



**SIÇANLARDA FENAMİFOS'UN KARDİYOTOKSİK ETKİSİ VE
NARİNGENİN'İN KORUYUCU ROLÜ**

Gökçe Ceren BOYA

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

HAZİRAN 2024

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.

Gökçe Ceren BOYA

03/06/2024

SIÇANLARDA FENAMİFOS'UN KARDİYOTOKSİK ETKİSİ VE NARİNGENİNİN
KORUYUCU ROLÜ
(Yüksek Lisans Tezi)

Gökçe Ceren BOYA

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Haziran 2024

ÖZET

Fenamifos (FNP) tarım topraklarındaki pek çok nematod zararlısının kontrol edilmesinde kullanılmakta olan organofosfatlı bir insektisittir. Portakal, elma, tütün ve bazı tahıl türleri gibi bitkiler üzerinde tercih edilmektedir. Ancak fenamifosun önemli olumsuz ekolojik etkileri son zamanlarda dikkat çekmeye başlamıştır. Naringenin (NAR), limon, portakal, bergamot ve domates gibi turuncgillerde bolca bulunan, acı ve renksiz bir bileşiktir. Bu tez çalışmasında, sıçan kalp dokusunda fenamifos kaynaklı hasar üzerine naringenin koruyucu etkisi incelenmiştir. Bu çalışmada yapılan deneylerde, deney hayvanları kullanımındaki etik standart protokollerine uyulmuştur. Deney hayvanları 4 gruba ayrılmıştır. Bunlar; kontrol grubu, fenamifos (0,76 mg/kg/gün) uygulanan grup, naringenin uygulanan grup (50 mg/kg/gün) ve fenamifos (0,76 mg/kg/gün) + naringenin (50 mg/kg/gün) uygulanan gruptur. Kimyasal maddeler deney hayvanlarına günde bir defa olacak şekilde oral gavaj yoluyla 28 gün süresince uygulanmıştır. Deney hayvanlarına uygulama sonunda sıçan kalp dokularındaki malondialdehit (MDA) seviyeleri ve antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, CAT, GPx ve GST) spektrofotometrik metotlarla belirlendi ve gruplarda meydana gelen histopatolojik değişiklikler hazırlanan preparatlarla ışık mikroskobu ile incelendi. MDA seviyeleri ve antioksidan enzim (süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon S-transferaz) aktiviteleri belirlendiğinde kontrol grubuyla naringenin uygulanan gruptaki kalp dokuları arasında anlamlı bir fark gözlenmedi. 4. hafta sonunda kontrol grubu ile fenamifos uygulanan grup karşılaştırıldığında SOD, CAT, GPx ve GST enzim aktivitelerinde düşüş gözlenirken MDA seviyelerinde yükselme belirlenmiştir. Fenamifos ve naringenin birlikte uygulandığı grupta ise araştırılan parametrelerde iyileşme gözlenmiştir. Histopatolojik incelemelerde fenamifos sıçan kalp dokusu üzerinde pek çok patolojik değişime sebep olmuş ve naringenin, sıçan kalp dokusundaki patolojik oluşumları azaltmıştır. Sonuç olarak naringenin, fenamifosun sebep olduğu oksidatif stres ve histopatolojik hasarı azaltmıştır.

Bilim Kodu : 20137

Anahtar Kelimeler : 66

Sayfa Adedi : Fenamifos, naringenin, histopatoloji, kalp, oksidatif stres

Danışman : Prof. Dr. Fatma Gökçe APAYDIN

CARDIOTOXIC EFFECT OF FENAMIPHOS AND PROTECTIVE ROLE OF NARINGENIN IN RATS

(M. Sc. Thesis)

Gökçe Ceren BOYA

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

June 2024

ABSTRACT

Fenamiphos (FNP) is an organophosphate insecticide used to control many nematode pests in agricultural soils. It is preferred on plants such as oranges, apples, tobacco and some types of cereals. However, the significant negative ecological effects of fenamiphos have recently begun to attract attention. Naringenin (NAR) is a bitter and colorless compound found abundantly in citrus fruits such as lemon, orange, bergamot, clementine and tomato. In this thesis study, the protective effect of naringenin on fenamiphos-induced damage in rat heart tissue was examined. In the experiments conducted in this study, ethical standard protocols for the use of experimental animals were followed. Experimental animals were divided into 4 groups. These; control group, fenamiphos (0,76 mg/kg/day) applied group, naringenin applied group (50 mg/kg/day) and fenamiphos (0,76 mg/kg/day) + naringenin (50 mg/kg/day). is the applied group. Chemical substances were applied to the experimental animals by oral gavage once a day for 28 days. At the end of the application to the experimental animals, malondialdehyde (MDA) levels and antioxidant enzyme activities (SOD, CAT, GPx and GST) in the rat heart tissues were determined by spectrophotometric methods, and the histopathological changes in the groups were examined by light microscopy with the prepared preparations. When MDA levels and antioxidant enzyme (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione S-transferase) activities were determined, no significant difference was observed between the heart tissues of the control group and the naringenin applied group. When the control group was compared with the fenamiphos -treated group at the end of the 4th week, a decrease was observed in SOD, CAT, GPx and GST enzyme activities, while an increase in MDA levels was determined. As a result, naringenin reduced the oxidative stress caused by fenamiphos. In histopathological examinations, fenamiphos caused many pathological changes in the rat heart tissue and naringenin reduced the pathological formations in the rat heart tissue.

Science Code : 20137

Key Words : Fenamiphos, naringenin, histopathology, heart, oxidative stress

Page Number : 66

Supervisor : Prof. Dr. Fatma Gökçe APAYDIN

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca kıymetli yardım ve tecrübeleriyle beni yönlendiren, sürecin kolaylıkla geçmesi için desteklerini esirgemeyen tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Fatma Gökçe APAYDIN'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Süreç içerisinde her daim desteğini hissettiren Sayın Prof. Dr. Yusuf KALENDER'e çok teşekkür ederim. Laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımlarını eksik etmeyen değerli hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Çağlar ADIGÜZEL ve Dr. Öğr. Üyesi Hatice KARABODUK'a teşekkür ederim. Bu tez çalışmasının deney hayvanları çalışmalarını destekleyen Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Birimine çok teşekkür ederim.

Eğitim ve sosyal hayatımın her anında yanımda olup, bu başarının en büyük parçası olan aileme çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
İÇİNDEKİLER	viii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	x
RESİMLERİN LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. MATERYAL METOT	27
2.1. Deney Hayvanları.....	27
2.2. Kimyasal Maddeler	27
2.3. Hayvanlara Uygulama Planı.....	27
2.3.1. Kontrol grubu	28
2.3.2. Fenamifos grubu.....	29
2.3.3. Naringenin grubu.....	29
2.3.4. Fenamifos+Naringenin grubu	29
2.4. Dokuların Elde Edilmesi	29
2.5. Malondialdehit (MDA) Seviyelerinin Belirlenmesi	30
2.6. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi	30

	Sayfa
2.6.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) enzim aktivitesinin belirlenmesi	30
2.6.2. Katalaz (CAT) enzim aktivitesinin belirlenmesi.....	30
2.6.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx) enzim aktivitesinin belirlenmesi	30
2.6.4. Glutasyon S Transferaz (GST) enzim aktivitesinin belirlenmesi	31
2.7. Işık Mikroskobu İncelemeleri.....	31
2.8. Verilerin Değerlendirilmesi.....	31
3. ARAŞTIRMA BULGULARI	33
3.1. Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Değerlendirilmesi	33
3.2. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Değerlendirilmesi.....	34
3.3. Işık Mikroskobu Bulgularının Değerlendirilmesi.....	37
4. SONUÇ VE ÖNERİLER	45
KAYNAKLAR	57
ÖZGEÇMİŞ	66

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Deney grupları ve kimyasalların uygulama planı	28
Çizelge 3.1. Kalp dokusunda histopatolojik bulguların skorlanması.....	43

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Normal atomdan elektron kaybıyla serbest radikal oluşumu.....	13
Şekil 1.2. Normal atomdan elektron kaybıyla oluşan serbest radikale antioksidan müdahalesi.....	15
Şekil 3.1. Kontrol ve uygulamalı grupların kalp dokularındaki MDA düzeyleri	33
Şekil 3.2. Kontrol ve uygulamalı grupların kalp dokularındaki SOD enzim düzeyleri.	34
Şekil 3.3. Kontrol ve uygulamalı grupların kalp dokularındaki CAT enzim düzeyleri.	35
Şekil 3.4. Kontrol ve uygulamalı grupların kalp dokularındaki GPx enzim düzeyleri..	36
Şekil 3.5. Kontrol ve uygulamalı grupların kalp dokularındaki GST enzim düzeyleri .	37

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. Deneyde kullanılan sıçanların bulunduğu kafesler.....	27
Resim 2.2. Sıçanlara oral gavaj yoluyla uygulama yapılması	28
Resim 3.1. Kontrol grubu sıçanların kalp dokusunun normal histolojik yapısı.....	38
Resim 3.2. Naringenin uygulanan gruptaki sıçanların kalp dokusunun normal histolojik yapısı	38
Resim 3.3. Fenamifos uygulanan gruptaki sıçanların kalp dokusunda dejenerasyon, konjesyon ve ödem	39
Resim 3.4. Fenamifos uygulanan gruptaki sıçanların kalp dokusunda nekroz.....	39
Resim 3.5. Fenamifos uygulanan gruptaki sıçanların kalp dokusunda dejenerasyon ve konjesyon	40
Resim 3.6. Fenamifos uygulanan gruptaki sıçanların kalp dokusu miyokard hücrelerinde dejenerasyon, konjesyon ve ödem.....	40
Resim 3.7. Fenamifos uygulanan gruptaki sıçanların kalp dokusunda fibrillerde dejenerasyon ve ödem	41
Resim 3.8. Fenamifos ve naringenin uygulanan gruptaki sıçanların kalp dokusunda dejenerasyon.....	41
Resim 3.9. Fenamifos ve naringenin uygulanan gruptaki sıçanların kalp dokusunda dejenerasyon, ödem ve konjesyon.....	42
Resim 3.10. Fenamifos ve naringenin uygulanan gruptaki sıçanların kalp dokusunda dejenerasyon ve konjesyon	42

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler

Açıklamalar

μmol	Mikromol
g	Gram
ha	Hektar
kg	Kilogram
km	Kilometre
l	Litre
mg	Miligram
ml	Mililitre
nm	Nanometre
nmol	Nanomol
U	Unit

Kısaltmalar

Açıklamalar

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AChE	Asetilkolin esteraz
ADI	Kabul edilebilen günlük alım
ATP	Adenozintrifosfat
CAT	Katalaz
CDNB	1-kloro-2,4-dinitrobenzen
CuZnSOD	Bakır-çinko içeren SOD
DDT	Diklorodifeniltrikloroetan
DNA	Deoksiribonükleik asit
EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
FeSOD	Demir içeren SOD
FNP	Fenamifos
FSO	Fenamifos sülfoksit

Kısaltmalar**Açıklamalar**

FSO	Fenamifos sülfoksit
FSO₂	Fenamifos sülfon
GPx	Glutasyon peroksidaz
GR	Glutasyon redüktaz
GSH	İndirgenmiş glutasyon
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
GSSG	Oksitlenmiş glutasyon
GST	Glutasyon S-transferaz
H₂O	Su molekülü
H₂O₂	Hidrojen peroksit
H&E	Hematoksilen ve eozin
KVH	Kardiyovasküler hastalıklar
LA	Sol atriyum
LD₅₀	Letal doz
LV	Sol ventrikül
LPO	Lipid peroksidasyonu
MDA	Malondialdehit
MnSOD	Manganez içeren SOD
MRL	Maksimum kalıntı limitleri
NADPh	Nikotinamit adenindinükleotit
NAR	Naringenin
OH⁻	Hidroksil
OP	Organofosfat
O₂	Oksijen
RA	Sağ atriyum
RBC	Kırmızı kan hücresi
RNS	Reaktif nitrojen türleri
ROS	Reaktif oksijen türleri
RV	Sağ ventrikül
SeOH	Selenol
SOD	Süperoksit dismutaz
SOD₂	Manganez içeren SOD

Kısaltmalar**Açıklamalar****STZ**

Streptozotosin

TBA

Tiyobarbitürik asit

V.A

Vücut ağırlığı

WHO

Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun giderek artması ile birlikte ortaya çıkan besin maddesi ihtiyacı mevcut tarım arazilerinden üst düzey verim alabilmek için zirai ilaçlar (pestisit) ve gübrelerin kullanımı mecburiyet haline gelmiştir. Günümüzde, dünyanın ya da Türkiye'nin herhangi bir yerinde tarımsal destekleyici maddeler uygulanmadığı sürece yeterli kalite ve miktarda üretim yapmak imkansızdır (Doğan ve Karpuzcu, 2018). Artan gıda talebine bağlı olarak tarımda pestisit kullanımı da artmaktadır (Yiğit ve Velioğlu, 2019).

Günümüzde kullanılan bazı pestisitlerin ilk kullanımı yüzyıllar öncesine kadar uzanmaktadır (Kurutaş ve Kılınç, 2003). Kayıtlı olan ilk pestisit yaklaşık 4500 yıl önce Mezopotamya'da antik Sümer'de akarları ve böcekleri kontrol altına almak için kullanılan elementel kükürt tozudur (Altıkat, Turan, Torun ve Bingül, 2009; Umetsu ve Shirai, 2020). Bunun yanında endüstriyel olarak pestisitlerin kullanımı İkinci Dünya Savaşı'nın ardından organik kimyanın pestisit bilimi alanına girmesiyle beraber 19. yüzyıla uzanır. Kısaltması DDT olan diklorodifeniltri-kloroetan 1873'de Ziedler tarafından keşfedilmiş olup Paul Muller tarafından (1939) insektisit (böcek öldürücü) etkisi gözler önüne serilmiştir (Tözün ve Akar, 2021; Umetsu ve Shirai, 2020).

Pestisitler, biyolojik organizmaların üzerinde veya etrafında yaşayan, besin kaynaklarının üretim, saklama ve tüketimi sırasında besin değerini düşüren ya da hasar veren yabancı ot, mantar, böcek, kemirici gibi canlıların zararlı etkilerini azaltmak için kullanılan kimyasal bileşenlerdir (Sataloğlu, Aydın ve Turla, 2007). Bitki koruma maksadıyla kullanılan her türlü ilaç ile preparatlar ve bunların üretiminde kullanılan maddeler bu gruba dahil edilmektedir (Altıkat ve diğerleri, 2009).

Pestisit kullanımının faydalı sonuçları, bu bileşikler küresel nüfusun hayat standardını iyiye götürmek ve korumak için önemli bir ürün haline getiriyor (Syafrudin, Kristanti, Yuniarto, Hadibarata, Rhee, Al-onazi, Algarni, Almarri ve Al-Mohaimeed, 2021). Pestisitlerin, halk sağlığı programlarındaki vektör kontrol ajanları ile birlikte en yaygın kullanım alanlarını, bahçecilik ve tarım oluşturmaktadır. Önemli miktarlarda hayvancılık ve ormancılıkta da kullanılmaktadır (Dich, Zahm, Hanberg and Adami, 1997). Ayrıca pestisitler tarımsal kullanımları haricinde, bahçelerde, evlerde, kırsal alanlarda yabancı otlarla mücadelede, rodent ve sivrisineklerle karşı resmi kuruluşlar tarafından da sık sık tercih edilmektedir.

Ancak bilinen yararlı etkilerinin yanı sıra bıraktıkları kalıntılarla su, hava, toprak ve besin kirliliğine sebep olup ekolojik dengeyi olumsuz etkilemektedir. Pestisitlerin en önemli zararlı etkisi, insan ve hayvanlarda sıklıkla görülen zehirlenmelere neden olmalarıdır. Bu zehirlenmeler, pestisitlerin üretilmeleri, uygulanmaları, saklanması ve transferleri sırasında görülebilmektedir (Alp, Karakuş, Çelik ve Başarslan, 2012). Bu nedenle bunları güvenli bir şekilde kullanmak ve uygun şekilde imha etmek gerekir (Yadav ve Devi, 2017).

Pestisitlerin yararlarının yanında uzun süreli kullanımları sonucunda ekosisteme ve insan sağlığına verdiği zararlar saptandığı için kimyasalların tarım amaçlı kullanımları bazı kurallarla sınırlandırılmıştır (Altıkat ve diğerleri, 2009). Çünkü pestisitlerle ilişkilendirilen çok sayıda olumsuz sağlık etkisi bulunmaktadır (Dhananjayan ve Ravichandran, 2018). Düşük dozlara uzun süre maruz kalmak bile insan sağlığı açısından risk oluşturabilir. (Maggi, Tang, Black, Marks ve McBratney, 2021) Bunlardan bir kısmı dermatolojik, gastrointestinal, nörolojik, kanserojen, solunum ve üreme üzerine görülen olumsuz etkilerdir (Dhananjayan ve Ravichandran, 2018).

Pestisitlerin kalıntıları uygulandıkları besin maddeleri üzerinde bulunmaktadır (Tözün ve Akar, 2021). Ancak pestisit kalıntılarını azaltıcı yönde etki gösteren işlemler mevcuttur. Besin maddeleri evde ve endüstride raf ömrünü uzatmak, çeşitliliği artırmak, lezzet ve besin değerini arttırmak maksadıyla kolay yıkamalardan karmaşık uygulamalara kadar birçok işleme tabi tutulmaktadır. Temizleme veya yıkama, soyma, haşlama, fırınlama, pastörizasyon ve farklı teknik ve yöntemler genellikle pestisit kalıntılarını azaltır. Fakat kimi durumlarda işlem sırasında daha toksik ürünler veya metabolitler ortaya çıkabilmektedir. Ayrıca bazı işlemler pestisit kalıntılarının artmasına neden olabilmektedir. Bu sebeple farklı gıda süreçlerinin pestisit kalıntıları üzerindeki etkileri yasal olarak ve halk sağlığı açısından önem taşımaktadır (Yiğit ve Velioğlu, 2019).

Pestisitlerin sınıflandırılması pek çok şekilde yapılmaktadır (Kurutaş ve Kılınç, 2003). Sınıflandırmada yaygın olarak kullanılan kriterler; toksisite (zarar verme derecesi), hedef aldığı organizma, pestisit fonksiyonu, kimyasal bileşimi, giriş ve etki şekli, ne zaman ve nasıl etki ettiği, formülasyonları ve orijin kaynaklarıdır. Pestisitlerin farklı şekillerde sınıflandırılabilmesi, gıdaları saklamak veya daha iyi ürünler elde edebilmek için pestisitlerin risk faktörlerinin göz ardı edilmeden kullanılmasını mümkün kılar. Böylece pestisitlerin gereksiz ve fazla kullanımının önüne geçilmiş, kullanımları sırasında

uygulayıcıların onlara maruz kalması önlenerek zararlı etkileri en aza indirilmiş olmaktadır (Polat, 2022). Pestisitlerin toksik etkisi, temelde doz ve zaman gibi iki faktöre bağlıdır. Böylece, pestisitlerin ne kadar ve ne sıklıkla uygulandığına ve maruz kalındığına göre, akut ve kronik toksisite olmak üzere iki farklı toksisite etkisi ortaya çıkmaktadır (Polat, 2022).

Akut Toksisite: Akut toksisite, bir maddenin 24 saat içinde tek veya çoklu maruziyetinden sonra anında veya kısa bir zaman içinde ortaya çıkan istenmeyen etki veya etkiler şeklinde tanımlanır. Organizmanın genel işleyişini değiştirebilecek hasarlara veya organlardaki işlevsel bozukluklara ve/veya biyokimyasal lezyonlara sebep olabilir (Chinedu, Arome, Ameh, 2013). Yüksek akut toksisiteye sahip olan pestisitler, çok düşük miktarlarda bile ölümcül olabilir. Akut toksisite, akut oral toksisite, veya akut dermal toksisite olarak da gözlenebilir (Polat, 2022).

Dünya sağlık Örgütü'ne (WHO) göre, pestisitle temastan kaynaklanan akut zehirlenmelerden yaklaşık 1,000,000 insan etkilenmektedir (Hassaan ve Nemr, 2020). Son derece yüksek akut toksisiteye sahip pestisitler de kolaylıkla metabolize edilebilir ve vücuttan atılabilir; uzun süreli düşük maruz kalmanın ardından daha az toksik olabilirler ve kanserojen veya mutajenik özelliklere sahip olmayabilirler. Öte yandan, organik cıva bileşikleri ve bazı organoklorin bileşikleri gibi düşük akut toksisiteye sahip pestisitler vücutta birikebilir ve nispeten düşük dozlarda dahi uzun süreli maruz kalma sonrasında kronik toksisiteye sebep olabilir (Dich ve diğerleri, 1997).

Kronik Toksisite: Kronik toksisite, uzunca bir süre maruz kalınan bir pestisitın gecikmiş zehir etkisidir. Genellikle, besin maddeleri, hava veya su yoluyla pestisitlerin düşük dozlarda fakat uzun süreli alınması sonucunda veya pestisitlere direkt olarak maruz kalanlarda kronik toksisite meydana gelmektedir (Polat, 2022). Serbest radikallerin pestisitlerin ve çevresel kimyasalların toksisitesinde önemli bir rolü vardır (Abdollahi, Ranjbar, Shadnia, Nikfar ve Rezaie, 2004).

Son zamanlarda ilaçların besin maddelerindeki kalıntılarının insanlar için kronik toksisitesi iki şekilde ele alınmaktadır:

- a. Kabul edilebilen günlük alım (Acceptable Daily Intake-ADI): Kişinin bir günde alabileceği kabul edilebilen günlük ilaç miktarını mg/kg olarak ifade eden değerdir.
- b. Maksimum kalıntı limitleri (Maximum Residue Limits-MRL): besin maddelerinde bulunmasına izin verilen en fazla ilaç miktarını (mg/kg) ifade eden değerdir (Tiryaki, Canhilal ve Horuz, 2010).

Pestisitlerin gruplandırılmasında kullanılan bir başka önemli faktörde LD₅₀ (Lethal doz) kavramıdır. LD₅₀, oral veya dermal yolla vücuda girdiği zaman, hedef popülasyondaki canlıların yarısını öldürmek için gereken pestisit miktarı şeklinde tanımlanmaktadır. % 50 öldürücü doz veya ortalama öldürücü doz şeklinde de bilinen lethal doz, hedeflenen organizmanın kilogram canlı ağırlığına miligram cinsinden verilmesi gereken insektisit miktarıdır. LD₅₀ değeri insektisitlerin ne derece zehirli olduğuna dair bilgi verir ve değeri ne kadar küçükse maddenin zehir etkisi o kadar artmaktadır. Bundan dolayı LD₅₀ değeri küçük ilaçların kullanılmasında hassas ve dikkatli olunması oldukça önem arz eder (Polat, 2022).

Pestisitlerin uygulandıkları zararlı gruplarına göre sınıflandırılmaları;

- İnsektisit: Böcekleri öldüren kimyasallardır.
- Fungusit: Fungusları öldüren kimyasallardır.
- Fungustatik: Fungusların faaliyetlerini durdurmak için uygulanan kimyasallardır.
- Herbisit: Yabancı otları öldüren kimyasallardır.
- Bakterisit: Bakterileri öldüren kimyasallardır.
- Afisit: Yaprak bitlerini öldüren kimyasallardır.
- Akarisit: Akarları öldüren kimyasallardır.
- Mollustisit: Salyangozları öldüren kimyasallardır.
- Nematisit: Nematodları öldüren kimyasallardır.
- Rodentisit: Kemirgenleri öldüren kimyasallardır.
- Virisit: Virüsleri öldüren kimyasallardır.
- Avenisit: Kuşları öldüren kimyasallardır.
- Algisit: Algleri öldüren kimyasallardır (Polat, 2022).

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) verilerine göre 2019 yılında dünya pestisit kullanımı 4,16 milyon ton olarak gerçekleşmiştir. En fazla pestisit kullanan

lkeler sırasıyla; in, Amerika Birleşik Devletleri ve Brezilya'dır. Dünyada kullanılan pestisit miktarının %61,1'i bu üç ülke tarafından uygulanmaktadır. Pestisit grupları bazında değerlendirildiğinde %53,3'n herbisitler, %23,2'sini fungusit ve bakterisitler ve %16,7'sini de insektisitler oluşturmaktadır. Dünyada pestisit kullanımı 2019 yılında 2,69 kg/ha olarak kayıtlara geçmiştir. Türkiye, pestisit kullanımı bakımından dünya sıralamasında 12. sırada bulunmakta ve dünya pestisit kullanımının %1,23'n oluşturmaktadır. Türkiye'de hektara düşen pestisit kullanımı 2,2 kilogramdır (zercan ve Taşçı, 2022).

Türkiye'de pestisit kullanımı, özellikle toplam ürün kayıplarını önlemek amacıyla oldukça yaygındır. Ülkemizde yılda 53,672 ton pestisit kullanıldığı bildirilmektedir. Ancak bu miktar, Amerika Birleşik Devletleri gibi diğer ülkelere kıyasla oldukça düşüktür (407,779 ton). Ayrıca, Türkiye'nin meyve ve sebze ihtiyacını karşılayan Ege ve Akdeniz Bölgelerinde pestisit kullanımı ülke ortalamasından fazladır. FAO, 2020 verilerine göre diğer Avrupa lkelerinde pestisit kullanımları; Fransa'da 65,216 ton, Almanya'da 48,000 ton, İngiltere'de 14,923 ton, Hollanda'da 11,275 ton ve Yunanistan'da 10,475 ton olarak bildirilmiştir (Selvi ve lgeen, 2023).

