.09.2023.
- Jain, M. and Parmar, H. S. (2011). Evaluation of antioxidative and anti-inflammatory potential of hesperidin and naringin on the rat air pouch model of inflammation. *Inflammation research: Official Journal of the European Histamine Research Society*, 60(5), 483–491.
- Jalili, Sh., Ilkhanipour, M., Heydari, R., Farshid, A. A. and Salehi, S., (2007), The effects of Vitamin E on endosulfan induced oxidative stress in rat heart., *Pakistan Journal of Nutrition*, 6, 375-380.
- Kalyabina, V. P., Esimbekova, E. N., Kopylova, K. V. and Kratasyuk, V. A. (2021). Pesticides: formulants, distribution pathways and effects on human health - a review. *Toxicology Reports*, 8, 1179–1192.
- Kimmerle, G., and Lorke, D. (1968). Toxicology of insecticidal organophosphates. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*, 21(1), 111–142.
- Karpouzas, D. G., Hatziapostolou, P., Papadopoulou-Mourkidou, E., Giannakou, I. O., and Georgiadou, A. (2004). The enhanced biodegradation of fenamiphos in soils from previously treated sites and the effect of soil fumigants. *Environmental toxicology and chemistry*, 23(9), 2099–2107.
- Kuete, V. (2014). *Toxicological survey of African medicinal plants*. Elsevier, 635-657.

- Lekaashree R., Ian L. M. and Michael E. (2020). Does oxidative stress contribute to toxicity in acute organophosphorus poisoning?– a systematic review of the evidence. *Clinical Toxicology*, 58(6), 437-452.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. (1951). Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265–275.
- Marklund, S. and Marklund, G. (1974). Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European Journal of Biochemistry*, 47, 469-474.
- Martin K, and Appel C. (2010). Polyphenols as dietary supplements: A doubleedged sword. *Nutrition and Dietary Supplements*, 2, 1–12.
- Matés, J. M., Pérez-Gómez, C., and Núñez de Castro, I. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*, 32(8), 595–603.
- McDaniel, K. L., and Moser, V. C. (2004). Differential profiles of cholinesterase inhibition and neurobehavioral effects in rats exposed to fenamiphos or profenofos. *Neurotoxicology and Teratology*, 26(3), 407–415.
- Mostafalou, S., and Abdollahi, M. (2017). Pesticides: an update of human exposure and toxicity. *Archives of Toxicology*, 91(2), 549–599.
- Muñoz-Quezada, M. T., Lucero, B. A., Barr, D. B., Steenland, K., Levy, K., Ryan, P. B., Iglesias, V., Alvarado, S., Concha, C., Rojas, E. and Vega, C. (2013). Neurodevelopmental effects in children associated with exposure to organophosphate pesticides: a systematic review. *Neurotoxicology*, 39, 158–168.
- Mueller, S., Riedel, H. D. and Stremmel, W. (1997). Direct evidence for catalase as the predominant H₂O₂ -removing enzyme in human erythrocytes. *Blood*, 90(12), 4973–4978.
- Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95, 351-358.
- Özmen, F., Uzun, F.G, Demir, F. ve Ulusoy, Y. (2010). Klorprifos'un ratlarda ince bağırsak üzerine etkisi ve kuersetin ve kateşin'in koruyucu rolü. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 21, 51-60.
- Paglia, D.E. and Valentine, W.N. (1987). Studies on the quantative and qualitative characterization of glutathione peroxidase. *Journal Laboratory Medicine*, 70, 158-165.
- Parkar, S. G., Stevenson, D. E., and Skinner, M. A. (2008). The potential influence of fruit polyphenols on colonic microflora and human gut health. *International Journal of Food Microbiology*, 124(3), 295-298.

