

**RATLARDA KLORPRİFOS’UN HEPATOTOKSİK ETKİSİ VE
KUERSETİN VE KATEŞİN’İN KORUYUCU ROLÜ**

Fatma Gökçe UZUN

**DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HAZİRAN 2012
ANKARA**

Fatma Gökçe UZUN tarafından hazırlanan RATLARDA KLORPRİFOS'UN HEPATOTOKSİK ETKİSİ VE KUERSETİN VE KATEŞİN'İN KORUYUCU ROLÜ adlı bu tezin doktora tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Yusuf KALENDER

.....

Tez Danışmanı, Biyoloji Anabilim Dalı

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Biyoloji Anabilim Dalında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zekiye SULUDERE

.....

Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Yusuf KALENDER

.....

Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Nesrin ÖZSOY

.....

Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Şule COŞKUN

.....

Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Evrim Arzu KOÇKAYA

.....

Tıbbi Lab. Programı, Gazi Üniversitesi

Tarih: 15/06/2012

Bu tez ile G.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Doktora derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Bilal TOKLU

.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Fatma Gökçe UZUN

RATLARDA KLORPRİFOS'UN HEPATOTOKSİK ETKİSİ VE KUERSETİN VE KATEŞİN'İN KORUYUCU ROLÜ

(Doktora Tezi)

Fatma Gökçe UZUN

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Haziran 2012

ÖZET

Organofosfatlı bir insektisit olan klorprifos dünya genelinde yaygın olarak kullanılmakta ve başta memeliler olmak üzere hedef olmayan canlılarda toksik etki göstermektedir. Bu çalışmada, kateşin (20 mg/kg gün), kuersetin (20 mg/kg gün), klorprifos (5.4 mg/kg gün), kateşin (20 mg/kg gün)+klorprifos (5.4 mg/kg gün), kuersetin (20 mg/kg gün)+klorprifos (5.4 mg/kg gün) erkek ratlara gavaj yoluyla verilmiştir. Muameleden 4 hafta sonra ratlarda kanda serum total proteini, albümin, aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), alkalen fosfataz (ALP), laktat dehidrogenaz (LDH), trigliserit, total kolesterol düzeyleri, hematolojik değişiklikler, karaciğer dokusunda süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon-S-transferaz (GST) aktiviteleri ile malondialdehit (MDA) düzeyleri ve karaciğerde meydana gelen histopatolojik değişiklikler kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Dördüncü haftanın sonunda araştırılan parametrelerin tümünde kontrol, kateşin ve kuersetin grupları arasında herhangi bir fark gözlenmemiştir. Klorprifos muameleli grupta biyokimyasal parametreler, bazı hematolojik parametreler ile antioksidan enzim aktiviteleri ve MDA seviyesinde kontrol grubuna göre anlamlı değişikliklerin meydana geldiği gözlenmiştir. Kateşin+klorprifos muameleli grup ve kuersetin+klorprifos muameleli grupta ise uygulanan flavonoidlerin araştırılan parametreler üzerine tamamen olmasada koruyucu etkilerinin olduğu gözlenmiştir. Muameleden 4 hafta sonra

klorprifos muameleli gruptaki ratların karaciğerinde konjesyon, mononükleer hücre infiltrasyonu gibi birtakım histopatolojik değişiklikler meydana geldiği tespit edilirken, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos muameleli gruptaki ratların karaciğerlerinde ise daha az histopatolojik değişiklik gözlenmiştir. Sonuç olarak kateşin ve kuersetin, klorprifosun sebep olduğu hepatotoksik etkiyi azaltmıştır.

Bilim Kodu : 203.1.057
Anahtar Kelimeler :Klorprifos, kateşin, kuersetin, hepatotoksisite, histopatoloji, oksidatif stres
Sayfa Adedi : 105
Tez Yöneticisi : Prof. Dr. Yusuf Kalender

CHLORPYRIFOS INDUCED HEPATOTOXICITY IN RATS AND THE PROTECTIVE ROLE OF QUERCETIN AND CATECHIN

(Ph. D. Thesis)

Fatma Gökçe UZUN

**GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY**

June 2012

ABSTRACT

Chlorpyrifos is an organophosphorus insecticide which is widely used throughout in the world and it caused toxic effects on nontarget organisms especially mammalian. In the present study, catechin (20 mg/kg day), quercetin (20 mg/kg day), chlorpyrifos (5.4 mg/kg day), catechin (20 mg/kg day)+chlorpyrifos (5.4 mg/kg day), quercetin (20 mg/kg day)+chlorpyrifos (5.4 mg/kg day) were given to male rats through gavage. Serum total protein, albumin, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), lactate dehydrogenase (LDH), triglyceride, total cholesterol levels, hematological changes, superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione-S-transferase (GST) activities and malondialdehyde content in liver tissues and also histopathological changes of liver were investigated in the rats 4 weeks after the administration compared to control group. No significant differences in all investigated parameters were observed between control, catechin and quercetin groups. There were statistically significant changes in biochemical parameters, some hematological parameters, antioxidant enzyme activities and malondialdehyde levels in chlorpyrifos treated group compared to control group. In catechin+chlorpyrifos treated group and quercetin+chlorpyrifos treated group we observed the protective effects of catechin and quercetin on examining parameters but not completely. While some histopathological changes like

congestion, mononuclear cell infiltration detected in liver tissues in chlorpyrifos treated group, less histopathological changes were observed in catechin+chlorpyrifos and quercetin+chlorpyrifos treated groups at the end of the 4th week. As a result, catechin and quercetin significantly reduce chlorpyrifos induced hepatotoxicity in rats.

Science Cod : 203.1.057

Key Words : Chlorpyrifos, catechin, quercetin, hepatotoxicity, histopathology, oxidative stress

Page Number : 105

Adwiser : Prof. Dr. Yusuf Kalender

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca engin bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren, değerli yardım ve katkılarını esirgemeyen Yüksek Lisans ve Doktora programlarında danışmanlığımı yapan Sayın hocam Prof. Dr. Yusuf KALENDER'e tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Tez izleme komisyonlarımda bulunan, bilgi ve yardımlarıyla tezime yön veren hocalarım Sayın Prof. Dr. Zekiye SULUDERE'ye (Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü) ve Sayın Prof. Dr. Nesrin ÖZSOY'a (Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü) teşekkür ederim.

Daima beni destekleyen ve beni bugünlere getiren aileme çok teşekkür ederim.

Tez çalışmamı maddi olarak destekleyen Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projesi (BAP) birimine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xii
RESİMLERİN LİSTESİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiv
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	2
3. MATERYAL VE YÖNTEM	44
3.1. Hayvanlar	44
3.2. Kimyasallar	44
3.3. Hayvanlara Uygulama Planı	44
3.4. Serum Karaciğer Fonksiyon Testlerinin Belirlenmesi	46
3.5. Hematolojik İncelemeler	46
3.6. Malondialdehit Miktarının ve Antioksidan Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi	47
3.6.1. Malondialdehit miktarının belirlenmesi	47
3.6.2. Antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi	47
3.7. Işık Mikroskobu İncelemeleri	49
3.8. İstatistiksel Analizler	50
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	51
4.1. Karaciğer Fonksiyon Testlerinin Değerlendirilmesi	57

4.2. Hematolojik Sonuçların Değerlendirilmesi	57
4.3. Malondialdehit Miktarının ve Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Değerlendirilmesi.....	60
4.3.1. Malondialdehit miktarının değerlendirilmesi.....	60
4.3.2. Antioksidan enzim aktivitelerinin değerlendirilmesi	61
4.4. Işık Mikroskobu Bulgularının Değerlendirilmesi	65
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	73
KAYNAKLAR.....	88
ÖZGEÇMİŞ.....	105

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Hayvanlara uygulama planı.....	44
Çizelge 4.1. Klorprifosun subakut uygulamasının hematolojik parametreler üzerine etkisi.....	59
Çizelge 4.2. Karaciğer dokusunda histopatolojik bulguların değerlendirilmesi	72

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Klorpirifos'un moleküler yapısı.....	12
Şekil 2.2. Kuersetin'in moleküler yapısı.....	37
Şekil 2.3. (+)- Kateşin'in moleküler yapısı.....	41
Şekil 4.1. Kontrol grupları ve muameleli grupların serum total protein profili	52
Şekil 4.2. Kontrol grupları ve muameleli grupların serum albümin profili	53
Şekil 4.3. Kontrol grupları ve muameleli grupların serum AST profili	53
Şekil 4.4. Kontrol grupları ve muameleli grupların serum ALT profili	54
Şekil 4.5. Kontrol grupları ve muameleli grupların serum ALP profili	54
Şekil 4.6. Kontrol grupları ve muameleli grupların serum LDH profili.....	55
Şekil 4.7. Kontrol grupları ve muameleli grupların serum trigliserit profili.....	56
Şekil 4.8. Kontrol grupları ve muameleli grupların serum total kolesterol profili.....	57
Şekil 4.9. Kontrol grubu ve muameleli grupların MDA seviyeleri.....	60
Şekil 4.10. Kontrol grubu ve muameleli grupların SOD seviyeleri	61
Şekil 4.11. Kontrol grubu ve muameleli grupların CAT seviyeleri	62
Şekil 4.12. Kontrol grubu ve muameleli grupların GPx seviyeleri	63
Şekil 4.13. Kontrol grubu ve muameleli grupların GST seviyeleri.....	64

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. Kontrol grubu ratların karaciğerinin histolojik yapısı.....	65
Resim 4.2. Kateşin grubu ratların karaciğerinin histolojik yapısı	66
Resim 4.3. Kuersetin grubu ratların karaciğerinin histolojik yapısı.....	66
Resim 4.4. Klorprifos muamelesinden 4 hafta sonra ratların karaciğerinin histolojik yapısı.....	67
Resim 4.5. Klorprifos muamelesinden 4 hafta sonra ratların karaciğerinin histolojik yapısı.....	67
Resim 4.6. Klorprifos muamelesinden 4 hafta sonra ratların karaciğerinin histolojik yapısı.....	68
Resim 4.7. Klorprifos muamelesinden 4 hafta sonra ratların karaciğerinin histolojik yapısı.....	68
Resim 4.8. Klorprifos muamelesinden 4 hafta sonra ratların karaciğerinin histolojik yapısı	69
Resim 4.9. Klorprifos muamelesinden 4 hafta sonra ratların karaciğerinin histolojik yapısı.....	69
Resim 4.10. Kateşin+klorprifos muamelesinden 4 hafta sonra ratların karaciğerinin histolojik yapısı.....	70
Resim 4.11. Kateşin+klorprifos muamelesinden 4 hafta sonra ratların karaciğerinin histolojik yapısı.....	70
Resim 4.12. Kuersetin+klorprifos muamelesinden 4 hafta sonra ratların karaciğerinin histolojik yapısı.....	71
Resim 4.13. Kuersetin+klorprifos muamelesinden 4 hafta sonra ratların karaciğerinin histolojik yapısı	71

SİMGELER VE KISATMALAR

Bu çalışmada kullanılan bazı kısaltmalar açıklamaları ile birlikte aşağıya konulmuştur.

Kısaltmalar	Açıklama
AChE	Asetilkolin esterase
ALP	Alkalen fosfataz
ALT	Alanin aminotransferaz
AST	Aspartat aminotransferaz
CPF	Klorprifos
CAT	Katalaz
GPx (GSH-Px)	Glutasyon peroksidaz
GST	Glutasyon-S-transferaz
GSH	Glutasyon
GR	Reduced Glutasyon
H₂O₂	Hidrojen Peroksit
LDH	Laktat dehidrogenaz
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
LD₅₀	Letal Doz 50
MDA	Malondialdehit
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
OP	Organofosfatlı insektisit
SOD	Süperoksit dismutaz
ROS	Reaktif oksijen türleri
TBARS	Tiyobarbitürik asit reaktif türleri
VLDL	Çok düşük yoğunluklu lipoprotein

1. GİRİŞ

Ülkemiz hızla artan kent nüfusuna rağmen, hala ekonomisi tarıma dayalı bir ülke konumundadır. Bununla birlikte hızla artan nüfus ve kentleşme, her geçen gün tarım alanlarının azalmasına ve kişi başına düşen tarım ürünü miktarının düşmesine neden olmaktadır. Geçmişte tarımsal ürün bakımından kendi kendine yeten ülke konumunda olan Türkiye şimdi birçok ülkeden tarımsal ürün ithal etmektedir. Bunun en önemli sebeplerinden birisi ekonomik açıdan önemli olan bitkilerde, zararlı böceklerle mücadelenin bilinçli ve etkili biçimde yapılamamasıdır.

Tarım alanlarında ve doğada en önemli zararlılardan biri olan böceklerle mücadelede kullanılan pestisitlere “insektisit” adı verilmektedir. Organofosfatlı insektisitler en çok kullanılan insektisit grubudur. Klorprifos dünya genelinde yaygın olarak kullanılan organofosfatlı bir insektisittir. Flavonoidler bitkisel kaynaklı antioksidan bileşiklerdir. Kuersetin ve kateşin de bitkilerde çok bulunan birer flavonoiddir.

Bu doktora tezinin amacı organofosfatlı bir insektisit olan klorprifosun ratlarda subakut hepatotoksitesini;

- Işık mikroskopunda histopatolojik olarak inceleyerek,
- Karaciğer dokusunda antioksidan enzim ve lipid peroksidasyonu düzeylerini belirleyerek,
- Kanda biyokimyasal ve hematolojik verileri ölçerek tespit etmek,
- Ve olası hasar üzerine birer antioksidan olan kateşin ve kuersetinin koruyucu rolünü araştırmaktır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Besin maddelerinin üretimi, tüketimi ve depolanması sırasında, besin değerini bozan ve besinleri yok eden, zarar veren haşereleri, mikroorganizmaları ve diğer zararlıları yok etmek için kullanılan fiziksel, kimyasal veya biyolojik savaş maddelerine “pestisit” adı verilir [Vural, 1996].

Ekonomik zehirler sınıfına giren pestisitler, kullanım yerlerine göre;

- İnsektisitler (böceklere karşı)
- Herbisitler (yabancı otlara karşı)
- Fungusitler (mantarlara karşı)
- Molulisitler (yumuşakçalara karşı)
- Rodentisitler (kemiricilere karşı)
- Akarisitler (uyuz böcekleri ve parazitlere karşı) ismini alırlar [Vural, 1996].

Pestisitler, besinlerin korunması bakımından ekonomik faydalar sağlamalarının yanı sıra bıraktıkları kalıntılarla su, toprak, hava ve besin kirlenmesine neden olarak, ekolojik sistemin dengesini bozmaktadırlar [Vural, 1996].

Pestisitler kemiriciler, böcekler ve diğer pestleri yok etmek için kullanılmakla birlikte bu hayvanlarla taşınan vektör hastalıklara karşı savaşta da kullanılmaktadırlar. Tarım dışında pestisitler kırsal alanlarda, kara yollarında yabani otlara karşı, sivrisinek ve rodentlere karşı resmi kuruluşlar tarafından kullanılmaktadırlar. Ayrıca kişisel olarak evlerde ve bahçe işlerinde de yaygın olarak kullanılmaktadırlar [Vural, 1996].

Pestisitler yüzyıllardır tarım alanlarında besin üretimini güçlendirmek amacıyla istenmeyen böcekleri yok etmek ve hastalık taşıyan vektörleri kontrol altına almak için kullanılmaktadır [Prakasam ve ark., 2001; Elhalwagy ve ark., 2008].

Pestisitler akut ve kronik zehirlenmelere sebep olmaktadır. Bu zehirlenmeler pestisitlerin üretimleri, uygulanmaları, depolanmaları, taşınmaları sırasında görülebilmektedir. Pestisitlerle oluşan mesleki zehirlenmelere hem gelişmiş ülkelerde hem de gelişmekte olan ülkelerde rastlanmaktadır [Vural, 1996].

Pestisitler kullanıldıkları yerlerde toprağı, suyu kirlettikleri gibi bulundukları yerlerden biyolojik ve fiziksel yollarla çok uzak bölgelere taşınmaktadırlar. Özellikle çevrede dayanıklı olanlar ve lipidte çözünenler birikim göstererek tüm canlılar için zararlı etki göstermektedirler [Vural, 1996].

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre her yıl 3 milyon pestisit zehirlenme vakasıyla karşılaşmaktadır ve bunun sonucunda 250,000 den fazla ölüm meydana gelmektedir [Yang ve Deng, 2007]. Bu endişe verici duruma rağmen halen pestisit kullanımları ve pestisit kaynaklı zehirlenmeler devam etmektedir [Ali ve Chia, 2008].

Pestisitler lipid peroksidasyonuna, membran akışkanlığında değişimlere, DNA hasarına ve karsinojenik etkilere sebep olabilmektedirler [El-Gendy ve ark., 2010].

Pestisitler organizmanın normal işleyişini olumsuz yönde etkileyerek istenmeyen bazı durumların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Uzun süre bozulmadan toprakta kalan, besin zinciri yoluyla vücuda giren pestisitler ya da onların yıkım ürünleri, zamanla doku ve organlarda kansere kadar gidebilen bazı ağır klinik tabloların ortaya çıkmasına neden olmaktadır [Dere ve ark., 1999].

Ülkemizde pestisitlerin en önemli uygulama alanı tarım savaş ilaçları olarak kullanımıdır. Türkiye tarımında tüm kültür bitkilerinde hastalık, zararlı ve yabancı otlar yüzünden oluşabilecek kayıpları engellemek için her türlü araştırma ve uygulamayı yapmakla görevli 'Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Müdürlüğü' 1957'de kurulmuştur. Ülkemizin gereksinimi olan tarım ilaçları, bunlarla ilgili üretimi, ruhsatlandırma gibi düzenlemeleri de ilgili komitelerle bu kuruluş yürütmektedir [Vural, 1996].

Pestisit kalıntılarının neden olduğu çevresel kirlenme, tarımsal ve genel halk sağlığı alanlarında önemli bir çevresel problemdir. Pestisitler hedef ve hedef olmayan tüm canlı taksonomik gruplar için zehirli etkiye sahiptir [Wu ve ark., 2007; Celik ve Suzek, 2008]. Pestisitler doku ve sistemlere hasar vermektedirler. Aynı zamanda hücre yapısına ve metabolizması üzerine de etki ederek hücre faaliyetlerinin bozulmasına neden olurlar. Hücre faaliyetlerinin bozulmasına sebep olan faktörlerden biri de pestisitlerin de sebep olduğu “serbest radikal” oluşumudur. Pestisit toksisitesindeki ana faktör oksijen serbest radikallerinin meydana gelişidir [Celik ve Suzek, 2008].

Pestisitler bazı mekanizmalar ile membran peroksidasyonunu oluşturabilir. Bunlar; kimyasalın metabolizmasıyla üretilen serbest radikaller tarafından doğrudan başlatılmasıyla, metabolizmaları sırasında oksijenin reaktif formlarının üretimiyle dolaylı olarak başlatılmasıyla, reaktif oksidasyonun kontrolünü sağlayan enzimatik savunma sisteminin inhibisyonuyla, peroksidasyon reaksiyonlarını kontrol eden doğal antioksidanların yıkımıyla olabilir [Yarsan ve ark., 1999].

Pestisitler gibi pek çok ksenobiyotik sucul organizmalarda reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuna neden olarak ve antioksidanların ya da serbest radikal kovucu enzim sistemin değişimine yol açarak oksidatif strese yol açmaktadır [Isık ve Celik, 2008]. Yapılan çalışmalarda pestisitlerin kan-beyin, kan-plasenta ve kan-testis bariyerlerini geçtiği bildirilmiştir [Uzunhisarcikli ve ark., 2007; Ambali ve ark., 2009].

Pestisitler balık ve diğer pek çok sucul türler üzerinde de davranışsal ve histopatolojik değişikliklere neden olmaktadır [Pandey, 1988; Ram ve Singh, 1988; Novak, 1992; Isık ve Celik, 2008]. Isık ve Celik, yaptıkları bir çalışmada metil paratyon ve diazinonun yaygın kullanımda olan organofosfatlı insektisitler olduklarını belirterek sucul ekosistemde kontaminasyona neden olduklarını rapor etmişlerdir. Yaptıkları çalışmada bir balık türünün çeşitli dokularındaki (karaciğer, solungaç ve kas) antioksidan enzim seviyeleri ve MDA düzeyi araştırılmış ve bu

pestisitlerin araştırılan parametrelerde değişikliklere yol açtıkları gösterilmiştir [Isık ve Celik, 2008].

Pestisitlerin toksisitesi geniş kullanım alanlarının olmasıyla ilişkilidir. Pestisit toksisitesinin membran akışkanlığı, lipid kompozisyonu ve enzim aktivitelerinin inhibisyonu ile ilişkili olduğu belirtilmiştir [Wafa ve ark., 2011].

Tarım alanlarında ve doğada en önemli zararlılardan biri olan böceklerle mücadelede kullanılan pestisitlere “insektisit” adı verilmektedir. Kimyasal insektisitlerin hepsi nörotoksikan olup hedef organizmaların sinir sistemlerine toksik etki gösterirler. Böceklerin merkezi sinir sistemleri (MSS) çok gelişmiş olup, memelilerinkine benzer. Aynı şekilde perifer sinir sistemleri (PSS) de benzerlik gösterir. Bu nedenle insektisitlerin toksik etki mekanizmaları ve hedef aldıkları organlar bütün türlerde aynıdır. Ancak bu toksik etki şiddeti, dozla ilgilidir. İnsektisitler sinir sisteminde sodyum, potasyum, klorür iyonlarının membran transportunu interfere ederek (organik klorlular, piretroidler gibi), spesifik enzimleri inhibe ederek veya sinir uçlarındaki kimyasal nörotransmitterleri etkileyerek (organik fosforlular, karbamatlar gibi) nörotoksitelerini gösterirler [Vural, 1996].

İnsektisitler kimyasal yapılarına göre:

- Klorluhidrokarbon yapısındaki insektisitler (Organoklorlu)
- Organik fosforlu insektisitler (Organofosfatlı)
- Karbamat grubu insektisitler
- Piretroid insektisitler

olmak üzere 4 gruba ayrılmaktadırlar. Organofosfatlı insektisitler (OP), en çok kullanılan pestisit grubu olup, pestisitlerin önemli bir kısmını oluşturmaktadırlar [Vural, 1996].

OP’ler tarım, tıp ve endüstriyel alanda yaygın olarak kullanılan bileşiklerdir [Storm ve ark., 2000; Elhalwagy ve ark., 2008]. Organofosfatlı insektisitleri tarım alanlarında ve halk sağlığında yaygın kullanımı çevresel kirlenmeye yol açmakla

birlikte, insanlarda akut ve kronik zehirlenmeler meydana getirmektedir [Lasram ve ark., 2009; Kalender ve ark., 2010]. OP'li pestisit kalıntıları toprak, su, sebzeler, tahıllar ve diğer besin ürünlerinde tespit edilmiştir [IARC, 1983; Poet ve ark., 2004; Rezg ve ark., 2007].