Pestisitlerin kimyasal yapısına göre sınıflandırılması;

En yaygın ve faydalı yöntem, kimyasal yapılarına ve etken maddelerin doğasına göre sınıflandırmadır. Bu sınıflandırma pestisitlerin fiziksel ve kimyasal özelliklerine dayanmaktadır. Bu bilgiler, uygulama yönteminin, miktarının ve uygulama esnasında dikkat edilmesi gereken önlemlerin belirlenmesinde faydalıdır. Her sınıfta toksikolojik ve kimyasal bileşim özelliklerine göre ayrılmış pek çok alt grup vardır.

- I. Böcek ldrcler, organoklorinler, organofosfatlar (OP'ler), karbamatlar, piretroidler, neonikotinoidler ve diğer kimyasal alt sınıfları içerir;
- II. Herbisitler, sülfanilik ve karbamik asit, fenilpirazol, piridinyum içerir, izoksazolil üre, benzotiazolil üre, vb.;
- III. Fungisitler, karbamatlar, ditiyokarbamatlar ve karboksamid vb. içerir (Alengebawy, Abdelkhalek, Qureshi ve Wang, 2021).

Demirdöğen (2010) organofosfatlı pestisit zehirlenmelerini incelediği bir çalışmada ise pestisitleri başlıca şöyle sınıflandırmıştır;

- Organofosfatlar,
- Karbamatlar,
- Piretroidler,
- Organoklorlular.

Drum'a (1980) göre karbamatlar ve organofosfatlar yapı ve çalışma prensibi açısından benzerdir. Her iki pestisit grubu da sinir sinyallerinin iletimini engelleyerek hedef zararlıları öldürür. Fakat organofosfatlar karbamik asitten elde edilen karbamatlardan farklı kökene sahiptir (Sulaiman ve Rovina ve Joseph, 2019). İlk organofosfat bileşiği tetraetil pirofosfat, 1854 yılında Fransa'da Phillipe de Clermont tarafından üretilmiştir. Daha sonra, 1932'de Almanya'da Lange ve Kruger, dimetil ve dietil fosforofloridatı sentezlemiş ve her iki bileşiğin buharının solunmasının, görme bulanıklığı ve boğulma hissine sebep olduğunu gözlemlemişlerdir (Gupta, Malik ve Milatovic, 2011).

Organofosfatlar, fosfor içeren asitlerin ester, tiol ester veya anhidrit türevleri olup, hanelerde, bahçecilikte veterinerlikte ve tarımda kullanılmaktadır ve günümüzde tarımda en sık kullanılan pestisit grubudur. Organofosfatlar oldukça zehirli olmalarına rağmen çoğunlukla çevrede kalıcı değildir; güneş ışığı, toprak ve havayla temas ettiklerinde hidroliz olup parçalanırlar. Organofosforlu pestisitler (OP'ler), hızlı bozunabilmeleri nedeniyle tarım ve bahçecilikte böcekleri kontrol altında tutmak amacıyla DDT, aldrin ve dieldrin gibi kalıcı organoklorlu pestisitler yerine alternatif olarak uygulanmaya başlanmıştır ve dünya çapında insektisit kullanımının %50'sinden fazlasını oluşturmaktadır (Demirdöğen, 2010; Özdemir ve Kurt, 2022; Pawar ve Sanaye, 2020; Uzun ve Kalender, 2013).

Bitki koruma amaçlı böcek ilacı olarak yaygın şekilde kullanılan organofosforlu pestisitler, WHO tarafından aşırı toksik kimyasal bileşik sınıfı olarak sınıflandırılmıştır (Kaur ve Singh, 2020). Ülkemizin kırsal bölgelerinde rastlanan zehirlenme vakalarında organofosfatlı pestisitler ilk sırada yer almaktadır (Alp ve diğerleri, 2012; Demirdöğen, 2010). Dünya çapında her yıl OP kimyasallarına maruz kalan yaklaşık 3 milyon insandan 300,000'inin OP toksisitesi nedeniyle öldüğü tahmin edilmektedir (Kaur ve Singh, 2020).

Organofosfatlar özellikle tarımsal üretim yapılan kesimlerde sağlık sektörü açısından ciddi sorun oluşturmaktadır. Organofosfat yapısındaki pestisitler 1937'den beri

kullanılmaktadır (Ragnarsdottir, 2000). Organofosfatlar, böceklerle karşı daha seçici toksisite ortaya koymaları ve sınır seviyede kalıntı oluşturmaları gibi türlü özelliklerinden dolayı dünya genelinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Alp ve diğerleri, 2012).

Organofosfatların etki mekanizması asetilkolinesteraz enziminin baskılanmasına dayanır. Bir nörotransmitter olan asetilkolini, kolin ve asetik asite parçalayan asetilkolinesteraz, merkezi ve periferik sinir sisteminde, nöromüsküler kavşaklarda ve eritrositlerde bulunmaktadır (Demirdöğen, 2010). Kolinesteraz inhibisyonuna ek olarak, bu bileşiklerin ve metabolitlerinin başlıca etkileri pro-/anti-inflamatuar sitokinlerin düzenlenmesi ve oksidatif stres ile ilgilidir (Benedetto, Brizio, Squadrone, Scanzio, Righetti, Gasco, Prearo ve Abete, 2016).

Bu gruptaki kimyasallar sinir sistemindeki sinaptik boşluklarda uyarıların iletiminden sorumlu asetilkolinin hidrolizini gerçekleştiren asetilkolinesteraz (AChE) enzimine bağlanarak inhibe etmekte ve sinir sisteminin işleyişinde sorun çıkarmaktadır. Bu yönleri aynı zamanda İkinci Dünya Savaşı esnasında savaş ajanı olarak kullanılmalarının temelini oluşturur (Kaur ve Singh, 2020; Mıstanoğlu, Uysal ve Devran, 2021).

Karbamatlar (aldikarb, karbosülfan, oxamyl vb.) ve organofosfatlar (fenamifos, etaprop, imicyafos vb.) toprağa granüler veya sıvı halde uygulanabilmektedir. Bu kimyasallar düşük konsantrasyonlarda nematodların kimyasal yönelme ve konukçuyu bulma becerisini, yüksek konsantrasyonlarda ise nematodların yumurta açılımı ve hareketliliğini engelleyebilmektedir. Ancak alkil organofosfatlar haricinde bu gruptaki nematodların biyokimyasal etkileri geri dönülebilirdir (nematostat ya da nematostatik etki). Dolayısıyla rizosferdeki kimyasalların etkisinin geçmesinden sonra nematodlar konukçuda zarara neden olabilmektedir. Fakat bu kimyasalların uygun bir süre (4-8 hafta) nematodlarla temas halinde kalması nematod enfeksiyonunun önlenmesi ve erken dönemde iyi bir konukçu kök gelişiminin meydana gelmesini sağlayabilmektedir (Mıstanoğlu, Uysal ve Devran, 2021).

Sinir sinyallerinin sinir liflerinden düz kaslara ve iskelet kaslarına, salgı bezlerine ve otonom sinir düğümlerine, aynı zamanda merkezi sinir sistemi içerisinde iletilmesinin düzgün işleminde asetilkolinesteraz enziminin kritik bir görevi vardır (Demirdöğen, 2010). Organofosfatlar, merkezi ve otonom sinir sisteminde, nöromusküler kavşakta ve

eritrositlerde asetilkolinesteraz enzimine irreverzibl biçimde bağlanarak dokularda asetilkolin birikimine neden olur. Asetilkolin birikimiyle muskarinik ve nikotinik reseptörlerin fazla stimülasyonu sonucu artmış kolinerjik etkiler ortaya çıkar. Bu şekilde oluşturduğu nörotoksik etki ile akut veya kronik zehirlenmelere sebep olur. Organofosfatların akut solunum yetmezliği, hepatotoksisite, nörotoksisite, genetik toksisite, embriyotoksisite, immunotoksisite, pankreatit, hipoglisemi, salivasyon artışı, akut miyokard hasarı, konvülsiyon ve orşit, psikiyatrik bozukluk, gecikmiş psiko-nörodejeneratif sendrom, şizofreniform ve depresif psikoz, çoklu kimyasal duyarlılık, düşükler, hipotermi, sistemik hastalık, uyku bozukluğu, cilt hastalığı, göz yaralanması gibi farklı sistemler üzerinde de olumsuz etkilere sebep olabileceği bildirilmiştir (Alp ve diğerleri, 2012; Mukherjee ve Gupta, 2020; Ragnarsdottir, 2000).

Üreticiler, formül hazırlayıcılar ve uygulayıcılar da dahil olmak üzere bu toksik kimyasalları en sık kullanan kişiler en büyük risk altında olanlardır. Çiftçiler ve bahçıvanlar gibi pestisitlerin yoğun kullanıcıları da sıklıkla cilt ve solunum yoluyla maruz kalma riskiyle karşı karşıyadır. Ek olarak, organofosforlu pestisitler bazen belirli gıdalardaki küçük kalıntılardan kaynaklanan maruziyetler, evde haşere kontrolünde kullanım ve halka açık parklar nedeniyle genel halk için risk oluşturabilir (Sultatos, 1994).

Çoğu organofosfatlı pestisit kimyasal yapıları gereği yağda çözünen bileşiklerdir. Organofosfatlar yutma ve solunum yoluyla vücuda girebildiği gibi, deri yoluyla da emilebilir. Zehirlenme semptomlarının ortaya çıkma hızı ve ciddiyeti, maruz kalınan organofosfatın kimyasal yapısı, miktarı ve maruziyet şeklinin yanısıra, metabolik aktivasyonun ve yıkımın hızı gibi birçok faktöre bağlıdır (Demirdöğen, 2010).

Triklorfon, dimetoat ve malathion gibi 100'den fazla organofosforlu pestisit bulunmaktadır (Chen, Sun, Liu, Zhang, J., Zhang, C., Jiang, Han, He, Wang ve Zhang, K., 2021). Dar, Kaushik ve Chiu, 2020'de organofosfatlı pestisitler üzerine yaptıkları bir çalışmada dünya çapında kullanılan organofosfatlı pestisitleri şöyle belirtmiştir;

- Asefat
- Fenamifos
- Fenitrotyon
- Dikrotofos
- Dimetoat
- Kumafos
- Klorpirifos – Metil
- Diazinon
- Diklorvos

- Kadusafos
- Etion
- Etoprop
- Klorpirifos
- Fention
- Klorfenvinfos

Özellikle fenamifos (FNP) organofosforlu bir insektisit olarak lokal ve sistemik aktiviteye sahip olduğu için tarım topraklarındaki pek çok nematod zararlısının kontrol edilmesinde kullanılmaktadır. Ayrıca portakal, elma, tütün ve bazı tahıl türleri gibi bitkilerin büyüme aşamalarında da uygulanabilmektedir. Ancak fenamifosun önemli olumsuz ekolojik etkileri son zamanlarda dikkat çekmeye başlamıştır (Maleh, Yola, Atar, Orooji, Karimi, Kumar, Rouhi ve Baghayeri, 2021; Qader, Hussain, Baron, Perez ve Rodriguez, 2021).

Bu tez çalışmasında incelenen fenamifos (etil 4-metiltiyo m-tolil izopropilfosforamidat), renksiz kristal veya tabaklanmış mumsu bir katı olarak görünen organofosforlu bir pestisit ve böcek ilacı ve özellikle nematisit olarak ilk kez 1972'de tescillenmiştir (Logeshwaran, Krishnan, Naidu ve Megharaj, 2020; Qader ve diğerleri, 2021; Marquez, Domene, Tovar ve Anton, 2019).

Fenamifos pestisiti dünya çapında domates, yer fıstığı, pamuk ve turpun yanı sıra muz, ananas, turuncgiller, zencefil ve diğer birçok üründe yer altı nematodlarını kontrol etmek amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır (Wang, Tai ve Yen, 2003).

Bu pestisit, tarım ürünlerinde ekim öncesinde veya tohum yataklarında ve fidanlıklarda ektoparazitik, endoparazitik ve serbest yaşam süren nematodların kontrolünde kullanılabilir. Ürün formülasyonlarının kök büyüme bölgelerinde toprağa uygulanması etkili kontrol için önemlidir çünkü nematodlara maruz kalan kısım bitkilerin kökleridir. Fenamifos ağırlıklı olarak Amerika Birleşik Devletleri, Güney Amerika, Güney Afrika, İspanya, Avustralya, Kosta Rika ve İtalya'daki tropikal bölgelerde kullanılmaktadır. (Caceres, Megharaj, Venkateswarlu, Sethunathan ve Naidu, 2010; Singh, Walker, Morgan ve Write, 2003).

Doğan ve Karpuzcu (2018), Türkiye'de tarım kaynaklı pestisit kirliliğinin incelendiği çalışmalarında, Antalya, Kumluca bölgesinde su kuyuları ve yüzeysel sularda fenamifos tespit etmişlerdir. Güvener, Koçer ve Karaca (1992) tarafından yapılan bir çalışmada 1982-1986 yılları arasında nematodlarla mücadelede kullanılan ilaçların kalıntıları

araştırılmıştır. Muzlarda tespit edilen fenamifos miktarı tolerans değerlerinin altında bulunurken mandarin ve limonlarda fenamifos kalıntısına rastlanmamıştır.

Dünya Sağlık Örgütü, fenamifosu aşırı toksik olarak sınıflandırmıştır. Ortamda fenamifosun oksidasyonu, *Brevibacterium* sp. gibi toprak bakterileri tarafından, ana bileşik kadar veya en azından eşit seviyede toksik olan fenamifos sülfoksit (FSO) ve fenamifos sülfonun (FSO₂) oluşumuyla sonuçlanır. Fenamifosun yüzey ve yüzey altı topraklarındaki yarı ömrü sırasıyla 50 ve 140 gün olarak rapor edilmiştir (Logeshwaran ve diğerleri, 2018; Caceres, Megharaj ve Naidu, 2008). Fenamifosun sudaki yüksek çözünürlüğü (0,4 g/L) ve toprakta orta derecede adsorbe olma yeteneği sebebiyle, uygulama alanlarından yüzey ve yer altı su kütlelerine kolayca sızabilir. Bu nedenle, biyota üzerindeki hedef dışı etkileri de dahil olmak üzere bu bileşiğin su ortamındaki akıbeti hakkında önemli bir endişe mevcuttur (Caceres ve diğerleri, 2008).

Fenamifosun toksikoloji profili, fareler, sıçanlar, tavşanlar ve köpekler dahil olmak üzere test edilen tüm türlerde, diğer organofosfatlar gibi asetilkolinesteraz aktivitesiyle ilgili olduğunu göstermektedir (Cruz, 1999). Fenamifos, yüksek memeli toksisitesine sahiptir ve bu nedenle bu kimyasalın kontamine ortamlardan uzaklaştırılması önemlidir (Singh, Walker ve Wright, 2006). Fenamifos, diğer OP bileşiklerinde olduğu gibi, hedef zararlıdaki asetilkolinesteraz enzimini bloke eder (Caceres ve diğerleri, 2010). Laboratuvar koşullarında yapılan incelemeler sonucunda, metabolitleri fenamifos sülfoksit ve fenamifos sülfon, enzim üzerinde ana bileşiğe göre daha yüksek bir inhibisyon göstermiştir. Bu bileşikler deriden, mide-bağırsak kanalından emilebilir veya solunabilir (Caceres ve diğerleri, 2010). Fenamifos, yeraltı suları ve içme suları yoluyla alımında risk açısından değerlendirilmiş ve gıda yoluyla maruziyete oranla daha büyük bir etkiye neden olduğu görülmüştür (Cruz, 1999).

2018'de Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından fenamifosa dair risk değerlendirmesinin incelenmesiyle çıkan sonuçlara göre, fenamifosun gecikmiş nöropatiye sebep olma potansiyeli tespit edilmemiş, sıçanlarda yapılan bir gelişimsel nörotoksisite (DNT) araştırmasında da gelişimsel nörotoksisite etkileri gözlenmemiştir. Aynı inceleme içerisinde fenamifos, sıçanlarda yapılan 4 haftalık immünotoksisite çalışmasında herhangi bir immünotoksik etki göstermemiştir (Abdourahime ve diğerleri 2019).

Caceres ve diğerlerinin, 2010 yılında organofosfatlı pestisitler ve fenamifosun çevresel etki ve toksisitesi üzerine yayınladıkları bir derlemede fenamifosun farklı canlı örnekleri üzerinde akut ve kronik toksik etkileri incelenmiş ve raporlanmıştır. Bu çalışmaya göre; erkek ve dişi Wistar cinsi ratlara kilogram başına 0; 0,4; 1,6 ve 4 gram şeklinde tek seferlik fenamifos uygulamasından bir gün sonra değerlendirilen davranış testinde herhangi bir değişiklik gözlenmediği, 2 mg/kg canlı ağırlıktan oluşan tek bir oral doz fenamifos uygulamasından 12-15 saat içinde vücuttan atıldığı rapor edilmiştir. Esas olarak idrar yoluyla atılan metabolitlerin; fenamifos sülfoksit fenol sülfat, fenamifos sülfon fenol, fenamifos fenol sülfat, fenamifos sülfoksit fenol ve fenamifos fenol, fenamifos sülfoksit, 3-hidroksimetil fenamifos sülfon fenol sülfat ve desisopropil fenamifos sülfoksit gibi fenamifos bileşikler olduğu belirtilmiştir. Aynı şekilde uygulamadan 50 dakika sonra yapılan plazma, kırmızı kan hücreleri ve beyin kolinesteraz aktiviteleri değerlendirmelerinde ratlarda uygulamaya bağlı herhangi bir değişiklik kaydedilmemiştir.

Daha yüksek dozda, uygulamadan sonraki 21 ve 31 dakika içinde ise fenamifos toksisitesi gözlemlendiğinde, kolinesteraz inhibisyonunun klinik belirtileri yaklaşık 2 saat boyunca devam ettiği raporlanmış ve kas fasikülasyonu, yürüyüş koordinasyonunda bozukluk, burun ve ağızda lekelenme, tükürük salgılama ve gözbebeği daralması, gözyaşı akması gibi ilgili etkiler de gözlemlenmiştir (Cruz, 1999).

Wistar sıçanları kullanılarak fenamifosa uzun süreli maruz kalma üzerine yapılan çalışmada ise ratlar farklı dozajlarda beslenmiş (maksimum uygulanan doz 30 mg/kg) ve popülasyon 2 ay boyunca gözlenmiştir. Çalışmanın ilk 6 haftasında kolinerjik uyarı işaretleri gözlemlenmiştir. Plazma kolinesterazın inhibisyonu, 3 mg/kg diyet konsantrasyonunda rapor edilmiştir. En yüksek doz uygulanan dişilerde tiroid bezinin ağırlığında artışlar gözlenmiş, ancak bu dokuda herhangi bir patolojik anormallik görülmemiştir (Caceres ve diğerleri, 2010).

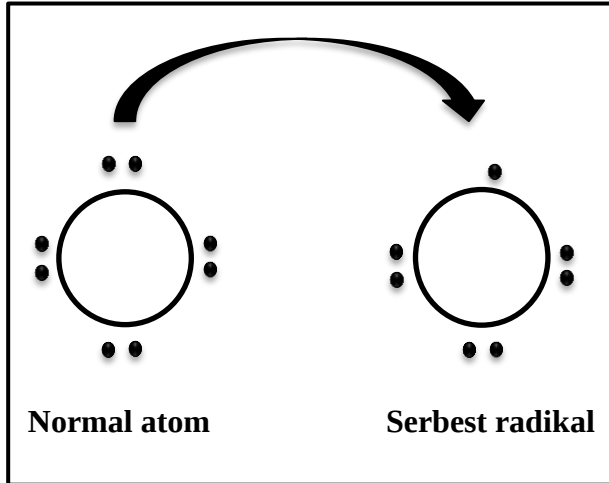
Hayvanların maksimum 50 mg/kg diyet konsantrasyonundaki fenamifosa maruz bırakıldığı 2 yıllık kronik sıçan toksisitesi çalışmasında da albino fareler, Fischer sıçanları ve Wistar ratlarda farklı dozlarda yapılan fenamifos uygulamaları sonucunda da deneklerde her iki cinsiyet için de herhangi bir karsinojenik etki gözlenmemiştir (Caceres ve diğerleri, 2010; Cruz, 1999).

Gebe dişi sıçanlar kullanılarak yapılan teratojenik çalışmalarda; hayvanlara gebeliğin 6. gününden 15. gününe kadar 0; 0,3; 1 ve 3 mg/kg vücut ağırlığı/gün dozlarında fenamifos (%92,5) oral yoldan uygulanmış ve günde 3 mg/kg fenamifos alan 25 dişinin 18'inde kolinerjik belirtiler gözlenmiştir. Fenamifosun sıçanlarda 3 mg/kg canlı ağırlık/gün konsantrasyonuna kadar embriyotoksik veya teratojenik olmadığı sonucuna varılmıştır (Caceres ve diğerleri, 2010).

2017 yılında *Glycine max* L. (soya) bitkisiyle, fenamifos ve bileşikleriyle kirlenmiş toprağın fitoremediasyonunu iyileştirmek üzerine yapılan bir çalışmada, fenamifos uygulanmış toprakta, fenamifos ve onun bozunma ürünlerinin varlığının bitkide toksik strese yol açtığı, bunun sonucunda hidrojen peroksit (H₂O₂) gibi reaktif oksijen türlerinin oluşumuna ve peroksidaz aktivitesinde artışa yol açtığı görülmüştür (Romeh ve Hendawi, 2017).

Canlılar her daim reaktif oksijen türlerine (ROS) maruz kalmaktadır. Reaktif oksijen türleri, metabolik olayların yan ürünleri olarak olduğu gibi normal hücre sel solunum esnasında ve ksenobiyotiklerin oto-oksidasyonu sırasında veya pek çok hastalık durumunda görülen oksidatif stresin bir sonucu olarak ortaya çıkar (Uzunbayır ve Apaydın, 2021).

Oksidatif stres, organizmada serbest radikal oluşumundaki artışa veya antioksidan savunma sistemindeki yetersizliğe bağlı olarak meydana gelir (Büyükuslu ve Yiğitbaşı, 2015). Serbest radikal, en az bir eşleşmemiş elektron bulunduran ve bir dereceye kadar bağımsızlık gösteren herhangi bir atom, molekül ya da bir atom veya molekülün bir bölümü şeklinde tanımlanır. Serbest radikaller, nötr bir atom veya moleküle bir elektronun eklenmesiyle ya da nötr bir atom veya molekülden bir elektronun ayrılmasıyla meydana gelebilir (Tvrda' ve Benko 2020).



Şekil 1.1. Normal atomdan elektron kaybıyla serbest radikal oluşumu (Omairi S., Al-habib M. F.M., 2014)

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde eşlenmemiş elektronlara sahip oldukları için diğer bileşiklerden farklı olan reaktif kimyasallardır ve hücresel bileşenlerde hasara sebep olabilirler. Dış yörüngedeki kararsız düzenlenme nedeniyle, karbonhidratlar, proteinler, nükleik asitler ve lipidler gibi yakındaki biyomoleküllerle tepkimeye girerek serbest kalırlar. Çeşitli çalışmalar, serbest radikallerin gereğinden fazla üretiminin nükleik asitler, proteinler ve lipidler de dahil olacak şekilde hücresel makromolekülleri negatif etkileyebileceğini ve dolayısıyla redoks durumunu değiştirebileceğini göstermiştir. Serbest radikallerin yol açtığı bu tür hasarlara “oksidatif stres” adı verilmektedir. Oksidatif stresin bir başka açıklaması, hücresel veya bireysel düzeyde oksidanlar ve indirgeyiciler (antioksidanlar) ilişkisindeki dengesizliğin oksidanlar lehine sonlanmasıdır (Othmène, Hamdi, Amara ve Abid-Essefi, 2020; Ünsal, Çiçek ve Sabancılar, 2021).

Serbest radikaller hücrelerde enerji üretiminde kullanılan oksijenin, oluşumundan sorumlu olduğu, reaktif oksijen türlerinden (ROS) veya reaktif nitrojen türlerinden (RNS) kaynaklanırlar. Serbest radikaller vücudun normal oksijen kullanımı sırasında mitokondri tarafından sürekli üretilmektedir. Enerji üretimi sonucunda oluşan bu serbest radikaller hücrelerin sinyal gönderici ve savunma mekanizmalarında önemli rol alırlar (Karabulut ve Gülay, 2016; Kurtdede, Pekcan ve Karagül, 2018).

Çeşitli çalışmalarda, oksidatif stresi indükleyen ROS'un karaciğer patolojileri, diyabet, amiotrofik lateral skleroz, parkinson, alzheimer, immün sistem bozuklukları, kanser, huntington, kardiyovasküler bozukluklar ve kalp fonksiyonunun bozulmasında rol

oynadığı bildirilmiştir. (Aslankoç, Demirci, İnan, Yıldız, Öztürk, Çetin, Savran ve Yılmaz, 2019; Othmène ve diğerleri, 2020; Ramos - Tovar ve Muriel, 2019).