- Pauluhn, Jürgen and Mohr, U. (2001). Inhalation toxicity of 4-ethoxyaniline (p-phenetidine): Critical analysis of results of subacute inhalation exposure studies in rats. *Inhalation Toxicology*, 13, 993-1013.
- Peter, J. V., Sudarsan, T. I. and Moran, J. L. (2014). Clinical features of organophosphate poisoning: A review of different classification systems and approaches. *Indian Society of Critical Care Medicine*, 18(11), 735–745.
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D. and Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 8416763.
- Rattanawong, K., Koiso, N., Toda, E., Kinoshita, A., Tanaka, M., Tsuji, H. and Okamoto, T. (2021). Regulatory functions of ROS dynamics via glutathione metabolism and glutathione peroxidase activity in developing rice zygote. *The Plant Journal for Cell and Molecular Biology*, 108(4), 1097–1115.
- Rosadele, C. and Gabriella, A. (2003). The role of oxidative stress in the in vitro induction of micronuclei by pesticides in mouse lung fibroblasts. *Mutagenesis*, 18, 127-132.
- Ross, M. and Pawlina, W. (2006). *Histology: A Text and Atlas: With Correlated Cell and Molecular Biology*, 17-22.
- Sato, Y., Itagaki, S., Oikawa, S., Ogura, J., Kobayashi, M., Hirano, T., Sugawara, M. and Iseki, K. (2011). Protective effect of soy isoflavone genistein on ischemia-reperfusion in the rat small intestine. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 34(9), 1448–1454.
- Silman, I., and Sussman, J. L. (2008). Acetylcholinesterase: how is structure related to function? *Chemico-Biological Interactions*, 175(1-3), 3–10.
- Sies, H., Berndt, C. and Jones, D. P. (2017). Oxidative Stress. *Annual Review of Biochemistry*, 86, 715–748.
- Singh, B.K., Walker, A. and Wright, D. J. (2006). Bioremedial Potential of Fenamiphos and Chlorpyrifos Degrading Isolates: Influence of Different Environmental Conditions. *Soil Biology of Biochemistry*, 38(9), 2682–2693.
- Shakir, S. K., Irfan, S., Akhtar, B., Rehman, S. U., Daud, M. K., Taimur, N. and Azizullah, A. (2018). Pesticide-induced oxidative stress and antioxidant responses in tomato (*Solanum lycopersicum*) seedlings. *Ecotoxicology*, 27(7), 919–935.
- Shirpoor, A., Ansari, M. K., Salami, S., Pakdel, F. G. and Rasmi, Y. (2007). Effect of vitamin E on oxidative stress status in small intestine of diabetic rat. *World Journal of Gastroenterology*, 13(32), 4340.
- Sule, R. O., Condon, L., and Gomes, A. V. (2022). A Common Feature of Pesticides: Oxidative Stress-The Role of Oxidative Stress in Pesticide-Induced Toxicity. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 5563759.

- Trang, A., and Khandhar, P. B. (2023). *Physiology, Acetylcholinesterase*. In StatPearls.
- Tudi, M., Daniel Ruan, H., Wang, L., Lyu, J., Sadler, R., Connell, D., Chu, C., and Phung, D. T. (2021). Agriculture Development, Pesticide Application and Its Impact on the Environment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(3), 11-12.
- Tulok, I. and Matkovics, A. (2003). An overview of free radical research. *Symposium of Acta Biologica*, 47(1-4), 93-97.
- Uchida K. (2003). 4-Hydroxy-2-nonenal: a product and mediator of oxidative stress. *Progress in Lipid Research*, 42(4), 318–343.
- Vallejo, F., Larrosa, M., Escudero, E., Zafrilla, M. P., Cerda, B., Boza, J. and Tomás-Barberán, F. A. (2010). Concentration and solubility of flavanones in orange beverages affect their bioavailability in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(10), 6516-6524.
- van den Bosch, F., Paveley, N., van den Berg, F., Hobbelen, P., and Oliver, R. (2014). Mixtures as a fungicide resistance management tactic. *Phytopathology*, 104(12), 1264–1273.
- Vellingiri, B., Chandrasekhar, M., Sri Sabari, S., Gopalakrishnan, A. V., Narayanasamy, A., Venkatesan, D., Iyer, M., Kesari, K., and Dey, A. (2022). Neurotoxicity of pesticides link to neurodegeneration. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 243, 113972.
- Zhang, K., Zhang, B. Z., Li, S. M. and Zeng, E. Y. (2011). Regional dynamics of persistent organic pollutants (POPs) in the Pearl River Delta, China: implications and perspectives. *Environmental Pollution*, 159(10), 2301–2309.
- Zhu, J., Li, Y., Jiang, H., Liu, C., Lu, W., Dai, W., Xu, J. and Liu, F. (2018). Selective toxicity of the mesoionic insecticide, triflumezopyrim, to rice planthoppers and beneficial arthropods. *Ecotoxicology*, 27(4), 411–419.



Gazili olmak ayrıcalıktır