OP insektisitlerin kontrolsüz kullanımı sonucu tarımsal alanda ve halk sağlığı üzerinde olumsuz etkiler oluşturarak, ekolojik dengenin bozulması ve hedef olmayan canlılar üzerinde etkili olduğu belirtilmiştir [Celik ve Isik, 2009]. OP'ler aynı zamanda toksik etkilerini çeşitli mekanizmalar yoluyla sitotoksik, genotoksik ve immunotoksisite şeklinde ortaya çıkarmaktadırlar [Wu ve ark., 2007].

Organofosfatlı insektisitler başlıca 2 toksik etkiye neden olurlar. Birincisi ve başlıca toksik etkisi asetilkolin esterase (AChE) inhibisyonuna neden olarak akut toksik etki oluşturmalarıdır. Böylece sinir sonlarında asetil kolinin birikimine sebep olurlar [Joshi ve Rajini, 2009; Sarkar ve ark., 2000]. İkinci etkileri ise organofosfata bağlı gecikmiş polinöropati (OPIDP)'ye neden olmalarıdır bu polinöropati maruziyetten yaklaşık 2-3 hafta sonra ortaya çıkmaktadır [Jokanović, 2001].

OP'li pestisit bileşiklerinin, memelilerde AChE inhibisyonu ile, asetil kolin birikimine ve kolinerjik muskarinik ve nikotinik reseptörlerin aktivasyonuna yol açarak toksik etki gösterdikleri bilinmektedir [Rezg ve ark., 2008a]. OP'li insektisitlerin aynı zamanda pseudokolin esterase (PChE) aktivitesini de inhibe etme özelliğine sahip oldukları bildirilmiştir [Kalender ve ark., 2006; Ogutcu ve ark., 2008].

Asetilkolin esterase (AChE) ve Bütirilkolin esterase (BChE) enzimleri %65 oranında amino asit sekans homolojisine ve insan kromozomunda farklı genlerin ürünleri olmalarına rağmen benzer aktif merkez yapıları ile moleküler yapılarına sahiptirler [Allerdice ve ark., 1991; Celik ve Isik, 2009]. Bütiril kolinesterazlar, pseudokolinesterazlar olarak da bilinirler [Barbosa ve ark., 2001]. AChE'nin asıl fonksiyonu kolinerjik sinapslardaki bir nörotransmitter olan asetilkolini hızlı bir şekilde hidroliz etmektir [Quin, 1987; Celik ve Isik, 2009]. BChE da farmakolojik ve

toksikolojik öneme sahiptir çünkü organofosfatlar gibi kolinesterazları ortadan kaldıran bileşiklerin ester bağlarını hidrolize eder [Raveh ve ark., 1997; Celik ve Isık, 2009]. Kolinesterazların (ChE) her ikisi de hücre proliferasyonunun gerçekleşmesinde rol oynamaktadır [Barbosa ve ark., 2001]. Yapılan çalışmalarda OP'li bileşiklerin nöronal kolinesterazları inhibe ederek nörotoksisite gösterdiği rapor edilmiştir. Deneysel çalışmalarda AChE ve BChE gibi kolinesteraz aktivitelerinin OP'ler gibi nörotoksik kimyasalların etkilerini belirlemede kullanılan önemli biyomarkırlar olduğu belirtilmiştir [Celik ve Isik, 2009].

OP'li bir insektisit olan malathionun ratlara subkronik maruziyetinin tükürük ve plazmadaki kolinesteraz düzeyi ve oksidatif stres üzerine etkileri araştırılmıştır. Yapılan çalışmada malathionun çeşitli dozları tükürükteki ChE aktivitesini inhibe etmiştir. Malathionun plazmadaki ve tükürükteki tiobarbitürik asit reaktif türlerinin (TBARS) derecesini yükselttiği gösterilmiştir [Abdollahi ve ark., 2004].

Ayrıca yapılan çalışmalarda OP'li bileşiklerin pankreas [Gokalp ve ark., 2005], karaciğer [Kalender ve ark., 2010], böbrek [Kalender ve ark., 2007], kalp [Baş ve Kalender, 2011], kan [Durak ve ark., 2009], testis [Uzunhisarcikli ve ark., 2007; Uzun ve ark., 2009] ve beyin [El-Demerdash, 2011] gibi pek çok doku ve organ üzerine olumsuz etkileri olduğu bildirilmiştir. Bu toksik etkilerini serbest radikal üretimine yol açarak tüm hücre komponentleri üzerinde hasar meydana getirerek gösterdiği bildirilmiştir [Khan ve ark, 2005; Elhalwagy ve ark., 2008].

Organofosfatların oksidatif stres oluşturmaları iki mekanizma ile gerçekleşebilir. Bunlardan birincisi redoks siklusu aktivasyonudur, ikincisi ise ROS üretimine neden olmalarıdır [Possamai ve ark., 2007].

Araştırmacılar çeşitli OP'li insektisitlerin deney hayvanlarının çeşitli doku ve sistemleri üzerinde oksidatif hasara yol açtığını göstermişlerdir [Abdollahi ve ark., 2004; Possamai ve ark., 2007; Rezg ve ark., 2008b]. Yapılan in vivo çalışmalarda OP'li insektisitlerin genotoksik etkiler oluşturduğu bildirilmiştir [Giri ve ark., 2002; Sarabia ve ark., 2009a].

OP'ler nöronal kolinesteraz aktivitesini inhibe ederek nörotoksik etki gösterirler [Celik ve ark., 2009]. Organofosfatlı bileşiklerin omurgalılarda lipid peroksidasyonuna [Celik ve Suzek, 2008; Celik ve ark., 2009] ve oksidatif strese sebep olduğu bildirilmiştir [Verma ve ark., 2007].

Organofosfatlar solunum yollarından ve gastrointestinal mukozadan geçerek hızla absorbe edilir ve ayrıca lipofilik oldukları için hızlı bir şekilde deriden de absorbe edilirler. Yaygın olarak kullanılan organofosfatların canlı organizmalar üzerinde istenmeyen etkilere neden olduğu bilinmektedir. Organofosfatlar, hem insanlarda hem de hayvanlarda merkezi sinir sistemi, kardiyovasküler sistemi, ürogenital sistemi ve nöromusküler kavşağı, metabolik ve endokrin sistemi, kolinesterazları inhibe ederek etkilemektedir [Gökalp ve ark., 2003].

OP'li insektisitlerin deney hayvanlarında hematolojik ve biyokimyasal parametrelerde değişikliklere neden oldukları ayrıca çeşitli dokularda patolojik değişimlere yol açtıkları bildirilmiştir [Kalender ve ark., 2006]. Organofosfatlı bir insektisit olan malatyonun subakut uygulamasının ratların karaciğer dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonu, hemoraji, kalsifikasyon, sinuzoidlerde genişleme, vasküler konjesyon ve nekroz gibi çeşitli histopatolojik değişikliklere yol açtığı bunun yanı sıra karaciğer hasarının göstergesi olan kan biyokimyasal parametrelerinde (ALP, AST, ALT, LDH vs.) ve hematolojik değerlerde (WBC, PLT) değişimlere yol açtığı bildirilmiştir [Kalender ve ark., 2010].

Organofosfatlar karaciğer hasarına ve lipid peroksidasyonuna sebep olmakta ve kolinesterazları, α -kimotripsin, tripsin ve elastaz aktivitelerini inhibe etmektedirler [Gökalp ve ark., 2003].

Kalender ve ark., OP'li bir pestisit olan malatyonla yaptıkları bir çalışmada hematolojik parametreler olan lökosit ve trombosit miktarlarında artış meydana geldiğini belirterek bu artışın lökosit mobilizasyonundaki ve oksidatif stres artışı ile ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir [Kalender ve ark., 2010].

Pestisit zehirlenmelerinde reaktif oksijen türlerinin artmış üretimine bağlı olarak oksidatif stres geliştiği bildirilmiştir. Doku ROS seviyeleri doku hasarının en önemli göstergelerindendir [Bayır ve ark., 2011].

Pek çok araştırmacı OP'lere maruziyet sonucu deney hayvanlarında vücut ağırlığı ve organ ağırlıklarında değişimler meydana geldiğini göstermişlerdir [Ogutcu ve ark., 2008; Naraharisetti ve ark., 2009; Uzun ve Kalender, 2011]. Yapılan pek çok çalışmada OP insektisitlerin deney hayvanlarında vücut ağırlığında azalmaya yol açtığı belirtilmiştir [Kalender ve ark., 2007; Uzunhisarcıklı ve ark., 2007; Mansour ve Mossa, 2010; Uzun ve Kalender, 2011]. Araştırmacılar bu azalmanın besin alınımındaki azalmayla ilişkili olabileceğini belirtilmişlerdir [Ogutcu ve ark., 2008; Uzun ve Kalender, 2011]. Ayrıca OP'lerin organ ağırlıklarında da değişimler gösterdiğini belirten pek çok çalışma mevcuttur [Chung ve ark., 2002; Ogutcu ve ark., 2008; Mansour ve Mossa, 2010; Uzun ve Kalender, 2011].

Ogutcu ve arkadaşları OP'li bir insektisit olan diazinon uyguladıkları ratlarda 4 ve 7 haftanın sonunda vücut ağırlıklarında azalma ile birlikte karaciğer ağırlıklarında artışın olduğunu tespit etmişlerdir. Vücut ağırlığındaki azalmanın besin tüketimindeki azalma ile ilişkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Karaciğer ağırlığındaki artışın ise dokudaki ödemden kaynaklanabileceğini öne sürmüşlerdir [Ogutcu ve ark., 2008].

Joshi ve ark., 30 gün boyunca erkek ratlara oral yoldan metil paratasyon uygulaması yapmışlardır. Çalışma sonunda vücut ağırlıklarında değişim görülmezken, testis, epididimis, seminal vesikül ve ventral prostat ağırlıklarında azalma görülmüştür. Aynı zamanda fertilitede azalma olduğu belirtilmiştir [Joshi ve ark., 2003].

Organofosfatlı bileşikler günümüzde tarım alanlarında yaygın kullanılan bileşiklerdir. Çeşitli organlara dağılım esnasında hızlı bir şekilde emilim özelliğine sahiptirler. Pek çok çalışmada, pestisitlerin, hücresel oksidatif durum üzerinde dengesizlik oluşmasına ve farelerde detoksifikasyonla ilgili karaciğer enzimlerinin aktivitesinde artışa yol açtıkları belirtilmiştir [Khan ve ark., 2005].

Yapılan bir çalışmada OP'li bir pestisit olan asefata ratların akut maruziyeti sonucu, karaciğerde glukoneogenez ile ilgili enzimlerin (glukoz-6-fosfataz ve tirozin aminotransferaz), kan glukozunun ve plazma kortikosteronlarının yükselmesiyle sonuçlandığı görülmüştür. Yapılan çalışma sonucunda asefatın ratları hiperglisemiye uğrattığı sonucuna varılmıştır [Joshi ve Rajini, 2009].

OP'li bir insektisit olan malatyonla yapılan bir çalışmada, malatyonun wistar ratlardaki akut metabolik etkileri araştırılmıştır. Malatyonun lipid metabolizmasında bozukluğa yol açtığı, LDL ve trigliserit seviyelerinde artışın yanı sıra AChE enziminde düşüş meydana getirdiği rapor edilmiştir [Lasram ve ark., 2009].

Çeşitli insektisitlerin deney hayvanlarında üreme sisteminde olumsuz etkiler meydana getirdiğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Farag ve ark., OP'li bir insektisit olan dimetoatı erkek farelere gavajla günlük olarak uygulamışlardır. Deney sonucunda vücut ağırlığı ile vücut ağırlığı kazanımında, aynı zamanda net ve relatif testis ağırlığında kontrol grubuna kıyasla önemli azalma olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca anormal sperm sayısında ve ölü sperm sayısında artış olduğunu belirtmişlerdir [Farag ve ark., 2007].

Organofosfatlar subletal dozlarda kuşlarda ve memelilerde üreme performansında değişikliklere yol açmaktadırlar. Organofosfatların gonadlar üzerine etki mekanizması birkaç şekilde açıklanmaktadır. Testise doğrudan inhibitör etki yapabilirler. Hipofiz bezine etki ederek gonadotropin konsantrasyonlarını azaltabilir ve dolayısıyla bozulmuş spermatogenezise sebep olabilirler [Ural ve ark., 2006].

Sarabia ve ark., OP'li bir insektisit olan diazinonun farelerin sperm DNA'sında kırıklar, kromatin kümeleşmesi ve kromozomal hasar meydana getirdiğini göstermişlerdir [Sarabia ve ark., 2009a].

Insektisitlerin mitokondriyal solunum, ilaç metabolizması, karbohidrat metabolizması ve protein biyosentezi gibi pek çok biyokimyasal olayı engellediği bilinmektedir [Gultekin ve ark., 2000].

OP'li bir insektisit olan metil paratyonla yapılan bir çalışmada metil paratyonun erkek ratlarda sperm sayısında azalma, buna karşın anormal sperm sayısında artış meydana getirdiğini tespit etmişlerdir [Narayana ve ark., 2005]. Aynı araştırmacılar metil paratyonla yaptıkları başka bir çalışmada ise ratların epididimis dokusunda histopatolojik incelemeler yapmışlardır. Yapılan incelemelerde epididimiste epitelde nekroz, çekirdekte piknoz gibi değişimlerle birlikte, epididimis ağırlığında azalma tespit etmişlerdir [Narayana ve ark., 2006].

Okamura ve ark., diklorvosu 9 hafta boyunca subkutan yoldan ratlara enjekte etmişlerdir. Uygulama periyodu sonunda ratlarda eritrosit kolinesteraz aktivitesinde doza bağlı olarak azalma tespit etmişlerdir. Üreme sistemi incelendiğinde ise sperm motilitesinde azalma olduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca uygulama sonucunda vücut ağırlığında azalma ve nisbi testis ile epididimis ağırlığında artış tespit etmişlerdir [Okamura ve ark., 2005].

Sarabia ve ark., yaptıkları çalışmada OP'li bir insektisit olan diazinonun fare testisleri üzerine olan etkisini ve melatoninin koruyucu rolünü araştırmışlardır. Deney sonunda plazma AChE aktivitesinde düşüş, testis SOD aktivitesinde azalma ve morfolometrik analizlerle seminifer epitel yüksekliğinde alçalma gözlenmiştir. Güçlü antioksidan özelliği olan melatoninin ise pestisit tarafından oluşturan toksik etkiye karşı koruyucu olduğunu belirtmişlerdir [Sarabia ve ark., 2009b].

Yapılan bir çalışmada OP'li bir insektisit olan diklorvosun 4 hafta boyunca uygulaması yapıldığı ratlarda, çeşitli dokularda MDA, GSH, GR, SOD ve GST düzeyleri belirlenmiştir. Çalışmada diklorvos ratların içme sularına katılarak oral yoldan maruz kalmaları sağlanmıştır. Uygulama sonucunda diklorvosun dokularda MDA düzeyi ve antioksidan enzim aktivitelerinde değişimlere yol açtığını belirtmişlerdir [Celik ve Suzek, 2009].

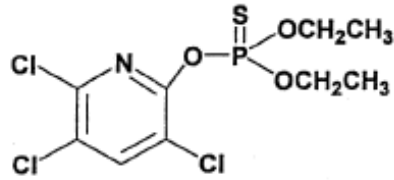
Altuntas ve ark., OP'li bir insektisit olan methidatyonu ratlara tek doz halinde uygulamışlar ve çalışma sonucunda methidathionun eritrositlerde lipid

peroksidasyonu ve antioksidan enzimler üzerindeki etkilerini incelemiştir. Uygulamadan 24 saat sonra kan örnekleri alınmış ve MDA düzeyinde artış görülürken, SOD, GPx, CAT aktivitelerinde azalma görüldüğünü belirtmişlerdir. Buldukları sonuçları OP'lerin ROS üretimini attırmasıyla ilişkili olduğunu vurgulamışlardır [Altuntas ve ark., 2002].

Tos-Luty ve ark., yaptıkları çalışmada organofosfatlı bir insektisit olan malatiyona 1/100 ve 1/50 LD₅₀ dozlarında dermal ve oral yolla 28 günlük maruziyet sonucu ratların çeşitli dokularında meydana gelen patolojik değişiklikleri incelemiştir. Hem ışık hem de elektron mikroskopunda böbrek, kalp, akciğer ve karaciğerde çeşitli değişiklikler tespit etmişlerdir [Tos-Luty ve ark., 2003].

Sulak ve ark., OP'li bir insektisit olan metidatyonun ratlarda nefrotoksik etkisini ve bu etki üzerine vitamin C ve E'nin koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışma sonucunda böbrek dokusunda histopatolojik incelemeler sonucunda mononükleer hücre infiltrasyonu, vasküler konjesyon ve glomerular skleroz gözlemişlerdir. Metidatyon uygulanan ratların kan kolinesteraz seviyelerinde azalma, MDA miktarında artış tespit etmişlerdir. Ayrıca vitamin C ve E uygulamalarının tamamen olmasa da sözü edilen parametrelerde iyileştirici etkilerini göstermişlerdir [Sulak ve ark., 2005].

Klorprifos [*O,O*-diethyl-O-(3,5,6-trichloro-2-pyridyl)-phosphorothioate] (CPF), dünya genelinde tarım alanlarında ve evlerde yaygın olarak kullanılan geniş spektrumlu OP'li bir pestisittir [Cometa ve ark., 2007; Joshi ve ark., 2007; Ambali ve ark., 2009; Mansour ve Mossa, 2010]. CPF, hamamböceği, pire, sinek, karınca ve bitlerle mücadelede etkili bir kimyasaldır. Tohum, pamuk, meyve, fındık, sebze tarlaları ve bahçelerinde kullanılır. Aynı zamanda koyun ve hindi gibi hayvanlarda direk uygulama yapılmaktadır [Armenta ve ark., 2005].



Şekil 2.1. Klorpirifos'un moleküler yapısı [Abu-Qare ve Abou-Donia, 2001]

Klorpirifos Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından sınıf II insektisitler grubunda yani orta dereceli tehlikeli grupta sınıflandırmıştır [WHO, 1997].

CPF, polar olmayan bir moleküler yapıya sahiptir ve suda çözünbilme özelliği düşüktür ve çevrede hızlı bir şekilde sudan organik faza geçer. Bu yüzden insanların maruz kalma riski oldukça yüksektir [Farag ve ark., 2003]. Lipofilik olma sebebiyle hücre zarından sitoplazmaya kolayca geçerek pek çok hasara yol açabileceği [Ncibi ve ark., 2008] ve kan-beyin bariyerini geçebilen bir bileşik olduğu bildirilmiştir [Jortner, 2008]. CPF'nin memeliler tarafından hızlı bir şekilde absorbe ve metabolize edildiği bildirilmiştir [Zayed ve ark., 2003].

CPF'nin sitokrom P-450 (CYP-450) aracılığıyla oksidatif desülfürülasyonu sonucu oluşan aktif metaboliti klorpirifos-okson'dur (CPF-okson). Bu metaboliti sinir dokuda AChE'nin inhibisyonu ile asetilkolin birikimine yol açan nörotoksik aktif metabolittir. Ayrıca hepatik ve ekstra-hepatik-A esterazlar (PON-1) ve dokulardaki B-esterazlar (kolinesterazlar-ChE) da aynı zamanda CPF-oksonu metabolize ederek, 3,5,6-trikloro-2-pridinol (TCPy) ve dietilfosfat (DEP) meydana getirirler. CYP-450 aracılığıyla dearilasyonla CPF direk olarak TCPy ve dietiltiyofosfat (DEPT)'ye dönüşebilmektedir. TCPy metaboliti ise ya kendisi olarak ya da konjuge formu (glukoronid veya sülfat) şeklinde hızlı bir biçimde idrarla atılır [Busby-Hjerpe ve ark., 2010].

CPF, *in vivo* olarak sitokrom P450 sistemi tarafından hızlı bir şekilde biyoaktivasyonla aktif formu olan klorprifos-oksona dönüşerek, AChE enzimini inhibe eder [Cometa ve ark., 2007].

İnsan ve hayvanlar akut CPF zehirlenmesine maruz kaldıklarında pek çok OP insektisinde olduğu gibi; baş ağrısı, mide bulantısı, baş dönmesi, kaslarda kasılma, terleme, diyare, tükürük salgısında artış, bilinç kaybı ve ölümle sonuçlanabilen semptomlar görülmektedir [Vural, 1996; Zheng ve ark., 2000; Akhtar ve ark., 2009; Verma ve ark., 2009].

Klorprifos'un ratların farklı organlarında lipid peroksidasyonu ile birlikte oksidatif stresi oluşturduğu bilinmektedir. Klorprifos ve diğer pek çok organofosfatlı pestisitler DNA'da hasar meydana getirmektedirler. Bununla birlikte klorprifos'un hepatik disfonksiyon, immunolojik anormallikler, nörokimyasal değişimler, genotoksik ve teratojenik etkilere neden olduğu bilinmektedir [Verma ve ark., 2007]. Klorprifosun olumsuz etkileri arasında membran sinyal iletimini bozduğu da belirtilmiştir [Verma ve ark., 2009].

CPF hedef hücrelerde ROS üretimine yol açarak hücre içi oksidatif strese yol açmakta ve bunun sonucu olarak da normal hücrenin gelişme ve farklılaşmasını bozmaktadır [Mansour ve Mossa, 2010]. Araştırmacılar farklı insan ve hayvan hücrelerinde CPF'nin oksidatif stres oluşumuna neden olduğunu belirtmişlerdir [Ncibi ve ark., 2008].

Joshi ve ark., yaptıkları bir çalışmada, farklı dozlarda oral olarak erkek ratlara uygulanan klorprifosun deney hayvanlarının testis dokusunda histolojik değişimlere yol açtığı bunun yanında biyokimyasal parametrelerde ve sperm dinamiklerinde (sperm motilitesi, sperm yoğunluğu ve verimliliği) olumsuz değişimlere neden olduğunu belirtmişlerdir [Joshi ve ark., 2007].

Mansour ve Mossa, erkek ve dişi ratlara 28 gün boyunca yapmış oldukları klorprifos uygulamasından sonra, karaciğer ve böbrek dokularında çeşitli histopatolojik

değişiklikler gözlemişlerdir. Bunlar karaciğerde merkez vende dilatasyon ve konjesyon, hepatositlerde dejenerasyon, portal alanda ödem ve çevresinde fibrosis, portal alan etrafında inflamatuvar hücre infiltrasyonu, dejenere olmuş hepatositler arasında Kupffer hücre sayısında artış şeklindedir. Böbreklerde ise hemoraji, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve tübül epitel hücrelerinde şişme gibi patolojik değişimler gözlemişlerdir. Bunların yanı sıra biyokimyasal ve antioksidan enzim aktiviteleri incelendiğinde, lipid peroksidasyonunda artış, plazma SOD, GST ve AChE enzimlerinde önemli derecede azalma ile birlikte çeşitli serum markır enzimleri olan ALT, AST, LDH, GGT ve total protein, ürik asit, kreatininde artış olduğu belirtilmiştir [Mansour ve Mossa, 2010].