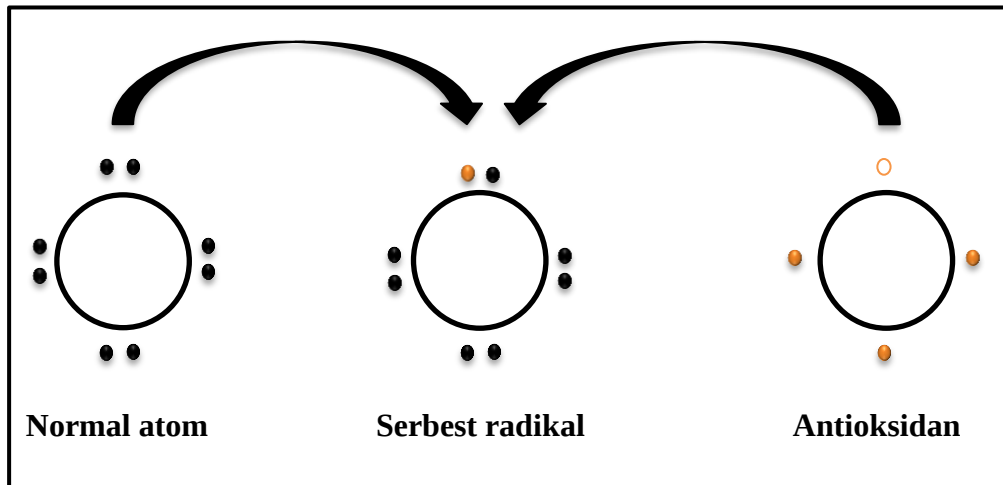
Serbest radikaller antioksidanlar tarafından engellenir ve yok edilir. Antioksidanlar serbest radikalleri yok etmenin yanında, antitrombotik, antiinflamatuvar, anti-alerjik, anti-karsinogenik ve antiviral işlevlere de sahiptirler. Antioksidanlar yüksek fenol bileşikleri ihtiva eder ve sentetik ilaçlara göre daha hafif yan etkilere sahiptirler. Canlılar, ROS hasarını en aza indirmek veya tamamen yok etmek için hücrel redoks homeostazisini düzenleyen gelişmiş bir antioksidan savunma sistemi bulundurur. Bu sebeple antioksidanlar ile ROS/RNS (redoks durumu) ilişkisindeki denge, normal işleyişin sürmesi için hayati öneme sahiptir.

Antioksidanlar enzimatik olmayan antioksidanlar ve enzimatik antioksidanlar olarak ikiye ayrılır. Enzimatik olmayan antioksidanlara örnek verilirse; glutatyon, ürik asit, bilirubin, melatonin, vitaminler (A, C, E), mineraller, karotenoidler (likopen, β -karoten, zeaksantin, lutein), flavonoidler (örneğin taksifolin), biyoflavonoidler (kersetin, mirisetin), flavon (örn., apigenin, luteolin), flavan-3-oller (örneğin kateşin, epigallokateşin), flavanon (örneğin hesperetin, naringenin), izoflavon (örneğin genistein, daidzein), antosiyanidin (örneğin siyanidin, delphinidin), Hidroksisinnamatlar (ferulik asit, kafeik asit, sinapik asit, p-kumarik asit) sayılabilir. Enzimatik antioksidanlar ise süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidazlar (GSH-Px), katalaz (CAT), peroksiredoksinler ve glutatyon S-transferaz (GST) ve Glutatyon peroksidaz (GPx) dahil olmak üzere çeşitli enzimlerdir. NADPH, GSH ve tioredoksin birlikte işlev gösterir. Bu enzimler ROS'un sebep olduğu hasarlara karşı savunma sağlar (Reena, Sundar, Sandhya, Dhanya ve Gopal, 2018; Ünsal ve diğerleri, 2021).

Antioksidan savunma sistemleri enzimatik ve enzimatik olmayan karışık sistemlere sahip oldukları için hücrede birinci, ikinci, üçüncü antioksidan savunma mekanizmaları mevcuttur (Aslankoç ve diğerleri, 2019). Enzimatik antioksidanlar zararlı oksidanları söndürürler ve vücudun ilk savunma hattı olarak görev yaparlar. Bu enzimlerin oluşumu veya aktivitesi için bakır, selenyum, manganez ve çinko gibi birçok temel mineral gereklidir. Dolayısıyla bu mineralleri sağlayan besinlerin yetersiz olması durumunda serbest radikallere karşı enzimatik mücadele bozulabilir (Reena ve diğerleri, 2018).

Serbest radikaller, yörüngelerinde tek bir eşlenmemiş elektron bulunan kimyasal türlerdir. Yaşlanma, çeşitli işlevlerde bozulma ve "strese" yanıt verme yeteneğinde zayıflama ile karakterize edilen, bilinen ve kesin belirtileri olan, evrensel ancak karmaşık bir biyolojik süreçtir. Serbest radikaller yaşlanmaya ve pek çok hastalığın ortaya çıkmasına neden olur. Esasen serbest radikaller normal fizyolojik reaksiyonların temel ara maddeleridir (Reena ve diğerleri, 2018).

Antioksidanların ROS/RNS'ye karşı yüksek afinitesi vardır ve homeostaziyi korumak için bu molekülleri temizler. Antioksidan özelliklere sahip bileşikler etkilidir çünkü serbest elektronlarını bağışlayarak serbest radikallerin aktivitelerini azaltmak için serbest radikal temizleyiciler olarak hareket eder ve hücresel redoks dengesini korumak için kullanılırlar. Serbest radikal bir antioksidandan elektron alıp stabil duruma geldiğinde, artık hücreye saldırma gereği duymaz ve oksidasyonun zincir reaksiyonu bozulur. Bir elektron verdikten sonra antioksidan, serbest radikal haline gelse bile, reaktif hale gelmeden elektronlardaki değişime uyum sağlama yeteneği sebebiyle zararsız ve stabil kalır (Reena ve diğerleri, 2018; Tovar ve Muriel, 2019).



Şekil 1.2. Normal atomdan elektron kaybıyla oluşan serbest radikale antioksidan müdahalesi (Omairi S., Al-habib M. F.M., 2014)

Antioksidan aktiviteye sahip pek çok molekül türü vardır. Şifalı bitkilerin içerdiği antioksidanlar kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır ve karaciğer hastalıkları da dahil olmak üzere birçok hastalık üzerine olumlu etkisi olduğu bilinmektedir (Tovar ve Muriel, 2019).

Antioksidan savunma sistemlerinin dört farklı mekanizması;

(1) Temizleme etkisi; serbest radikalleri etkileyerek onların tutulması ya da oksidanları daha zayıf bir moleküle çevirerek etkisiz hale getirmektir. Antioksidan enzimler ve mikromoleküller bu yolla işlev gösterir. (2) Baskılama etkisi; Oksidanlara bir hidrojen vererek onları etkisiz hale getirme ya da etkilerinin veya tepkime hızlarının yavaşlatılması. Vitaminler ve flavonoidler ise etkilerini bu şekilde gösterirler. (3) Onarma etkisi; serbest radikallerin lipid, protein ve DNA gibi yapılarda meydana getirdikleri biyolojik hasarın onarımı. (4) Zincir koparma etkisi; serbest oksijen radikallerini bağlayarak, zincirlerini kırıp işlevsiz hale getirilmesi (Aslankoç ve diğerleri, 2019). Antioksidan enzimlerin hücre içerisindeki reaktif oksijen türlerini temizlemede önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Kalender S., Apaydın, Baş ve Kalender Y., 2015).

İlk savunma hattı antioksidanları, hücrelerde serbest radikallerin veya reaktif türlerin meydana gelmesini inhibe etmek veya önlemek için çalışan bir antioksidan sistemidir. Serbest radikale dönüşme potansiyeli olan herhangi bir molekülü veya başka radikallerin üretimini tetikleme becerisine sahip herhangi bir serbest radikali nötr hale getirmekte epey hızlıdır. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzimleri bu hattın başında bulunur. Bu enzimler sırasıyla süperoksit radikalini dismute eder, hidrojen peroksitleri ve hidroperoksitleri zararsız moleküllere indirger (Ighodaro ve Akinloye, 2017). Bu nedenle bir antioksidan aynı zamanda indirgeyici ajan olarak da isimlendirilebilir. Oksidatif stres sebebiyle ortaya çıkan serbest radikallerin verebileceği hasarla mücadelede antioksidanların oldukça önemli olduğu düşünülmektedir. İnsan vücudunun oksidatif strese karşı kendi savunması olmasına rağmen, bunlar yaşlanmayla veya hastalık durumunda zayıflar. Antioksidanlar, oksitlenebilir bir substratın oksidasyonunu önleyebilen veya yavaşlatabilen moleküllerdir. Canlı organizmalar, redoks durumlarını düzenlemek için vücut dokularında karışık antioksidan sistemlerine sahiptir. Bu antioksidanlar doğal olarak varlık gösterebilir (yani süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz ve indirgenmiş glutatyon [GSH]) veya beslenme yoluyla gıdalarla elde edilebilirler (örn. C vitamini, polifenoller, karotenoidler ve antosiyaninler) (Reena ve diğerleri, 2018; Tovar ve Muriel, 2019).

Süperoksit dismutaz (SOD); canlıların her hücresinde bulunan, endojen olarak üretilen en önemli hücre içi enzimdir. Hücresel SOD, bir grup metaloenzim tarafından temsil edilir. Biyolojik sistemlerde üç esas SOD formu bulunur: bakır-çinko içeren SOD (CuZnSOD), manganez içeren SOD (MnSOD, aynı zamanda SOD₂ olarak da bilinir) ve demir içeren

SOD (FeSOD). Hücre dışı SOD, hücre dışı matriste bulunur. Karaciğer, dalakta, adrenal bez ve böbrekte yüksek miktarda SOD bulunur. SOD, ROS'u azaltarak ortadan kaldırma konusunda temel kabul edilir. Hidrojen peroksit ve oksijen meydana getirmek üzere protonlarla etkileşime girerek süperoksit radikalini uzaklaştırır. Negatif yüklü süperoksit anyonu enzim proteinine yaklaştığında, proteindeki pozitif yük onu çeker ve enzimlerin aktif bölgelerine kanalize eder. SOD aynı zamanda $O_2^{\cdot-}$ 'yi azaltarak ve $OH^{\cdot}$ oluşumunu destekleyerek antioksidan aktivite gösterir (Sharma G. N., Gupta ve Sharma P., 2018).

Katalaz (CAT); bitki, hayvan ve oksijenli solunum yapan bakteri hücrelerinde bulunan bir enzimdir. Esasen peroksisomlarda bulunan başlıca birincil antioksidan savunma enzimlerinden biridir, ancak aynı zamanda sitoplazmada ve mitokondride de az da olsa bulunur. Karaciğer, böbrek ve eritrositlerde belirgin seviyede katalaz bulunur. Hücreyi, lipid peroksidasyonunun bir yan ürünü olan hidrojen peroksitin toksik etkilerinden korumada işlevseldir. CAT, glutatyon peroksidaz ile paylaşılan bir fonksiyon olan hidrojen peroksitin su ve oksijene ayrışımını katalize ederek etki gösterir ve CAT, üst düzey etkinlik için eser metal kofaktörü olarak demir bulundurur (Karaboduk ve Kalender, 2021; Reena ve diğerleri, 2018; Sharma ve diğerleri, 2018).

Glutatyon Peroksidaz (GPx); Glutatyon peroksidazlar dört farklı selenoproteinden oluşur. Glutatyon peroksidaz enziminin iki formu bulunur; bunlardan biri selenyumdan bağımsızdır (glutatyon-S-transferaz, GST), diğeri ise selenyuma bağımlıdır (GPx). Bunlardan en önemlisi aynı zamanda mitokondri ve hücre dışı matrikste de var olan sitozolik GPx'tir. Diğerleri ise gastrointestinal GPx, selenyumdan bağımsız GPx ve fosfolipid hidroperoksit GPx'tir. GPx her yerde böbrek, karaciğer ve kırmızı kan hücrelerinde eksprese edilir. GPx enzimlerinin tümü, selenoller (Se-OH) oluşturarak peroksitleri azaltmak için iki adet elektron ekler. Bu selenol enzimlerinin antioksidan özellikleri, Fenton reaksiyonu için potansiyel substratlar olan peroksitleri yok etmelerine imkan tanır. GPx, indirgenmiş glutatyonu (GSH) oksitlenmiş glutatyon (GSSG) dönüştürerek hidrojen peroksiti uzaklaştırabilir. GSH'nin rejenerasyonu, bir redoks döngüsü oluşturan NADPH'ye bağımlı glutatyon redüktaz (GR) yoluyla gerçekleşir. GPx ayrıca lipid hidroperoksitleri plazma zarlarından uzaklaştırarak lipid peroksidasyonunun zincir reaksiyonunu da sona erdirebilir. Maksimum etkinlik gösterebilmesi için eser metal kofaktörü olarak selenyum bulundurur (Krishnamurthy ve Wadhwani, 2012; Sharma ve diğerleri, 2018). Yapılan çalışmalara göre düşük GPx seviyeleri antioksidan

sistemin bozulmasına sebep olur. Sonuçta, zar yağ asitleri ve fonksiyonel proteinlerde oksidatif hasar meydana gelmesi ve buna bağlı olarak nörotoksik hasarın gelişmesi ve nörodejenerasyon ile beraber kalıcı hasarların ortaya çıkması antioksidan savunma sisteminin bozulduğuna işaret etmektedir (Aslankoç ve diğerleri, 2019).

Glutasyon (GSH); tripeptidi indirgenmiş glutasyon (GSH), çok işlevli hücre içi, enzimatik olmayan bir antioksidandır. Hücre içi olarak sistein, glisin ve glutamattan sentezlenir. Esas olarak karaciğerde sentezlenir ve yaklaşık %40'ı safrada salgılanır. GSH redoks döngüsündeki substrat rolünün yanı sıra hidrojen peroksit, süperoksit, singlet oksijen ve hidroksil radikalleriyle de etkileşime girer. GSH, hidrojenperoksit bileşiklerinin indirgenmesini katalizleyerek memeli hücrelerini oksidatif hasara karşı korumada etkilidir. GSH'nin biyolojik rolü, bağırsak lümeninde beslenmedeki ksenobiyotiklere ve lipid peroksidasyonuna karşı savunma yaparak bağırsak epitelini oksijen radikal saldırısından korumaktır. GSH'nin etkinliği, çok sayıda elektrofilik ve oksitleyici bileşiklerle etkileşerek hem nükleofil hem de etkili bir indirgeyici olarak hizmet etmesine imkan tanıyan kimyasal özelliklerinden kaynaklanır. Glutasyonun oksidatif strese karşı koruyuculuğu, oksidatif strese karşı çeşitli detoksifiye edici enzimlerin kofaktörü olan glutatyonndan kaynaklanır. Plazma membranından amino asit taşınımına katılır, hidroksil radikalini ve tekli oksijeni doğrudan temizler, glutasyon peroksidazın katalitik etkisi ile hidrojen peroksit ve lipid peroksitleri detoksifiye eder ve C ve E vitaminlerini aktif formlarına tekrar dönüştürebilir (Krishnamurthy ve Wadhwani, 2012; Sharma ve diğerleri, 2018).

Glutasyon-S transferaz (GST); GSH'nin sülfhidril grubunun toksik kapasiteli, türlü elektrofillere konjugasyonunu katalizleyen çok fonksiyonlu bir detoksifikasyon enzimidir. Hücrede sitozolde veya mikrozomal bölümlerde yer alabilirler. Farklı GST enzimleri klasik şekilde endojen olarak ve çevrede üretilen pek çok zararlı kimyasala karşı hücre savunmasının bir parçası olarak rol oynarlar. GST'lar redükte glutasyon ile elektrofilik bileşikler arasında konjugasyonu sağlayan bir izoenzim ailesidir. GST enzim grubu, antibiyotik, analjezik, vazodilatör, antikanser ilaçlar ve herbisit, intektisit ve karsinogenlerin de içinde olduğu çok geniş bir elektrofilik substrat grubunun metabolizmasında rol alırlar (Orhan, E. H., ve Şahin, G. 1995; Strange, R. C., Spiteri, M. A., Ramachandran, S. ve Fryer, A. A., 2001; Zhang ve diğerleri, 2021).

İkinci hat savunma antioksidanları genellikle süpürücü antioksidanlar olarak isimlendirilir. Zincir başlangıcını engellemek ve zincir reaksiyonlarını kırmak üzere aktif olarak hareket eden radikalleri temizlerler. Serbest radikallere elektron aktarımı yaparak nötralize eder veya süpürürler ve bu süreçte kendileri de serbest radikallere benzer davranırlar ancak nispeten daha az zararlı etkilere sahiptirler. Bu "yeni meydana gelen radikaller", gruptaki başka antioksidanlar tarafından kolayca nötralize edilir ve tam anlamıyla zararsız hale getirilir. Hidrofilik olarak glutatyon, askorbik asit, (C vitamini) ürik asit, lipofilik olarak ubikinol, alfa tokoferol (E vitamini) gibi pek çok antioksidan bu sınıflandırmaya dahildir.

Üçüncü hatta bulunan antioksidanlar, ancak hücrede serbest radikal hasarı meydana geldikten sonra devreye girerler. Bu sınıf, serbest radikallerin biyomoleküllere verdiği hasarı onaran ve zarar görmüş hücre membranını onaran de novo enzimlere sahiptir. Hasar görmüş DNA, protein ve lipidlerin onarımında görev yapan bir gruptur. Vücut dokuları için zararlı olabilecek birikintileri engellemek için oksitlenmiş veya zarar görmüş proteinleri, lipidleri ve DNA'yı tanır, parçalarlar ve uzaklaştırarak bir tür 'temizlik görevi' yerine getirirler. Gruba dahil olan en bilinen örnekler, memeli hücrelerinin hem sitozolünde hem de mitokondrisinde varlık gösteren DNA onarım enzim sistemlerini (polimerazlar, glikosilazlar ve nükleazlar), proteolitik enzimleri (proteinazlar, proteazlar ve peptidazlar) içerir.

Dördüncü hat antioksidan grubu temelde, serbest radikallerin ortaya çıkmasını veya işlevlerini önlemek amacıyla serbest radikal üretimi ve reaksiyonu için gerekli sinyalleri kullandıkları bir adaptasyon mekanizmasını bulundurur. Oluşan serbest radikalden üretilen sinyal, uygun bir antioksidanın oluşumunu ve doğru konuma taşınmasını teşvik eder (Ighodaro ve Akinloye, 2017).

ROS, reperfüzyon hasarının patogeneğinde oldukça yer alır. İskemik dokuda hasar, lizozomal zarın bozulması ve lizozomal sindirim enzimlerinin salınması ile karakterize edilen reperfüzyon süreci sırasında meydana gelir. Hasar, iskemik dokuya oksijen yeniden etkileştiğinde üretilen süperoksit radikallerinin akışından kaynaklanır. C vitamini lipid peroksidasyonunu hafifletir veya sınırlar ve açık kalp ameliyatı esnasında ve devamında miyokardı iskemi-reperfüzyon hasarından korur. Askorbik asit aynı zamanda

postiskemik dokularda hücresel bütünlüğün ve ATP düzeylerinin korunmasında da etkinliğini ortaya koymaktadır (Sharma ve diğerleri, 2018).

Vitaminler gibi enzimatik olmayan antioksidanlardan diğer önemli bir grup da flavonoidlerdir. Flavonoidlerin güçlü antioksidan ve metal şelasyon aktivitesi, fenolik doğalarından kaynaklanır. Ayrıca antialerjik, antihepatotoksik, antiinflamatuvar, antikanserojen ve antitrombotik etkiler ortaya koydukları da bilinmektedir (Demirtaş E. ve Demirtaş H., 2023).

Bitkiler, antik dönemlerden beri insanlar tarafından gıda ve ilaç gibi pek çok amaçla kullanılmaktadır. Günümüzde mevcut olan ilaçların birçoğu doğal kaynaklardan elde edilmiştir. Dünya çapında reçete edilen ilaçların %25'ten fazlası bitkilerden elde edilmekte ve bu tür aktif bitki bileşenlerinin 121'i çeşitli hastalıklar için kullanılmaktadır. Flavonoid terimi, sarı anlamına gelen Latince "flavus" kelimesinden türetilmiştir. Bitki dokularında mavi, kırmızı ve mor pigmentler bulunduran özelliklere sahip bir bitki ikincil ürünüdür. Bitkilerdeki fizyolojik işlevlerinin yanında flavonoidler, besin maddesi olarak kabul görmese de insan diyetinde önemli bileşiklerdir. Flavonoidal bileşikler, üç karbon atomu (C halkası) içeren bir hetero döngü ile birbirine bağlanan altı karbon atomlu iki aromatik halkadan (A ve B halkası) meydana gelmiş aynı temel iskeleti, flavan çekirdeğini paylaşır. Flavonoidler çeşitli biyolojik özelliklere sahip önemli doğal bileşiklerdir. Turuncu flavonoidleri önemli bir flavonoid serisi oluşturur (Kiran, Rohini ve Bhagyasree, 2017).

Flavonoidler, çiçeklerdeki sarı, kırmızı ve turuncu tonları gibi bitki bölümlerinin çeşitli renklerinden sorumlu olan bitki kaynaklı fitokimyasallardır. Yenilebilir bitkilerde flavonoller, flavonlar, flavanonoller, flavanoller, flavanonlar ve izoflavonlar gibi 4,000'den fazla flavonoid rapor edilmiştir ve insanların beslenmesinde düzenli olarak tüketilmektedir. Meyve ve sebzelerde bulunan flavonoidlerin sağlık bakımından çeşitli faydaları bulunmaktadır. Flavonoidlerin biyosentezi, şikimik asit ve asilpolimalonat metabolik yollarının birlikteliği yoluyla gerçekleşir (Kiran, Rohini ve Bhagyasree, 2017).

Flavonoidler, ortak bir benzo-gpiron yapısı ile karakterize edilen, geniş olarak dağılım gösteren polifenolik bir bileşik grubudur. 4,000'den fazla çeşit flavonoid tanımlanmış olup bunlar flavonoller, flavonlar, flavanonlar, izoflavonlar, kateşinler ve antosiyanidinler

olarak gruplandırılmıştır. Meyve ve sebzelerde doğal olarak, esasen flavonoid glikozitler halinde bulunurlar ve bu nedenle insan diyetinin önemli bileşenleridirler (Felgines, Texier, Morand, Manach, Scalbert, Régerat ve Rémésy, 2000). Hesperidin ve naringin gibi flavanonlar diğer flavonoid bileşiklere nispeten daha sınırlı bir dağılıma sahiptir ve turunçgillere özgüdür. Doğal olarak oluşan turunçgil flavonoidleri biyolojik aktivite açısından araştırılmış ve antikarsinogenik, antiinflamatuvar ve antitümör gibi çeşitli biyolojik aktiviteleri kaydedilmiştir. Naringin (49,5,7-trihidroksiflavanon-7-rhamnoglukozit veya naringenin-7-rhamnoglukozit), greyfurtta (*Citrus paradisi*) (kuru ağırlığın %10'una kadar) baskın olan flavanondur ve greyfurt meyvesinin suyunun acılığından sorumludur (Felgines ve diğerleri, 2000; Karim, Jia, Zheng, Cui ve Chen 2018).

Birçok bilimsel araştırma gıdaların iyi antioksidan kaynakları olduğunu, antiinflamatuvar etkilerini, aterosklerosis ve koroner kalp hastalıklarından koruma yönünü ve fenolik bileşenler içinde önemli bir grup olduğunu ortaya koymaktadır (Atınç ve Kalkan, 2018).

Naringenin (2,3-dihidro-5,7-dihidroksi-2-(4-hidroksifenil)-4H-1-benzopiran-4-on), limon, portakal, bergamot, klementin ve domates gibi turunçgillerde bolca bulunan acı ve renksiz bir bileşiktir (Karim ve diğerleri, 2018; Tutunchi, Naeini, Ostadrahimi ve Hosseinzadeh-Attar, 2020). İnsan vücudunda naringenin dağılımına göre mide, ince bağırsak, karaciğer, böbrek, soluk borusu, akciğer, kalp, yağ, kas, testis, yumurtalık, dalak, beyin ve idrarda varlık göstermektedir (Demirtaş, 2023). Naringenin emilimi çoğunlukla ince bağırsakta gerçekleşir (Nielsen ve diğerleri, 2006).

Çeşitli araştırmalarda naringenin, lipid peroksidasyonunu dikkate değer seviyede azalttığı ve karaciğerdeki antioksidan savunma seviyelerini yenilediği rapor edilmiştir. Naringenin takviyesi aynı zamanda serum albümini ve toplam protein konsantrasyonlarını da tekrar kazandırmış ve farelerde dimetilnitrozamin kaynaklı hepatotoksistide malondialdehitin hepatik konsantrasyonunu düşürmüştür (Demirtaş E. ve Demirtaş H., 2023). Naringenin, insan sağlığı üzerinde çokça biyolojik etkiye sahiptir, lipid peroksidasyon biyobelirteçlerini ve protein karbonilasyonunu azaltmıştır, karbonhidrat metabolizmasını teşvik eder, antioksidan savunmaları arttırmış, reaktif oksijen türlerini temizlemiş, bağışıklık sistemi aktivitesini düzenlemiş, ayrıca antiaterojenik ve antiinflamatuvar etkiler de göstermiştir. Ayrıca, yağ asitleri metabolizması ile ilgili sinyal

yollarını düzenleme konusunda büyük bir yeteneğe sahip olduğu bildirilmiştir, yağ asitlerinin oksidasyonunu desteklemiş, karaciğerde lipit birikimini bozmuş ve böylece karaciğer yağlanmasını engellemiştir, ilave olarak plazma lipitlerini ve lipoprotein birikimini etkili bir şekilde önlemiştir (Demirtaş E. ve Demirtaş H., 2023).