Yapılan çalışmalarda klorpirifosun anemiye yol açtığı bildirilmiştir [Ambali, 2009; Ambali ve ark., 2010]. Serbest radikaller eritrosit membranında istenmeyen etkilerin oluşumuna neden olurlar. Eritrositler içerdikleri yüksek oksijen basıncından dolayı ve membranında bulunan yüksek orandaki çoklu doymamış yağ asidi içeriğinden ötürü oksidatif strese eğilimlidirler [Ambali ve ark., 2010].

Ambali ve ark., yaptıkları çalışmada CPF zehirlenmesi durumunda antioksidan sistemine normalden fazla yük binmesi ile birlikte lipoperoksidatif hasarın oluştuğunu bunu takiben eritrosit membranlarının yapısında değişimler olduğu belirtilmiştir. Aynı zamanda araştırmacılar, uygulanan CPF'nin eritrositlerde kırılganlığa da yol açtığını göstermişlerdir [Ambali ve ark., 2010].

Akhtar ve ark., yaptıkları çalışmada 90 gün boyunca 3, 6 ve 9 mg/kg dozda 80 erkek rata klorprifos uygulamışlardır. Deney sonunda incelenen parametrelerde 3 ve 6 mg/kg dozlarda kontrole kıyasla önemli farkların olmadığını tespit etmişlerdir. 9 mg/kg uygulanan doz sonucunda ise eritrositlerde ve beyinde AChE aktivitesinde azalma, hematolojik parametrelerden WBC'de artış, RBC, hemoglobin ve hematokrit seviyelerinde düşüş gözlemişlerdir. Bununla birlikte beyin, karaciğer, testis, epididimis ve adrenal bez dokularında histopatolojik değişimler tespit etmişlerdir [Akhtar ve ark., 2009].

Mansour ve Mossa, yaptıkları bir çalışmada erkek ve dişi ratlara oral yoldan 28 gün boyunca CPF uygulamışlar, buna ilaveten başka bir deney grubunda ise CPF ile birlikte çinko uygulaması yapmışlardır. CPF uygulanan grupta eritrositlerde lipid peroksidasyonunun arttığını, SOD, CAT, GPx ve AChE seviyelerinde ise azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Çinko ile birlikte CPF uygulanan grupta ise çinkonun koruyucu etkisinin olduğu gösterilmiştir [Mansour ve Mossa, 2009].

Bebe ve Panemangalore çalışmalarında CPF uygulamasının ratlarda karaciğer, böbrek ve dalak dokularında AChE aktivitesinin inhibisyonuna yol açtığını belirtmişlerdir. CPF muamelesi bu dokularda tiyobarbitürik asit reaktif türlerinin (TBARS) artışına yol açarak oksidatif strese yol açtığını belirtmişlerdir. Aynı dokularda SOD, CAT ve GPx seviyelerinde ise düşüş tespit etmişlerdir [Bebe ve Panemangalore, 2003].

Bazı araştırmacılar CPF'nin dişi ratlarda daha toksik olduğunu savunarak dişilerde LD₅₀ değerinin erkek ratların yaklaşık yarısı kadar olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca erkek ratlarda CPF-oksonun hepatik aktivasyon oranının yüksek olduğunu ve daha hızlı detoksifiye edildiğini belirtmişlerdir [Mansour ve Mossa, 2009].

Farag ve ark., gebe ratlara çeşitli dozlarda CPF uygulayarak, CPF'nin yeni doğan bireydeki etkilerini araştırmışlardır. Uyguladıkları en yüksek dozda CPF'nin fetotoksik ve teratojenik etkilerinin olduğunu göstermişlerdir [Farag ve ark., 2003].

Goel ve ark., 8 hafta boyunca 13,5 mg/kg dozdaki CPF'yi ratlara uygulamışlar ve CPF'nin hepatik mikrozomal sitokrom P₄₅₀ ve sitokrom b₅ enzim aktivitelerini önemli derecede kontrole kıyasla inhibe ettiğini belirtmişlerdir. Ayrıca yaptıkları çalışmada CPF uygulanan grupta kontrole kıyasla vücut ağırlığında da azalma tespit etmişlerdir [Goel ve ark., 2007].

Saulsbury ve ark., klorprifos'un nörotoksik olduğunu belirterek yaptıkları in vitro çalışmada oligodendrosit progenitor hücrelerde CPF'nin oksidatif stres oluşturduğunu göstermişlerdir [Saulsbury ve ark., 2009].

Çetin ve ark., farklı dozlarda CPF'yi erkek tavşanlara uygulamışlar ve ekokardiyografi ile kalp morfolojisi ve fonksiyonlarını incelemişlerdir. CPF'nin tavşanlarda kalpte fonksiyon bozukluğuna yol açtığını tespit etmişlerdir [Çetin ve ark., 2007].

Ncibi ve ark., yaptıkları çalışma sonucunda CPF uygulanan farelerde yapılan biyokimyasal incelemeler sonucunda karaciğerde ALT, AST, LDH ve kolesterolun arttığını, albümin seviyesinin ise düştüğünü göstermişlerdir [Ncibi ve ark., 2008].

Yu ve ark., fare retina dokusunda yaptıkları çalışmada comet analizi ile yaptıkları inceleme sonucunda klorprifosun DNA hasarı meydana getirdiğini belirtmişlerdir. Aynı çalışmada retina dokusunda SOD, CAT ve GPx enzimlerinde azalma olduğunu ve AChE aktivitesinin de inhibe olduğunu tespit etmişlerdir [Yu ve ark., 2008].

Mehta ve ark., CPF'nin ratlarda beyin ve karaciğer dokusunda meydana getirdiği H_2O_2 , nitrat ve nitrit seviyelerindeki değişimlerini akut ve kronik olarak incelemişlerdir. Çalışma sonucunda akut ve kronik olarak beyin ve karaciğerde önemli derecede H_2O_2 , nitrat ve nitrit seviyelerinde artış olduğunu tespit etmişlerdir. CPF'nin bu dokularda ROS birikimiyle oksidatif stres oluşturduğunu belirtmişlerdir böylece dokuların normal fizyolojik fonksiyonlarını gerçekleştiremeyeceği bildirilmiştir [Mehta ve ark., 2009].

Verma ve ark., yaptıkları çalışmada CPF'nin ratların karaciğer, böbrek, dalak ve beyin dokularında TBARS seviyesinde artışa ve AChE inhibisyonuna neden olduğunu aynı zamanda SOD, CAT ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PDH) aktivitelerinde azalmaya yol açtığını bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmada vitamin A, C ve E ile birlikte muameleli ratlarda ise pestisit toksisitesine karşı sözü edilen parametrelerde koruma olduğu görülmüştür [Verma ve ark., 2007].

İlim ve arkadaşları, mısır bitkisine geçen ^{14}C -Klorprifos kalıntısını izotop izleme tekniği ile araştırmışlardır. Açık hava şartlarında yetiştirilen ve ^{14}C etiketli klorprifos ile ilaçlanan mısır bitkisi hasat edilmiştir. Mısır bitkisinin kök, gövde ve

yapraklarından alınan örneklerde kalıntı analizi yapılmıştır. En fazla kalıntının yapraklarda olduğu tespit edilmiştir. Kalıntının en fazla yapraklarda oluşu ise geniş yüzeyli olması ve püskürtülen ilacın büyük çoğunlukla yapraklarda toplanmasından ileri geldiği öne sürülmüştür [İlim ve ark., 1996].

Jortner, 60 mg/kg klorprifosu ratlara subkutan uygulamıştır. Uygulama sonunda klorprifosun beyin AChE enzimini inhibe ettiğini tespit etmiştir. Jortner, klorprifosun kan-beyin bariyerini geçen lipofilik bir insektisit olduğunu ve beyinde kolinerjik sinapslarda AChE inhibisyonunu okson metabolitleri aracılığı ile gerçekleştirdiğini ileri sürmüştür [Jortner, 2008].

Yapılan bir çalışmada, araştırmacılar klorprifos ve metil paratyonun kronik toksisitesini karşılaştırmalı olarak araştırmışlardır. Ratların beyin dokusunda meydana gelen oksidatif stresi tespit etmek için, MDA ve 4-hidroksinonenal (4HNE) seviyelerini belirlemişlerdir. Ön, orta ve arka beyinde bu iki lipid peroksidasyon indikatörünün arttığını belirtmişlerdir. Aynı zamanda hidrojen peroksit seviyesinin de artış gösterdiğini vurgulamışlardır. Vitamin A, E ve C uygulamalarının ise oksidatif stresi azalttığını tespit etmişlerdir [Verma ve ark., 2009].

Farag ve ark., klorprifosun erkek ratlardaki üreme toksisitesi üzerine yaptıkları araştırma sonucunda beyin ve iskelet kasında AChE aktivitesinde inhibisyon, ölü fetüs sayısında artış gözlemişlerdir. Ayrıca beyin dokusunda histolojik anormallikler olduğunu belirtmişlerdir. Klorprifosun DNA sentezi inhibitörü olduğunu ve böylece nöral hücre oluşumunu ortadan kaldırdığını belirtmişlerdir [Farag ve ark., 2010].

Vücudun en büyük organı olan karaciğer kimyasal maddelere karşı çok duyarlıdır. Çünkü yabancı kimyasal maddelerin biyotransformasyona uğradığı başlıca yer karaciğerdir. Ayrıca bu maddeleri metabolize eden enzimler (sitokrom P450 monooksijenaz sistemi) yüksek oranda karaciğerde bulunmaktadır. Böylece ksenobiyotiklerin aktivasyonu ile oluşan birçok aktif metabolitler burada hepatotoksik maddelere dönüşürler [Vural, 1996].

Karaciğer vücuda alınan sindirim sisteminden hepatik portal venle gelen besinler, ilaçlar ve çevresel toksik maddelerin ilk karşılaştıkları organdır [Al-Attar, 2011]. Karaciğer ksenobiyotik metabolizmasındaki başlıca görev alan organ olup [Liu ve ark., 2010], detoksifikasyonda da ana rolü üstlenmektedir [Khan ve ark., 2005]. Pek çok bileşik karaciğerde sitokrom P-450 bileşikleri tarafından daha polar şekle metabolize edilirler [Boots ve ark., 2008]. Karaciğer yüksek antioksidan kapasiteye sahip bir organdır [El-Gendy ve ark., 2010].

Transaminazlar (ALT ve AST) hücre sitoplazmalarında yer alan bir grup enzimdir. ALT en yüksek oranda karaciğer hücrelerinde bulunurken daha düşük konsantrasyonlarda kalp kası, beyin, böbrek ve serumda bulunur. AST en yüksek oranlarda karaciğer, böbrek, beyin, iskelet kası ve kalp kasında bulunur. Transaminazların aktivitelerindeki yükseliş doku harabiyetinin bir göstergesidir. Hasar gören hücreler transaminazlarını kana boşaltırlar. Serum ALT ve AST seviyelerindeki yükselme karaciğer hücrelerine harabiyet ve nekrozdan dolayı olabilir [Zaahkouk ve ark., 2000]. Serum AST, ALP seviyeleri de yalnızca karaciğer hasarının değil aynı zamanda çeşitli doku ve organlardaki hasarının göstergesidir [Kanbur ve ark., 2009].

Serumda bir takım enzimlerin tayini çok önemlidir özellikle doku içi enzimlerin kan seviyelerinde yükselmesi o dokuların harabiyeti ve fonksiyonları hakkında önemli bilgi sağlar. Çeşitli organlarda bulunan transaminazlar, ketoasitlerle aminoasitlerin birbirlerine dönüşümünü katalizleyen enzimlerdir. Aspartat aminotransferaz (serum glutamik okzaloasetik transaminaz, AST/ASAT/SGOT/GOT) ve alanin aminotransferaz (serum glutamik purivat transaminaz, ALT/ALAT/SGPT/GPT) iki önemli transaminazdır. AST hem mitokondri hem de sitoplazmada olmak üzere iki izoenzime sahipken, ALT sadece sitoplazmada bulunur. Normal olarak bu enzimler kanda oldukça düşük oranlarda bulunur fakat dokularda özellikle eritrosit, kalp kası, karaciğer ve akciğerde daha fazla bulunurlar. Bu organlarda meydana gelebilecek doku harabiyeti ile bu enzimler dokudan kana geçerek kandaki konsantrasyonları artar. Pestisitlerin neden olduğu hepatik hasarın gösterilmesinde sıklıkla kullanılırlar [Grajeda-Cota ve ark., 2004; Mehmetoğlu ve ark., 2004].

Karaciğer hücre membranında bir hasar meydana geldiği zaman, hepatositlerin sitozolünde bulunan alkalın fosfataz (ALP), aspartat amino transferaz (AST), alanin amino transferaz (ALT) ve laktat dehidrogenaz (LDH) enzimleri kana salınırlar [Ncibi ve ark., 2008]. Dolayısıyla serumda bu enzimlerin bulunması karaciğer hasarının önemli belirteçleri olarak kullanılmaktadır [Gokcimen ve ark., 2007; Eraslan ve ark., 2009a; Mansour ve Mossa, 2010]. Pek çok çalışmada serum ALT, AST, LDH ve ALP enzimlerindeki değişimlerin hepatotoksisitenin göstergeleri olduğu rapor edilmiştir [Vicente-Sanchez ve ark., 2008; Celik ve ark., 2009].

Bu enzimlerin kanda artmış olması karaciğer hücre sitozolünden kana sızıntı olduğunu gösterir. Kanda ALT artışı karaciğerde hücre dejenerasyonu veya tahribinin göstergesidir. Diğer taraftan, fosfatazlar ve dehidrogenazlar da önemli ve kritik rol oynayan enzimlerdir. Bu enzimler detoksifikasyon, metabolizma ve farklı temel fonksiyonları olan enerjitik makromoleküllerin biyosentezi için önemli rol oynamaktadırlar. Bu enzimlerdeki bozukluk bunların biyokimyasal olarak işlevlerini gerçekleştirememesine ve doku ile hücre fonksiyonlarında kayıplara yol açmaktadır. Plazma LDH aktivitesindeki artışın hepatoselüler nekroz nedeniyle enzimlerin kan dolaşımına sızmasıyla gerçekleşebileceği belirtilmiştir [Celik ve ark., 2009].

LDH, anaerobik glikolizin son enzimi olup piruvatın laktata dönüşümünü katalize eder. Genel olarak vücut hücrelerinin ve sıvıların hepsinde bulunmakla beraber özellikle kalp kası, eritrositler, karaciğer, böbrek, akciğer ve iskelet kasında yaygındır. Bu dokulardaki herhangi bir hasar durumunda kandaki seviyesi artar [Mehmetoğlu ve ark., 2004].

Hücresinin canlılığı direk olarak membran yapısına bağlıdır, bu sebeple hücre membran hasarının gösterilmesinde LDH sızıntı tespiti yapılmaktadır. Genel olarak sitozolik LDH enziminin salınımı hücrenin canlılığıyla korelasyon göstermektedir, böylelikle membran hasarının indikatörü olarak kullanılmaktadır [Grajeda-Cota ve ark., 2004].

Alkalen fosfataz çeşitli dokularda bulunarak sentezlendikleri yerden kana geçen ve fosfat esterlerini yıkan hidroliz enzimidir. ALP de çeşitli dokularda bulunmaktadır. Safra yolu tıkanmalarında karaciğerde daha fazla ALP sentezlenir. Safra yolu tıkanmalarının ALP sentezini indüklemesiyle ALP'nin kan seviyesinde önemli oranda yükselme görülür [Mehmetoğlu ve ark., 2004].

OP'li insektisitlerin ALP, ALT, AST ve LDH enzim aktivitelerinde artış meydana getirdiğini gösteren çalışmalar mevcuttur [Khan ve ark., 2005; Ncibi ve ark., 2008; Ogutcu ve ark., 2008; Celik ve ark., 2009; Kalender ve ark., 2010].

Gokcimen ve ark., OP'li bir insektisit olan diazinon ile yaptıkları çalışmada serum enzimlerinden ALT, AST, ALP ve LDH'nin karaciğer hasarının belirteci olduğunu ve diazinonun bu enzim aktivitelerini artırdığını göstermişlerdir. Bu enzim seviyeleri maruziyet süresine göre ve doza bağlı olarak değişiklikler gösterebilmektedir. Yaptıkları bu çalışmadaki patolojik değişikliklerin diazinonun sitokrom P450 sistemi üzerindeki olumsuz etkisinden ya da hepatositlerin mitokondrilerindeki membran transport sisteminde değişikliklere yol açmasından dolayı meydana gelmiş olabileceği belirtilmiştir [Gokcimen ve ark., 2007].

Morowati organofosfatlı bir insektisit olan timetle yaptığı bir çalışmada, AST, ALT, ALP artışının hepatoselüler nekroinflamatuvar hasarın göstergesi olduğunu belirtmiştir. Biyokimyasal değişikliklerin yanında, karaciğer dokusunda inflamatuvar değişiklikler, nekroz, hücrelerde vakuolleşme, hücrelerde yağlanma, merkezi vende konjesyon gibi histopatolojik değişimler tespit etmiştir [Morowati, 1997].

OP'li insektisitler aynı zamanda total kolesterol ve total lipid seviyelerinde de artış göstermektedirler [Lasram ve ark., 2009; Kalender ve ark., 2010]. Serum kolesterolündeki bu artış pestisitlerin karaciğer hücre membranının permeabilitesi üzerine etki etmesiyle meydana gelmiş olabileceği [Yousef ve ark., 2006], ayrıca bu artışın karaciğer safra kanalının tıkanmasıyla ya da kolesterolün duodenuma salgılanmasının azalmasıyla meydana gelmiş olabileceği bildirilmiştir [Zaahkouk ve ark., 2000; Ogutcu ve ark., 2008].

Karaciğer yağ ve enerji metabolizmasında rol oynar. Lipogenez başlıca karaciğerde gerçekleşir. Hiperlipidemi veya yüksek trigliserit ve kolesterol seviyeleri aterosklerozisde risk faktörleri olarak bildirilmiştir [Lasram ve ark., 2009].

Total lipid (trigliserid, fosfolipid, kolesterol, yağ asidi vs.) serumda mevcut olan tüm lipidlerdir. Trigliseritler, gliserolün üç tane hidroksil grubu ile yağ asitlerinin oluşturdukları esterlerdir. Kolesterol, steroid yapıda katı bir alkol olup, 17. karbon atomuna bağlı hidrokarbon yan zincirlerinden dolayı, lipid özelliği gösterir. Kolesterol safra asitlerinin ve steroid hormonları öncülüdür aynı zamanda birçok zarın yapısına katılır. Lipoproteinler, lipidlerin plazmada taşınma şekilleridir. Lipoproteinlerin protein kısmına apolipoprotein veya apoprotein adı verilir. Ultrasantrifüjdeki yoğunluklarına göre lipoproteinler şilomikronlar, VLDL, IDL, LDL, HDL şeklinde alt gruplara ayrılırlar. VLDL karaciğerde sentezlenir. Fonksiyonu karaciğerde sentezlenen trigliserid ve kolesterolü ekstrahepatik dokulara taşımaktır. LDL, VLDL artığı olarak damar içinde sentezlenir, kolesterolce en zengin lipoprotein partikülüdür. HDL kitlesinin %50'si protein, %30'u fosfolipid ve %20'si kolesteroldür. HDL'nin başlıca fonksiyonu dokulardan karaciğere kolesterol taşımaktır [Mehmetoğlu ve ark., 2004; Nelson ve Cox, 2005].

Albumin total plazma proteinlerinin %50-60 kadarını oluşturur ve yalnız aminoasitlerden oluşmuş saf bir proteindir. Karaciğer fonksiyonları için oldukça önemlidir [Mehmetoğlu ve ark., 2004]. Albümin ilaç ve kimyasalların taşınmasında ya da bağlanmasında görevlidir [Ogutcu ve ark., 2008]. Albümin kanda en bol bulunan plazma proteindir ve karaciğerde sentezlenir. Yapılan pek çok çalışmada klorpirifos gibi OP'li pestisitlerin kan albümin seviyesinde düşüş meydana getirdiği gösterilmiştir. Albümin seviyesindeki bu azalma genellikle karaciğer hastalıklarında görülmektedir ki bu da karaciğerde sentezlenen protein ve serbest amino asit metabolizmasındaki değişimi göstermektedir [Ncibi ve ark., 2008; Kalender ve ark., 2010].

Kolesterol yaygın olarak diyetle bulunur fakat eğer gerekiyorsa normal gereksinimler için en çok karaciğerde olmak üzere, bağırsak ve diğer dokulardaki hücreler tarafından sentezlenebilen bir bileşiktir [Zaahkouk ve ark., 2000].

Bazı pestisitler, çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) ve trigliserit düzeylerinde düşüşe yol açmaktadırlar. Paraneşimal karaciğer hastalıklarının trigliserit ve VLDL seviyesindeki azalma ile ilişkili olduğu görülmektedir [Ogutcu ve ark., 2008].

Eraslan ve ark., bir pestisit olan propoksur ile yaptıkları çalışmada artan kolesterol ve trigliserit seviyelerinin hepatositlerdeki zar geçirgenliğinin değişimini gösterdiğini bildirmişlerdir. Azalan total protein ve albümin seviyelerini ise protein metabolizmasındaki düzensizlikle açıklamışlardır. Serum kreatinin, BUN ve elektrolit seviyelerindeki değişiklikler ise böbrek tübüllerinde meydana gelen fonksiyon bozukluğu ve böbrek hasarının göstergesi olarak belirtilmiştir [Eraslan ve ark., 2009b].

Khan ve ark., yaptıkları bir çalışmada subakut olarak klorprifos ve sipermetrin uygulamasının, farelerde kontrol grubuna kıyasla karaciğer hasarının görüldüğü bunun da artan AST, ALT ve ALP enzimleri ile gösterildiğini belirtmişlerdir [Khan ve ark., 2005].

Fidan ve ark., organofosfatlı bir pestisit olan fentiyonun ratlarda pseudokolinesteraz, aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) seviyelerinde azalma meydana getirdiğini belirtmişlerdir. Fentiyona maruziyet sonucunda yapılan incelemelerde akciğerde peribronşiyal ve intraparenşimal infiltrasyon, intraparenşimal vasküler tıkanma, trombozis, alveolar yıkım, anfizem değişiklikleri, beyinde nükleer piknoz ve karyorrheksis, lenfositik infiltrasyon, motor nöronlarda nekroz, karaciğerde hepatosit dejenerasyonu, safra kanalı proliferasyonu, sinüzoidal genişleme, parenşimal nekroz, merkez ven tıkanması meydana geldiğini tespit etmişlerdir [Fidan ve ark., 2007].