İnsan hücre dizilerinden faydalanan in vitro araştırmaların yanı sıra, sıçanları ve fareleri kapsayan hayvan araştırmaları, naringenin anjiyogenez, tümör gelişimi ve tümör büyümesi durumlarında karsinogenezin inhibe etme potansiyelini ortaya koymuştur. Naringenin aynı zamanda doza bağlı olarak çeşitli kanser hücre dizilerinde sitotoksik ve apoptotik etkilere neden olduğu da bildirilmiştir (Demirtaş E. ve Demirtaş H., 2023).

Çeşitli çalışmalar, naringin ve naringenin miyokardiyal iskemi ve kalp hipertrofisi gibi çeşitli kardiyovasküler hastalıklar açısından önemli koruyucu etkiler gösterdiğini de ortaya koymuştur (Moghaddam, Samimi, Moradi, Little ve Farzaei, 2020). Naringenin ve naringin, diyabetle beraber bulunan KVH (kardiyo vasküler hastalıklar) hastalarını tedavi etmek için potansiyel ajanlar olabilir (Moghaddam ve diğerleri, 2020).

Tarih boyunca kalbin vücutta önemli bir fonksiyonu olduğuna inanılmıştır ve anatomisi ile dolaşım sistemi fizyolojisi çeşitli çalışmalarla her daim araştırılmıştır (Çağlar, Çelik ve Şevkioğlu, 2014). Kalp göğüste, diyaframın hemen üzerinde, göğüs kafesinin mediasten adı verilen bölgesinde özellikle de orta mediastende bulunur. Normal insan kalbi boy ve kiloya göre değişiklik gösterir. Kalbin tepe noktası ileri, aşağı ve sola doğru işaret eder. Alt diyafragma yüzeyi direkt olarak diyaframın üzerinde bulunur. Kalp, fibröz perikard ve seröz perikard olmak üzere ikiye ayrılan, perikardiyal kese adı verilen çift duvarlı fibroseröz bir kese içinde bulunur (Shah, Gnanasegaran, Sundberg-Cohon ve Buscombe, 2009).

Kalp kası, yapı ve kasılma mekanizması olarak çizgili kaslara benzerlik gösterir; ancak istemsiz şekilde ve ritmik olarak fonksiyon gösterir. Diğer kaslara uyarı beyinden gelen sinirlerle iletilirken kalp kası kendi uyarısını oluşturur, çalışma frekansı (nabız) bilgisini ise beyinden alır (Moore ve Ruska, 1957).

Kalp, iki fonksiyonu yerine getiren kas yapılı bir organdır. İlk görevi vücuttaki dokulardan kanı toplayarak akciğerlere iletilmesini sağlamak, ikinci görevi ise kanı

akciğerlerden toplayarak vücudun diğer dokularına iletilmesini sağlamaktır (Weinhaus ve Roberts, 2005).

Kalbin duvarları üç katmandan oluşur: yüzeysel epikardiyum; kalp kasından oluşan orta miyokard; ve iç endokardiyum. Kalp kası hücreleri, hücrelerin iletişim kurmasını sağlayan ve elektriksel uyarıların bir hücreden diğerine doğrudan iletilmesine izin veren ara diskler içerir (Weinhaus ve Roberts, 2005).

Endokardiyum, kalbin en içteki tabakasıdır. Kalbin odacıklarını döşer ve kapakçıklar, korda tendinealar ve papiller kaslar gibi çıkıntı yapan yapılar üzerinde bulunur. Endokardın yüzeyi, ince damarlı bir bağ dokusu tabakası üzerinde uzanan endotelden oluşmaktadır. Subendokardiyal tabakada kan damarları, sinir ve bağ dokusu gibi yapılar bulunmaktadır. Miyokard, kalbin orta kas tabakasıdır. Kardiyomiyositler olarak isimlendirilen kalp kası hücrelerinden oluşmaktadır. Kalp kası hücreleri, interkalar diskler adı verilen karmaşık bağlantılarla birleştirilir (Sağlık & Bilim 2022: Güncel Tıp-II, 2022; (Weinhaus ve Roberts, 2005). Diskler, hücreleri bir arada tutacak yapışkan bölgeler bulundurur ve iyonların hücreler arasında kolayca geçişini sağlayacak boşluklu bağlantılar taşır. İyonların hücreler arasındaki serbest hareketi, bir elektrik impulsunun tüm kalp kası hücreleri ağı boyunca doğrudan iletilmesine imkan tanır. Bu uyarı, tüm kas hücrelerine aynı anda kasılma sinyali gönderir (Weinhaus ve Roberts, 2005).

Kalbin en dışındaki tabaka epikard, kalp tabanında parietal perikard ile devam etmektedir. Subepikardiyal tabaka miyokardiyuma bağlıdır ve fibröz bağ dokusu, kan damarları, lenfatik damarlar ve sinirlerden meydana gelmektedir (Sağlık & Bilim 2022: Güncel Tıp-II, 2022).

Kalp, morfolojik ve işlevsel açıdan dört farklı odadan oluşan karmaşık bir organdır. Sol atriyum (LA) ve sağ atriyum (RA), sırasıyla sol ventrikülün (LV) ve sağ ventrikülün (RV) hemen üzerinde yer alan küçük, ince duvarlı odacıklardır. Karıncıklar işin çoğunu yapan daha büyük, kalın duvarlı odacıklardır. Düşük basınçlı sağ atriyum ve ventrikülden oksijence fakir kan, akciğerlere doğru itilir. Oksijence zengin kan sol atriya ve ventriküle girer ve bu da kanı sistemik basınçla vücutta dolaştırır. Odalar, interatriyal ve interventriküler bölmelerle ayrılır ve tek yönlü akış, atriyo-ventriküler ve ventriküler-arteriyel kapaklarca sağlanır. Kalpte dört kapak bulunur ve kalbin fibröz iskeleti, dört

kapakçığın halkasını, membranöz septumu, aortik intervalvüler, sağ ve sol fibröz trigonları içerir. Sağ trigon ve membranöz septum birlikte, His demetinin içinden geçtiği merkezi fibröz gövdeyi oluşturur. İçsel bir elektrofizyolojik sistem, elektriksel uyarıları sinoatriyal düğümden atriyoventriküler düğüme ve Purkinje lifleri boyunca kasılmanın başladığı apekse hızla yayar. (Litviňuková ve diğerleri, 2020; Shah ve diğerleri, 2020)

İnsanların pestisitlere karşı maruziyeti, kanser ve solunum yolu enfeksiyonları gibi diğer hastalıklarla karşılaştırıldığında daha az vurgulanmakla birlikte, çeşitli kardiyovasküler fonksiyon bozukluklarıyla da ilişkilendirilmiştir (Adeyemi, Ukwenya, Arowolo ve Olise, 2021).

Epidemiyolojik çalışmalar, pestisitlere mesleki ve çevresel maruziyet ile konjestif kalp yetmezliği, miyokard enfarktüsü, aritmi, inme gibi kardiyovasküler hastalıklar arasında yakın bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur (Adeyemi, Ukwenya, Arowolo ve Olise, 2021).

Pestisit maruziyeti ile kardiyovasküler hastalıkların görülme sıklığı arasındaki ilişkinin gösterilmesi amaçlanan bir araştırmada, Kuakini Honolulu Kalp Programından toplam 7557 Japon-Amerikalı erkek çalışmaya dahil edilmiştir. Sonuçlar, yüksek düzeyde pestisitlere maruz kalmanın tek başına kardiyovasküler hastalıklarla yakından ilişkili olmadığını ortaya koymuştur. Bununla birlikte, yaşa göre ayarlandığında pestisit maruziyeti ile kardiyovasküler hastalıklar ve diyastolik kan basıncı, tokluk trigliserid seviyesi, fiziksel aktivite indeksi, alkol alımı gibi durumların kardiyovasküler hastalıkların diğer risk faktörleri olduğuna dair güçlü bulgular elde edilmiştir. Sonuç olarak, çalışma bulguları mesleki olarak pestisitlere maruz kalmanın kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Adeyemi, Ukwenya, Arowolo ve Olise, 2021).

Tayvan'da akut organofosfatlı pestisit zehirlenmesine maruz kalan bireylerden oluşan bir grupta, maruz kalmayan bireylerle karşılaştırıldığında aritmi, koroner arter hastalığı ve kalp yetmezliğinin kümülatif insidansının daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. Maruz kalan bireyler arasındaki risk, yaş, cinsiyet ve komorbiditelere göre düzeltme yapıldıktan sonra hem aritmi hem de kalp yetmezliği açısından anlamlı olduğu görülmüştür. Çalışma, akut OP zehirlenmesi ile kardiyovasküler hastalıklar arasında anlamlı bir ilişki olduğunu

göstermektedir. OP zehirlenmesi olan hastalarda sinir uçlarında asetilkolin birikimi kalıcı kalp hasarı ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Hung, Yang, Li, Lin, Chang, Sung ve Tai, 2015; Zago, Faria, Favero, Meucci, Woskie ve Fassa, (2022).

Kenya rift vadisinin 80 km kuzeybatısında yer alan Naivash'ta yürütülen bir araştırma, çiftçilerin çoğunun tarım kimyasallarıyla ilgili sağlık sorunlarından şikayetçi olduğunu göstermiştir. Bölgedeki çiftliklerin çoğunda, seracılık, çiçekçilik ve bahçecilik yaygın olduğu için bitki ve yabani otların gelişimini kontrol altında tutmak için yıl boyunca çeşitli zirai kimyasallar yoğun şekilde kullanıldığı ve tarım işçilerinin sık sık tarım ilaçları uyguladıkları bildirilmiştir. Aynı zamanda, yabani otların temizlenmesi, ekim ve hasat işlemlerini gerçekleştiren çiftçiler, belirli bir süre boyunca potansiyel olarak pestisit maruziyetiyle ilişkili semptomların en yüksek oranda olduğunu bildirmiştir. Toplam 247 tarım işçisinde kardiyovasküler semptomlar (çarpıntı, göğüs ağrısı ve bacaklarda şişlik) görülmüştür. Tarım kimyasallarını sürekli olarak kullanan çiçek çiftliği işçilerinin daha yüksek bir oranının, yaşamları boyunca yüksek oranda kardiyovasküler hastalık vakası sergilediklerine dair veriler kaydedilmiştir. Bu bulgular, çeşitli kardiyovasküler rahatsızlıkların zaman içinde zirai kimyasalların işlenmesi ve kullanılmasıyla bağlantılı olduğunu ortaya koymaktadır. Ödem, solgunluk ve taşikardinin de tarım kimyasallarına maruz kalmanın neden olduğu kardiyovasküler hastalıklarla ilgili yaygın semptomlardan olduğu rapor edilmiştir (Sekhotha, Monyeke ve Sibuyi, 2016).

Klorpirifosun, uygulandığı ratların kalp dokularında miyokardiyal liflerde düzensizlik ve dejenerasyona yol açtığı, bağ dokusunda ödem, kalp kası hücrelerinde sitoplazmik vakuolizasyon ve kalp kası hücrelerinde dejeneratif farklılıklara sebep olduğu görülmüştür. Kuersetin ve kateşin antioksidanları uygulanan gruplarda ise histopatolojik değişikliklerin daha hafif olduğu gözlemlenmiştir. Araştırmanın sonuçları, düşük dozda klorpirifosun kalp toksisitesine neden olduğunu, klorpirifosun antioksidan enzimlerin aktivitelerinde önemli değişikliklere neden olduğunu ve kateşin ve kuersetin antioksidanlarının bu toksisiteyi hafifletici etki ortaya koyduğunu ancak tamamen koruyucu olmadığını göstermiştir (Baş ve Kalender, 2011).

Öğütçü, Uzunhisarcıklı, Kalender, S., Durak, Bayrakdar ve Kalender. Y.,'nin 2006 yılında yayınladıkları başka bir çalışmada organofosfatlı bir insektisit olan diazinonun kalp dokusu üzerindeki toksisitesi ve MDA seviyesi incelenmiş ve diazinonun LD₅₀

düzeının altındaki dozun dahi kalp hücrelerinde MDA seviyesini arttırdığı, mitokondrilerde aşırı şişme, vakuolizasyon ve sitoplazmik ödem gibi dejenerasyonların görüldüğü kaydedilmiştir. Aynı çalışmada antioksidan özelliklere sahip E vitamini uygulamasının kalp hücrelerini ve hücre altı yapıları oksidatif hasardan koruduğu rapor edilmiştir.

Bu tez çalışmasında, organafosfatlı bir insektisit olan fenamifosun, erkek Wistar albino sıçanlarının kalp dokusu üzerindeki toksik etkisi ve antioksidan özellikleri bulunan naringeninın koruyucu etkisi araştırılmıştır. Araştırmada kalp dokusundaki antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, CAT, GPx, GST) ve lipid peroksidasyonun son ürünü ve önemli bir belirleyicisi olan MDA düzeylerindeki değişiklikler ve kalp dokusundaki histopatolojik farklılıklar incelenmiştir.

2. MATERİYAL METOT

2.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmadaki hayvan deneyleri için Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan izin alınmıştır (G.U. ET-22.011). Deneylerde Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezi tarafından sağlanan, ortalama 250-300 g ağırlığında 24 adet erkek Wistar sıçan (her grupta 6 adet olacak şekilde) kullanılmıştır. Hayvanlar oda sıcaklığında, 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık fotoperiyodunda, %40 bağıl nem koşullarında standart laboratuvar diyeti ve su ile beslenmiştir.



Resim 2.1. Deneyde kullanılan sıçanların bulunduğu kafesler

2.2. Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan kimyasallar olan fenamifos ve naringenin, sigma-aldrich firması tarafından sağlanmıştır.

2.3. Hayvanlara Uygulama Planı

Bu araştırmada toplamda 24 adet sıçan kullanılmış ve her grupta 6 sıçan vardır. Uygulamalar sabah saat 09.00–11.00 arası, beslenmiş sıçanlara yapılmıştır. Sıçanlara yapılan uygulamanın ilk günü deneyin 0. günü olarak kabul edilmiştir. Deney 4 hafta (28

gün) sürmüştür ve her gruba uygulanan maddeler sıçanlara günde bir defa oral (gavaj) yolla verilmiştir.

Çizelge 2.1. Deney grupları ve kimyasalların uygulama planı

Grup No	Gruplar	Hayvan Sayısı	Uygulanacak Madde Miktarı	Uygulama Süresi
1	Kontrol Grubu	6	1 ml/kg vücut ağırlığı (v.a) distile su	28 gün
2	Fenamifos uygulama grubu	6	0,76 mg/kg v.a. (1/25 LD ₅₀) fenamifos (distile su (1 ml/kg v.a.) içinde çözünmüş)	28 gün
3	Naringenin uygulama grubu	6	50 mg/kg v.a. naringenin (distile su (1 ml/kg v.a.) içinde çözünmüş)	28 gün
4	Fenamifos + naringenin uygulama grubu	6	0,76 mg/kg v.a. (1/25 LD ₅₀) fenamifos + 50 mg/kg v.a naringenin (distile su (1 ml/kg v.a.) içinde çözünmüş)	28 gün



Resim 2.2. Sıçanlara oral gavaj yoluyla uygulama yapılması

2.3.1. Kontrol grubu

Kontrol grubunda ki sıçanlara 1 ml/kg vücut ağırlığı (v.a.) distile su gavaj yoluyla verilmiştir.

2.3.2. Fenamifos grubu

Fenamifos grubunda yer alan sıçanlara her gün 0,76 mg/kg v.a. (1/25 LD₅₀) fenamifos distile su (1 ml/kg v.a.) içinde çözülerek oral gavaj yoluyla verilmiştir.

2.3.3. Naringenin grubu

Naringenin grubunda yer alan sıçanlara her gün 50 mg/kg v.a. distile su (1 ml/kg v.a.) içinde çözülerek oral gavaj yoluyla verilmiştir.

2.3.4. Fenamifos + Naringenin grubu

Bu grupta bulunan sıçanlara günlük 0,76 mg/kg v.a. fenamifos ve 50 mg/kg v.a. naringenin birlikte distile su (1 ml/kg v.a.) içinde çözülerek oral gavaj yoluyla verilmiştir.

2.4. Dokuların Elde Edilmesi

Tüm gruplardaki sıçanlar 28 günün bitiminde, ketamin (45 mg/kg) + ksilazin (5 mg/kg) anestezi madde karışımı ile intramuskular şekilde anestezi etkisi altına alındıktan sonra disekte edilmiştir. Daha sonra, disekte edilen sıçanlardan alınan kalp dokuları öncelikle tamponda yıkanmış, sonrasında nötral formalin içerisine alınarak ışık mikroskopunda incelenmek üzere hazırlanmıştır. MDA seviyesinin ve antioksidan enzimleri olan SOD, CAT, GST ve GPx enzim aktivitelerinin de değerlendirilebilmesi için kalp dokusundan örnekler temin edilmiştir. Biyokimyasal analiz için alınan bu örnekler, sıvı azot içerisinde dondurulduktan sonra -80°C’de saklanmıştır.

Bu çalışmada MDA seviyeleri ile antioksidan enzim aktivitelerini (SOD, CAT, GPx ve GST) incelemek için elde edilmiş olan kalp dokuları homojenizatör (Heidolph Silent Crusher M) cihazı kullanılarak, 7.4 pH değerine sahip homejenizasyon tamponunda homojenize edilmiştir. MDA seviyeleri ve antioksidan enzimlerin aktiviteleri, spektrofotometre cihazı (Shimadzu UV-1700) kullanılarak ölçülmüştür. Protein seviyeleri ise 4 °C sıcaklıkta, Lowry ve arkadaşları (1951) tarafından belirlenen yöntem izlenerek (Lowry, Rosebrough, Farr ve Randall, 1951) tespit edilmiştir.

2.5. Malondialdehit (MDA) Seviyelerinin Belirlenmesi

Kalp dokularındaki MDA düzeylerinin tespiti, Ohkawa, Ohishi ve Yagi (1979) tarafından belirlenen teknik kullanılarak yapılmıştır. Bu teknik esasında tiyobarbitürik asitin (TBA) reaksiyona girerek renk değişimi ortaya koyduğu, lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA miktarı tespit edilir. Spektrofotometre cihazında 532 nm dalga boyunda ölçüm yapılmış ve çıkan sonuçların ifadesi nmol/mg protein şeklinde yapılmıştır.

2.6. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

2.6.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) enzim aktivitesinin belirlenmesi

Total SOD enzim aktivitesi tespit edilirken Marklund ve Marklund (1974) metodu kullanılmıştır. Pyrogallol'un 3 dakika süreyle alkali ortamda otooksidasyonu ile yükselen absorbans ölçülmüştür. Toplam SOD aktivitesi, pyrogallol'un otooksidasyonun % 50 inhibiyonuna neden olan protein miktarı olarak hesaplanmış ve sonrasında homojenattaki 1 mg protein başına toplam SOD aktivitesi U/mg protein olarak belirtilmiştir.

2.6.2. Katalaz (CAT) enzim aktivitesinin belirlenmesi

Katalaz enziminin aktivite ölçümü yapılırken Aebi (1984) tarafından belirtilen metot kullanılmıştır. Öncelikle elde edilen süpernatanta peroksizomlardaki katalazı açığa çıkarmak adına Triton X-100 ilave edilmiş ve üzerine hidrojen peroksit eklenerek enzimatik reaksiyon başlatılmıştır. Üç dakika süresince 240 nm'de H_2O_2 'in parçalandığını ifade eden, azalan absorbans belirlenmiştir. Belirlenen katalaz enzim aktivitesi nmol/mg protein birimiyle ifade edilmiştir.

2.6.3. Glutatyon Peroksidaz (GPx) enzim aktivitesinin belirlenmesi

GPx enzim aktivitesinin ölçümünde Paglia ve Valentine (1987) tarafından belirlenmiş olan metoddan faydalanılmıştır. Okside glutatyon (GSSG) ve nikotinamid-adenin-dinükleotid hidrojen fosfatı (NADPH) substrat olarak kullanan glutatyon redüktazın 340 nm'de NADPH'ı okside etmesi sonucunda meydana gelen absorbansın ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Enzimin spesifik aktivitesi nmol/mg protein olarak ortaya konmuştur.

2.6.4. Glutasyon S Transferaz (GST) enzim aktivitesinin belirlenmesi

GST enzim aktivitesinin ölçülmesinde Habig, Pabst ve Jakoby (1974) tarafından geliştirilen teknik kullanılmıştır. Bu yöntemde göre 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) GST'nin bütün izozimleri için substrat olarak kullanılmıştır. CDNB GST enzimi tarafından, indirgenmiş glutasyon (GSH) ile konjuge edilerek GSH'ın oksidasyonuna bağlı olarak 340 nm'de absorbanans ölçülmüştür. Hesaplamalar yapıldıktan sonra spesifik enzim aktivitesi nmol/mg protein olarak gösterilmiştir.

2.7. Işık Mikroskobu İncelemeleri

Kalp dokusunun histopatolojik incelemeleri için sıçanların disekte edilmesiyle alınan kalp dokuları %10'luk nötral formalin içerisinde tespit edilmiştir. Daha sonra dokular yükselen alkol serilerinden geçirilip dehidre edilerek parafin blok haline getirilmiştir. Parafin bloklardan 5-7 µ kalınlığında kesitler alınıp hemotoksilen-eozin boyası ile boyanarak entellan ile daimi preparat haline getirilmiştir. Kesit alınıp boyanan preparatlar Olympus BX-51 ışık mikroskobu ile incelenerek Olympus-E-330 kamera ile fotoğraflanmıştır.

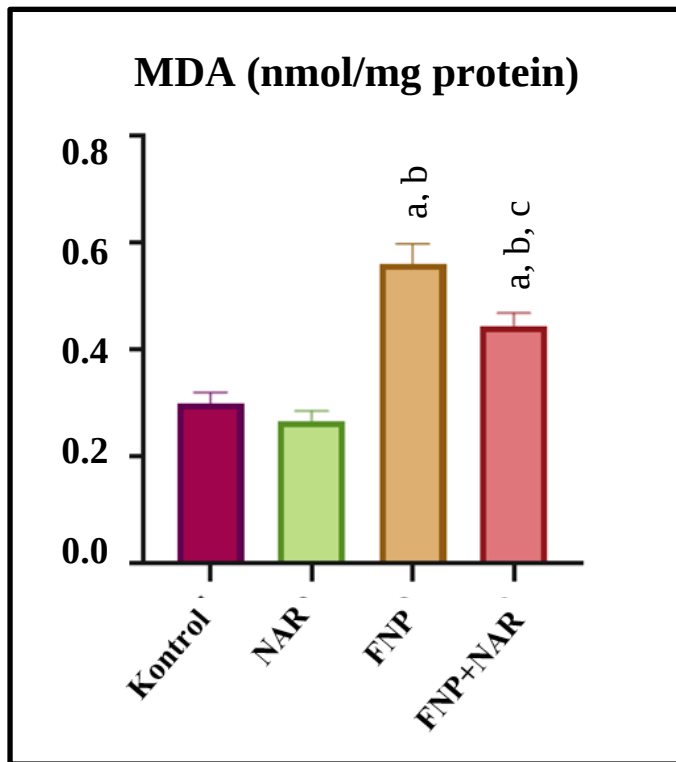
2.8. Verilerin Değerlendirilmesi

Bu araştırmadaki gruplar, IBM SPSS Statistics 23 programıyla incelenmiştir. Tukey ve Anova testleriyle yapılan değerlendirmelerde ortalama, $\pm$ standart hata ortalaması ($p < 0,05$) olarak alınmıştır.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1. Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Değerlendirilmesi

MDA düzeyi incelendiğinde, kontrol ve naringenin uygulanan grupların kalp dokularında istatistiksel düzeyde anlamlı bir fark meydana gelmemiştir. Kontrol grubu ve naringenin uygulanan grup ile fenamifos ve fenamifos+naringenin uygulanan gruplar karşılaştırıldığında ise, kalp dokularındaki MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlenmiştir. Fenamifos uygulanan grup ile fenamifos + naringenin uygulanan grup karşılaştırıldığında MDA seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma kaydedilmiştir ($p<0,05$) (Şekil 3.1).

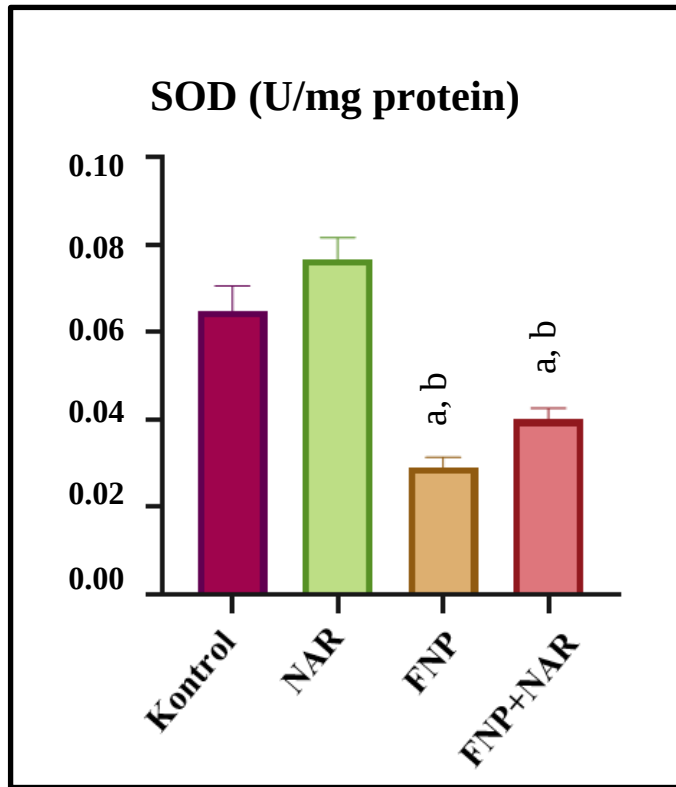


Şekil 3.1. Kontrol ve uygulamalı grupların kalp dokularındaki MDA düzeyleri

Kontrol, naringenin (NAR), fenamifos (FNP) ve fenamifos+naringenin (FNP+NAR) uygulanan grupların kalp dokularındaki MDA düzeyleri. Sütunlar üzerinde bulunan harfler, gruplar arasında anlamlı bir fark bulunduğunu ifade etmektedir. ^a kontrol grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı bir fark, ^b NAR ile diğer gruplar arasında anlamlı fark, ^c FNP ile diğer grup arasında anlamlı bir fark olduğunu gösterir.

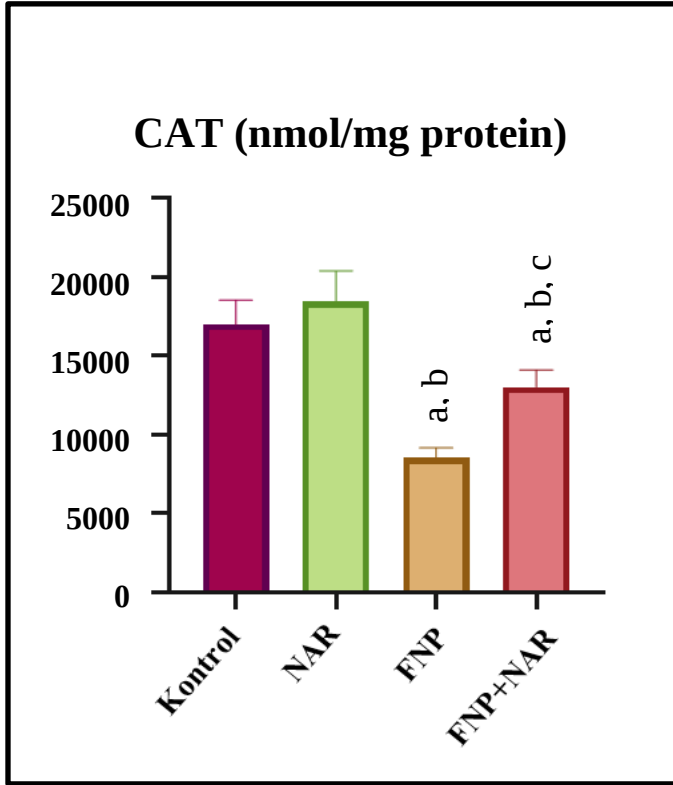
3.2. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

SOD, CAT, GPx ve GST enzim aktiviteleri yönünden, kontrol ve naringenin uygulanan grupların kalp dokularında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Kontrol grubu ile fenamifos ve fenamifos+naringenin uygulanan gruplar karşılaştırıldığında, kalp dokularındaki SOD, CAT, GPx ve GST aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma meydana gelmiştir. Fenamifos muamele edilen grup ile fenamifos+naringenin uygulanmış grup karşılaştırıldığında SOD, CAT, GPx ve GST aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,05$) (Şekil 3.2-3.5).



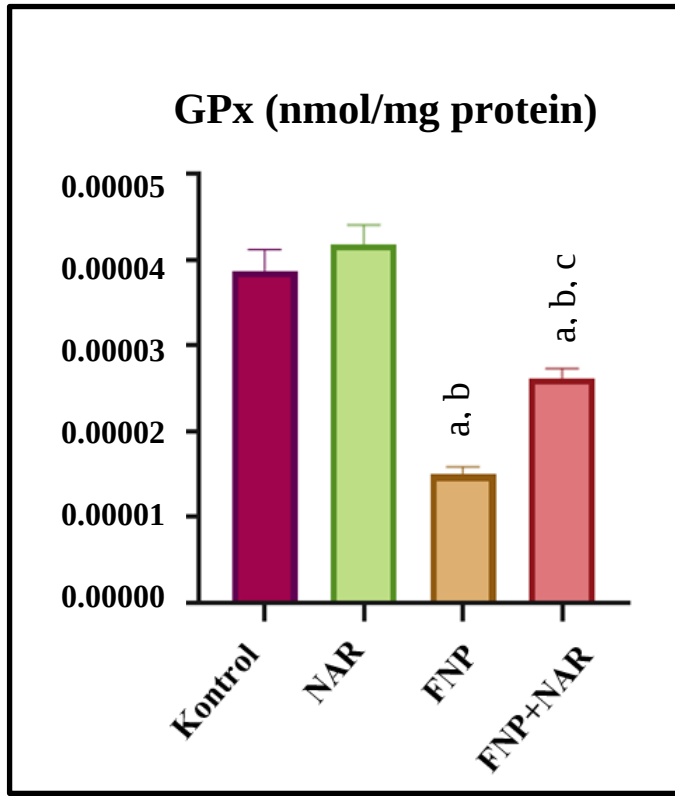
Şekil 3.2. Kontrol ve uygulamalı grupların kalp dokularında SOD enzim düzeyleri

Kontrol, naringenin (NAR), fenamifos (FNP) ve fenamifos+naringenin (FNP+NAR) uygulanan grupların kalp dokularındaki SOD enzim düzeyleri. Sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasında anlamlı bir fark bulunduğunu ifade etmektedir. ^a kontrol grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı bir fark, ^b NAR ile diğer gruplar arasında anlamlı fark olduğunu belirtir.



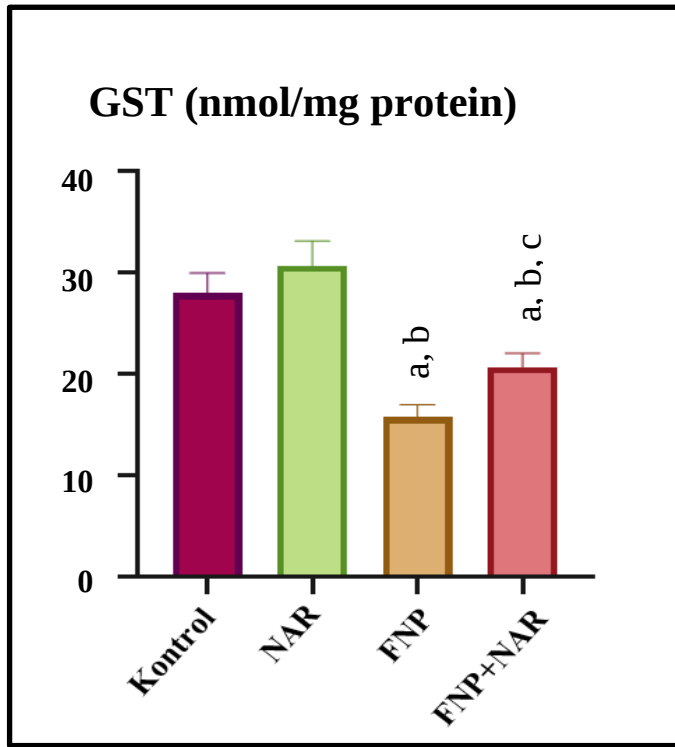
Şekil 3.3. Kontrol ve uygulamalı grupların kalp dokularında CAT enzim düzeyleri

Kontrol, naringenin (NAR), fenamifos (FNP) ve fenamifos+naringenin (FNP+NAR) uygulanan grupların kalp dokularındaki CAT enzim düzeyleri. Sütunlar üzerindeki harfler; ^a kontrol grubu ile diğer gruplar arasında, ^b NAR ile diğer gruplar arasında, ^c FNP ile diğer grup arasında anlamlı fark olduğunu belirtir.



Şekil 3.4. Kontrol ve uygulamalı grupların kalp dokularında GPx enzim düzeyleri

Kontrol, naringenin (NAR), fenamifos (FNP) ve fenamifos+naringenin (FNP+NAR) uygulanan grupların kalp dokularındaki GPx enzim düzeyleri. Sütunlar üzerindeki harfler; ^a kontrol grubu ile diğer gruplar, ^b NAR ile diğer gruplar, ^c FNP ile diğer grup arasında anlamlı fark olduğunu belirtir.

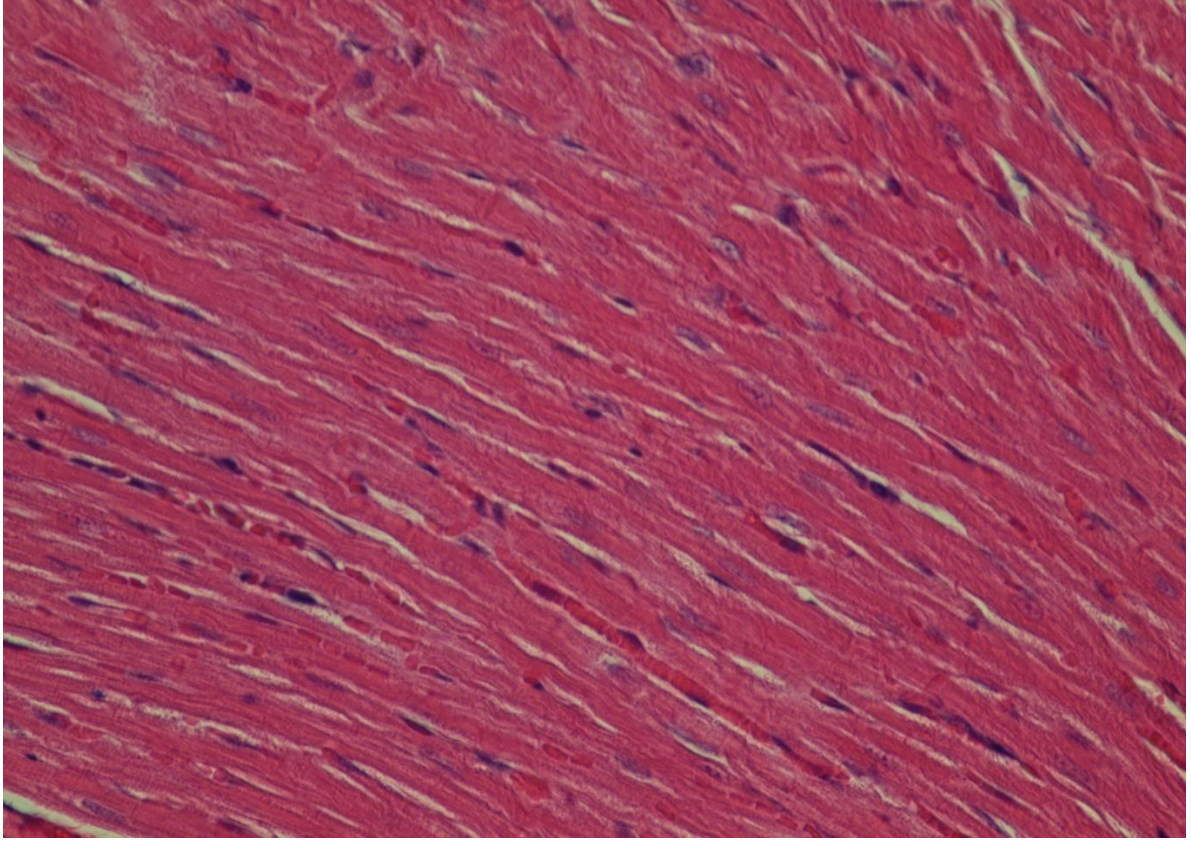


Şekil 3.5. Kontrol ve uygulamalı grupların kalp dokularında GST enzim düzeyleri

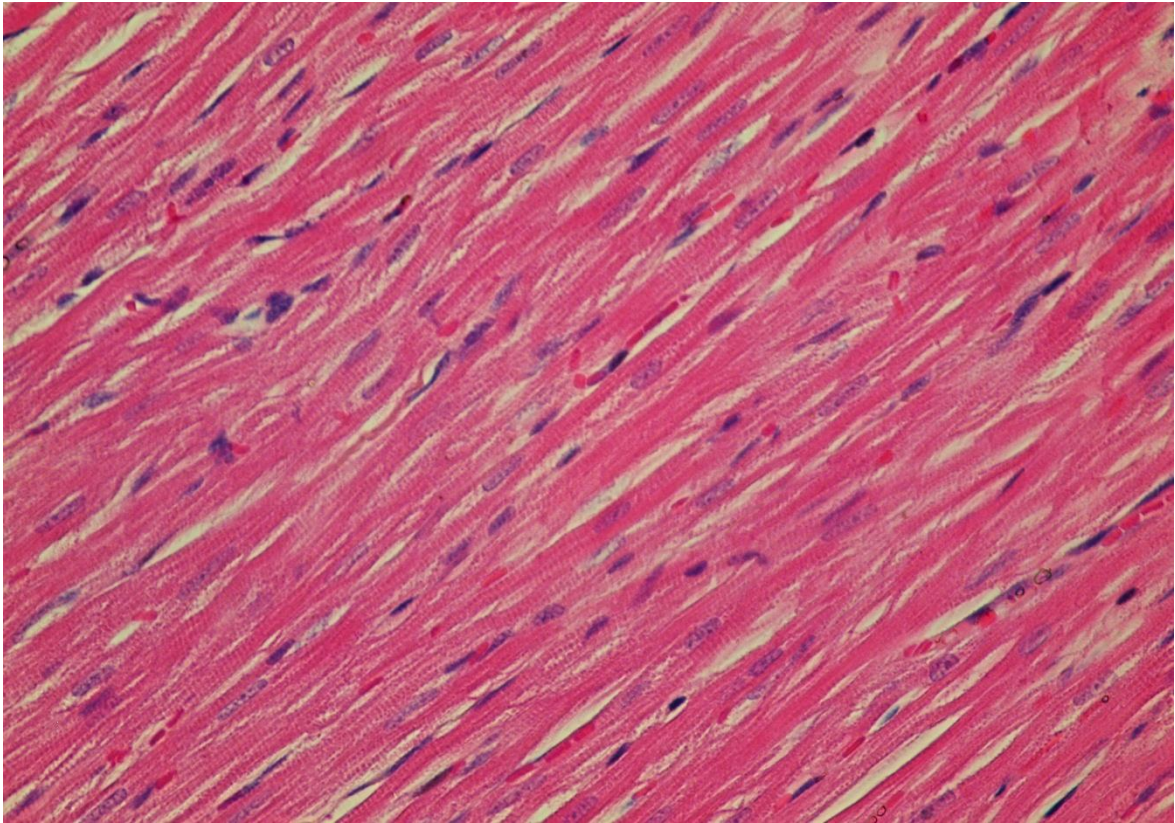
Kontrol, naringenin (NAR), fenamifos (FNP) ve fenamifos+naringenin (FNP+NAR) uygulanan grupların kalp dokularındaki GST enzim düzeyleri. Sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

3.3. Işık Mikroskobu Bulgularının Değerlendirilmesi

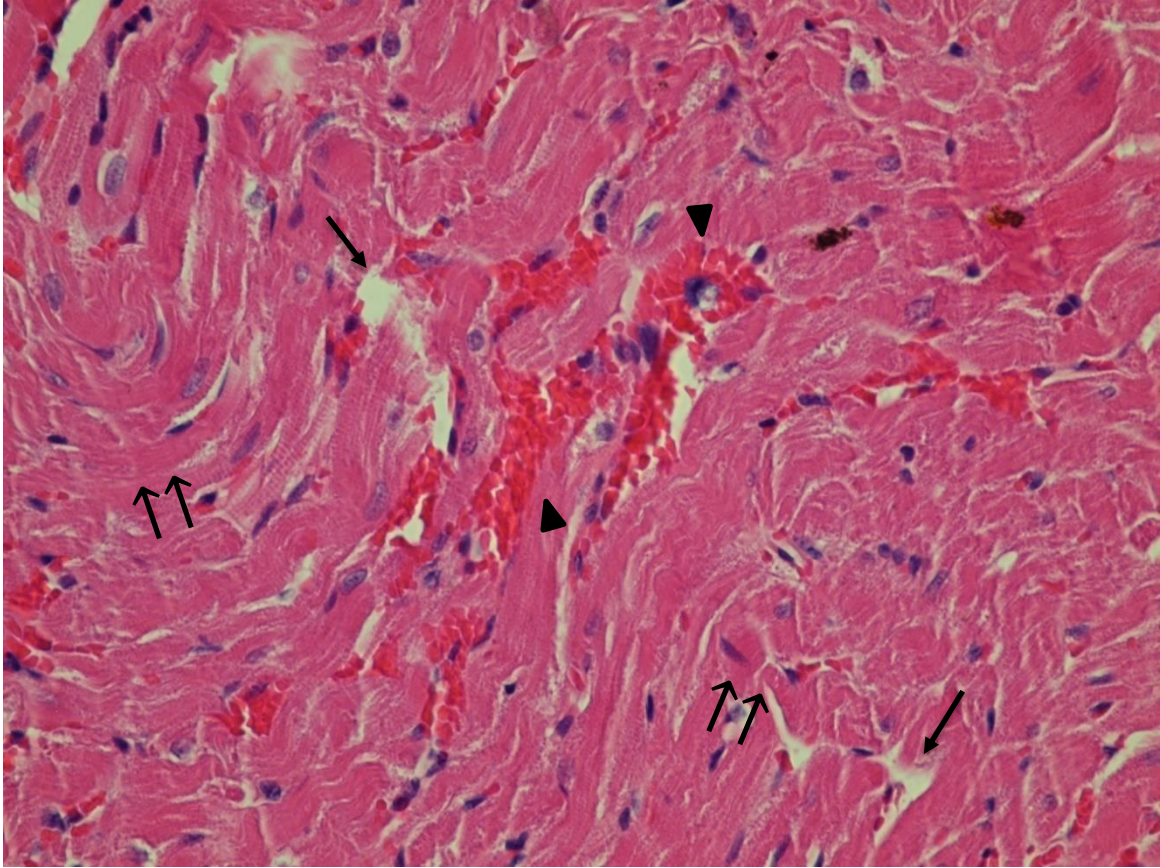
Işık mikroskobu kullanılarak yapılan histolojik incelemelerde kontrol grubu ve naringenin uygulanan gruplardaki sıçanların kalp dokularında patolojik bir bulgu gözlenmemiştir. Miyokard hücreler normal yapıda gözlenmiştir (Resim 3.1, Resim 3.2). Fenamifos ile muamele edilmiş gruptaki kalp dokularında miyokard hücrelerinde dejenerasyon, nekroz, kan damarlarında kanama ve tıkanıklık ve ödem olduğu kaydedilmiştir (Resim 3.4, 3.5, 3.6 ve 3.7). Mikroskopik incelemelerde fenamifos ve naringenin uygulanan gruptaki (Resim 3.8, 3.9, 3.10) kalp dokularında miyokard hücrelerinde dejenerasyon ve konjesyon olduğu belirlenmiştir.



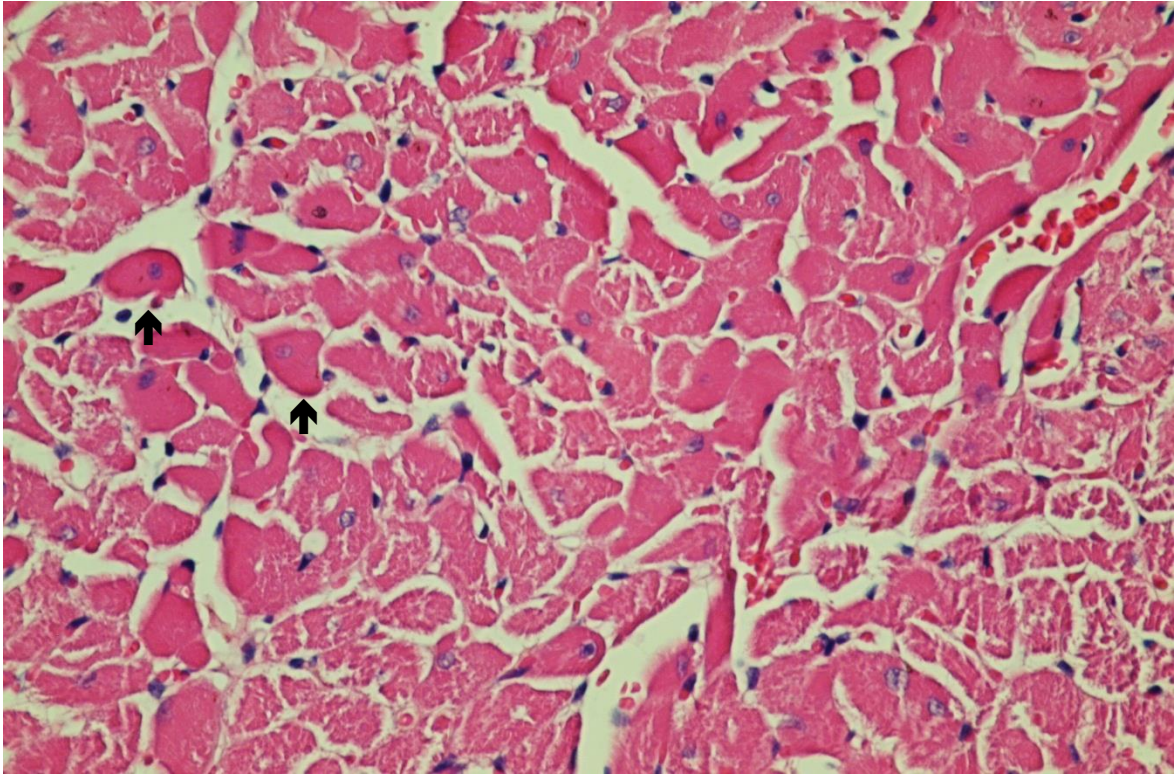
Resim 3.1. Kontrol grubu sıçanların kalp dokusunun normal histolojik yapısı, (H&E, 400X)



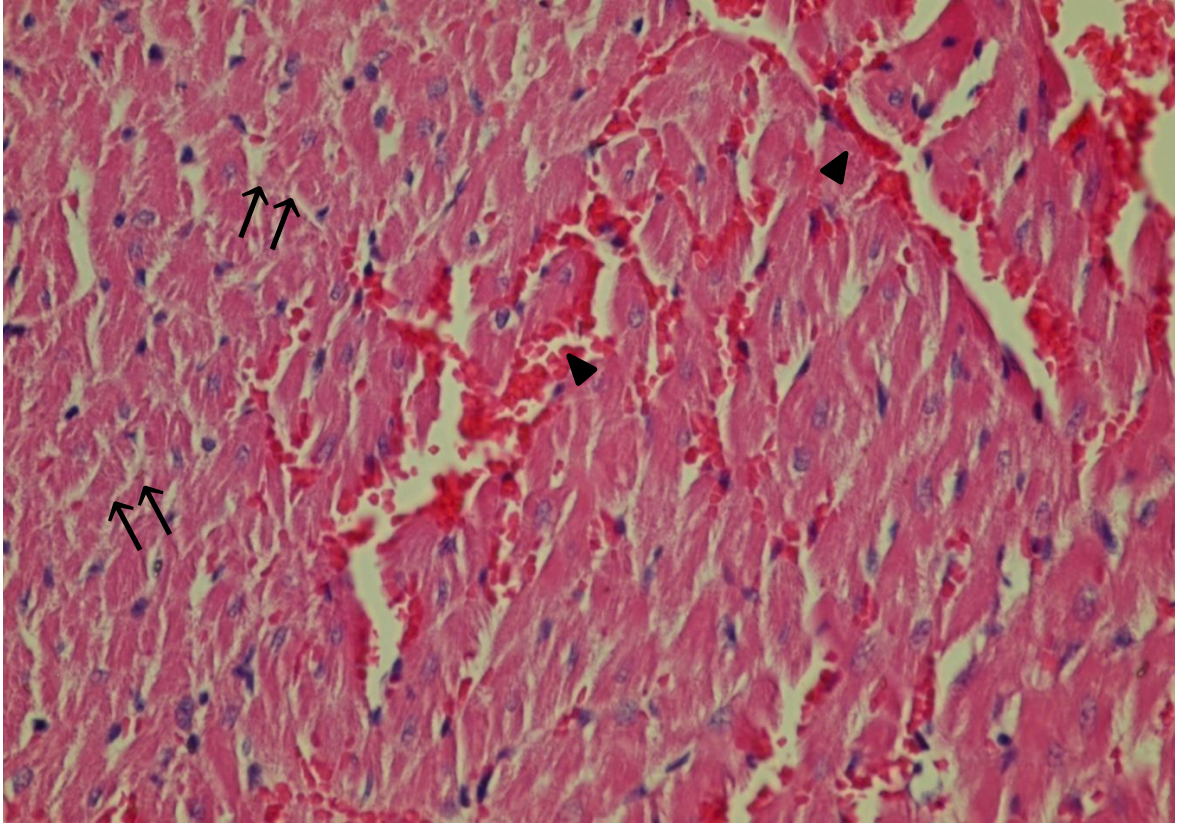
Resim 3.2. Naringenin uygulanan gruptaki sıçanların kalp dokusunun normal histolojik yapısı, (H&E, 400X)