Uzunhisarcikli ve Kalender, OP’li bir insektisit olan metil paratyonun hepatotoksik etkisini ve vitamin C ve E’nin koruyucu rolünü araştırmışlardır. 4 ve 7 haftalık uygulamalar sonrasında yaptıkları incelemelerde metil paratyonun ratlarda vücut ağırlığında azalmaya, karaciğer ağırlığında artışa yol açtığını belirtmişlerdir. Yine metil paratyon uygulaması yapılan gruplarda serum total protein, albümin, trigliserit, VLDL-kolesterol seviyelerinde azalma görülürken, ALP, ALT, AST, GGT, LDH ve total kolesterol seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı artış görülmüştür. Elektron mikroskopuyla yaptıkları inceleme sonucunda ise hepatositlerde mitokondrilerde şişme, sitoplazmada kayıp, çekirdekte karyoliz, otofajik vakuoller gibi sitopatolojik değişimlerin meydana geldiğini belirtmişlerdir. Vitamin C ve E uygulamaları ise metil paratyonun yol açtığı hepatotoksiteyi azaltmış ancak tam olarak koruyamamıştır [Uzunhisarcikli ve Kalender, 2011].

Hematopoiez, hematopoietik kök hücrelerinden kan hücrelerinin meydana gelişidir ve kemik iliğinde lokalize olmuştur. Kemik iliği yağ dokusu da içermektedir ve yüksek oranda depolama kapasitesine sahiptir böylece ksenobiyotiklere maruziyet sonucu lipofilik olan bileşikler buradaki yağ dokuda birikebilir [Merhi ve ark., 2010].

Bazı OP’li insektisitler kanda lökositlerde artışa yol açarlar, bu artış immun sistemin aktive olduğunun bir göstergesidir. Aynı zamanda insektisitlerin neden olduğu doku hasarının ve nekrozun bir göstergesidir [Kalender ve ark., 2006].

Celik ve ark., OP’li bir insektisit olan diklorvosu 4 hafta boyunca farklı dozlarda oral olarak uygulamışlar ve lökosit (WBC) sayısında artış meydana geldiğini belirtmişlerdir. Çalışmada görülen lökositozisin deney hayvanlarında kimyasallar tarafından meydana gelen enfeksiyona karşı oluşan immun sistem cevabı olarak görüldüğü belirtilmiştir [Celik ve ark., 2009].

Yapılan bir çalışmada OP’li bir insektisit olan timet erkek albino farelere uygulanmıştır. Timet uygulanan farelerde kontrol grubuna kıyasla PChE seviyesinde azalma, hemoglobin konsantrasyonunda ve eritrosit sayısında düşüş olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca akciğer dokusunda amfizem değişiklikleri, inflamasyon,

alveollerde konjesyon ve terminal bronşiyol epitelinde dökülmelere neden olduğu gösterilmiştir [Morowati, 1998].

Rezg ve ark., yaptıkları çalışmada OP'li bir insektisit olan malathionun ratlarda subkronik maruziyetinin plazma AChE, hematolojik ve metabolik parametreler üzerine etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda hemotokrit içeriğinde anlamlı değişim gözlenmezken, plazmada AChE aktivitesinde azalma, hemoglobin konsantrasyonunda artış, hepatik protein ve lipid oranında azalma, kas glikojen oranında azalma ve hepatik glikojen oranında azalma gözlenmiştir. Malathion maruziyeti sonucunda yüksek hemoglobin içeriğinin görülmesi pulmoner fibrosisin işareti olarak belirtilmiştir [Rezg ve ark., 2007].

Sayım ve ark., çeşitli dozlarda uygulanan sentetik bir piretroit olan sipermetrinin ratlarda eritrosit, lökosit, hemoglobin ve trombositler gibi bazı hematolojik parametrelerde negatif değişimlere yol açtığını tespit etmişlerdir [Sayım ve ark., 2005].

OP'li insektisitlerin pek çok dokuda olduğu gibi karaciğer dokusunda da çeşitli histopatolojik değişikliklere neden olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur [Morowati, 1997; Goel ve ark., 2005; Gokcimen ve ark., 2007; Sayım, 2007; Yehia ve ark., 2007].

Kalender ve arkadaşları yaptıkları çalışmada organofosfatlı bir insektisit olan malatyonun rat karaciğer dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonu, hemoraji, nekroz gibi çeşitli histopatolojik hasarlara yol açtığını ve bunların biyokimyasal parametrelerdeki değişimlerle ilişkili olduğu belirtilmiştir. Bu gibi karaciğer hasarlarının malatyonun karaciğerde detoksifikasyon mekanizmasındaki hasarla artmış olabileceği belirtilmiştir [Kalender ve ark., 2010]. Ayrıca bu gibi insektisitler hepatositlerde sitokrom P450 sistemine veya mitokondriyal membran transportu üzerinde ters etkiler gösterebilirler [Gokcimen ve ark., 2007].

Gokcimen ve arkadaşları OP'li bir isektisit olan diazinonun ratlara farklı dozlarda uygulanması sonucunda karaciğer ve pankreas dokularındaki değişimleri araştırmışlardır. Yapılan deneyler sonucunda dokularda histopatolojik değerlendirme ile alınan kan örneklerinde biyokimyasal değerler araştırılmıştır. Çalışma sonucunda diazinonun doza bağlı olarak biyokimyasal değişimlere, akut pankreatitise ve karaciğerde histopatolojik hasara yol açtığını belirtmişlerdir [Gokcimen ve ark., 2007].

Goel ve ark., CPF uyguladıkları ratlarda karaciğerde vakuolizasyon, nekroz, hepatositlerde balonlaşma, sinuzoidlerde genişleme ve binükleat çekirdekte artış tespit etmişlerdir. Bu histopatolojik değişimlerin biyokimyasal değişikliklerle paralellik gösterdiğini belirterek, CPF'nin ROS üretimine yol açarak meydana getirdiği membran hasarıyla bu değişimlerin oluştuğunu vurgulamışlardır [Goel ve ark., 2005].

Gokalp ve ark., organofosfatlı bir insektisit olan methidatyonla yaptıkları çalışmada bu insektisite maruz bırakılan ratların karaciğerlerinde parenşimal dokuda mononükleer hücre infiltrasyonu, sinüzoidal genişleme, fokal nekrotik alanlar, hepatositlerde piknoz ve granüler dejenerasyon görüldüğü belirtilmiştir [Gokalp ve ark., 2003].

OP'li insektisitlerin karaciğer dokusunda çeşitli ultrastrüktürel değişikliklere yol açtığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Elektron mikroskobu analizleri sonucunda mitokondrilerde şişme, sitoplazmada kayıp, endoplazmik retikulumlarda genişleme, çekirdekte karyoliz gibi sitopatolojik değişiklikler meydana geldiği gösterilmiştir [Uzunhisarcikli ve Kalender, 2011; Kalender ve ark., 2005a]. OP'li bileşikler tarafından meydana gelen sitotoksistide mitokondriler ana hedeftir. OP bileşiklerinin mitokondri membranında depolarizasyon, membranda bozulmalar ve matrikste şişmelere yol açtığı bildirilmiştir [Carlson ve Ehrich, 1999].

Serbest radikal, dış yörüngesinde bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron ihtiva eden atom veya moleküllere verilen isimdir. Başka moleküller ile kolayca elektron

alışverişine giren bu moleküllere “oksidan moleküller” veya “reaktif oksijen partikülleri” de denmektedir [Çavdar ve ark., 1997]. Bu tip maddeler, ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktiftirler. Serbest radikaller, hücrelerin lipid, protein, DNA, karbohidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler. Mitokondrilerdeki aerobik solunumu ve kapiller permeabiliteyi bozarlar. Proteaz, fosfolipaz gibi litik enzimleri aktifleştirirken, bazı savunma sistemlerini inaktive ederler [Akkuş, 1995; Boots ve ark., 2008].

ROS, hücre içerisinde DNA, lipid ve proteinler gibi makromoleküllerde hasar meydana getirerek sonuçta doku hasarına yol açmaktadır [Liu ve ark., 2010]. Bu hasarla birlikte hücre içi kalsiyum seviyesi ve pH sında değişime yol açarak hücre ölümüyle bu hasar sonuçlanabilir [Aly ve ark., 2010].

Oksidatif stres ve reaktif oksijen veya nitrojen türevleri toksisitenin olası bir mekanizması olarak son yıllarda araştırmaların odağı haline gelmiştir. Serbest oksijen radikalleri yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu protein, lipid ve DNA içeren hücresel yapıların oksidasyonunun mediyatörüdür [Kılçksız ve Demirel, 2008]. Oksidatif stres ve DNA hasarı içeren genetik kararsızlık, kanser oluşumunda da önemlidir [Kılçksız ve Demirel, 2008].

Serbest radikaller pestisitlerin ve çevresel kimyasalların toksisitelerinde önemli rol oynarlar. Pestisitler, oksidatif strese, serbest radikal üretimine, antioksidanlarda değişime yol açabilirler [Mercan, 2004]. Organizmada pek çok türde ROP (reaktif oksijen partikülü) oluşabilir. Ancak en sık olarak lipid yapılarla oluşur. Doymamış yağ asitlerinin alil grubundan bir hidrojen çıkarsa lipid radikali meydana gelir. Oluşan lipid radikali oksijen ile reaksiyona girer ve lipid peroksi radikalini oluşturur. Lipid radikaller yüksek derecede sitotoksik ürünlere de dönüşebilir. Bunlar arasında en çok bilinen ürün aldehid grubundan malondialdehiddir (MDA) [Çavdar ve ark., 1997].

Serbest radikaller aterosklerosisin oluşumunda anahtar faktör olarak bilinen LDL'nin oksidatif değişimine yol açarlar [Motoyama ve ark., 2009]. Yapılan

çalışmalarda ROS ve oksidatif stresin direk karaciğer hücre hasarına yol açmalarının yanı sıra hepatositlerde apoptozisi tetikleyici etkiye de sahip oldukları gösterilmiştir [Liu ve ark., 2010].

Lipid peroksidasyonunun en önemli ürünü malondialdehid (MDA)'dır. Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda MDA meydana gelir. Oluşan MDA hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. MDA bu özelliği nedeniyle, DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girebilir ve bundan dolayı mutajenik, genotoksik ve karsinogeniktir [Mercan, 2004]. MDA pestisit toksisitesi ile ilişkili olarak oksidatif stresin bir indikatörüdür [Eraslan ve ark., 2009a]. Lipid peroksidasyonu, hücre zarı geçirgenliğini ve hücre zarı protein oksidasyonunu arttırarak hücre zarı işlevini büyük oranda bozar [Kılçksız ve Demirel, 2008].

Vücudun antioksidan savunması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik oksidatif stres olarak adlandırılır [Mercan, 2004]. Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbohidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar ve bu olaya “antioksidan savunma” denir. Antioksidan savunma elemanları hücre içi ve hücre dışı ortamda farklıdırlar. Belirli bir düzeye kadar olabilen oksidan molekül artışı yine vücutta daima belirli bir düzeyde bulunan doğal antioksidan moleküller tarafından etkisiz hale getirilmektedir. Böylece sağlıklı bir organizmada oksidan düzeyi ve antioksidanların bunları etkisizleştirme gücü bir denge içindedir. Oksidanlar belirli düzeyin üstünde oluşur veya antioksidanlar yetersiz olursa yani denge bozulursa söz konusu oksidan moleküller organizmanın yapı elemanları olan protein, lipid, karbohidrat, nükleik asitler ve yararlı enzimleri bozarak zararlı etkilere yol açarlar [Çavdar ve ark., 1997].

Antioksidanlar hem direkt hem de dolaylı olarak ksenobiyotiklerin, ilaçların, karsinogenlerin ve toksik radikal reaksiyonların istenmeyen etkilerine karşı hücreleri koruyan maddelerdir [Mercan, 2004]. Son yıllarda yapılan çalışmalarda reaktif

oksijen türlerinin, kalp, karaciğer ve merkezi sinir sistemi gibi pek çok sistemde organ hasarı oluşumuyla ilgili olduğuna dikkat çekilmektedir. ROS normal metabolik reaksiyonların yan ürünü olarak da devamlı oluşmaktadır. Pestisitler gibi kimyasallar bu ürünlerin oluşumunu hızlandırmaktadırlar. Sağlıklı durumlarda ROS oluşumu antioksidan savunma ile bir denge halindedir. Bu dengenin bozulması oksidatif stresle sonuçlanır [Khan ve ark., 2005]. Bu durum antioksidanların tükenmesi veya reaktif oksijen türlerinin aşırı birikimi şeklinde meydana gelmektedir veya her ikisi birden hasara yol açmaktadır [Scandalios, 2005].

Pestisit toksisitesinin başlıca hücre içi etkisi oksidatif hasar oluşturmalarıdır. Değişik maruziyet süreleriyle OP uygulaması yapılan birtakım çalışmalarda uygulama boyunca serbest radikal oluşumunun gerçekleştiği ön görülmektedir [Khan ve ark., 2005]. OP'li pestisitlerin ana mekanizması nöronal kolinesterazların inhibisyonu olmakla birlikte, son zamanlarda yapılan çalışmalar hücre membranındaki lipid peroksidatif hasara bunun da pestisitlerin ROS (reaktif oksijen türleri) üretimini tetiklemesiyle meydana getirdikleri vurgulanmaktadır [Khan ve ark., 2005].

Pestisitler hepatotoksik ve nefrotoksik etkiler göstermektedirler. Organofosforlu insektisitlerin bu toksik etkileri, serbest radikal oluşumunu tetikleyerek oksidatif stres oluşumu aracılığıyla gerçekleştirdiği belirtilmiştir [Khan ve ark., 2005].

Pestisitlerle yapılan pek çok çalışmada bu bileşiklerin çeşitli doku, organ veya sistemler üzerinde hasar oluşturduğu [Morowati, 1997; Gokcimen ve ark., 2007; Ogutcu ve ark., 2008; Celik ve Suzek, 2008; Celik ve Isık, 2009; Celik ve ark., 2009], bu hasara karşı kullanılan çeşitli antioksidan maddelerin ise doku ve organlar üzerinde çeşitli oranlarda koruyucu etkilerinin olduğu gösterilmiştir [Khan ve ark., 2005; Elhalwagy ve ark., 2008; Eraslan ve ark., 2009a,b; Kalender ve ark., 2010].

Uzunhisarcıklı ve ark., organofosfatlı bir insektisit olan metil paratyonla yaptıkları bir çalışmada bu bileşiğin akut, subakut ve subkronik testikular toksisitesini göstermişlerdir. Aynı zamanda bu toksisite üzerine çalışmada kullanılan vitamin C

ve vitamin E antioksidan maddelerinin tamamen olmasa da koruyucu etkisi olduğunu belirtmişlerdir [Uzunhisarcıklı ve ark., 2007].

ElMazoudy ve ark., klorprifosun erkek ratlarda üreme toksisitesine karşı propolisin koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Çalışmaları sonucunda klorprifos muameleli gruptaki ratlarda sperm sayısı, spermilerin yaşam oranları ve testosteron seviyesinde azalma gözlenirken, sperm anormalliği ve serum lipid profili ve karaciğer fonksiyon enzimlerinde artış gözlenmiştir. Ayrıca klorprifosun testis dokusunda histopatolojik etkilere yol açtığı gösterilmiştir. Propolis ise klorprifosun yol açtığı toksisite üzerine koruyucu etki gösterdiğini belirtmişlerdir [ElMazoudy ve ark., 2011].

Aly ve ark., ratlara subletal dozda oral olarak uygulanan klorprifosun akut toksisitesini incelemişlerdir. Klorprifosun karaciğerde MDA seviyesi ve SOD ve CAT enzim aktivitelerinde artışa, GPx ve GST enzim aktivitelerinde ise azalmaya yol açtığını bildirmişlerdir. CPF ile birlikte uygulanan vitamin C'nin ise pestisitte önce uygulanmasının, klorprifos sonrasında uygulanmasından daha iyileştirici olduğu rapor edilmiştir [Aly ve ark., 2010].

Vücut oksidatif hasara karşı çeşitli savunma sistemleri geliştirmiştir. Bu savunma mekanizmaları enzimatik ve enzimatik olmayan savunma sistemleridir. Bu savunma sistemleri sadece endojen ve ekzojen bileşikleri aktive ederek lipid peroksidasyonu azaltmaz aynı zamanda lipid peroksidasyonuna neden olan serbest radikal düzeyinin azalmasını da sağlar [Eraslan ve ark., 2007]. Hücrel antioksidanlar; glutatyon ve diğer tiyoller gibi integral antioksidanlar ve CAT (katalaz), SOD (süperoksit dismutaz), GPx (glutatyon peroksidaz) ve GST (glutatyon-S-transferaz) gibi serbest radikal temizleyici antioksidanlardır [Khan ve ark., 2005]. Hücrel antioksidanlar, diyetel antioksidanların da bulunmasıyla birlikte kuvvetlenmiş olurlar. Epidemiyolojik gözlemler ve laboratuvar araştırmaları diyetel ajanların faydalılığını belirterek, genotoksisite ve karsinogeniteyi inhibe ettiklerinin altını çizmişlerdir [Khan ve ark., 2005].

Doku ve organlar birbirlerinden farklı metabolik aktiviteler gösterdiğinden dolayı oksijen tüketimleri de farklıdır. Bundan ötürü içerdikleri antioksidan düzeyleri de birbirinden farklıdır [Limón-Pacheco ve Gonsebatt, 2009].

Eraslan ve arkadaşları pestisit toksisitesi ile ilgili yaptıkları bir çalışmada kan ve çeşitli dokularda MDA seviyesi ve CAT, SOD ve GSH-Px aktiviteleri ile serum örneklerinde çeşitli biyokimyasal parametreleri araştırmışlardır. Yaptıkları çalışma sonucunda ise bir pestisit olan karbaril'in bu parametreler üzerinde olumsuz değişikliklere yol açtığı rapor edilmiştir. Aynı çalışmada antioksidan olarak kullanılan arı poleninine ise sözü edilen parametreler üzerinde iyileştirici etkisi olduğu belirtilmiştir [Eraslan ve ark., 2009a].

Isık ve Celik, GSH miktarının azalmasının oksidatif stres riskini güçlendiren bir durum olduğunu belirtmişlerdir. Pestisitlerle yaptıkları çalışmada deneysel dokularda GSH içeriğinin önemli derecede azalmasının, pestisitlerin oluşturduğu ROS'dan kaynaklı oksidatif stres oluşumunu gösterdiği belirtilmiştir. Organizmaları pestisit maruziyetiyle oluşan oksidatif stres hasarına karşı korumak için vücutta GSH yükselişi indükleniyor olabilir. İndirgenmiş GSH ve bunun metabolize olan enzimleri ROS'un indüklediği hücresel hasara karşı başlıca savunma sağlar [Isık ve Celik, 2008].

Isık ve Celik, bir balık türüyle yaptıkları çalışmada iki tür insektisiti farklı dozaj ve farklı zamanlarda balıklar üzerinde uygulamışlardır. Çalışmalarının sonucunda karaciğer ve solungaçlarında GSH seviyesinin değişim gösterdiği görülmüştür. Ayrıca bu pestisitlerin balıklarda antioksidan savunma sistemi ve MDA konsantrasyonu üzerinde bir takım etkileri olduğunu göstermişlerdir. Çalışmalarında in vivo pestisit uygulamasının balıkların kas, solungaç ve karaciğer dokularında MDA konsantrasyonu ve antioksidan savunma sistemleri üzerindeki etkileri gösterilmiştir [Isık ve Celik, 2008]. Artan MDA içeriği, pestisit toksisitesinin balıklarda oluşturduğu stres durumu sonucunda serbest radikal artışına bağlı olarak meydana gelmiş olabileceği belirtilmiştir. MDA perokside poliansatüre yağ asitlerinin başlıca oksidasyon ürünüdür ve artan MDA içeriği lipid

peroksidasyonunun önemli bir göstergesidir. Dokularda hidroksil radikalının lipid peroksidasyonunu başlatabildiği bilinmektedir [Isik ve Celik, 2008].

Doyotte ve ark., azalmış enzim aktivitelerinin çevre kirleticilerine karşı ilk maruziyette oluşabilen bir yanıt olduğunu belirtmişlerdir. Böylece antioksidan sistemin değişim göstermesi, etkilenebilir olması, organizmaların adaptasyonunu yansıtabilir [Doyotte ve ark., 1997].

Süperoksit radikali kendi başına veya H_2O_2 'ye transformasyonundan sonra enzimdeki sisteinin oksidasyonuna sebep olur ve SOD aktivitesi azalır. Sonuç olarak, azalmış veya artmış SOD aktivitesi pestisit maruziyetinden kaynaklı hücresel oksidatif stresi belirtmektedir. Diğer taraftan, SOD, GR, GSH-Px ve GST gibi enzimatik antioksidanlar oksidatif stresin duyarlı göstergeleridir. GR enzimi hücresel antioksidanlar arasında önemli bir role sahiptir çünkü GSSG'den GSH yenilenmesini katalizlemektedir [Isik ve Celik, 2008].

Isik ve Celik yaptıkları çalışmada, GR aktivitesinin azalmasını pestisit uygulanan gruplardaki hücrelerde glutasyon konsantrasyonunda kısmen değişim olduğu öngörüsüyle açıklamışlardır. Çalışmada uygulanan pestisitlerin, GSH'ın hücre içi seviyesinde azalma ve aynı zamanda GR aktivitesinde azalmaya neden olduğu düşünülmektedir, böylece oksidatif dengesizlik ve hücre ölümünde artışla sonlanan bir duruma yol açmışlardır. Bu gibi durumlarda aldehitler gibi GR aktivasyonunu inhibe eden serbest radikallerin GR inaktivasyonuna neden olabileceği belirtilmiştir. Buna karşın, artan GST aktivitesinin ksenobiyotikleri ortadan kaldırmaya yönelik koruyucu bir durum olarak ortaya çıktığı da bilinmektedir. Buna ilaveten OP'lere uzun süreli maruziyetin SOD, GSH-Px ve GST'nin kademeli olarak tükenmesine yol açtığı veya antioksidan savunma sisteminin artışına neden olduğu rapor edilmiştir. [Isik ve Celik, 2008].

Oksijen serbest radikallerinin ve reaktif oksijen türlerinin toksik etkileri yaşlanma, kanser, ateroskleroz, viral enfeksiyonlar, artrit gibi pek çok durumun ortaya çıkmasına yol açmaktadırlar. Oksidatif strese karşı uygulanan kimyasal koruma pek

çok ilaç veya vitamin C gibi doğal diyetset bileşiklerle sağlanmaktadır. C vitamini suda çözünen önemli zincir kırıcı bir antioksidandır ve enzim kofaktörüdür. Vitamin C hastalıkları önlemede ve malignansiye karşı son yıllarda çalışılmaktadır. Böylece vitamin C'nin antioksidan olarak hücresel koruma sağladığına inanılmaktadır [Grajeda-Cota ve ark., 2004].

Grajeda-Cota ve ark., yaptıkları çalışmada in vitro karaciğer hücre kültüründe pestisit uygulamasına karşı denenen askorbik asit uygulamasının hücreleri koruduğunu bildirmişlerdir [Grajeda-Cota ve ark., 2004]. GST, GSH ve ksenobiyotikler arasında konjugasyon reaksiyonlarını gerçekleştiren detoksifikasyonda görevli bir enzimdir. Endojen detoksifiye sistemlerinde GST, oksidatif stresin ürünlerine ve elektrofillerine karşı koruma göstererek kritik bir rol oynamaktadır [Grajeda-Cota ve ark., 2004].

Khan ve ark., yaptıkları çalışmada GSH'ın farelerde pestisit kaynaklı oksidatif hasarın değişiminde önemli rol oynadığını bildirmişlerdir. GSH aerobik hücrelerin hemen hemen tümünde önemli bir antioksidan sistem elemanıdır. GSH, GSH peroksidaz enzimleri için kofaktör gibi anahtar bir role sahiptir. Lipid peroksidasyonu ve oksidan hasara yatkınlığı olan hücrelerde GSH'da azalma görülmektedir. Çalışmada aynı zamanda GSH azalmasıyla birlikte GPx aktivitesinin de azaldığı da belirtilmiştir. GSH aynı zamanda, glutatyon S-transferaz enzimi için substrat olarak, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda bulunur. GSH'ın sentezi ve yıkımının hayvanlarda glutamil siklaz aracılığıyla gerçekleştiği belirtilmektedir [Khan ve ark., 2005].

SOD ve CAT oksijen metabolizmasının toksik etkilerine karşı en önemli savunma mekanizmalarıdır. SOD, H_2O_2 'nin dismutasyonunu çabuklaştırır böylece ilk savunma sürecini başlatmış olur. CAT, SOD tarafından katalizlenen reaksiyon boyunca oluşan H_2O_2 'lerin ortadan kaldırılmasına yardımcı olur. [Khan ve ark., 2005].

Pestisitlerin neden olduğu oksidatif stresi azaltmak ya da tamamen ortadan kaldırmak için çeşitli antioksidan maddeler uygulanmaktadır [Uzun ve ark., 2009]. Antioksidan bileşikler reaktif oksijen türleri tarafından meydana getirilen karaciğer ve hepatosit hasarına karşı koruyucu olarak kullanılmaktadır [Peres ve ark., 2000].

Flavonoidler bitkisel polifenolik bileşiklerin geniş bir sınıfını oluştururlar ve fotosentez yapan hücrelerde bulunurlar. 5000'den fazla sayıda flavonoid belirlenmiştir, meyveler, sebzeler, fındık, ceviz gibi sert kabuklu yemiş ve bitkisel kaynaklı çay gibi meşrubatlarda bulunurlar [Erlund, 2004; Boots ve ark., 2008]. Harborne ve Baxter, “Doğal Flavonoidlerin El Kitabı” adlı eserlerinde 6467 flavonoidin yapısı, formülü, referansları ve biyolojik aktiviteleri hakkında bilgi vermişlerdir [Harborne ve Baxter, 1999].

Flavonoid kelimesi sarı anlamına gelen latince flavus kelimesinden türemiştir. Bitkilerde bulunan ikincil ürünlerdir ve bitki dokularında bunlar kırmızı, mavi ve mor antosiyanin pigmentleri olarak bilinirler [Procházková ve ark., 2011]. 15 C atomlu 2-fenil benzopiren (difenil propan) yapısı gösterirler. Bu yapıları nedeniyle polifenolik bileşikler olarak kabul edilirler. Bitkilerin ikincil metabolitlerindendir [Kahraman ve ark., 2002].

Flavonoidler, bitkilerde epidermal hücrelerin içinde ya da yaprakların üst yüzeyinde bulunduklarından bitkilerin fizyolojik rollerini sürdürmede önemli rol oynamaktadırlar. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda bitkilerde UV-B'ye karşı korunmanın yapraklardaki flavonoidler tarafından sağlandığı belirtilmiştir [Harborne ve Williams, 2000].

Flavonoidler, flavonoller, flavanonlar ve izoflavonlar gibi bazı alt gruplara ayrılmaktadırlar ve bu alt gruplardaki flavonoidlerin biyolojik ve kimyasal özellikleri birbirinden farklılık göstermektedir. Örneğin besinlerde en yaygın bulunan flavonol kuersetindir [Erlund, 2004]. Bir takım kaynaklara göre flavonoidlerin beş ya da altı alt sınıfa ayrılmaktadır. Neuhouwer yaptığı çalışmada flavonoidleri beş alt sınıfa ayırmıştır. Bunlar flavonoller (örn., kuersetin), flavonlar (örn., luteolin), flavanonlar

(örn., hesperetin), flavon-3-oller (kateşinler) ve anthosiyanidinler'dir (örn., cyanidin) [Neuhouser, 2004]. Bazı araştırmacılar ise altı alt sınıfa ayırmıştır. Bunlar ise flavonoller, flavonlar, flavanonlar, kateşinler, anthosiyanidinler ve isoflavonlardır [Hollman ve Katan, 1999; Aherne ve O'Brien, 2002].

Pek çok in vitro çalışma flavonoidlerin antioksidan ve antiinflamatuvar özelliğe sahip olduğunu desteklemektedir [Lu ve ark., 2006]. Antioksidan özelliklerini serbest radikalleri ortadan kaldırmalarıyla ya da zincir kırıcı özellik göstermeleriyle gerçekleştirebilirler [Chander ve ark., 2003]. Bazı araştırmacılar ise flavonoidlerin antioksidan özelliğinin, ortho-dihidroksil fenolik yapısının metal şelasyonu ve serbest radikal temizleyici aktivitesi kombinasyonunun bir sonucu olduğunu belirtmişlerdir [López-Revuelta ve ark., 2006].

Polifenolik yapılarının bir sonucu olarak bu bileşikler hidrojen donörü gibi görev alarak serbest radikal oluşumunu üç adımda baskılamaktadır. Bunlar süperoksit iyon formasyonu, fenton reaksiyonundaki hidroksil radikali oluşumu ve lipid radikali oluşumunu baskılamaktır [López-Revuelta ve ark., 2006].

Flavonoidler bitkisel kaynaklı polifenolik antioksidan özelliğe sahip bileşiklerdir [Muthukumaran ve ark., 2008]. Yapılan pek çok çalışmada, flavonoidlerin antioksidan, antiinflamatuvar, antialerjik, antiviral, antibakteriyel, antiiskemik, vasodilator ve antitümoral özellikleri olduğu rapor edilmiştir [Coskun ve ark., 2005; Lu ve ark., 2006; López-Revuelta ve ark., 2006; Procházková ve ark., 2011]. Fenolik bileşikler serbest radikal kovucu etkiye ve oksidatif stresi azaltıcı etkiye sahiptirler. Bu sebeple MDA seviyesinde azalma oluşmasına neden olurlar [Eraslan ve ark., 2009b]. Ayrıca lipid peroksidasyonunu inhibe etmelerinin yanı sıra, trombosit kümeleşmesi ve kapiller geçirgenliği ile kırılgenliğindeki artışın önlenmesini gerçekleştirirler [Procházková ve ark., 2011].

Fenolik bileşikler anti-radikaldirler yani radikal kovucu etkiye sahiptirler [Eraslan ve ark., 2009b]. Elhalwagy ve ark., OP'li bir insektisit olan fenitrotiyonun meydana getirdiği biyokimyasal ve histopatolojik karaciğer hasarına karşı uygulanan yeşil çay

polifenollerinin koruyucu etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir [Elhalwagy ve ark., 2008].

Flavonoidler tüm bitki dokularında hücre içinde veya çeşitli bitkisel dokuların yüzeyinde bulunmaktadır [Güven ve ark., 2010]. Bitkilerin petallerinde görünür flavonoidlerinin bulunmasının aksine, klorofil yeşiline gizlenmiş şekilde yapraklarda yer alan flavonoidler de vardır [Harborne ve Williams, 2000].

Flavonoidler aglikon veya glikozitler şeklinde bulunmakta olup, flavonoid glikozitler bağırsağa girmeden önce şeker kısmından ayrılmakta iken, aglikonlar hücre membranlarından serbestçe geçebilmektedirler. Emilen flavonoidler karaciğere taşınmakta ve çok çeşitli metabolik reaksiyonlara maruz kalarak glukuronitler, sülfatlar ve metilenmiş türevleri gibi çeşitli konjugasyon formlarına dönüşmektedir. Bazı çalışmalarda flavonoidlerin sağlık üzerindeki olumlu etkilerinden bu konjugatların sorumlu olduğu ortaya konmaktadır [Güven ve ark., 2010].

Flavonoidler emilimin hemen ardından plazma proteini olan albümine bağlanırlar ve hepatik portal ven aracılığıyla karaciğere gelirler. Karaciğer flavonoid mekanizmasındaki ana organdır. Bununla birlikte bağırsak mukozası ve böbrekler de önemlidir. Flavonoidler ve türevleri buralarda hidroksilasyon, metilasyon ve indirgenme reaksiyonlarına uğrarlar. Flavonoid glukuronidleri ve sülfatları polar, suda çözünebilen bileşiklerdir. Memelilerde idrar ve safra ile atılımları gerçekleşir. Safraya salındıkları zaman flavonoidler duodenuma geçerler ve bağırsak florası tarafından metabolize edilirler. Böbreklerden atılımları karaciğerde konjuge olduktan sonra gerçekleşmektedir [Aherne ve O'Brien, 2002].

Flavonoidlerin serbest radikal hasarına karşı koruyucu mekanizmaları şunlardır; ROS'un direk temizlemesi, antioksidan sistemlerin aktivasyonu, metal şelasyonu aktivitesi, α -tokoferol radikallerinin azaltılması, oksidazların inhibisyonu, nitrik oksit tarafından oluşan oksidatif stresin azaltılması, ürik asit seviyesinin artırılması ve düşük moleküler ağırlıktaki antioksidanların artışına sebep olmalarıdır [Procházková ve ark., 2011].

Flavonoidlerin kimyasal yapılarındaki, biyoyararlanımlarındaki, dağılım ve metabolizmalarındaki farklılıklar nedeniyle insan sağlığı üzerinde farklı etkiler oluşturabilirler [Knekt ve ark., 2002]. Flavonoidlerin günlük alımları beslenme alışkanlığına göre değişmekle beraber genel olarak günlük 25mg ile 1g arasındadır [Manach ve ark., 1999].

Besinlerdeki flavonoid içerikleri çeşitli faktörlerden etkilenmektedir bunlar arasında, bitki dağılım ve çeşitliliği, ışık ve iklim, mevsimsel değişimler, besinlerin hazırlanışı sayılabilir [Aherne ve O'Brien, 2002]. Epidemiyolojik çalışmalar bitkisel flavonoidlerin tüketiminin kardiyovasküler hastalıklardan ölüm riskinde azalmayla ilişkili olduğunu belirtmişlerdir [Baba ve ark., 2001; Donovan ve ark., 2002].

Flavonoidler tokoferol radikaline hidrojen atomu vererek, α -tokoferol gibi antioksidanları yeniden çevrime sokarlar [Zal ve ark., 2007]. Pek çok çalışmada araştırmacılar flavonoidlerin trombosit kümeleşmesini inhibe edici, hücre farklılaşmasını önleyici ve plazma LDL seviyesini azaltıcı etkilerini vurgulamaktadır [Ajay ve ark., 2003].

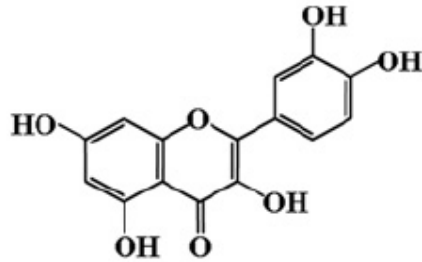
Flavonoidler lipofilik antioksidanlardır fakat benzer şekilde lipofilik bir antioksidan olan α -tokoferole göre daha hidrofiliktirler ve membranın polar yüzüne yakın şekilde lokalize olurlar [Kahraman ve ark., 2002].

Kuersetin ve kateşin flavonoid bileşiklerdir. Kuersetin serbest radikal kovucu etkisi olan, antioksidan özelliğe sahip olan ve diyetle yaygın olarak bulunan bir flavonoiddir [Ajay ve ark., 2006]. Kuersetin güçlü bir antioksidandır, demir, bakır gibi metal iyonlarını toplayıcı özellik gösterir. Kuersetin'in renal iskemi-reperfüzyon hasarında koruyucu olduğu tespit edilmiştir [Polat ve ark., 2006].

Kuersetin diyetle en yaygın bulunan flavonoidlerdir. Besinler içerisinde sebzeler, meyveler ve sayısız besin tamamlayıcılarında bulunur ve sağlık açısından oldukça yararlı etkiler sağlar. En yüksek oranda soğanda bulunur bunun dışında elma, çay,

ilek, kirazda bulunmaktadır. Bitkilerde farklı glikozit formları şeklinde bulunmaktadır [Erlund, 2004; Boots ve ark., 2008].

Örneğın 100 g elmada $2^{15,32}$ mg kuersetin bulunmaktadır [Aherne ve O'Brien, 2002]. Pek çok hastalığa karşı örneğın kanser, osteoporoz, akciğér, kardiyovasküler hastalıklara karşı ve yaşılanmaya karşı koruyucu etki gösterir. Özellikle peroksinitrit ve hidroksil radikali gibi yüksek reaktif türlerini temizleyici etkiye sahiptir [Boots ve ark., 2008].



Şekil 2.2. Kuersetin'in moleküler yapısı [Motoyama ve ark., 2009]

Liu ve arkadaşları kuersetin ile yaptıkları bir çalışmada, erkek ratlara uygulamış oldukları kurşun maruziyetine karşı oluşan karaciğér harabiyeti, MDA ve H_2O_2 seviyelerindeki değişimler ile birlikte çeşitli antioksidan değişimlerine karşı kuersetinin iyileştirici etki gösterdiğini bildirmişlerdir [Liu ve ark., 2010].

Kuersetin osteoporoz, akciğér ve kardiyovasküler rahatsızlıklar ve yaşılanma gibi pek çok durumda insan sağlığı açısından oldukça yararlı olan geniş yayılış gösteren bitkisel bir bileşiktir [Lu ve ark., 2006; Boots ve ark., 2008]. Yapılan pek çok çalışmayla anti-oksidan [Lu ve ark., 2006; Boots ve ark., 2008; Kebieche ve ark., 2009; Romero ve ark., 2009], anti-inflamatuvar [Hwang ve ark., 2009], ve anti-apoptozis [Lugli ve ark., 2009] etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca antifibrotik, antikoagülatif, antibakteriyal ve antiproliferatif etkileri olduğu da belirtilmiştir [Boots ve ark., 2008]. Kuersetinin ayrıca pek çok hepatotoksin tarafından meydana getirilen hasara karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir

[Vicente-Sanchez ve ark., 2008; Bhatt ve Flora, 2009; Ghosh ve ark., 2009; Kebieche ve ark., 2009].

Kuersetin güçlü bir antioksidan ve serbest radikal kovucusudur. Aynı zamanda metal şelatörüdür, demir ve bakır iyonlarını bağlayıcı özelliğe sahiptir [Morales ve ark., 2006; Polat ve ark., 2006; Vicente-Sanchez ve ark., 2008; Liu ve ark., 2010]. Kuersetin yapısal olarak α -tokoferole benzerlik göstermektedir [Devi Priya and Shyamala Devi, 1999].

Kuersetin pek çok karaciğer toksinine karşı, oksidatif stresin markırı olarak bilinen MDA seviyesinde azalmaya neden olur [Liu ve ark., 2010].

Kuersetin absorbe edildikten sonra ince bağırsak, kolon, karaciğer ve böbreklerde metabolize edilir. İnce bağırsak ve karaciğerde biyotransformasyon enzimleri aracılığıyla faz II metabolizmasıyla metabolitlerine dönüşür. Böylece metilat, sülfat, glukronitad formlarını oluştur [Boots ve ark., 2008].

Ghosh ve ark., ratlarla yaptıkları çalışmada bir ağır metal olan arsenik uygulamasına karşı denenen kuersetinin, karaciğer ve beyinde meydana gelen oksidatif hasara karşı koruyucu rol oynadığını göstermişlerdir [Ghosh ve ark., 2009].

Kuersetin (QE), pek çok hastalığa karşı tedavi edici ve güçlü antioksidan aktivite sağlayan çok sayıda fenolik hidroksil grup içermektedir [Peres ve ark., 2000; Ghosh ve ar., 2009].

Yapılan in vitro çalışmalarda kuersetinin ve diğer flavonoidlerin lipopolisakkaritler tarafından uyarılmış Kupffer hücrelerinden nitrik oksit üretiminin ve tümör nekroz faktör üretiminin güçlü bir inhibitörü olduğu belirtilmiştir [Peres ve ark., 2000].

Kuersetin (3,5,7,3',4'-pentahydroxyflavone), iki benzen halkasının oksijen içeren bir heterosiklik piren halkası ile bağlanmasıyla oluşan flavon çekirdeği ile karakterize edilen bir flavonoiddir [Erlund, 2004; Lu ve ark., 2006]. Ayrıca pek çok

farmakolojik etkiye sahiptir. Bunlar arasında hücre çoğalmasını baskılayıcı, LDL oksidasyonuna karşı koruyucu, trombosit kümeleşmesini önleyici ve tümör hücrelerinde apoptozis indüksiyonu gibi etkileri sayılabilir [Lu ve ark., 2006].

Yapılan çalışmalarda kuersetinin reaktif oksijen türlerine karşı koruyucu etki gösterdiği [Lu ve ark., 2006], hatta α -tokoferolden daha etkili antioksidan etki oluşturduğu belirtilmiştir [Zal ve ark., 2007].

Knekt ve ark., yaptıkları çalışmada yüksek dozda kuersetin alımının astım ve akciğer kanseri riskini ve tip 2 diyabet riskini azalttığını göstermişlerdir [Knekt ve ark., 2002].

Muthukumaran ve ark., yaptıkları bir çalışmada erkek Wistar ratlara nikotin uygulaması yapmışlar ve kontrole kıyasla ratların vücut ağırlığında azalma ile birlikte akciğer, karaciğer ve böbrek dokularında SOD, CAT ve GPx aktivitelerinde azalma olduğunu belirtmişlerdir. Nikotinle birlikte kuersetin uygulamasının yapıldığı grupta ise nikotin grubuna göre vücut ağırlığında geri kazanım, SOD, CAT ve GPx aktivitelerinde anlamlı bir artışın olduğunu gözlemişlerdir [Muthukumaran ve ark., 2008].

Coskun ve ark., streptozotosin ile diyabetik hale getirdikleri ratlarda, kuersetinin kuruyucu rolünü araştırmışlardır. Diyabetik grupta langerhans adacıklarında dejenerasyon, nekroz gibi patolojik değişimler gözlerken, kuersetin uygulanan grupta ise çok daha az değişim gözlemlendiği ve koruyucu etkinin olduğu belirtilmiştir [Coskun ve ark., 2005].

Polat ve ark., deneysel olarak oluşturdukları hepatik iskemi-reperfüzyonun böbreklerde, histopatolojik, ultrastrüktürel ve oksidatif stres parametrelerinde yaptığı değişikliklerle birlikte kuersetinin etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda kuersetin uygulamasının renal bozukluk üzerine koruyucu etkisini gözlemişlerdir [Polat ve ark., 2006].

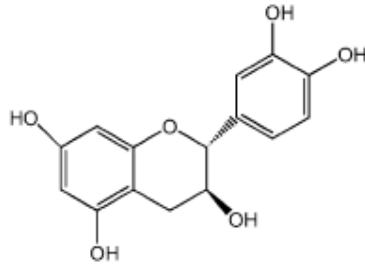
Devi Priya ve Shyamala Devi, bir antikanser ilacı olan sisplatinin vücut ağırlığında azalma, üre, ürik asit, kreatininde artış ve böbrek GPx, SOD, CAT, GR, GST enzimlerinde artışa yol açtığını belirtmişlerdir. Kuersetinle birlikte cisplatinin uygulandığı deney grubunda ise vücut ağırlığında geri kazanım, üre, ürik asit ve kreatinin değerleri ile SOD, CAT, GPx, GR, GST enzimlerinde anlamlı azalmanın olduğunu gözlemişlerdir [Devi Priya ve Shyamala Devi, 1999].

Morales ve ark., bir ağır metal olan kadmiyumun etkilerini ultrastrüktürel olarak incelemişler ve böbrek dokusundaki tübül hücrelerinde sitoplazmik valuollerde artış, mitokondrilerde yapısal değişiklikler, lizozomlarda artış, tübüler lezyonlar ve fırça kenarlı mikrovilluslarda kayıp gözlemişlerdir. Kadmiyumla birlikte kuersetinin uygulandığı ratlardaki böbrek tübül hücrelerinde ise vakuollerin az olması, mikrovilluslarda daha az kayıp şeklinde değişim gözlemişler ve bunun nedeninin kuersetinin antioksidan özelliğinden ileri geldiğini belirtmişlerdir [Morales ve ark., 2006].

İkizler ve ark., yaptıkları çalışmada ratların kalplerine kronik tedavi ve akut infüzyon olarak verilen kuersetinin iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkinliğini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda kuersetin uygulanan gruplarda reperfüzyon periyodunun her fazında hemodinamik veriler ve biyokimyasal parametreler kontrol grubuna göre belirgin olarak daha iyi miyokardiyal iyileşmeyi işaret etmiştir. Kuersetin, antioksidan etkinliği ile oksidatif strese bağlı doku hasarını azaltarak global iskemi sonrası reperfüzyonda miyokardiyal iyileşmeyi arttırmıştır. Bu koruyucu etki özellikle kronik tedavi uygulanan kalplerde daha belirgin olarak izlenmiştir [İkizler ve ark., 2007].

(+)-Kateşin, kateşinler grubunda bulunan bir flavonoiddir ve yeşil çay, siyah çay, kakao ürünleri ile diğer bitkisel kaynaklı besinlerde bulunmaktadır [Baba ve ark., 2001; Chander ve ark., 2003]. Kateşinlerin anti-inflamatuar, anti-kanserojen, diüretik etkilerinin olduğu bilinmektedir [Suzuki ve ark., 2007; Kalender ve ark., 2005b]. Yapılan epidemiyolojik çalışmalar ve in vitro çalışmalar kateşinin insan sağlığı üzerindeki faydalı etkilerini göstermiştir. Bunlardan bazıları kalp hastalıkları, kanser,

akut renal hasar, miyokardiyal iskemiye karşı antioksidan etkilerinin olmasıdır [Korish ve Arafah, 2008].



Şekil 2.3. (+)-Kateşin'in molekül yapısı [Chu ve ark., 2004]

Kateşinlerin en önemli özelliği biyomolekülleri serbest radikal hasarından koruyarak antioksidan özellik göstermeleridir. Reaktif oksijen türlerinin DNA'ya hasar vermelerini önlerler böylece antimutajenik ve antikarsinojenik etki gösterirler. Ayrıca nöronları ve hepatositleri de iskemi-reperfüzyon sürecinde serbest radikal kaynaklı hasardan korurlar, oksidatif strese karşı eritrositlere direnç kazandırırılar [Chu ve ark., 2004].