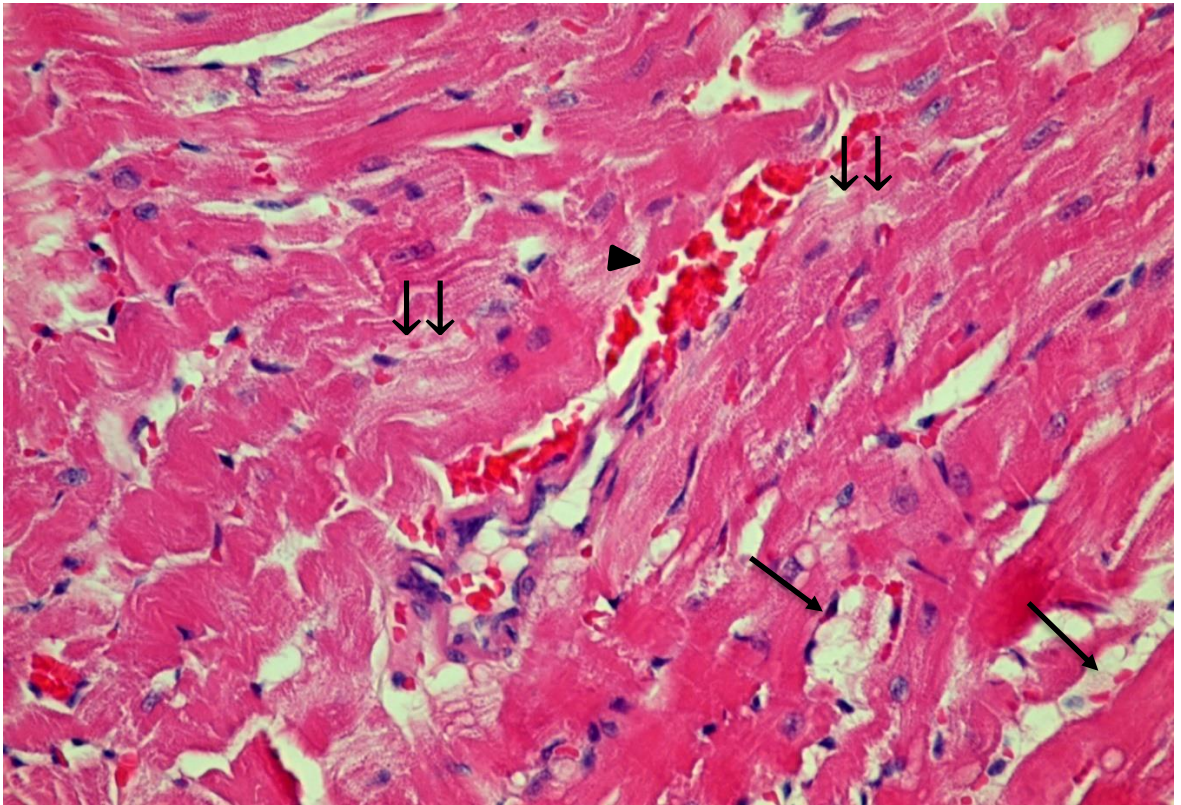
Resim 3.3. Fenamifos uygulanan gruptaki sıçanların kalp dokusundaki miyokard hücrelerinde dejenerasyon (↑↑), kan damarlarında konjesyon (▶) ve ödem (→) (H&E, 400X)



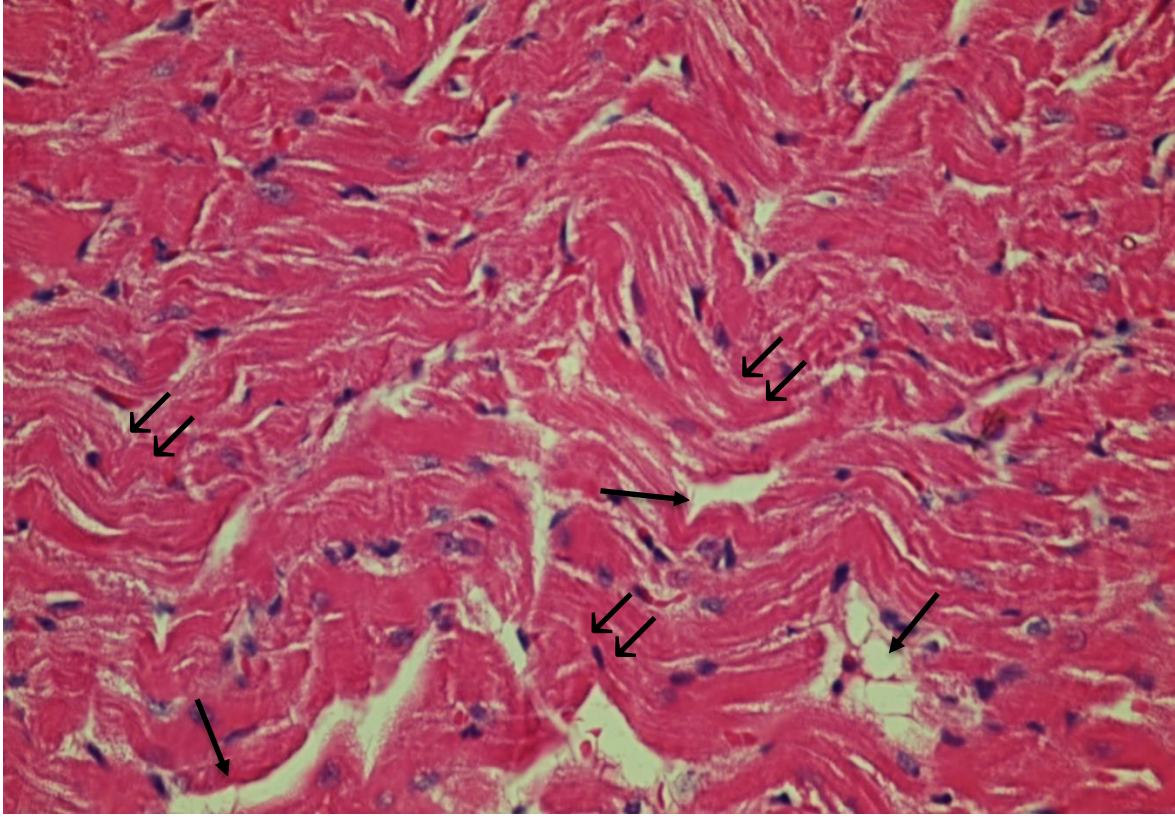
Resim 3.4. Fenamifos uygulanan gruptaki sıçanların kalp dokusundaki miyokard hücrelerinde nekroz (↑) (H&E, 400X)



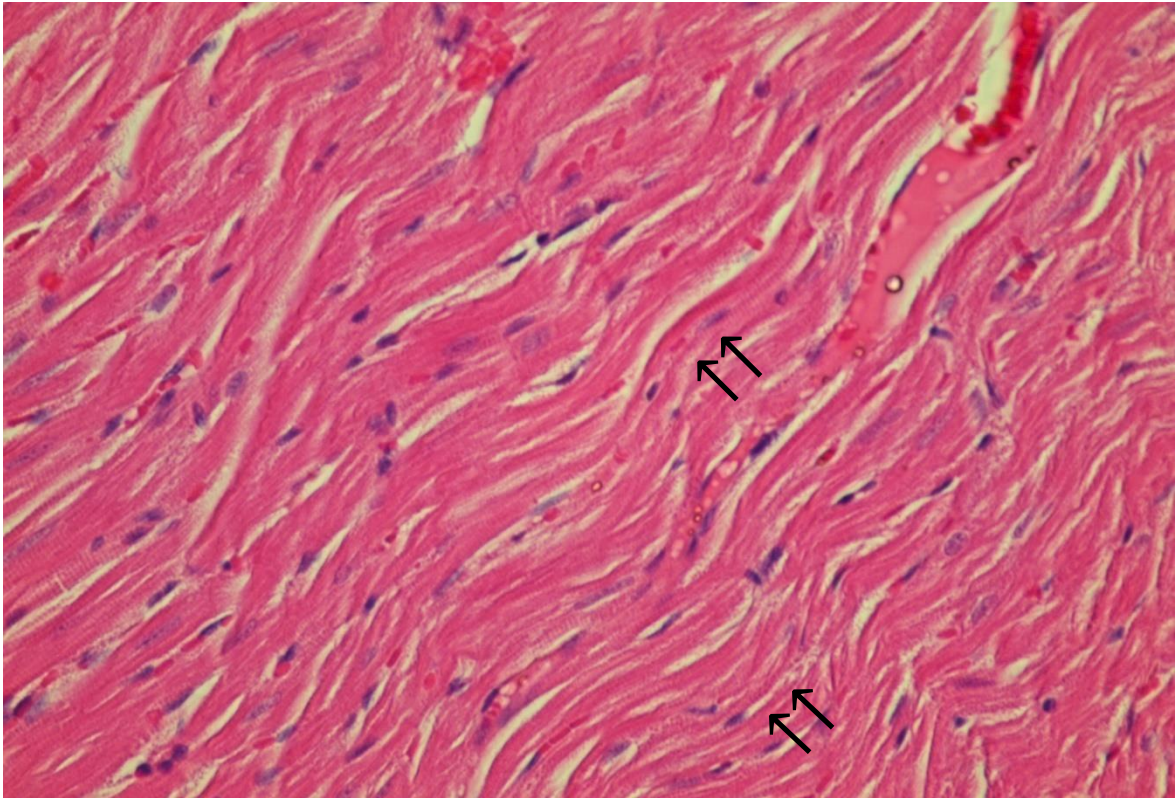
Resim 3.5. Fenamifos uygulanan gruptaki sıçanların kalp dokusundaki miyokard hücrelerinde dejenerasyon (↑↑), kan damarlarında konjesyon (►) (H&E, 400X)



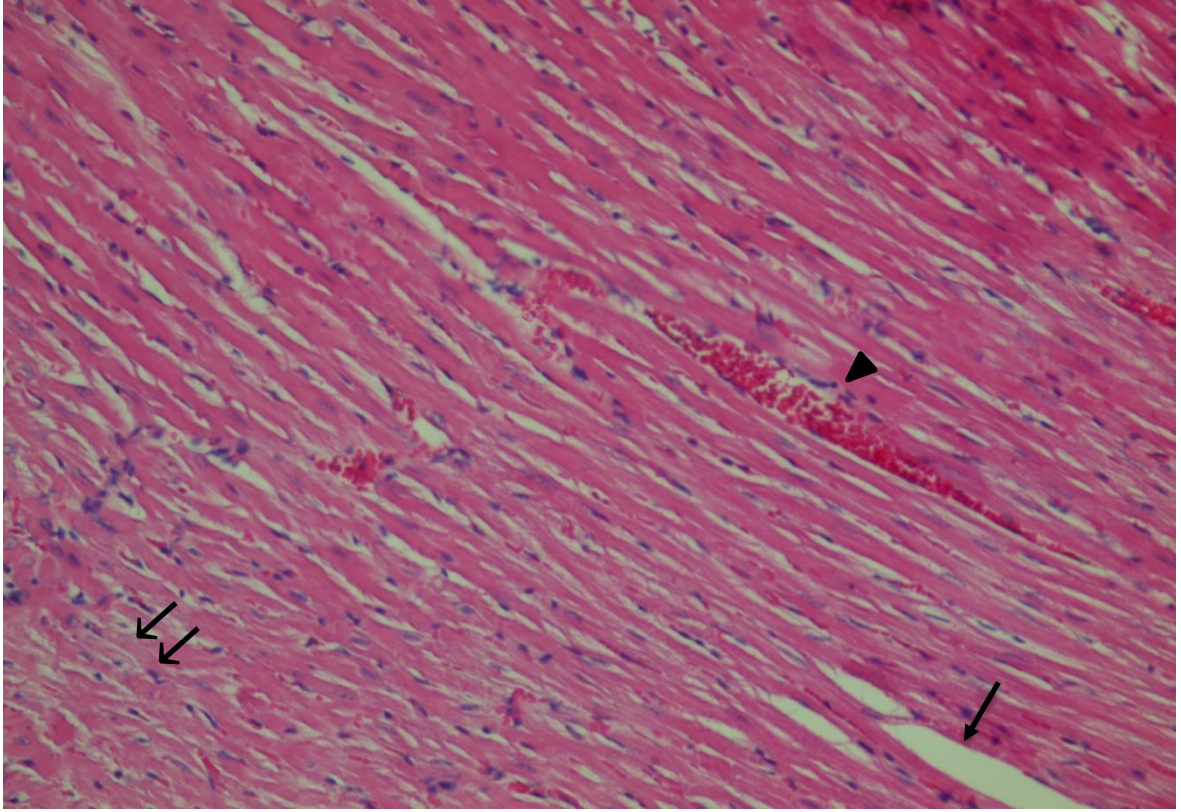
Resim 3.6. Fenamifos uygulanan gruptaki sıçanların kalp dokusundaki miyokard hücrelerinde dejenerasyon (↑↑), kan damarlarında konjesyon (►) ve ödem (→) (H&E, 400X)



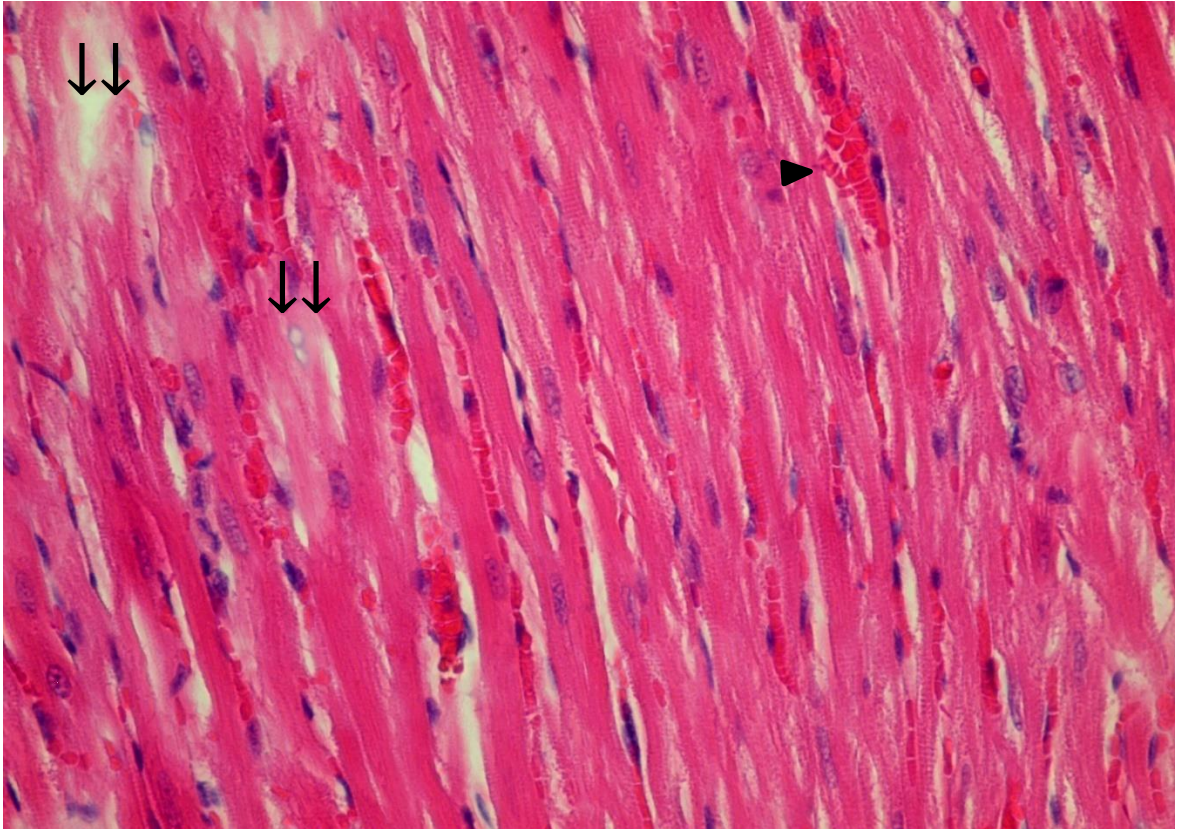
Resim 3.7. Fenamifos uygulanan gruptaki sıçanların kalp dokusunda fibrillerde dejenerasyon (↑↑) ve ödem (→) (H&E, 400X)



Resim 3.8. Fenamifos ve naringenin uygulanan gruptaki sıçanların kalp dokusunda fenamifos grubuna nispeten daha hafif dejenerasyon (↑↑) (H&E, 400X)



Resim 3.9. Fenamifos ve naringenin uygulanan gruptaki sıçanların kalp dokusunda fenamifos grubuna nispeten daha hafif dejenerasyon (↑↑), ödem (→) ve konjesyon (►) (H&E, 400X)



Resim 3.10. Fenamifos ve naringenin uygulanan gruptaki sıçanların kalp dokusunda dejenerasyon (↑↑) ve konjesyon (►) (H&E, 400X)

Çizelge 3.1. Kalp dokusunda histopatolojik bulguların skorlanması

Patoloji Gruplar	Fibrillerde dejenerasyon	Konjesyon	Ödem	Nekroz
Kontrol	-	-	-	-
Naringenin	-	-	-	-
Fenamifos	+++	+++	++	+
Fenamifos+Naringenin	++	+	+	-

Skorlama dereceleri: (-) yok, (+) az, (++) orta, (+++) şiddetli.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Pestisitler, tarımsal verimi arttıracak yönde topluma dolaylı olarak sayısız faydalar sağlayarak, dünyanın her yerinde hem çiftçiler hem de insanlar için bir nimet olduğunu kanıtlamıştır fakat pestisitlerin insan sağlığına ve çevreye oluşturduğu tehlikeler, pestisitlerin güvenliği konusunda endişeleri arttırmaktadır (Mahmood, Imadi, Shazadi, Gul ve Hakeem, 2016).

Türkiye’de tarım ilacı tüketimi ortalama 33.000 tondur. Bu miktarın % 47’sini insektisitler, % 24’ünü herbisitler, % 16’sını fungusitler , % 13’ ünü de diğer gruplar oluşturmaktadır (Tiryaki ve diğerleri, 2010). Püskürtülen böcek ilaçlarının %98’inden fazlası ve herbisitlerin %95’i, hedef olmayan türler, hava, su ve toprak da dahil olmak üzere hedef türlerin dışındaki bir hedefe ulaşmaktadır bu sebeple pestisit kullanımının toprak, su ve hava kirliliği üzerinde önemli bir rolü vardır ve bu kimyasallardan bazılarının parçalanması yıllar, bazen de on yıllar sürmektedir. Bu pestisitler insan sağlığının yanı sıra hayvan bitkileri için de zararlıdır (Jawale, Rajput ve Ugale, 2017; Shahzad, Taj, M. K., Abbas, Taj, I., Parveen, Achakzai, Azam, Hussain, Tareen, Mohammad, Samreen, Sazian ve Bibi, 2019). Deniz hayvanları arasında, etçil balıklarda pestisit konsantrasyonu daha yüksektir ve ekolojik piramidin tepesindeki balık yiyen kuşlar ve memelilerde bu seviye daha da yükselir (Jawale, Rajput ve Ugale, 2017).

Pestisit kalıntıları ilk kez 1948 yılında insan vücudunda organik klorlu pestisit varlığına rastlanmasıyla önem kazanmıştır. Pestisitlerin bazıları toksikolojik açıdan zarar oluşturmazken, bazılarının kanserojen olduğu ve sinir sistemini etkilediği bilinmektedir. Pestisit kalıntılarının en önemli kaynağı gıdalardır. Bu sebeple 1960 yılında FAO ve WHO tarafından “pestisit kalıntıları kodex komitesi” kurulmuştur. Bu komitenin çalışmaları sonucunda konuyla ilgili tanımlamalar yapılmış ve bilimsel araştırma bulgularına dayanarak gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum kalıntı değerleri saptanmıştır (Altıkat ve diğerleri, 2009).

İnsanlarda pestisit toksisitesi, ciltte ve gözlerde basit tahrişten, sinir sistemini etkilemek, hormonları taklit ederek üreme sorunlarına neden olmak ve ayrıca kansere sebep olmak gibi daha ciddi etkilere kadar çeşitli olumsuz sağlık etkilerine neden olabilir. 2007 yılında yapılan bir araştırma, lenfoma ve lösemi üzerine yapılan çoğu çalışmanın pestisit

maruziyeti ile pozitif ilişkiler gösterdiğini ortaya koymuştur. Organofosfatlı insektisitlere maruz kalma ile nörodavranışsal değişiklikler arasındaki ilişkilere dair önemli kanıtlar bulunmaktadır. Pestisitlere maruz kalmanın nörolojik, doğum kusurları ve fetal ölüm gibi diğer olumsuz sonuçlarına ilişkin de sınırlı bulgu bulunmaktadır (Jawale, Rajput ve Ugale, 2017).

Çeşitli deney hayvanları üzerinde yapılan araştırmalarda organofosforlu pestisitlerin başta böbrek ve karaciğer olmak üzere diğer organ sistemlerinde de bazı dejeneratif değişikliklere ve olumsuz etkilere sebep olabileceği kaydedilmiştir (Apaydın, Kalender, S., Baş, ve Kalender, Y., 2023).

Pestisit zehirlenmelerinde organofosfatlı pestisitler ilk sırada bulunmaktadır (Demirdöğen, 2010). Organofosfatlar oldukça lipofiliktir ve deri, akciğerler ve bağırsaklar tarafından kolayca emilerek bütün vücuda dağılırlar. Organofosfatlar asetilkolinesteraz inhibisyonu ile nörosinaptik kavşakta asetilkolinin yıkımını azaltarak işlev gösterir. Böylelikle nörosinaptik kavşaktaki elektriksel uyarım sürekli olarak devam eder. Bu ilk aşırı stimülasyonun ardından santral sinir sistemi, otonomik ganglion, parasempatik ve bazı sempatik sinir sonlanmalarında ve somatik sinirlerde kolinerjik sinaptik iletim felç olur (Acıpayam ve Koçak, 2018; Büyükben, 2008).

Organofosfat zehirlenmelerinde klinik belirti ve bulgular asetilkolinin sinir-kas kavşaklarında birikiminin dışı vurumudur (Acıpayam ve Koçak, 2018). Türkiye’de pestisit kaynaklı zehirlenmelerin yaklaşık %21’i, Amerika Birleşik Devletleri’nde (ABD) ise %33’ü organofosfatlı pestisitler sebebiyledir. Bu veriler ele alındığında, organofosfatlı pestisitlerin çevreye yayılmasının önlenmesi ve etkin bir biçimde kontrolünün ve bozunumunun sağlanması gerektiği açıktır (Şahin ve Karpuzcu, 2019).

Fenamifos, (etil 4-metiltiyo m-tolil izopropilfosforamidat, FNP), renksiz, kristal veya tabaklanmış mumsu şeklinde katı görünümlü, insektisit ve özellikle nematisit olarak kullanılan, Dünya Sağlık Örgütü tarafından son derece toksik bir kimyasal sınıfı olarak tanınan organofosfor sınıfına dahildir. Fenamifos, bitki büyümesinin ekim öncesi, ekim, hasat öncesi ve hasat sonrası süreçlerinin büyük bir kısmında çok çeşitli şekillerde kullanılır. Muz, ananas, çim, turunçgiller, tütün ve diğer sebze ve tahıl türü bitkiler üzerinde kullanımı yaygındır. Yeraltı sularında, nehirlerde, karada ve havada varlığına

rastlanılabılır (Nasraoui, Jaoued-Grayaa, Vanoye, Chevalier ve Hbaieb, 2022; Roselló-Márquez, Fernández-Domene, Sánchez-Tovar ve Garcia-Anton, 2020; Qader ve diğerleri, 2021). Fenamifosun asetilkolinesteraz enzim aktivitesinin engelleyici etkisi, insanlar da dahil olmak üzere birçok türün sinir sisteminde asetilkolinin hidrolizini engeller. İnsanların fenamifosla kirlenmiş yiyecek veya içme suyuna maruz kalması, akut ve kronik toksisiteye yol açmaktadır. Suda ve karada yaşayan organizmalarda ve özellikle balık ve kuş türlerinde zararlı etkileri gözlenmiştir. Bu nedenle gıdalardaki, yüzey ve yeraltı sularındaki konsantrasyonunun kontrol altında tutulması gerekmektedir (Nasraoui ve diğerleri, 2022).