Sekiz farklı kateşin türü vardır. Bunlar (+)-kateşin, (-)-gallokateşin, (-)-epigallokateşin, (-)-epikateşin, (-)-epigallokateşin, (-)-gallokateşin gallate, (-)-epikateşin gallate, (-)-kateşin gallate'dir [Chu ve ark., 2004].

Kateşinler genellikle aglikonlar gibi meydana gelir veya gallik asitle esterleşirler. (+)-kateşin ve (-)-epikateşin elma, armut, üzüm ve şeftali gibi meyve ve sebzelerde bulunurlar. Çayda ise oldukça yüksek oranda bulunmaktadır [Erlund, 2004].

Kateşinler absorpsiyonu takiben karaciğerde metabolize olurlar [Chu ve ark., 2004]. Biyokimyasal olarak çay polifenoller, kateşinler ve flavonoidler ROS'lar üzerinde kovucu etkiye sahiptirler. Çayda bulunan flavonoidler nitrik oksit ve süper oksit radikali ürünü olan peroksinitriti ortadan kaldırırılar [Khan ve ark., 2005]. Çeşitli kateşin türevleri kakao ürünleri içerisinde de bulunmaktadır. Örneğin çikolata

ürünleri yüksek oranda oksijen radikali absorbands kapasitesine sahiptirler [Steinberg ve ark., 2003].

Kalender ve ark., yaptıkları çalışmada doksorubisin verilen ratlarda kateşinin karaciğeri koruyucu etkisini elektron mikroskop ve biyokimyasal testlerde göstermişlerdir. Doksorubisin verilen ratlarda lipit peroksidasyonunun son ürünü olan MDA seviyelerinde kontrol grubuna göre artış meydana geldiğini, ancak doksorubisin ile birlikte kateşin uygulanan grupta MDA seviyesinde anlamlı azalmanın olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca hepatositlerde yapılan elektron mikroskobu çalışmalarında doksorubisin muameleli grubun mitokondrilerinde vakuolizasyon, mitokondrilerde şişme ve piknotik çekirdek gözlenirken doksorubisin ve kateşinin beraber uygulandığı grupta yapılan incelemelerde mitokondrilerde şişmenin zayıfladığı gözlenmiştir [Kalender ve ark., 2005b].

Ramesh ve ark., aterojenik diyetle beslenen ratlarda karaciğerde enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlarda azalma, MDA seviyesinde artış, biyokimyasal parametrelerde (AST, ALT, ALP, LDH) artış ve karaciğer dokusunda yağlı değişim olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada yeşil çay kateşinlerinin uygulandığı grupta hepatik lipidemik oksidatif hasara karşı kateşinin sözü edilen tüm parametreler üzerinde iyileştirici etkisi olduğunu göstermişlerdir [Ramesh ve ark., 2009].

Yapılan bir çalışmada deneysel olarak oluşturulan miyokarditis sonucunda kalp dokusunda fibrosis ve hücre infiltrasyonu görülmüştür. Kateşin uygulamasının ise patolojik değişimlere karşı baskılayıcı rol oynadığı gösterilmiştir [Suzuki ve ark., 2007].

Kalender ve ark., yaptıkları bir çalışmada klorprifosun ve klorprifosla birlikte kateşin ve kuersetin uygulanan ratların testis dokusunda incelemeler yapmışlardır. Deney sonucunda kontrol grubuyla kıyaslandığında testis dokusunda MDA seviyesinde, SOD ve CAT aktivitelerinde artış görülürken, GPx ve GST aktivitelerinde azalma gözlemişlerdir. Klorprifos ile birlikte kateşin ve kuersetinin uygulandığı gruplarda

ise yalnızca klorprifos uygulanan gruba kıyasla MDA seviyesi, SOD ve CAT aktivitelerinde azalma, GPx ve GST aktivitelerinde artış tespit etmişlerdir. Işık mikroskopuyla yapılan incelemelerde ise kateşin ve kuersetin uygulanan gruplarda daha az olmakla birlikte seminifer tübüllerde dejenerasyon, spermatojenik hücrelerde azalma gibi çeşitli histopatolojik değişimler gözlemişlerdir [Kalender ve ark., 2012].

Silberberg ve ark., kuersetin ve kateşini ratlara birlikte uygulamış ve absorpsiyonlarındaki değişimleri incelemişlerdir. Çalışmalarında kuersetin ve kateşin ratlara ayrı ayrı ve birlikte eşit dozlarda uygulamışlardır. Plazma, idrar ve HPLC (Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi) ile karaciğerdeki miktar ve metabolitleri ölçülmüştür. Sonuç olarak kuersetin ve kateşin birlikte aynı anda uygulandıklarında sindirim esnasında birbirleriyle yarışmalı etkileşime girerek plazma konsantrasyonlarında azalma gözlemişlerdir. Tek başlarına uygulandıklarında biyoyararlanımlarının daha yüksek olduğu belirtilmiştir [Silberberg ve ark., 2005].

Flavonoidlerin in vivo etkileri onların emilim ve atılım kinetiklerine bağlıdır [Manach ve ark., 1999]. Kateşin ve kuersetinin diyetle alımı sonrasındaki plazma konsantrasyonları hakkında bir takım çalışmalar vardır ve bu çalışmalarda kateşinin insanlarda kuersetinden daha etkili şekilde emiliminin gerçekleştiği belirtilmiştir [Manach ve ark., 1999].

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Hayvanlar

Bu tez çalışmasında 300-320 gr. ağırlığındaki erkek Wistar ratlar kullanılmıştır. Ratlar uygulama yapılmadan 10 gün önce karantina altına alınmıştır. Ratlar özel kafesler içerisinde bakılarak, standart laboratuvar diyeti ve su ile beslenmişlerdir. Ratlara 18-22°C oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık fotoperiyodu uygulanmıştır. Ratlar her kafeste 6 hayvan bulunacak şekilde yerleştirilmiştir.

3.2. Kimyasallar

%99 saflıkta organofosfatlı bir insektisit olan Klorprifos, National Measurement Institute (Australian)’den temin edilmiştir. Kateşin, Kuersetin ve diğer kimyasallar Sigma-Aldrich marka kullanılmıştır.

3.3. Hayvanlara Uygulama Planı

Ratlar kontrol grubu (n=6) ve uygulama grubu (n=30) olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Uygulama grubu da kendi içerisinde beş gruba ayrılmıştır. Tüm deney grupları aşağıda tablo halinde verilmiştir.

Çizelge 3.1. Hayvanlara uygulama planı

Grup No	Gruplar	Hayvan sayısı	Uygulanan madde miktarı
1	Kontrol	6	1 ml/kg %0,5’lik DMSO
2	Klorprifos	6	5,4 mg/kg (1/25 LD ₅₀)
3	Kateşin	6	20 mg/kg
4	Kuersetin	6	20 mg/kg
5	Kateşin+Klorprifos	6	klorprifos: 5,4 mg/kg; kateşin: 20 mg/kg
6	Kuersetin+Klorprifos	6	klorprifos: 5,4 mg/kg, kuersetin: 20mg/kg

Uygulamalar sabah saatlerinde (09.00-10.00) aç olmayan ratlara yapılmıştır. Klorprifos uygulaması kateşin ve kuersetin uygulaması yapıldıktan yarım saat sonra yapılmıştır. Deney 4 hafta (28 gün) sürmüş ve maddeler ratlara her gün bir defa verilmiştir. Klorprifos ve flavonoidlerin uygulandığı ilk gün deneyin 0. günü olarak kabul edilmiştir.

28 günlük uygulamanın sonrasında her gruptaki 6 rat disekte edilerek karaciğer dokuları antioksidan enzim (SOD, CAT, GPx ve GST) aktiviteleri ve MDA seviyeleri ile histopatolojik incelemelerin gerçekleştirilmesi için çevre dokulardan temizlenerek alınmıştır. Ayrıca biyokimyasal ve hematolojik incelemeler için de ratlardan kan örnekleri alınmıştır.

3.3.1. Kontrol grubu

Her bir rata günlük 1 ml/kg vücut ağırlığında (v.a) %0,5 dimetil sülfoksit (DMSO) gavaj yoluyla verilmiştir.

3.3.2. Kateşin muameleli grup

Her bir rata günlük 20 mg/kg v.a dozda kateşin %0,5 dimetil sülfoksit içinde çözülerek gavaj yoluyla verilmiştir.

3.3.3. Kuersetin muameleli grup

Her bir rata günlük 20 mg/kg v.a dozda kuersetin %0,5 dimetil sülfoksit içinde çözülerek gavaj yoluyla verilmiştir.

3.3.4. Klorprifos muameleli grup

Klorprifosun erkek ratlar için oral LD₅₀ değeri 135 mg/kg vücut ağırlığıdır [Goel ve ark., 2007]. Bu gruptaki her bir rata günlük 5.4 mg/kg v.a (1/25 LD₅₀) dozunda klorprifos, %0,5 dimetil sülfoksit içinde çözülerek gavaj yoluyla verilmiştir.

3.3.5. Kateşin + klorprifos muameleli grup

Her bir rata günlük 20 mg/kg v.a dozda kateşin %0,5 dimetil sülfoksit içinde çözülerek uygulanmıştır. Uygulamadan yarım saat sonra her bir rata 5.4 mg/kg v.a (1/25 LD₅₀) dozunda klorprifos %0,5 dimetil sülfoksit içinde çözülerek gavaj yoluyla verilmiştir.

3.3.6. Kuersetin + klorprifos muameleli grup

Her bir rata günlük 20 mg/kg v.a dozda kuersetin %0,5 dimetil sülfoksit içinde çözülerek uygulanmıştır. Uygulamadan yarım saat sonra her bir rata 5.4 mg/kg v.a (1/25 LD₅₀) dozunda klorprifos %0,5 dimetil sülfoksit içinde çözülerek gavaj yoluyla verilmiştir.

3.4. Serum Karaciğer Fonksiyon Testlerinin Belirlenmesi

Deney sonunda deney hayvanlarının kalplerinden steril tüplere alınan kan örnekleri santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonucu ayrılan serum kısımları alınarak analizler için hazırlanmıştır. Total protein, albümin, total kolesterol, trigliserit, aspartat amino transferaz (AST), alanin amino transferaz (ALT), alkalın fosfataz (ALP), ve laktat dehidrogenaz (LDH) seviyeleri ticari kitler ile ölçülmüştür.

3.5. Hematolojik İncelemeler

EDTA'lı kan tüplerine alınan taze kan örneklerinden hematolojik parametreler olan, eritrosit (RBC), hemoglobin (Hb), hematokrit (Hct), lökositler (WBC), ortalama eritrosit hemoglobini (MCH), ortalama eritrosit hacmi (MCV), ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) ve trombosit (PLT) konsantrasyonları tam dijital veteriner amaçlı kan sayım cihazı ile ölçülmüştür.

3.6. Malondialdehit Miktarının ve Antioksidan Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Disekte edilen ratlardan çıkarılan karaciğer dokuları sodyum fosfat tamponu (pH 7.2) ile yıkandı. Yıkanan örnekler analiz işlemi yapılana kadar -80 °C'de saklandı. Dokular Teflon homojenizatör (Heidolph Silent Crusher M) kullanılarak homojenizasyon tamponu (pH 7.4) içinde homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar SOD, CAT, GPx ve GST enzim aktiviteleri ve MDA miktarının tayini için 4°C'de santrifüj edilerek hazırlandı. MDA miktarı ve antioksidan enzim aktiviteleri spektrofotometrede (Shimadzu UV 1700, Kyoto, Japan) örneklerin absorbanşı ölçülerek tespit edildi. Protein konsantrasyonu standart olarak bovin serum albümin kullanılarak Lowry ve ark., [1951]'nın tanımladığı metoda göre belirlendi.

3.6.1. Malondialdehit miktarının belirlenmesi

Malondialdehit miktarının belirlenmesi için her gruptaki ratlardan alınan karaciğer dokuları kullanılmıştır. Ohkawa ve ark., [1979]'nın kullandığı metot temel alınarak 532 nm'de tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona giren lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA miktarı ölçülmüştür. TBA ilave edilmiş olan karışımın spektrofotometrede 532 nm'de absorbanşı okunmuştur. Malondialdehit miktarı nmol/mg protein olarak verilmiştir.

3.6.2. Antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi

Antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi için her gruptaki ratlardan alınan karaciğer dokuları kullanılmıştır. SOD, CAT, GPx ve GST enzim miktarları belirlenmiştir.

Süperoksit dismutaz (SOD) enzimi

Toplam SOD tayininde Marklund ve Marklund [1974] metodu kullanılarak pyrogallol'un 3 dakikada 440 nm'de alkali ortamda otooksidasyonu ile yükselen absorbans ölçüldü. Bir ünite toplam SOD aktivitesi pyrogallol'un otooksidasyonun % 50 inhibiyonuna sebep olan protein miktarı olarak hesaplandı. Daha sonra homojenattaki 1mg protein başına toplam SOD aktivitesi U/mg protein olarak verilmiştir.

Katalaz (CAT) enzimi

Katalaz enziminin aktivite tayini Aebi [1984] tarafından belirtilen metod ile yapılmıştır. Spektrofotometrede absorbans okumadan önce elde edilen süpernatanta peroksizomlardaki katalazı açığa çıkarmak için Triton X-100 ilave edildi, daha sonra üzerine hidrojen peroksit eklendi ve enzimatik reaksiyon başlatılmıştır. Üç dakika boyunca 240 nm'de H_2O_2 'in parçalanmasını gösteren azalan absorbans ölçülmüştür. Sabit sayı, (ϵ_{240} : 0,0394 mM/cm) kullanılarak birim zaman başına absorbansdaki değişimler katalaz aktivitesinin ölçümü olarak alınmıştır. Enzim aktivitesi mmol/mg protein/dk birimiyle verilmiştir.

Glutasyon peroksidaz (GPx) enzimi

Glutasyon peroksidaz tayini Paglia ve Valentine [1967] tarafından belirtilen metoda göre yapıldı. Bu metod okside glutasyon (GS-SG) ve NADPH'ı substrat olarak kullanan glutasyon redüktazın 340 nm'de Nikotinamid-adenin-dinükleotid hidrojen fosfat (NADPH)'ı okside etmesi ile meydana gelen azalan absorbansın ölçülmesi esasına dayanmaktadır. NADPH'ın Nikotinamid-adenin-dinükleotid fosfat (NADP)'a yükseltgenmesi 340 nm'de absorbansın azalmasına sebep olur, böylece dolaylı olarak GPx'in aktivitesinin tespitinde kullanılmaktadır. Bu karışımın üzerine hidrojen peroksit eklenerek enzimatik reaksiyon başlatıldı ve 3 dakika boyunca 340 nm'de azalan absorbanslar okunmuştur. GPx aktivitesi (ϵ_{340} : 6220 M/cm) 1 dakikada

1 mg protein tarafından harcanan NADPH miktarı olarak hesaplanmış ve enziminin spesifik aktivitesi nmol/mg protein/dk olarak verilmiştir.

Glutasyon-S-transferaz (GST) enzimi

Glutasyon S-transferaz tayini Habig ve ark., [1974] tarafından geliştirilen metoda göre yapılmıştır. GST'nin bütün izozimleri için 1-chloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) substrat olarak kullanılmaktadır. GST enzimi tarafından CDNB, indirgenmiş glutasyon (GSH) ile konjuge edilerek glutasyonun oksidasyonuna bağlı olarak 340 nm'de absorbans yükselmektedir. Enzim aktivitesinin tayini için 3 dakika boyunca 340 nm'de yükselen absorbanslar okunmuştur. Enzim aktivitesi 340 nm'de (ϵ_{340} : 9.6 mM/cm) 1 dakikada süpernatantta bulunan 1 mg toplam protein başına oluşturulan tioeter miktarı olarak hesaplanmış ve enzimin spesifik aktivitesi μ mol/mg protein/dk olarak verilmiştir.

3.7. Işık Mikroskobu İncelemeleri

Karaciğer dokularının ışık mikroskobu incelemeleri için alınan dokular %10 nötral formalin fiksativi içinde 24 saat tespit edilmiştir. Yıkama ve dehidrasyon işlemlerinden sonra dokular parafin bloklar haline getirilmiştir. Hazırlanan parafin bloklardan mikrotom (Microm) ile 5-6 μ kalınlığında kesitler alınmıştır. Alınan kesitler hematoksilin-eozin boyası ile boyanmış, fotoğraf makinesi ataçmanlı mikroskopta (Olympus E-330, Tokyo, Japan) incelenmiş ve fotoğrafları çekilmiştir. Her bir hayvandan alınan karaciğer dokusu örneklerinden 10 preparat incelenmiştir. Her preparat infiltrasyon, sinuzoidlerde genişleme, konjesyon ve Kupffer hücre sayısındaki artış, binükleasyon, piknoz ve ödem açısından değerlendirilmiştir. Tüm gruptaki preparatlar patolojik bulguların derecesine göre (-)yok, (+)az, (++)orta ve (+++)çok şeklinde çizelgede gösterilmiştir (Çizelge 3.1.).

3.8. İstatistiksel Analizler

Tezde kullanılan istatistiksel veriler Windows SPSS 11.0 bilgisayar programında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey testi kullanılarak değerlendirilmiştir. $P < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Karaciğer Fonksiyon Testlerinin Değerlendirilmesi

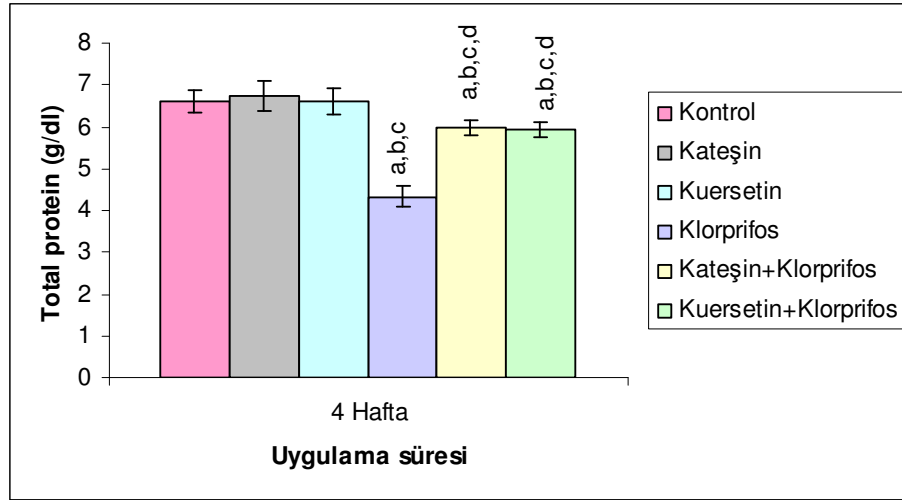
Ratlara klorprifos, kateşin, kuersetin, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos verildikten 4 hafta sonra elde edilen biyokimyasal veriler kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak değerlendirildi. Buna ilaveten klorprifos muameleli grup ile kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos muameleli gruplar karşılaştırıldı. Her bir biyokimyasal parametre grafik olarak verildi (Şekil 4.1–4.8). 4 hafta sonunda kontrol grubu ile kateşin ve kuersetin, muameleli gruplar kıyaslandığında biyokimyasal parametrelerin hiçbirinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi. Fonksiyon testleri, hepatik fonksiyon değişiklikleri ve lipid profillerindeki değişiklikler olarak iki alt başlık altında incelendi.

4.1.1. Hepatik fonksiyon değişiklikleri

Total protein, albümin, AST, ALT, ALP ve LDH hepatik fonksiyonun bazı göstergeleridir. Deneyin 4. haftasının sonunda kontrol grubu ile klorprifos muameleli grup kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos muameleli gruplar kıyaslandığında total protein (Şekil 4.1) ve albümin (Şekil 4.2) seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalırken ($P<0,05$), AST, ALT, ALP ve LDH seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttı ($P<0,05$) (Şekil 4.3-4.6).

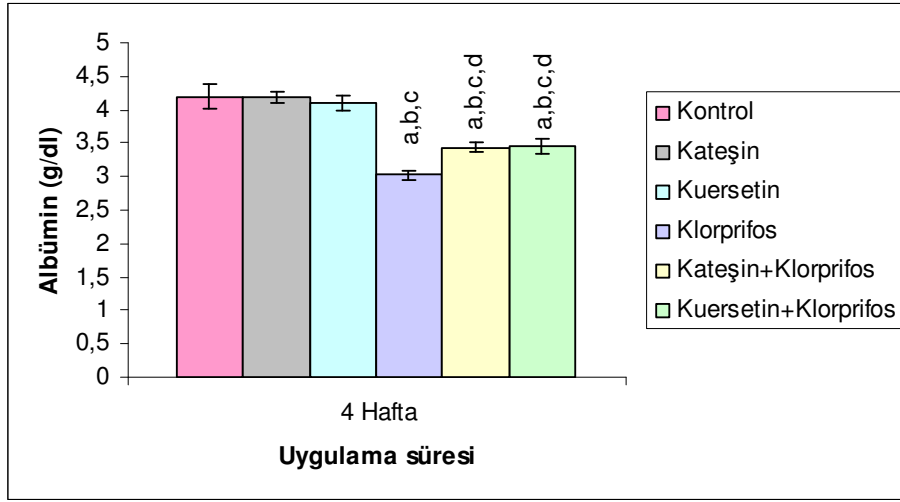
Deneyin 4. haftasının sonunda kateşin ve kuersetin muameleli gruplar ile klorprifos muameleli grup ve kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos muameleli grup karşılaştırıldığında total protein (Şekil 4.1) ve albümin (Şekil 4.2) seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalırken ($P<0,05$), AST, ALT, ALP ve LDH seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttı ($P<0,05$) (Şekil 4.3-3.6).

Deneyin 4. haftasının sonunda klorprifos muameleli grup ile kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos muameleli grup karşılaştırıldığında total protein (Şekil 4.1), albümin (Şekil 4.2) seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edildi. AST, ALT, ALP ve LDH seviyelerinde ise istatistiksel olarak anlamlı azalma meydana geldi ($P<0,05$) (Şekil 4.3-4.6).



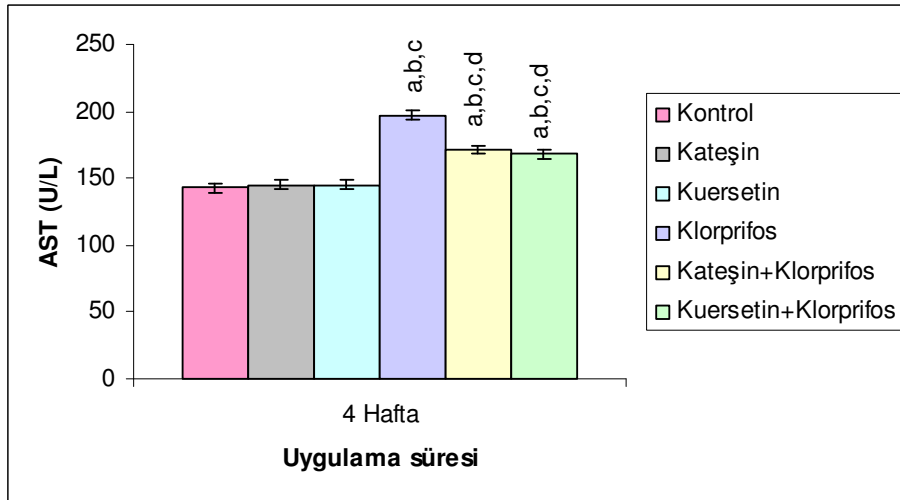
Şekil 4.1. Kontrol grupları ve uygulama gruplarının serum total protein profili

^aKontrol grubu ile diğer uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^bKateşin uygulamalı grup ile kuersetin, klorprifos, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^cKuersetin uygulamalı grup ile klorprifos, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^dKlorprifos uygulamalı grup ile kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. n=6, Ortalama±Standart Sapma ($P<0,05$)



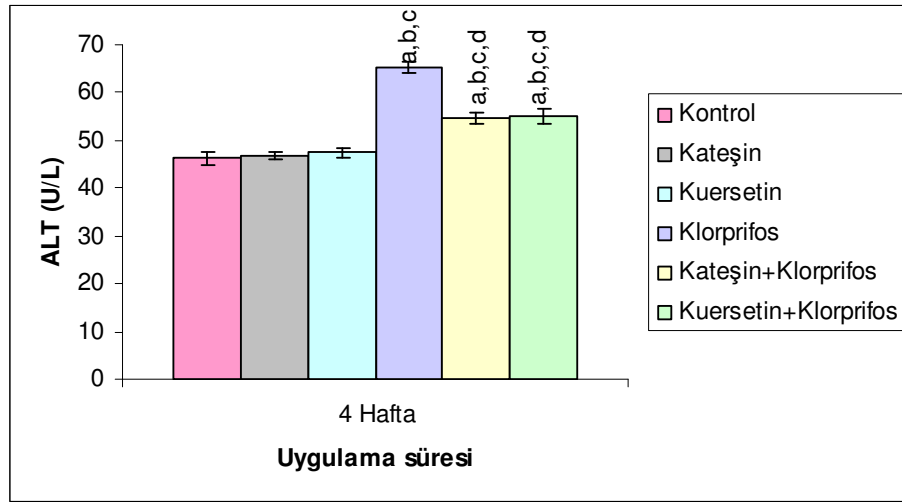
Şekil 4.2. Kontrol grupları ve uygulama gruplarının serum albümin profili

^aKontrol grubu ile diğer uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^bKateşin uygulamalı grup ile kuersetin, klorprifos, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^cKuersetin uygulamalı grup ile klorprifos, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^dKlorprifos uygulamalı grup ile kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. n=6, Ortalama±Standart Sapma (P<0,05)



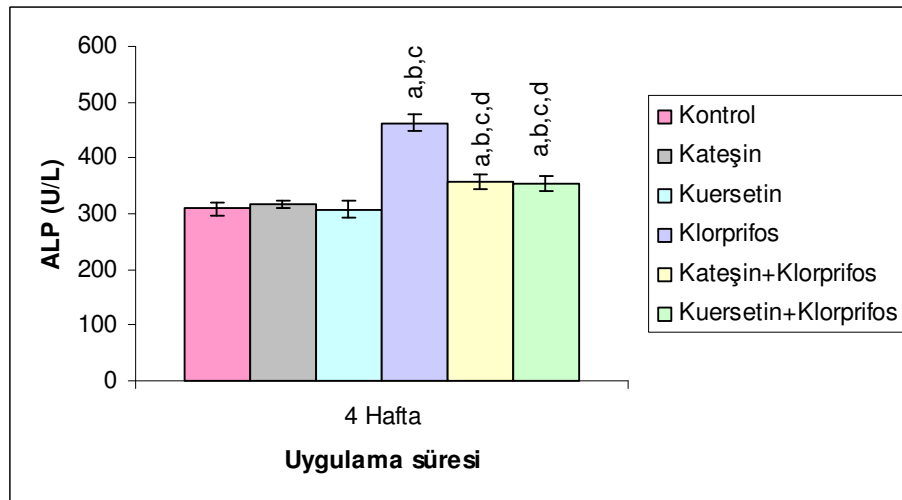
Şekil 4.3. Kontrol grupları ve uygulama gruplarının serum AST profili

^aKontrol grubu ile diğer uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^bKateşin uygulamalı grup ile kuersetin, klorprifos, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^cKuersetin uygulamalı grup ile klorprifos, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^dKlorprifos uygulamalı grup ile kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. n=6, Ortalama±Standart Sapma (P<0,05)



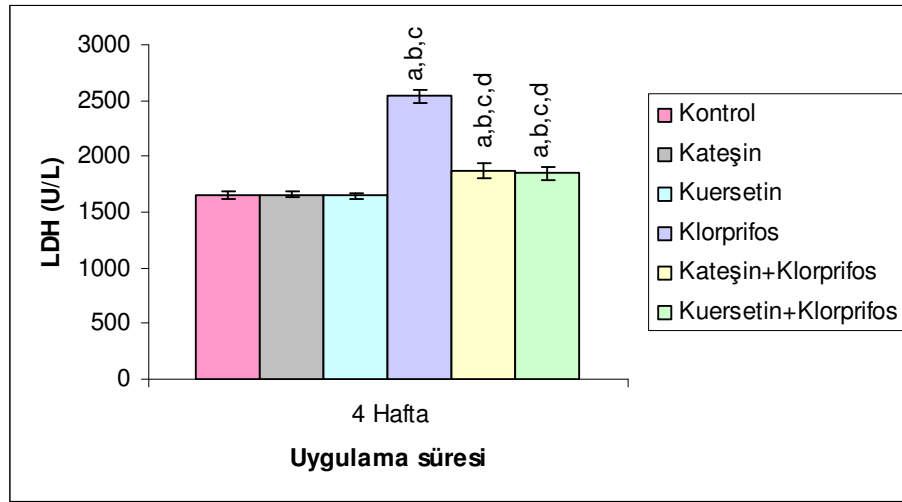
Şekil 4.4. Kontrol grupları ve uygulama gruplarının serum ALT profili

^aKontrol grubu ile diğer uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^bKateşin uygulamalı grup ile kuersetin, klorprifos, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^cKuersetin uygulamalı grup ile klorprifos, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^dKlorprifos uygulamalı grup ile kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. n=6, Ortalama±Standart Sapma (P<0,05)



Şekil 4.5. Kontrol grupları ve uygulama gruplarının serum ALP profili

^aKontrol grubu ile diğer uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^bKateşin uygulamalı grup ile kuersetin, klorprifos, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^cKuersetin uygulamalı grup ile klorprifos, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^dKlorprifos uygulamalı grup ile kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. n=6, Ortalama±Standart Sapma (P<0,05)



Şekil 4.6. Kontrol grupları ve uygulama gruplarının serum LDH profili

^aKontrol grubu ile diğer uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^bKateşin uygulamalı grup ile kuersetin, klorprifos, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^cKuersetin uygulamalı grup ile klorprifos, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^dKlorprifos uygulamalı grup ile kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. n=6, Ortalama±Standart Sapma (P<0,05)

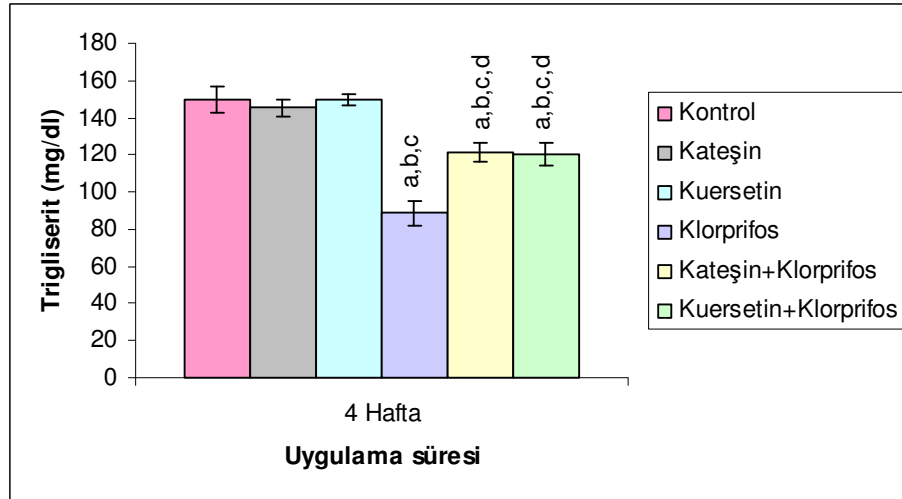
4.1.2. Lipit profillerindeki değişiklikler

Deneyin 4. haftasının sonunda kontrol grubu ile klorprifos muameleli grup ve kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos muameleli grup kıyaslandığında total kolesterol seviyesi istatistiksel olarak anlamlı şekilde artarken (P<0,05) trigliserit seviyesi istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldı (P<0,05) (Şekil 4.7-4.8).

Deneyin 4. haftasının sonunda kateşin ve kuersetin muameleli gruplar ile klorprifos muameleli grup ve kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos muameleli gruplar karşılaştırıldığında total kolesterol seviyesi istatistiksel olarak anlamlı şekilde artarken (P<0,05) trigliserit seviyesi istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldı (P<0,05) (Şekil 4.7-4.8).

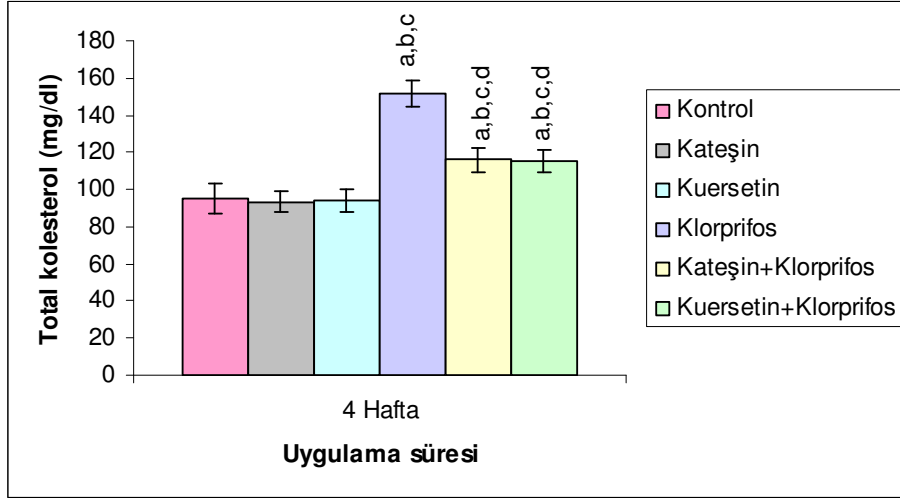
Deneyin 4. haftasının sonunda klorprifos grubu ile kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos muameleli grup karşılaştırıldığında total kolesterol seviyesinde

istatistiksel olarak anlamlı azalma ($P<0,05$), trigliserit seviyesinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir artma meydana geldi ($P<0,05$) (Şekil 4.7-4.8).



Şekil 4.7. Kontrol grupları ve uygulama gruplarının serum trigliserit profili

^aKontrol grubu ile diğer uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^bKateşin uygulamalı grup ile kuersetin, klorprifos, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^cKuersetin uygulamalı grup ile klorprifos, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^dKlorprifos uygulamalı grup ile kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. n=6, Ortalama±Standart Sapma ($P<0,05$)



Şekil 4.8. Kontrol grupları ve uygulama gruplarının serum total kolesterol profili

^aKontrol grubu ile diğer uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^bKateşin uygulamalı grup ile kuersetin, klorprifos, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^cKuersetin uygulamalı grup ile klorprifos, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^dKlorprifos uygulamalı grup ile kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. n=6, Ortalama±Standart Sapma (P<0,05)

4.2. Hematolojik Sonuçların Değerlendirilmesi

Ratlara klorprifos, kateşin, kuersetin, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulaması yapıldıktan 4 hafta sonra elde edilen hematolojik veriler kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak değerlendirildi. Buna ilaveten klorprifos muameleli grup ile kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos muameleli gruplar kıyaslandı. 4 hafta sonunda kontrol grubu ile kateşin ve kuersetin muameleli gruplar kıyaslandığında hematolojik parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi. Hematolojik parametreler tablo halinde verilmiştir (Çizelge 4.1).

Deneyin 4. haftasının sonunda eritrosit (RBC), hemoglobin (Hb), hematokrit (Hct), ortalama eritrosit hemoglobini (MCH), ortalama eritrosit hacmi (MCV) ve ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) parametreleri incelendiğinde tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir (Çizelge 4.1).

Deneyin 4. haftasının sonunda kontrol grubu ile klorprifos muameleli grup, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos muameleli gruplar kıyaslandığında lökosit (WBC) seviyesi ve trombosit (PLT) seviyesi istatistiksel olarak anlamlı şekilde artış göstermiştir ($P<0,05$) (Çizelge 4.1).

Deneyin 4. haftasının sonunda klorprifos muameleli grup ile kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos muameleli grup karşılaştırıldığında lökosit (WBC) ve trombosit (PLT) seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma meydana geldiği görülmüştür ($P<0,05$) (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Klorprifosun subakut maruziyetinin hematolojik parametreler üzerine etkisi

Parametreler	Kontrol	Kateşin	Kuersetin	Klorprifos	Kateşin+Klorprifos	Kuersetin+Klorprifos
RBC (M/Ül)	8,38±0,41	8,05±0,29	8,29±0,31	8,29±0,46	8,32±0,51	8,41±0,26
Hemoglobin (g/dL)	16,23±0,75	15,53±0,53	16,3±0,42	16,25±0,53	16,23±0,58	16,21±0,47
Hematokrit (%)	43,62±1,51	42,21±1,04	43,73±1,31	44,15±1,14	43,51±1,19	44,35±1,06
WBC (K/Ül)	6,01±1,06	7,46±0,84	6,86±0,97	15,64±1,99 ^{abc}	9,74±0,82 ^{a,b,c,d}	9,96±1,27 ^{a,b,c,d}
MCH (Pg)	19,15±0,76	19,18±0,41	19,61±0,40	19,20±1,00	19,01±0,88	19,51±0,59
MCV (fL)	53,7±1,52	51,65±0,96	53,10±1,53	52,46±2,42	51,95±2,40	52,73±1,28
MCHC (g/dL)	36,28±0,37	36,91±0,90	36,86±0,52	36,81±0,70	36,31±0,58	36,58±0,82
Trombosit (K/uL)	685,21±40,08	681,74±46,23	664,66±57,48	890,61±68,07 ^{abc}	787,73±24,23 ^{a,b,c,d}	770,11±23,23 ^{a,b,c,d}

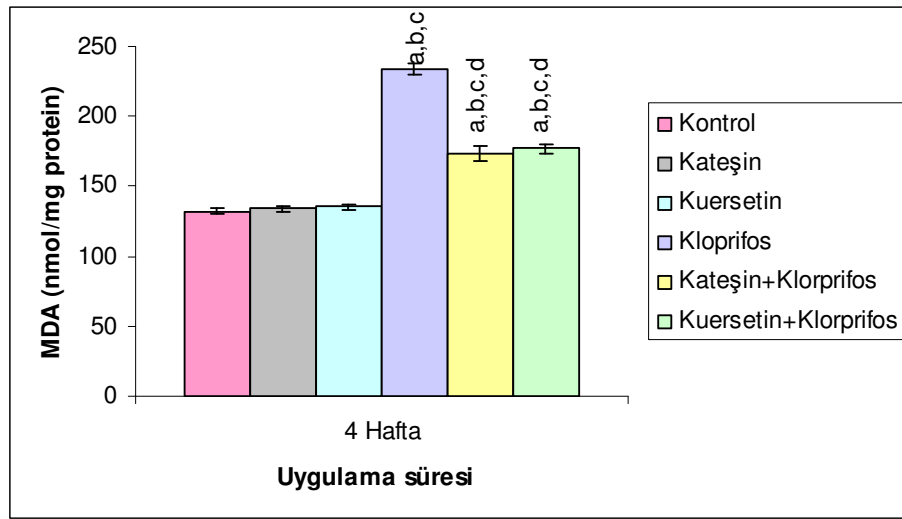
Her grupta 6 rat yer almaktadır ve değerler bunların ortalaması±Standart sapmadır (SD) (P<0,05).

^aKontrol grubu ile diğer uygulama gruplarının karşılaştırılması. ^bKateşin muameleli grup ile kuersetin, klorprifos, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^cKuersetin muameleli grup ile klorprifos, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos muameleli grupların karşılaştırılması. ^dKlorprifos muameleli grup ile kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos muameleli grupların karşılaştırılması. n=6, Ortalama±Standart Sapma (P<0,05)

4.3. Malondialdehit Miktarının ve Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

4.3.1. Malondialdehit miktarının değerlendirilmesi

Malondialdehit (MDA) seviyesi bakımından kontrol, kateşin ve kuersetin grupları arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark gözlenmedi. Klorprifos muameleli grupta kontrol grubuna göre MDA seviyesinde istatistiksel açıdan önemli bir artış gözlemlendi ($P<0,05$). Kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos gruplarında kontrol grubuna göre MDA seviyesinde anlamlı bir artış gözlemlendi ($P<0,05$). Kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos muameleli grup ile klorprifos muameleli grup karşılaştırıldığında MDA miktarı bakımından anlamlı bir azalma tespit edildi ($P<0,05$) (Şekil 4.9).



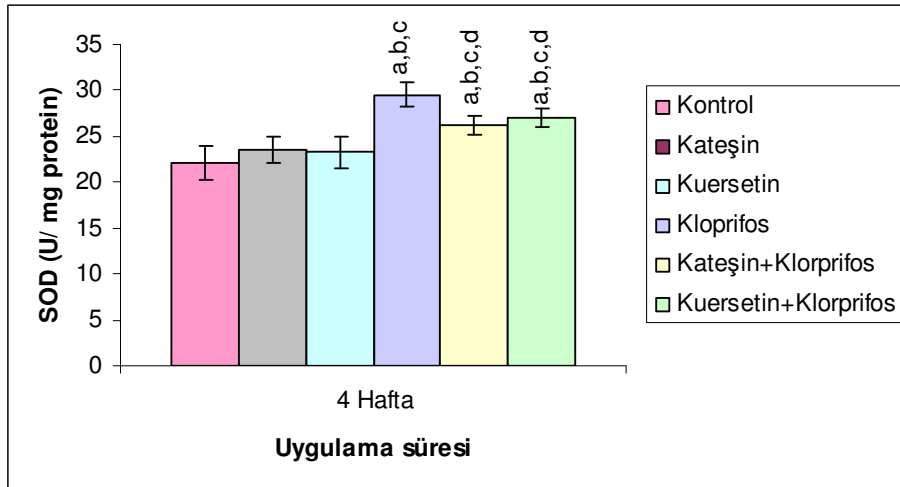
Şekil 4.9. Kontrol grubu ve uygulama gruplarının MDA seviyeleri

^aKontrol grubu ile diğer uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^bKateşin uygulamalı grup ile kuersetin, klorprifos, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^cKuersetin uygulamalı grup ile klorprifos, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^dKlorprifos uygulamalı grup ile kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. n=6, Ortalama±Standart Sapma ($P<0,05$)

4.3.2. Antioksidan enzim aktivitelerinin değerlendirilmesi

Süperoksit dismutaz enzim aktivitesi

Dört hafta süren deneyin sonunda elde edilen karaciğer dokularında süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktiviteleri ölçüldü. Kontrol grubu, kateşin grubu ve kuersetin grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi. Klorprifos muameleli grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında klorprifos grubunda istatistiksel olarak önemli derecede artış gözlemlendi ($P<0,05$). Kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos gruplarında da kontrol grubuna göre SOD aktivitesinde anlamlı bir artış gözlemlendi ($P<0,05$). Kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos muameleli grup ile klorprifos muameleli grup karşılaştırıldığında SOD aktivitesi bakımından anlamlı bir azalma tespit edildi ($P<0,05$) (Şekil 4.10).

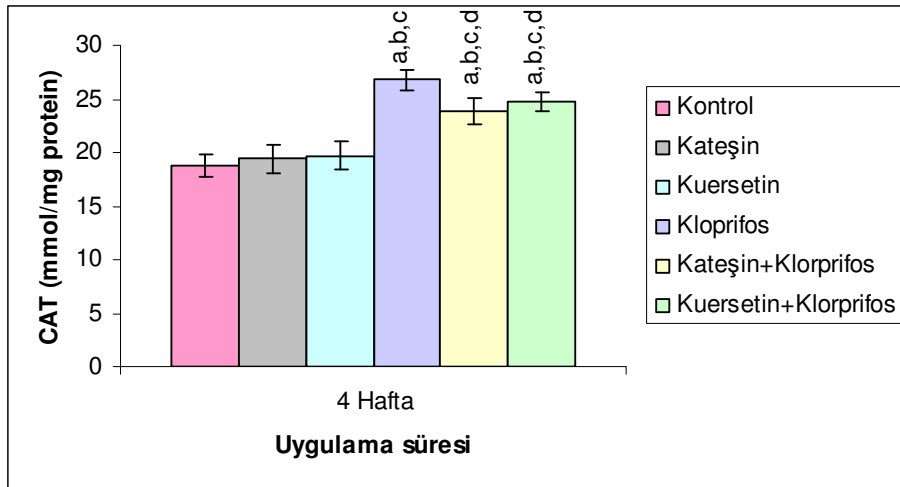


Şekil 4.10. Kontrol grubu ve uygulama gruplarının SOD seviyeleri

^aKontrol grubu ile diğer uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^bKateşin uygulamalı grup ile kuersetin, klorprifos, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^cKuersetin uygulamalı grup ile klorprifos, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^dKlorprifos uygulamalı grup ile kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. n=6, Ortalama±Standart Sapma ($P<0,05$)

Katalaz enzim aktivitesi

Dördüncü haftanın sonunda CAT enzim aktivitesi bakımından bütün gruplar karşılaştırıldı. Kontrol grubu, kateşin grubu ve kuersetin grubu arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark gözlenmedi. Klorprifos muameleli grupta kontrol grubuna göre CAT aktivitesinde istatistiksel açıdan önemli bir artış gözlemlendi ($P<0,05$). Kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos gruplarında CAT aktivitesi bakımından kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gözlemlendi ($P<0,05$). Kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos gruplarında klorprifos muameleli gruba göre enzim aktivitesinde anlamlı bir azalma tespit edildi ($P<0,05$) (Şekil 4.11).