Fenamifosun kronik toksisite ve karsinojenitesinin incelendiği bir çalışmada 344 Fischer faresine 0, 2, 10 ve 50 ppm fenamifos içeren diyet uygulanmıştır. 104 hafta süresince erkek ve dişi sıçanlara sırasıyla 0; 0,12; 0,6 ve 3,36 mg/kg/gün uygulama yapılmıştır. Deney sonucunda en düşük seviye dahil tüm dozlarda kolinesteraz aktivitesinin inhibisyonu görülmüştür. Dişilerde gıda tüketiminde ve vücut ağırlığı artışında azalmayla birlikte karaciğer ve akciğer ağırlığında azalmaya rastlanmıştır. Yüksek doz uygulamalarında akciğerlerde granülatöz inflamasyon görülmüştür. Her iki cinsiyette de karsinojeniteye rastlanmamıştır (Cruz, 1999).

Akut nörotoksisite araştırılan bir çalışmada, erkek ve dişi Wistar sıçanlarına aç bırakılarak (gece boyunca) 0; 0,4; 1,6 ve 4 g/kg'da tek fenamifos dozu verilmiştir. Uygulamadan yirmi beş dakika ve 1 gün sonra sıçanlar davranış testiyle değerlendirilmiş ve nöropatolojik inceleme yapılmıştır. Plazma, RBC (kırmızı kan hücresi) ve beyin kolinesteraz aktiviteleri, altı sıçan/cinsiyet/dozda dozlamadan yaklaşık 50 dakika sonra ölçülmüş, ortalama vücut ağırlıklarında, mutlak ve bağıl beyin ağırlıklarında ve büyük veya nörohistopatolojik lezyonların görülme sıklığında uygulamaya bağlı hiçbir değişiklik gözlenmemiştir. Daha yüksek dozda, uygulamadan sonraki 21 ve 31 dakika içinde fenamifos toksisitesi gözlenmiştir (ölümcüllük 7/15 erkek ve 1/12 dişi) ve kolinesteraz inhibisyonunun klinik belirtileri yaklaşık 2 saat boyunca devam etmiştir. Kas fasikülasyonu, gözbebeği daralması, yürüyüş koordinasyonunda bozukluk, burun ve ağızda lekelenme, tükürük ve gözyaşı akması gibi ilgili etkiler de gözlemlenmiştir (Caceres, 2010).

Bazı çalışmalar organofosfatların toksik etkisinin, reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuna yol açarak lipidlerin oksidatif tahribatına (lipid peroksidasyonuna (LPO)) neden olarak son ürün olarak malondialdehit (MDA) açığa çıkararak yıkıcı etki gösterebildiğini ortaya koymuştur (Acıpayam ve Koçak, 2018; Büyükben, 2008; Mishra, Badade, Rastogi ve Singh, 2013). Fenamifosun da bu tez çalışması için sürdürdüğümüz deneyler ve incelemeleri sonucunda sıçanların metabolizmasında reaktif oksijen türleri oluşumuna sebep olarak hücre zarı hasarı olarak da nitelendirebileceğimiz lipid peroksidasyonu ortaya çıkardığını yükselen MDA seviyelerinden yola çıkarak söylemek mümkündür. Bu sonuçlar doğrultusunda önceki çalışmalar da referans alınarak, antioksidan savunma sistemlerinin, fenamifos maruziyeti karşısında yetersiz kalarak baskılandığı ve bu nedenle antioksidan enzimlerinin (SOD, CAT, GPx ve GST) aktivitesinde düşüş görüldüğü söylenebilir.

Serbest radikaller hücrelerde reaktif oksijen türlerinden (ROS) veya reaktif nitrojen türlerinden (RNS) oluşur (Kurtdeve ve diğerleri, 2017). Aerobik canlılar yaşadıkları sürece moleküler oksijenden kaynaklanan reaktif oksijen türlerine maruz kalırlar (Alper, 2013). Serbest radikal oluşumundaki artışa ve antioksidan savunma sistemindeki eksikliğe bağlı olarak organizmada oksidatif stres meydana gelir (Büyüksulu ve Yiğitbaşı, 2015).

Oksidatif stres dolayısıyla proteinler, lipidler, enzimler, karbonhidratlar, ve DNA hasar alabilmekte, membranlardaki hasarın sonucunda DNA zincirlerinde rastgele kırılmalar ve bağlanmalar oluşabilmekte, enzim ve yapısal proteinlerin zarar görmesi hücrenin ölmesiyle sonuçlanabileceği gibi bu olgular nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıklar ile diyabet, kanser ve otoimmün bozuklukların gelişiminde de temel oluşturmaktadır. Birtakım nörodejeneratif hastalıklarda yüksek oranda kan-beyin bariyerini aşabilen antioksidanlara ihtiyaç duyulur. Serbest oksijen reaktiflerinin eliminasyonunda, endojen antioksidan etkili enzimler (GSH-Px, SOD, CAT) ve bazı vitaminler (vitamin A, C ve E) rol oynayabildikleri gibi eksojen antioksidanlar (likopen, resveretrol) ile antioksidan özelliğe sahip ön maddelere (benzoik, gallik, vanillik asit) de ihtiyaç vardır (Yılmaz, 2010).

Hasarlara karşı birincil savunma, serbest radikalleri ve reaktif oksijen türlerini temizlediği bilinen enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar tarafından sağlanır. Antioksidan

enzimler olan SOD, CAT ve GPX'in, pestisitlerden ciddi ölçüde etkilendiği bilinmektedir. Glutasyon (GSH), C vitamini, E Vitamini (esas olarak α -tokoferol) ve β karoten ikinci savunma hattına ait antioksidanlardır (Karaboduk, Uzunhisarcikli ve Kalender, 2015; Mishra ve diğerleri, 2013).

Flavonoidler bitkilerde ikincil metabolitler olarak üretilen, antioksidatif, antiinflamatuvar ve antiapoptotik etkiler gibi pek çok koruyucu biyolojik aktivite gösteren bileşiklerdir (Uzunhisarcıklı, Apaydın, Baş ve Kalender, 2023). SOD, GST, CAT ve GPx dahil enzimatik antioksidan ajanlar, reaktif oksijen türlerini etkili şekilde detoksifiye ederek hücrelerde oksidatif stres oluşumunu engeller. Antioksidan enzimlerden SOD, oksidatif stres esnasında yan ürün olarak ortaya çıkan süperoksit iyonlarını H_2O_2 'ye dönüştürürken, CAT, OH oluşumunun önüne geçerek H_2O_2 'nin H_2O ve O_2 'ye dönüşümünde işlev gösterir (Uzunhisarcıklı, Apaydın, Baş ve Kalender, 2023).

Antioksidanlar serbest radikal oluşumunu önleyerek doku hasarını önleyerek ya da azaltarak serbest radikallerin neden olduğu inflamatuvar, kardiyovasküler, nörodejeneratif hastalıklar ve kanser patofizyolojisinin önüne geçebilir. SOD, CAT ve GPx enzim aktiviteleri hücrede temel savunma mekanizmasını oluşturur ve oksidatif hasarın yol açtığı hastalıklara karşı önemli rol oynar (Aslankoç ve diğerleri, 2019).

Doğal bir flavonoid olan naringenin, turunçgil meyvelerinde, domateste, çilekte, greyfurtta ve kakaoda yaygın olarak bulunmaktadır. Naringenin farmakolojik olarak potansiyel bir antioksidan kabul edilmiş, antikanserojen, antiinflamatuvar, antiaterojenik, antimutajenik, hepatoprotektif ve nefroprotektif aktiviteleri ölçülmüştür (Erişir, 2018).

Flavonoidlerin çoğu gibi, naringenin de kendisine ROS'u temizleme yeteneği veren yeterli hidroksil (-OH) grupları üretme özelliklerine sahip olması nedeniyle, antiinflamatuvar özellik de olmak üzere pek çok farmakolojik potansiyele sahip olduğu deneysel olarak ortaya konmuştur. Bu gerekçelerle, naringenin oksidasyon veya inflamasyonun hayati bir rol oynadığı kabul edilen patolojik olumsuzlukları azaltabileceği ve/veya iyileştirebileceği düşünülmektedir (Demirtaş, 2023).

Naringenin'in antioksidan etkisi, içerdiği hidroksil gruplarından (OH) kaynaklanır ve bu hidroksil grupları, reaktif oksijen ve reaktif nitrojen türlerine karşı yüksek reaktivite

gösterir. Genel itibariyle, belirli bir molekülün antioksidan kapasitesi, molekülün içerdiği OH radikallerinin sayısı ile fonksiyonel olarak artış gösterir ve naringeninde 3 adet bulunur. Bu OH grupları, serbest radikallere H'nini vermek üzere yapıyı stabilize edilebilmektedir (Demirtaş, 2023). Naringenin bu yeteneği sayesinde organofosfatlı bir pestisit olan fenamifosun sebep olduğu hücre hasarına ve oksidatif strese karşı etkili bir savunma göstermiş olabilir. Sonuçlarımızda fenamifos uygulanan 3. ve 4. gruplar arasında kıyaslama yapıldığında, fenamifos ile birlikte naringenin uygulanan 4. gruptaki yükselen antioksidan enzim seviyeleri bu durumu doğrular niteliktedir.

Pestisit uygulayıcılarının üzerinde yapılan bir çalışmada, antioksidan enzimler olan süperoksit dismutaz (SOD) ve katalazın (CAT) önemli ölçüde etkilendiği görülmüştür. Uygulayıcılardaki akut zehirlenme, MDA seviyesinin yükselmesine ve ayrıca katalaz (CAT) ve SOD aktivitelerinin artmasına neden olmuştur. Prakasam ve diğerleri (2001) ayrıca pestisit uygulayıcılarında MDA seviyelerinin önemli düzeyde yükseldiğini ve bunun da oksidatif strese işaret ettiğini bildirmiştir. Vidyasagar ve arkadaşları (2004) ayrıca OP zehirlenmesi olan hastalarda AChE aktivitesinin inhibe edilmesiyle birlikte daha yüksek MDA seviyesi ölçmüşlerdir (Mishra ve diğerleri, 2013).

Başka bir çalışmada, pestisit maruziyetinin tek başına veya kombinasyon halinde incelendiği tüm sıçan dokularında antioksidan enzimlerin, yani katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidazın (GPx) inhibisyonuna neden olduğu görülmüştür. Mevcut çalışmanın sonuçları, klorprifosun 1/10 LD₅₀ ve 1/4 LD₅₀ eşdeğerinin bir günlük oral maruziyetinin karaciğerde %68 ve %62 inhibisyona, böbrekte %32 ve %33 inhibisyona, beyinde %48 ve %46, dalakta ise 16% ve 38% inhibisyona neden olduğunu açıkça göstermiştir. Aynı dozda klorprifos ardı ardına iki gün verildiğinde, inhibisyon düzeyi daha da artarak, karaciğerde sıfıra ve %61'e, böbrekte %36 ve %46'ya, beyinde %56 ve %74'e ve dalakta %23 ve %47'ye yükseldiği kaydedilmiştir (Ojha, Yaduvanshi ve Srivastava, 2011).

Antioksidan enzimler yani CAT, SOD ve GPx, oksidatif strese karşı ilk savunma hattı olduğu için bu enzimlerin aktivitelerinin azalması hücrelerin redoks durumunu değiştirir. Yapılan çalışmanın sonuçları, sıçanların karaciğer, böbrek, beyin ve dalaklarındaki CAT, SOD ve GPx aktivitelerinde doza ve maruz kalma sıklığına bağlı bir azalmayı açıkça ortaya koymuştur (Ojha, Yaduvanshi ve Srivastava, 2011).

Farklı bir çalışmada sıçan karaciğeri ve böbreğindeki SOD, CAT ve GPx'in aktiviteleri kurşun maruziyetiyle önemli ölçüde azalmıştır. Bu olgular, kurşuna maruz kalmanın bu antioksidan enzimlerin aktivitelerini inhibe ederek oksidatif stresi tetiklediğini göstermiştir. Naringenin uygulaması, kurşun uygulanan sıçanların karaciğerinde ve böbreğinde SOD, CAT ve GPx aktivitelerini yükseltmiştir; bu sonucun naringenin kurşun kaynaklı lipid peroksidasyonu sırasında üretilen serbest radikallerin birikimini azaltma kabiliyetinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Wang, Yang, Lin, Zhao, Liu, Z., ve Liu, X., 2012).

Bu tez çalışmasında SOD, CAT, GST, GPx aktiviteleri ve MDA düzeyleri bakımından gözlenen sonuçlar, pestisit muameleli hayvanlarda karaciğer, böbrek, dalak ve beyin dokularındaki lipid peroksidasyonunda artış ve antioksidan seviyelerinde azalma tespit edilen; Ojha, Yaduvanshi, Srivastava tarafından 2011 yılında yapılan çalışma ile de desteklenmektedir (Ojha, Yaduvanshi ve Srivastava, 2011).

Antioksidan enzimlerin, uygulanan pestisit ile azaldığını bildiren ve bu nedenle çalışmamızdaki verilerle paralellik gösteren başka araştırmalar da bulunmaktadır.

Sıçanların beyin dokusuna organofosfat ve piretroid insektisitlerine maruz kalmanın lipid peroksidasyonu, oksidatif stres ve asetilkolinesteraz üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada sonuçlar organofosfat ve piretroid insektisitlere maruziyetin beyin dokusunda lipid peroksidasyonunu ve oksidatif stresi artırdığını, antioksidan enzim seviyelerinde ise bir düşüş meydana getirdiğini ortaya koymuştur (El-Demerdash, 2011).

Organofosfatlı bir insektisit olan klorpirifosun oksidatif stres üzerindeki etkilerini ve bazı antioksidanların buradaki rolünü ele alan bir derlemede, pek çok çalışmanın birbirini destekler nitelikte sonuçlar ortaya koyduğu, bu doğrultuda organofosfatlı pestisit maruziyetinin SOD, CAT, GST, GPx gibi antioksidan enzim seviyelerinde düşüşe neden olduğu belirtilmiştir (Uchendu, Ambali ve Ayo, 2012).

Bu referanslar doğrultusunda, çalışmamızdaki antioksidan seviyelerindeki bu azalışın, fenamifosun neden olduğu artan oksidatif stres sonucu meydana geldiği düşünülmektedir.

Kadmiyumun rat böbrek dokusunda yol açtığı toksisite ve buna karşılık naringenin iyileştirici etkisinin araştırıldığı bir çalışmada erkek Wistar cinsi ratlar kullanılmış ve 4 grup üzerinde 4 haftalık uygulamalar yapılmıştır. Çalışmanın sonuçlarında naringenin kullanımının biyokimyasal olarak kadmiyumun sebep olduğu böbrek hasarını azalttığını ve antioksidan savunma sistemini artırdığı görülmüştür. Özellikle GSH, total sülfhidril gruplar, C vitamini ve E vitamini seviyeleri artarken, lipid peroksidasyon ürünleri ve protein karbonil içeriklerinin azaldığı kaydedilmiştir. Histopatolojik incelemeler de naringenin uygulamasının böbrek dokusundaki toksisiteyi azalttığını ortaya koymuştur. Bu araştırma, naringenin kadmiyumun neden olduğu böbrek hasarına karşı koruyucu etkilerinin olabileceğini göstermektedir (Renugadevi ve Prabu, 2009).

Başka bir çalışmada, naringenin serbest radikal temizleme aktivitesi incelenmiş ve hayvanlarda streptozotosin (STZ) kaynaklı karaciğer hasarı üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Naringenin, hem in vitro olarak hem de hayvan deneylerinde antioksidan aktivitesi göstermiş ve karaciğer hasarını azalttığı görülmüştür. Süperoksit dismutaz aktiviteleri, kontrol farelerinin karaciğerlerinde ve STZ + naringenin alan farelerde, yalnızca STZ alan farelere göre önemli ölçüde daha yüksek tespit edilmiştir. 100 mg/kg naringenin alan farelerde SOD konsantrasyonu, 50 mg/kg alanlara göre daha yüksek belirlenmiştir ancak bu fark istatistiksel olarak anlam ifade etmemektedir. Kontrol fareleri, tek başına naringenin uygulaması yapılan fareler ve STZ + glibenklamid uygulanan fareler için SOD aktivitesi benzer tespit edilmiş ve tek başına STZ alan farelerinkinden önemli ölçüde daha yüksek olduğu görülmüştür. Benzer şekilde, diğer antioksidan enzimler olan katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon-S-transferaz ve metabolit glutatyon seviyeleri, yalnızca STZ enjekte edilen hayvanlarla karşılaştırıldığında, naringenin veya glibenklamid ile muamele edilen STZ hayvanlarının yanı sıra kontrol hayvanlarında da yüksek olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak, naringenin, antioksidan özellikleriyle oksidatif stres sebepli hastalıkları hafifletmek için potansiyel bir terapötik ajan olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir (Rashmi, Magesh, Ramkumar, Suryanarayanan ve SubbaRao, 2018).

Kim ve Lee'nin 2015 yılında yaptıkları çalışmayla naringenin, yüksek antioksidan kapasitesi taşıdığı ve aynı zamanda hidroksil ve süperoksit radikallerini süpürücü etkinlik gösterdiği bildirilmiş ve çalışmamızın sonuçları bu araştırmayı desteklemiştir. Naringenin reaktif oksijen türlerini ve serbest radikalleri azaltıcı yönde etki göstermesi

B halkasındaki hidroksil grubunun elektron verici potansiyelinden kaynaklanabilmektedir. Bu flavanon, DNA hasarını azaltmada da etkilidir. Ek olarak, naringenin, doza bağı bir şekilde lipidlerin oksidatif hasarına karşı korumada büyük bir etki gösterdiği raporlanmıştır. Yapılan başka araştırmalarda yine naringenin, lipit peroksidasyonunu önemli ölçüde azalttığı ve karaciğerdeki antioksidan savunma seviyelerini düzenlediği kaydedilmiştir (Demirtaş, 2023; Erişir, 2018; Pari ve Amudha, 2011).

Bu tez çalışmasının, naringenin histolojik ve biyokimyasal aktivitelerinin Rashmi ve arkadaşlarının 2018 yılında yaptığı, naringenin streptozotosin kaynaklı karaciğer hasarında oksidatif stres üzerine iyileştirici etki gösterdiği, 2012 yılında ise Wang ve arkadaşlarının sıçanlarda kurşun maruziyetiyle düşen antioksidan seviyelerinin, naringenin uygulamasıyla yükseldiğini ve bu etkinin lipit peroksidasyonunu azaltacak şekilde serbest radikal birikimini azalttığı gibi farklı çalışmalarla doğrulanır nitelikte sonuçlar verdiğini belirtebiliriz (Rashmi ve diğerleri, 2018; Wang ve diğerleri, 2012). Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlar aynı zamanda, Moghaddam ve diğerlerinin de bildirdiği gibi, naringenin kalp hipertrofisi ve miyokardiyal iskemi gibi çeşitli kardiyovasküler hastalıklar için önemli koruyucu etkiler gösterdiğini de destekler niteliktedir (Moghaddam ve diğerleri, 2020). Bu etkiler, lipit peroksidasyonu belirteci olan MDA seviyelerinin pestisit uygulanan gruplarda yükselmesine karşılık naringenin uygulanan gruplarda naringenin bulundurduğu hidroksil grupları ve süpürücü antioksidan etkisiyle ve oksidatif hasara karşı gösterdiği savunma ile DNA hasarını azaltarak MDA seviyelerini düşürmesi ve antioksidan enzim seviyelerinin yükselmesini sağlaması şeklinde ifade edilebilir.

Bu tez çalışmasının sonuçları göz önüne alındığında, naringenin, fenamifos ile indüklenen histopatolojik ve oksidatif kalp hasarına karşı anti-oksidatif etkiler yoluyla koruyucu özellik gösterdiğini varsayabiliriz. Naringenin serbest radikal süpürücü ve antioksidan özellikleri yoluyla, fenamifos ile indüklenen kardiyotoksisiteyi azaltmada yardımcı olduğu düşünülmektedir.

Artan insan nüfusunun gıda ihtiyacını karşılayabilmek için daha fazla gıda üretme ihtiyacının artması olasıdır. Bu hedefe ulaşmak için çeşitli seçenekler mevcuttur. İlk seçenek; daha seçici pestisitler ve geliştirilmiş uygulama teknikleri üretmek için ek

araştırmalarla, pestisitler de dahil olmak üzere tarım kimyasallarının yaygın kullanımına devam etmek olabilir. Diğer alternatif seçenekler ise daha yüksek verim elde etmek için genetiği değiştirilmiş organizmaların kullanımı ve zararlılara karşı dirençli ürünler, organik tarım, yeni çeşitlerin geliştirilmesi ve eski çeşitlerin iyileştirilmesi, zararlıları kontrol etmek için biyo-pestisitlerin ve feromon tuzaklarının kullanımının artması, ve insan popölasyonlarının beslenme alışkanlıklarının değişmesidir (Carvalho, 2017).

Günümüzde tarımsal faaliyetlerde yeterli verimliliği sağlaması açısından faydaları oldukça çok olan pestisitlerin çevreye olan zararları da büyüktür. Özellikle son yıllarda çevre duyarlılığının artması ile pestisit kullanımındaki hassasiyet daha da artmıştır. Bu anlamda pestisit kullanımında ruhsatlandırma ve kontrol önemli iki aşama olmuştur. Hem insan hem de çevre sağlığı açısından ruhsatlandırma ile eğitim oldukça önemlidir. İlaçlama sürelerinin kısa tutulması, havadan ilaçlamanın yapılmaması, doğru dozajda uygulamanın yapılması pestisitlerin verebileceği zararları en aza indirecektir (Özdemir ve Kiraz, 2022).

Bu tez çalışmasında fenamifosun sıçan kalp dokusu üzerindeki toksisitesi üzerine antioksidan özellik gösteren naringenin koruyucu rolü incelenmiştir. Naringenin, kalp dokusunda fenamifosun neden olduğu oksidatif stres seviyesini azalttığı belirlenmiştir. Fenamifos ve naringenin birlikte uygulandığı dördüncü grup, sadece fenamifos uygulanan grupla kıyaslandığında, sıçanların kalp dokularındaki MDA seviyelerinde anlamlı bir azalma gözlenirken, antioksidan enzim (SOD, CAT, GPx ve GST) aktivitelerinde de anlamlı bir artış belirlenmiştir. Fakat fenamifos ile birlikte naringenin uygulanan grubun, kontrol grubu ile karşılaştırılmasında antioksidan enzim aktivitelerinde bir artış olsa dahi istatistiksel olarak anlamlı bir artış belirlenmemiştir. Bu çalışmadaki kantitatif analizler göz önünde bulundurulduğunda, naringenin fenamifosun sebep olduğu kalp toksisitesini azalttığı söylenebilir. Çalışmada kullanılan fenamifos sıçanların kalp dokusu üzerinde birtakım olumsuzluklara neden olmuştur.

Bu tez çalışmasında, naringenin bu olumsuzluklar üzerinde hafifletici yönde etkisi olduğu belirlenmiştir. Fakat naringenin koruyucu özelliğinin tam olarak belirlenebilmesi için daha uzun kronik ve/veya subkronik çalışmalara ihtiyaç olabilir ya da sıçanlara uygulanan naringenin dozunu artırmak ve/veya süreci uzatmak gerekebilir. Bu yüzden pestisit toksisitesi ve yarattığı hasara karşı naringenin antioksidan etkinliğini

araştıran bu tez çalışması naringeninle yapılacak olan diğer çalışmalar için bir referans niteliğinde olacaktır. Ayrıca, fenamifosun zararlı etkilerinden dolayı bu pestisit aralarında bulunduğu bileşiklerin çevreye kontaminasyonuna karşı önlemler alınmalı ve kullanımında dikkatli olunmalıdır. Naringenin kalp doksundaki koruyucu etkisinden dolayı naringenin zengin bir diyetle beslenmeye dikkat edilmesi önerilebilir.

KAYNAKLAR

- Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S. and Rezaie, A. (2004). Pesticides and Oxidative Stress: a Review. *Medical Science Monitor*, 10(6), 141-147.
- Abdourahime, H., Anastassiadou, M., Arena, M., Auteri, D., Barmaz, S., Brancato, A., Brocca, D., Bura, L., Cabrera, L. C., Chiusolo, A., Civitella, C., Marques, D. C., Criventella, F., Ctverackova, L., Lentdecker, C. D., Egsmose, M., Fait, G., Ferreira, L., Gatto, V., Greco, L., Ippolito, A., Istace, F., Jarrah, S., Kardassi, D., Leuschner, R., Lostia, A., Lythgo, C., Magrans, J. O., Medina, P., Messinetti, S., Mineo, D., Miron, I., Nave, S., Molnar, T., Padovani, L., Morte, J. M. P., Pedersen, R., Raczky, M., Reich, M., Ruocco, S. vd. (2019). Peer Review of the Pesticide Risk Assessment of The Active Substance Fenamiphos. *EFSA Journal*, 17(1), e05557.
- Acıpayam, H. ve Koçak, H. E. (2018). Organofosfatlı İnsektisitlerin Vestibülokochlear Sistem Üzerine Etkisi. *Kulak Burun Boğaz Uygulamaları* 2018; 6 (2): 82-85
- Adeyemi, J. A., Ukwenya, V. O., Arowolo, O. K. and Olise, C. C. (2021). Pesticides-Induced Cardiovascular Dysfunctions: Prevalence and Associated Mechanisms. *Current Hypertension Reviews*, 17(1), 27-34.
- Alengebawy, A., Abdelkhalek, S. T., Qureshi, S. R., and Wang, M. Q. (2021). Heavy Metals and Pesticides Toxicity in Agricultural Soil and Plants: Ecological Risks and Human Health Implications. *Toxics*, 9(3), 42.
- Alp, H., Karakuş, A., Çelik, M. ve Başarslan, S. (2012). Organofosfat Zehirlenmesinde Yeni Bir Tedavi Yaklaşımı: Fitoterapi. *The Medical Journal of Mustafa Kemal University*, 3(09), 8-16.
- Alper, Y. (2013). *Organofosfat Toksikasyonuna Karşı Royal Jelly Koruyucu ve Tedavi Edici Etkilerinin Araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Altıkat, A., Turan, T., Torun, F. E., ve Bingöl, Z. (2009). Türkiye’de Pestisit Kullanımı ve Çevreye Olan Etkileri. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 40(2), 87-92.
- Apaydın, F. G., Kalender, S., Baş, H. and Kalender, Y. (2023). Protective Role of Gallic Acid Against Fenitrothion-Induced Hepatotoxicity and Nephrotoxicity via Oxidative Stress, Histopathological and Biochemical Alterations. *Researchsquare*. doi: 10.21203/rs.3.rs-2699186/v1
- Aslankoç, R., Demirci, D., İnan, Ü., Yıldız, M., Öztürk, A., Çetin, M., Savran, E. Ş., ve Yılmaz, B. (2019). Oksidatif Stres Durumunda Antioksidan Enzimlerin Rolü- Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) ve Glutasyon Peroksidaz (GPX). *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 26(3), 362-369.
- Atıncı, M. ve Kalkan, İ. (2018). Flavonoidler ve Sağlık Üzerine Etkileri. *Aydın Gastronomy*, 2(1), 31-38.

- Baş, H. and Kalender, Y. (2011). Chlorpyrifos Induced Cardiotoxicity In Rats and the Protective Role of Quercetin and Catechin. *Gazi University Journal of Science*, 24(3), 387-395.
- Belviranlı, M., Okudan, N., ve Atalık, K. E. N., (2012). Yaşlı Sıçanlarda Kurkumin Takviyesinin Kalp Dokusunun Oksidan/Antioksidan Durumu Üzerine Etkileri. *Genel Tıp Dergisi*, 22(2), 61-66.
- Benedetto, A., Brizio, P., Squadrone, S., Scanzio, T., Righetti, M., Gasco, L., Prearo, M., and Abete, M. C. (2016). Oxidative Stress Related to Chlorpyrifos Exposure in Rainbow Trout: Acute and Medium Term Effects on Genetic Biomarkers. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 129, 63-69.
- Büyükben, A. (2008). *Deneyisel Olarak Oluşturulan Organofosfat Toksikasyonunda Vitamin E, Selenyum ve Vitamin E-Selenyumun Etkisi*. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Büyükuslu, N., ve Yiğitbaşı, T. (2015). Reaktif Oksijen Türleri ve Obezitede Oksidatif Stres. *Clinical and Experimental Health Sciences*, 5(3), 197-203.
- Cáceres, T. P., Megharaj, M., and Naidu, R. (2008). Biodegradation of the Pesticide Fenamiphos by Ten Different Species of Green Algae and Cyanobacteria. *Current Microbiology*, 57, 643-646.
- Cáceres, T., Megharaj, M., Venkateswarlu, K., Sethunathan, N., and Naidu, R. (2010). Fenamiphos and Related Organophosphorus Pesticides: Environmental Fate and Toxicology. *Springer New York*, 117-162.
- Carvalho, F. P. (2017). Pesticides, Environment and Food Safety. *Food and Energy Security*, 6(2), 48-60.
- Chen, Q., Sun, Y., Liu, S., Zhang, J., Zhang, C., Jiang, H., Han, X., He, L., Wang, S., and Zhang, K. (2021). Colorimetric and Fluorescent Sensors for Detection of Nerve Agents and Organophosphorus Pesticides. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 344, 130278.
- Chinedu, E., Arome, D. and Ameh, F. S. (2013). A New Method for Determining Acute Toxicity in Animal Models. *Toxicology International*, 20(3), 224.
- Chtourou, Y., Slima, A. B., Makni, M., Gdoura, R., and Fetoui, H. (2015). Naringenin Protects Cardiac Hypercholesterolemia-Induced Oxidative Stress and Subsequent Necroptosis in Rats. *Pharmacological Reports*, 67, 1090-1097.
- Cruz, J., 1999, Human Health Risk Assessment: Fenamiphos, *U.S. Environmental Protection Agency Office of Programs Health Effects Division*, Phase 5.
- Çağlar, V., Çelik, N. ve Şevkioğlu, B. (2014). Kalp Anatomisinin Tarihsel Serüveni. *International Journal of Basic and Clinical Medicine*, 2(3), 153-158.

- Dar, M. A., Kaushik, G., and Chiu, J. F. V. (2020). Pollution Status and Biodegradation of Organophosphate Pesticides in the Environment. In *Abatement of Environmental Pollutants*. Elsevier, 25-66.
- Demirdöğen, B. C. (2010). Organofosfatlı Pestisit Zehirlenmeleri ve Serum Paraoksonaz 1 PON1 Enziminin Organofosfat Metabolizmasındaki Rolü. *Türk Hijyen ve Deneyisel Biyoloji Dergisi*, 67(2), 97-112.
- Demirtaş, E. ve Demirtaş H. “Naringenin Nedir?”. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi* 49 (2) 2023, 18-28, doi: 10.35238/sufefd.1225990
- Dhananjayan, V., and Ravichandran, B. (2018). Occupational Health Risk of Farmers Exposed to Pesticides in Agricultural Activities. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 4, 31-37.
- Dich, J., Zahm, S. H., Hanberg, A., and Adami, H. O. (1997). Pesticides and Cancer. *Cancer Causes & Control*, 8, 420-443.
- Doğan, F. N. ve Karpuzcu, M. E. (2019). Türkiye’de Tarım Kaynaklı Pestisit Kirliliğinin Durumu ve Alternatif Kontrol Tedbirlerinin İncelenmesi. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 25(6), 734-747.
- Drum, C. (1980). Soil Chemistry of Pesticides. PPG Industries. Inc. USA.
- El-Demerdash, F. M. (2011). Lipid peroxidation, oxidative stress and acetylcholinesterase in rat brain exposed to organophosphate and pyrethroid insecticides. *Food and chemical toxicology*, 49(6), 1346-1352.
- Erişir, M. (2018). Kurşun Uygulanan Ratların Bazı Dokularında (Kalp, Akciğer, Beyin, Dalak, Kas) Oksidatif Stress Üzerine Naringenin Etkisi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 13(1), 34-41.
- Felgines, C., Texier, O., Morand, C., Manach, C., Scalbert, A., Régerat, F., and Rémésy, C. (2000). Bioavailability of The Flavanone Naringenin and Its Glycosides in Rats. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 279(6), G1148-G1154.
- Gupta, R. C., Malik, J. K., and Milatovic, D. (2011). Organophosphate and Carbamate Pesticides. In *Reproductive and Developmental Toxicology*. Academic Press, 471-486.
- Sağlık & Bilim 2022: Güncel Tıp-II. Efe Akademi Yayınları. ISBN: 978-625-8324-35-8.
- Güvener, A., Koçer, F., ve Karaca, C. (1992). Muz, Mandarin ve Limonlarda Fenamiphos ve Isazophos Bakiyelerinin Tetkiki. *Zirai Mücadele Araştırma*, 191.
- Hassaan, M. A., and El Nemr, A. (2020). Pesticides Pollution: Classifications, Human Health Impact, Extraction and Treatment Techniques. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 46(3), 207-220.

- Hung, D. Z., Yang, H. J., Li, Y. F., Lin, C. L., Chang, S. Y., Sung, F. C., and Tai, S. C. (2015). The Long-Term Effects of Organophosphates Poisoning as a Risk Factor of Cvd: A Nationwide Population-Based Cohort Study. *PloS One*, 10(9), e0137632. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137632>
- Ighodaro, O. M., and Akinloye, O. A. (2017). First Line Defence Antioxidants-Superoxide Dismutase (SOD), Catalase (CAT) and Glutathione Peroxidase (GPX): Their Fundamental Role in the Entire Antioxidant Defence Grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 287-293.
- Jawale, C. A., Rajput, K. H., and Ugale, B. J. (2017). Assessing the Impact of Pesticides: An Overview. *International Journal of Life Sciences*, 5(3), 474-479.
- Kalender, S., Apaydın, F.G., Baş, H. and Kalender, Y. (2015). Protective Effects of Sodium Selenite on Lead Nitrate-Induced Hepatotoxicity in Diabetic and Non-Diabetic Rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 40(2), 568-574.
- Karaboduk, H., Uzunhisarcikli, M., and Kalender, Y. (2015). Protective Effects of Sodium Selenite and Vitamin E on Mercuric Chloride-Induced Cardiotoxicity in Male Rats. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 58, 229-238.
- Karaboduk, H. and Kalender, Y. (2021). The Effects of Lead Nitrate and Mercury Chloride on Rat Liver Tissue. *Fresenius Environmental Bulletin*, 30(3), 2368-2379.
- Karabulut, H., ve Gülay, M. Ş. (2016). Serbest Radikaller. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4(1).
- Karim, N., Jia, Z., Zheng, X., Cui, S., and Chen, W. (2018). A Recent Review of Citrus Flavanone Naringenin on Metabolic Diseases and Its Potential Sources for High Yield-Production. *Trends in Food Science & Technology*, 79, 35-54.
- Karimi-Maleh, H., Yola, M. L., Atar, N., Orooji, Y., Karimi, F., Kumar, P. S., Rouhi, J., and Baghayeri, M. (2021). A Novel Detection Method for Organophosphorus Insecticide Fenamiphos: Molecularly Imprinted Electrochemical Sensor Based on Core-Shell Co₃O₄@ MOF-74 Nanocomposite. *Journal Of Colloid And Interface Science*, 592, 174-185.
- Kaur, J., and Singh, P. K. (2020). Enzyme-Based Optical Biosensors for Organophosphate Class of Pesticide Detection. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 22(27), 15105-15119.
- Kiran, S. D. V. S., Rohini, P., and Bhagyasree, P. (2017). Flavonoid: A Review on Naringenin. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(5), 2778-2783.
- Kim, J.H. and Lee, J.K., 2015, Naringenin enhances NK cell lysis activity by increasing the expression of NKG2D ligands on Burkitt's lymphoma cells, *Archives of Pharmaceutical Research*, 38, 2042-8.
- Krishnamurthy, P., and Wadhwani, A. (2012). Antioxidant Enzymes and Human Health. *Antioxidant Enzyme*, 1, 3-18.

- Kurtdede, E., Pekcan, M., ve Karagül, H. (2018). Florun Serbest Radikaller, Reaktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres ile İlişkileri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 13(3), 373-379.
- Kurutaş, E. B., ve Kılınç, M. (2003). Pestisitlerin Biyolojik Sistemler Üzerine Etkisi. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 12(3).
- Litviňuková, M., Talavera-López, C., Maatz, H., Reichart, D., Worth, C. L., Lindberg, E. L., Kanda, M., Polanski, K., Heinig, M., Lee, M., Nadelmann, E. R., Roberts, K., Tuck, L., Fasouli, E. S., DeLaughter D. M., McDonough, B., Wakimoto, H., Gorham, J. M., Samari, S., Mahbubani, K. T., Saeb-Parsy, K., Patone, G., Boyle, J. J., Zhang, Hongbo, Zhang, Hao, Viveiros, A., Ouidit, G. Y., Bayraktar, O. A., Seidman, J. G., Seidman, Christine E., Nosedá, M., Hubner, N., and Teichmann, S. A. (2020). Cells of the Adult Human Heart. *Nature*, 588(7838), 466-472.
- Logeshwaran, P., Krishnan, K., Naidu, R., and Megharaj, M. (2020). Purification and Characterization of a Novel Fenamiphos Hydrolysing Enzyme from Microbacterium Esteraromaticum MM1. *Chemosphere*, 252, 126549.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951). Protein Measurement with the Folin Reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 19, 265-275.
- Mahmood, I., Imadi, S. R., Shazadi, K., Gul, A., and Hakeem, K. R. (2016). Effects of Pesticides on Environment. *Plant, Soil and Microbes: Volume 1: Implications in Crop Science*, 253-269.
- Mıstanoğlu, İ., Uysal, G., ve Devran, Z. (2021). Bitki Paraziti Nematodlarla Mücadelede Kullanılan Nematisitlerin Etki Mekanizmaları. *Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 35(2), 483-498.
- Mishra, B. P., Badade, Z. G., Rastogi, S. K., and Singh, S. (2013). Antioxidant Status and Oxidative Stress in Organophosphate Pesticide Poisoning. *Journal of Dental and Medical Sciences*, 7(6), 20-24.
- Moghaddam, R.H., Samimi, Z., Moradi, S.Z., Little, P.J., Xu, S. and Farzaei, M.H. (2020). Naringenin and Naringin in Cardiovascular Disease Prevention: a Preclinical Review, *European Journal of Pharmacology*, 887-173535.
- Moore, D. H. and Ruska, H. (1957). Electron Microscope Study of Mammalian Cardiac Muscle Cells. *The Journal of Cell Biology*, 3(2), 261-268.
- Mukherjee, S., and Gupta, R. D. (2020). Organophosphorus Nerve Agents: Types, Toxicity, and Treatments. *Journal of Toxicology*, 2020.
- Nasraoui, C., Jaoued-Grayaa, N., Vanoye, L., Chevalier, Y., and Hbaieb, S. (2022). Development of Molecularly Imprinted Polymer for the Selective Recognition of the Weakly Interacting Fenamiphos Molecule. *European Polymer Journal*, 177, 111441.

- Nielsen, I.L.F., Chee, W.S.S., Poulsen, L., Offord-Cavin, E., Rasmussen, S.E., Frederiksen, H., Enslen, M., Barron, D., Horcajada, M.N. and Williamson, G., 2006, Bioavailability is improved by enzymatic modification of the citrus flavonoid hesperidin in humans: a randomized, doubleblind, crossover trial, *Journal of Nutrition*, 136, 404–8. doi: 10.1093/jn/136. 2.404.
- Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K. (1979). Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. *Analytical Biochemistry*, 95, 351-358.
- Ojha, A., Yaduvanshi, S. K., and Srivastava, N. (2011). Effect of Combined Exposure of Commonly Used Organophosphate Pesticides on Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzymes in Rat Tissues. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 99(2), 148-156.
- Orhan, E. H., ve Şahin, G. (1995). Glutasyon S-Transferazların klinik ve toksikolojik önemi. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 15(5), 303-315.
- Othmène, Y. B., Hamdi, H., Amara, I., & Abid-Essefi, S. (2020). Tebuconazole Induced Oxidative Stress and Histopathological Alterations in Adult Rat Heart. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 170, 104671.
- Öğütçü, A., Uzunhisarcıklı, M., Kalender, S., Durak, D., Bayrakdar, F., and Kalender, Y. (2006). The Effects of Organophosphate Insecticide Diazinon on Malondialdehyde Levels and Myocardial Cells in Rat Heart Tissue and Protective Role of Vitamin E. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 86(2), 93-98.
- Özdemir, S., ve Kurt, B. Ö. (2021). Organofosfatlı Bir İnsektisit: Klorpirifos. *Osmangazi Tıp Dergisi*, 44(1), 139-147.
- Özdemir, T., ve Kiraz, E. D. E. (2022). Pestisitlerin Çevre Sağlığı Üzerindeki Etkisi. *City Health Journal*, 3(2), 18-23.
- Özercan, B., ve Taşçı, R. (2022). Türkiye’de Pestisit Kullanımının İller, Bölgeler ve Pestisit Grupları Açısından İncelenmesi. *Ziraat Mühendisliği*, (375), 75-88.
- Pari, L. and Amudha, K., 2011, Hepatoprotective Role of Naringin on Nickel-Induced Toxicity in Male Wistar Rats, *European Journal of Pharmacology*, 650, 364–70.
- Pawar, A. P., Sanaye, S. V., Shyama, S., Sreepada, R. A., and Dake, A. S. (2020). Effects of Salinity and Temperature on the Acute Toxicity of the Pesticides, Dimethoate and Chlorpyrifos in Post-Larvae And Juveniles of the Whiteleg Shrimp. *Aquaculture Reports*, 16, 100240.
- Polat, A. (2022). Tarımda Pestisitler: Dünya’da ve Türkiye’de Kullanımları.
- Ragnarsdottir, K. V. (2000). Environmental Fate and Toxicology of Organophosphate Pesticides. *Journal of the Geological Society*, 157(4), 859-876.
- Ramos-Tovar, E., and Muriel, P. (2020). Free Radicals, Antioxidants, Nuclear Factor-E2-Related Factor-2 and Liver Damage. *Journal of Applied Toxicology*, 40(1), 151-168.
- Rashmi, R., Magesh, S. B., Ramkumar, K. M., Suryanarayanan, S., and SubbaRao, M. V.

- (2018). Antioxidant Potential of Naringenin Helps to Protect Liver Tissue from Streptozotocin-Induced Damage. *Reports of Biochemistry & Molecular Biology*, 7(1), 76.
- Reena, S. R., Sundar, A. S. W. A., Sandhya, S. M., Dhanya, S. and Gopal, L. (2018). A Review on Free Radicals and Antioxidants. *Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences*, 05(11), 11541-11548. <https://doi.org/10.5281/zenodo.1479234>
- Renugadevi, J., and Prabu, S. M. (2009). Naringenin Protects Against Cadmium-Induced Oxidative Renal Dysfunction in Rats. *Toxicology*, 256(1-2), 128-134.
- Romeh, A. A., and Hendawi, M. Y. (2017). Biochemical Interactions Between Glycine Max L. Silicon Dioxide (SiO₂) and Plant Growth-Promoting Bacteria (PGPR) for Improving Phytoremediation of Soil Contaminated with Fenamiphos and Its Degradation Products. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 142, 32-43.
- Roselló-Márquez, G., Fernández-Domene, R. M., Sánchez-Tovar, R., and Garcia-Anton, J. (2020). Photoelectrocatalyzed Degradation of Organophosphorus Pesticide Fenamiphos Using WO₃ Nanorods as Photoanode. *Chemosphere*, 246, 125677.
- Sataloğlu, N., Aydın, B., ve Turla, A. (2007). Pestisit Zehirlenmeleri. *TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni*, 6(3), 169-74.
- Sekhotha, M. M., Monyeke, K. D., and Sibuyi, M. E. (2016). Exposure to Agrochemicals and Cardiovascular Disease: A Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13(2), 229.
- Selvi, K. and Çölgeçen, Z. (2023, September 22-23). *Pesticides: Aquatic Ecosystem Safety and Health Risks Pestisitler: Sucul Ekosistem Güvenliği ve Sağlık Riskleri*. 6. International Food, Agriculture and Veterinary Sciences Congress, Ganja, Azerbaijan.
- Shah, S., Gnanasegaran, G., Sundberg-Cohon, J., and Buscombe, J. R. (2009). The Heart: Anatomy, Physiology and Exercise Physiology. In *Integrating Cardiology for Nuclear Medicine Physicians: A Guide to Nuclear Medicine Physicians*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 3-22.
- Shahzad, F., Taj, M. K., Abbas, F., Taj, I., Parveen, S., Achakzai, A. M., Azam, S., Hussain, A., Tareen, A. R., Mohammad, G., Samreen, Z., Sazian, B., and Bibi, L. (2019). Pesticides and Our Environment. *International Journal of Biosciences*, 14(4), 487-491.
- Sharma, G. N., Gupta, G., and Sharma, P. (2018). A Comprehensive Review of Free Radicals, Antioxidants, and Their Relationship with Human Ailments. *Critical Reviews™ In Eukaryotic Gene Expression*, 28(2).
- Strange, R. C., Spiteri, M. A., Ramachandran, S., & Fryer, A. A. (2001). Glutathione-S-transferase family of enzymes. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 482(1-2), 21-26.

- Singh, B. K., Walker, A., Morgan, J. A. W., and Wright, D. J. (2003). Role of Soil Ph in the Development of Enhanced Biodegradation of Fenamiphos. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(12), 7035-7043.
- 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 and Biochemistry*, 38(9), 2682-2693.
- Sulaiman, N. S., Rovina, K., and Joseph, V. M. (2019). Classification, Extraction and Current Analytical Approaches for Detection of Pesticides in Various Food Products. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 14, 209-221.
- Sultatos, L. G. (1994). Mammalian Toxicology of Organophosphorus Pesticides. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part a Current Issues*, 43(3), 271-289.
- Syafrudin, M., Kristanti, R. A., Yuniarto, A., Hadibarata, T., Rhee, J., Al-Onazi, W. A., Algarni, T. S., Almarri, A. H., and Al-Mohaimed, A. M. (2021). Pesticides in Drinking Water—a Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(2), 468.
- Şahin, Ç., ve Karpuzcu, M. E. (2019). Organofosfatlı Pestisitlerin Pilot Ölçekli Sulak Alan Reaktörlerinde Gideriminin İncelenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 23(1), 148-156.
- Tiryaki, O., Canhilal, R., ve Horuz, S. (2010). Tarım İlaçları Kullanımı ve Riskleri. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 26(2), 154-169.
- Tutunchi, H., Naeini, F., Ostadrahimi, A., and Hosseinzadeh-Attar, M. J. (2020). Naringenin, a Flavanone with Antiviral and Anti-Inflammatory Effects: a Promising Treatment Strategy Against COVID-19. *Phytotherapy Research*, 34(12), 3137-3147.
- Tözün, M., ve Akar, G. (2022). Türkiye’de Gıda Numunelerinde Pestisit Kalıntıları Üzerine 2010 Yılı Sonrası Ulusal Literatürün İncelenmesi. *Estüdam Halk Sağlığı Dergisi*, 7(1), 177-191.
- Tvrda, E., and Benko, F. (2020). Free Radicals: What They Are and What They Do. in *Pathology* (pp. 3-13). Academic Press.
- Uchendu, C., Ambali, S. F. and Ayo, J. O. (2012). The Organophosphate, Chlorpyrifos, Oxidative Stress and the Role of Some Antioxidants: A Review.
- Umetsu, N. and Shirai, Y. (2020). Development of Novel Pesticides in the 21st Century. *Journal of Pesticide Science*, 45(2), 54-74.
- Uzun, F. G. and Kalender, Y. (2013). Chlorpyrifos Induced Hepatotoxic and Hematologic Changes in Rats: The Role of Quercetin and Catechin. *Food and Chemical*

Toxicology, 55, 549-556.

Uzunbayır, H. and Apaydın, F. G. (2022). Protective Role of Ferulic Acid on Testis-Histoarchitecture and Oxidative Damages Induced by Dimethoate in Rats. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 64.

Uzunhisarcıklı, M., Apaydın, F. G., Baş, H. and Kalender, Y. (2023). The Ameliorative Effects of Quercetin and Curcumin Against Subacute Nephrotoxicity of Fipronil Induced In Wistar Rats. *Toxicology Research*, 34.

Ünsal, V., Çicek, M., and Sabancılar, İ. (2021). Toxicity of Carbon Tetrachloride, Free Radicals and Role of Antioxidants. *Reviews on Environmental Health*, 36(2), 279-295.

Wang, J., Yang, Z., Lin, L., Zhao, Z., Liu, Z., and Liu, X. (2012). Protective Effect of Naringenin Against Lead-Induced Oxidative Stress in Rats. *Biological Trace Element Research*, 146, 354-359.

Wang, Y. S., Tai, K. T., and Yen, J. H. (2004). Separation, Bioactivity, and Dissipation of Enantiomers of the Organophosphorus Insecticide Fenamiphos. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 57(3), 346-353.

Weinhaus, A. J., and Roberts, K. P. (2005). Anatomy of the Human Heart. *Handbook of Cardiac Anatomy, Physiology, And Devices*, 51-79.

Yılmaz, İ. (2010). Antioksidan İçeren Bazı Gıdalar ve Oksidatif Stres. *Journal of Turgut Ozal Medical Center*, 17(2), 143-154.

Yigit, N., and Velioglu, Y. S. (2020). Effects of Processing and Storage on Pesticide Residues in Foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(21), 3622-3641.

Yadav, I. C., and Devi, N. L. (2017). Pesticides Classification and Its Impact on Human and Environment. *Environmental Science and Engineering*, 6, 140-158.

Qader, B., Hussain, I., Baron, M., Jiménez-Pérez, R., Gil-Ramírez, G., and Gonzalez-Rodriguez, J. (2021). Computational Design of a Molecularly Imprinted Polymer for the Biomonitoring of the Organophosphorous Metabolite Chlorferron. *Biosensors*, 11(6), 192.

Zago, A. M., Faria, N. M., Favero, J. L., Meucci, R. D., Woskie, S., and Fassa, A. G. (2022). Pesticide Exposure and Risk of Cardiovascular Disease: A Systematic Review. *Global Public Health*, 17(12), 3944-3966.

Zhang, W., Gao, J., Lu, L., Bold, T., Li, X., Wang, S., Zhishang, C., Jing, C., Xiao, K., Yuxin, Z., Mingliang, Z., and Tang, J. (2021). Intracellular GSH/GST Antioxidants System Change as an Earlier Biomarker for Toxicity Evaluation of Iron Oxide Nanoparticles. *NanoImpact*, 23, 100338.



Gazili olmak ayrıcalıktır