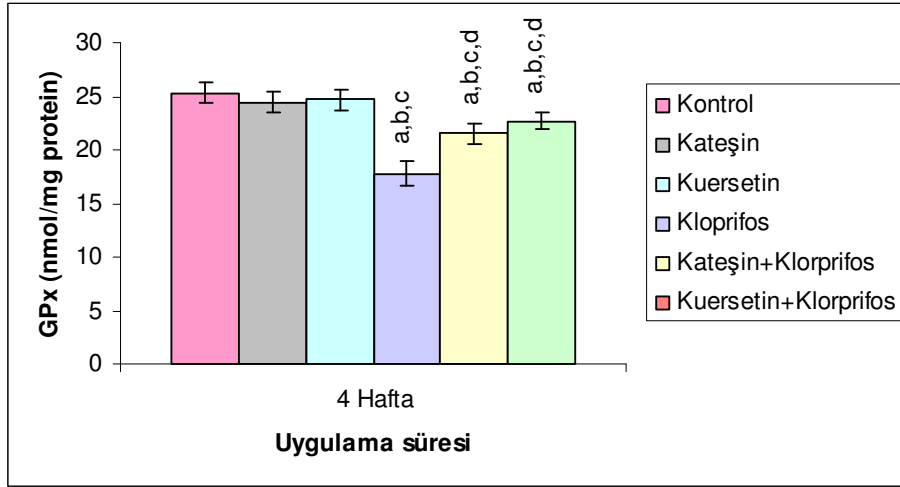


Şekil 4.11. Kontrol grubu ve uygulama gruplarının CAT seviyeleri

^aKontrol grubu ile diğer uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^bKateşin uygulamalı grup ile kuersetin, klorprifos, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^cKuersetin uygulamalı grup ile klorprifos, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^dKlorprifos uygulamalı grup ile kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. n=6, Ortalama±Standart Sapma ($P<0,05$)

Glutasyon peroksidaz enzim aktivitesi

Kontrol grubu, kateşin grubu ve kuersetin grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak bir değişiklik gözlenmedi. Ancak klorprifos ile muamele edilen grupta glutasyon peroksidaz (GPx) düzeyinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi ($P<0,05$). Kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos grupları GPx aktivitesi bakımından kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi ($P<0,05$). Kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos grupları klorprifos grubu ile karşılaştırıldığında iki grupta da klorprifos grubuna göre GPx aktivitesinde anlamlı bir artışın meydana geldiği gözlemlendi ($P<0,05$) (Şekil 4.12).

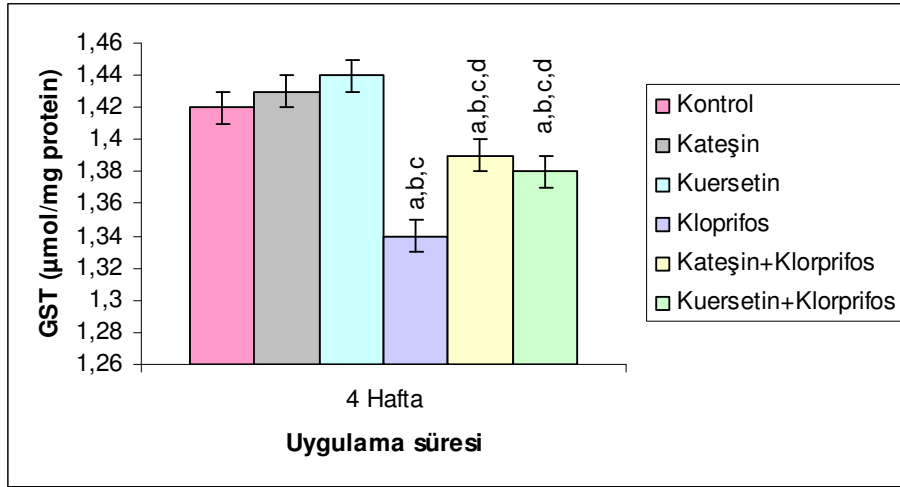


Şekil 4.12. Kontrol grubu ve uygulama gruplarının GPx seviyeleri

^aKontrol grubu ile diğer uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^bKateşin uygulamalı grup ile kuersetin, klorprifos, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^cKuersetin uygulamalı grup ile klorprifos, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^dKlorprifos uygulamalı grup ile kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. n=6, Ortalama±Standart Sapma ($P<0,05$)

Glutatyon-S-Transferaz enzim aktivitesi

Deney süresinin sonunda karaciğer dokularında Glutatyon-S-Transferaz (GST) seviyeleri ölçüldü. Kontrol grubu, kateşin grubu ve kuersetin grubu arasında herhangi bir değişiklik gözlenmedi. Ancak klorprifos ile muamele edilen grupta GST düzeyinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi ($P<0,05$). Kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos grupları GST aktivitesi bakımından kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi ($P<0,05$). Kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos grupları klorprifos grubu ile karşılaştırıldığında iki grupta da GST aktivitelerinde klorprifos grubuna göre anlamlı bir artışın meydana geldiği gözlemlendi ($P<0,05$) (Şekil 4.13).



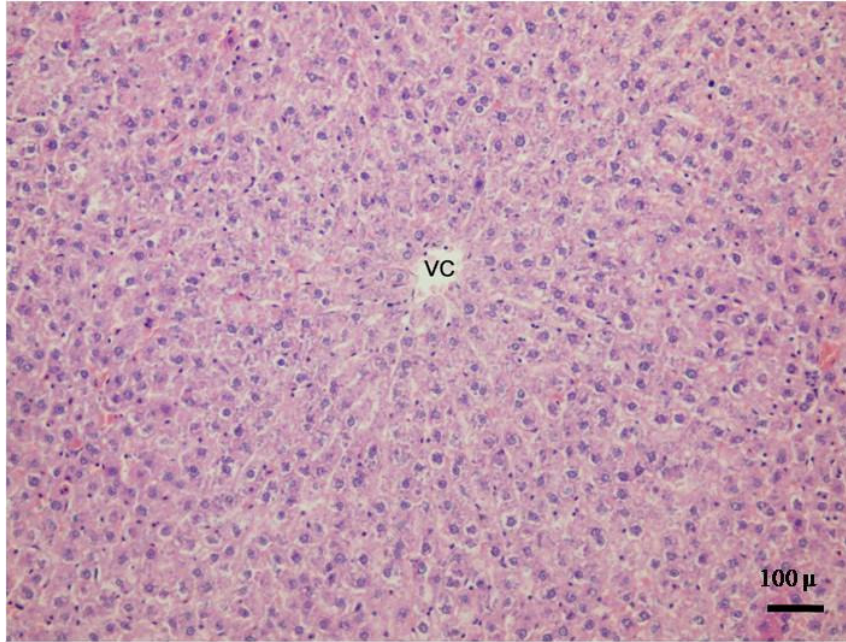
Şekil 4.13. Kontrol grubu ve uygulama gruplarının GST seviyeleri

^aKontrol grubu ile diğer uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^bKateşin uygulamalı grup ile kuersetin, klorprifos, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^cKuersetin uygulamalı grup ile klorprifos, kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. ^dKlorprifos uygulamalı grup ile kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos uygulamalı grupların karşılaştırılması. n=6, Ortalama±Standart Sapma ($P<0,05$)

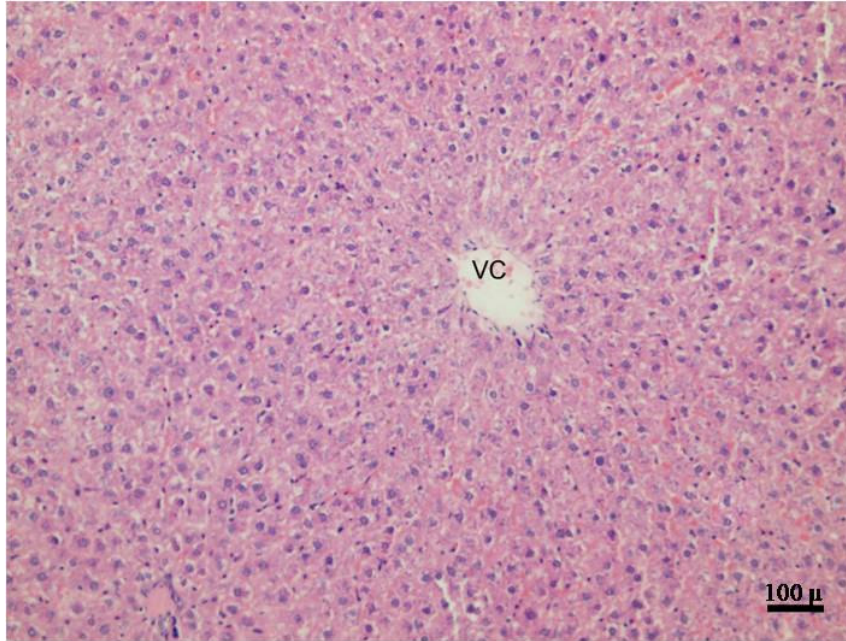
4.4. Işık Mikroskobu Bulgularının Değerlendirilmesi

Kontrol grubu ile kateşin ve kuersetin muameleli ratların karaciğerler dokuları normal histolojik yapıda izlendi (Resim 4.1-4.3). Karaciğerin yapısal birimleri karaciğer lobülleridir. Her bir lobül merkez ven çevresine radyal olarak yerleşmiş hücre kordonlarından oluşmaktadır ve hücre kordonları arasında sinüzoidler bulunmaktadır.

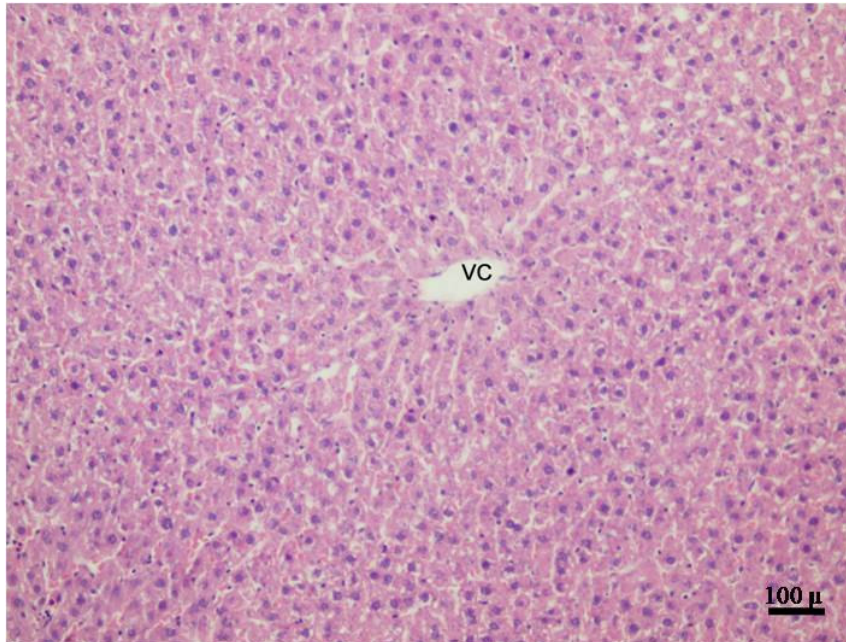
Klorprifos muamelesinden 4 hafta sonra karaciğerde konjesyon, mononükleer hücre infiltrasyonu, sinüzoidlerde genişleme, Kupffer hücre sayısında artış, binükleat hepatositler, sitoplazmada eozinofilide artış, ödem ve piknoz tespit edildi (Resim 4.4-4.9). Kateşin+klorprifos ve kuersetin+klorprifos muamelesinden 4 hafta sonra ise ratların karaciğerinde mononükleer hücre infiltrasyonu, konjesyon, dejenerasyon ve sinüzoidlerde genişleme tespit edildi (Resim 4.10-4.13).



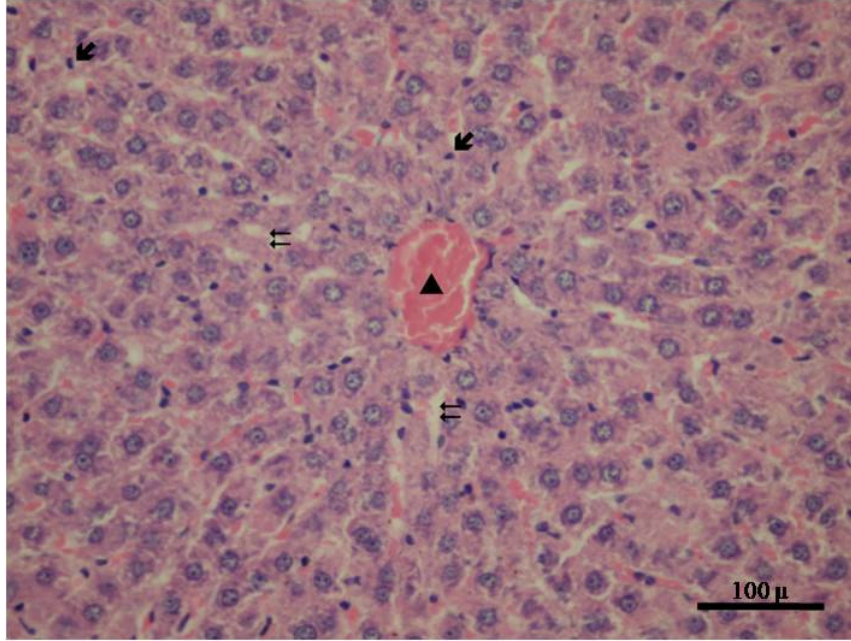
Resim 4.1. Kontrol grubu ratların karaciğerinin histolojik yapısı, VC: Vena sentralis, H&E



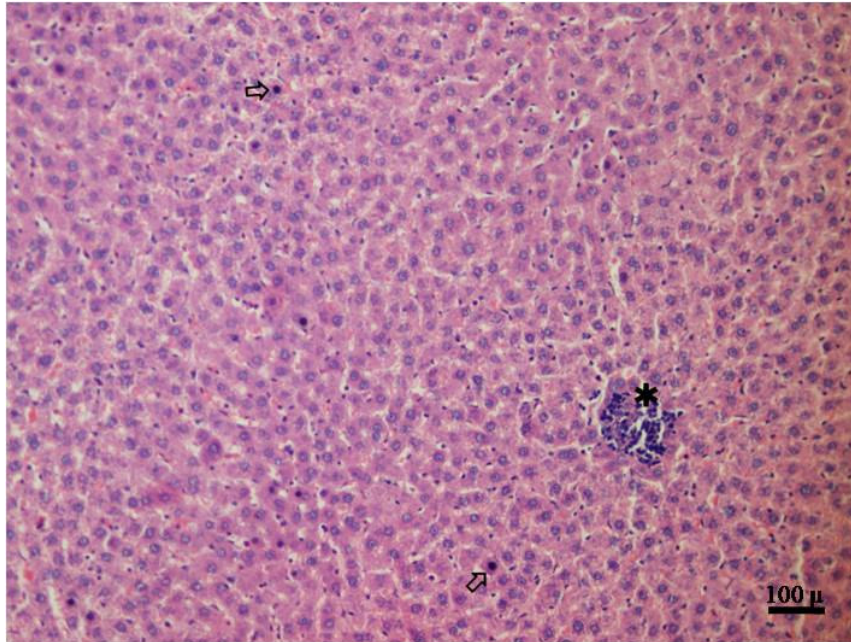
Resim 4.2. Kateşin grubu ratların karaciğerinin histolojik yapısı, VC: Vena sentralis, H&E



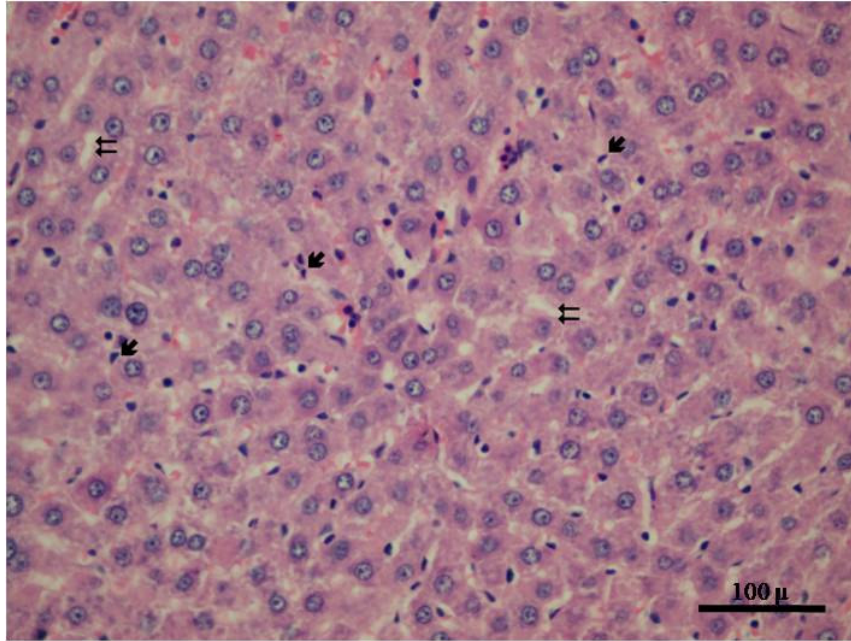
Resim 4.3. Kuersetin grubu ratların karaciğerinin histolojik yapısı, VC: Vena sentralis, H&E



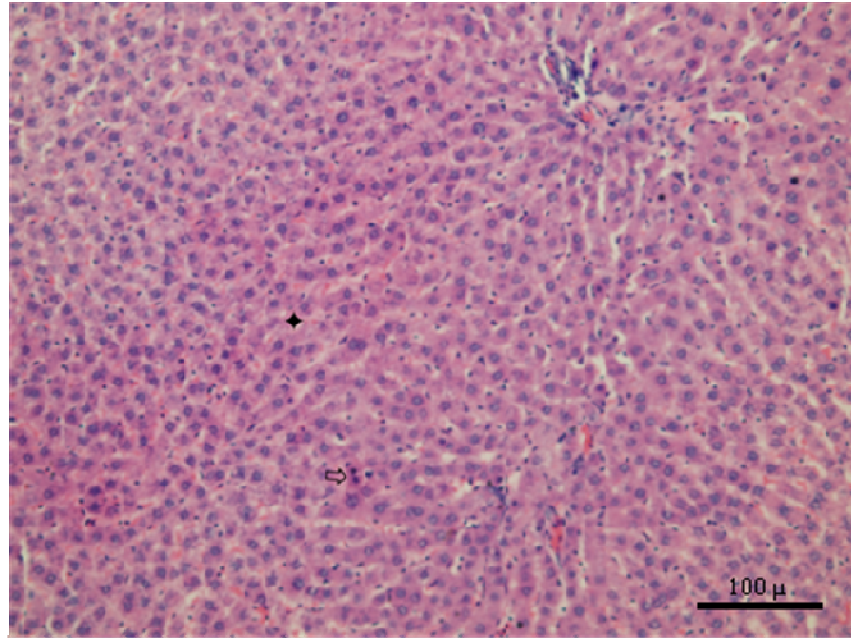
Resim 4.4. Klorprifos muamelesinden 4 hafta sonra ratların karaciğerinde merkezi vende konjesyon (▲), sinüzoidlerde genişleme(⇔), Kupffer hücre sayısında artış (♣),H&E



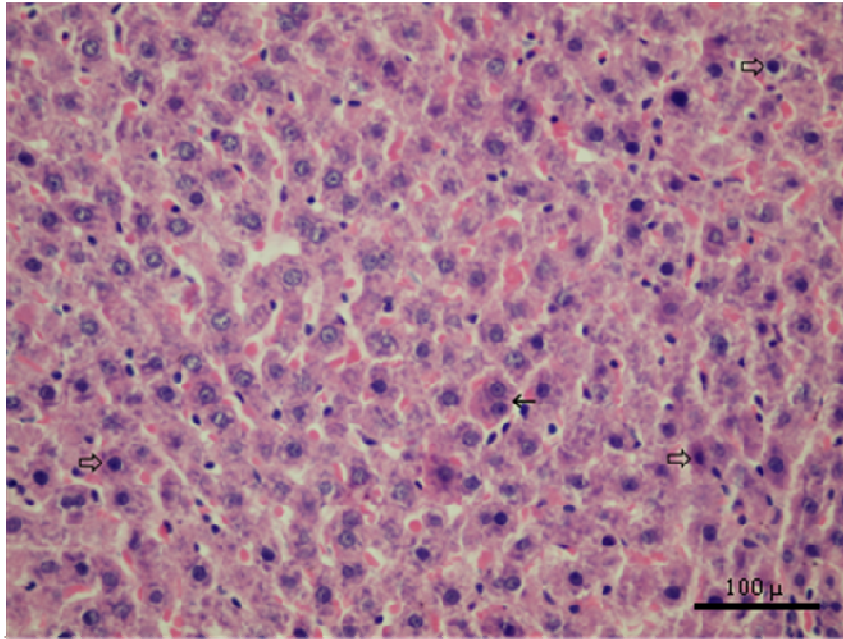
Resim 4.5. Klorprifos muamelesinden 4 hafta sonra ratların karaciğerinde mononükleer hücre infiltrasyonu (*), piknoz (⇨),H&E



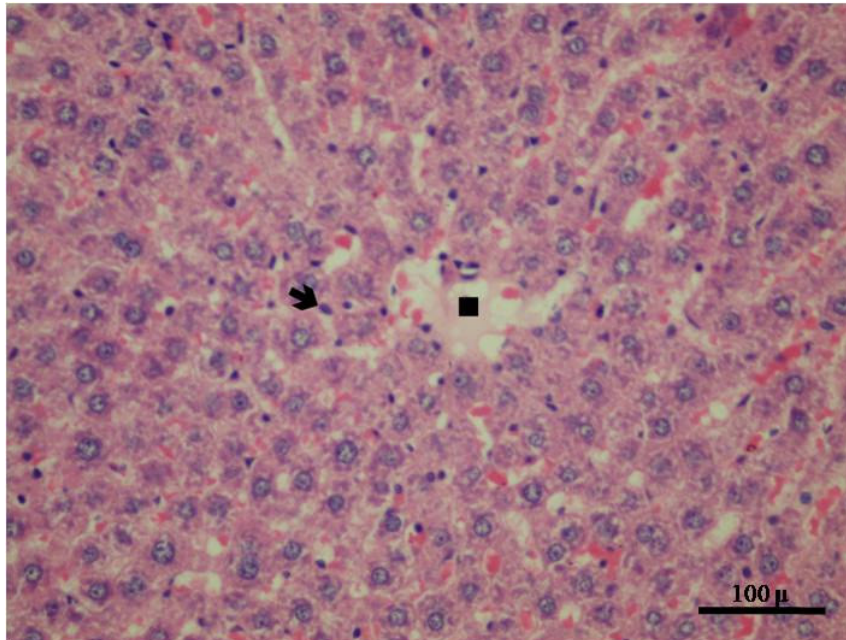
Resim 4.6. Klorprifos muamelesinden 4 hafta sonra ratların karaciğerinde sinüzoidlerde genişleme($\Rightarrow$), Kupffer hücre sayısında artış ($\blacktriangledown$),H&E



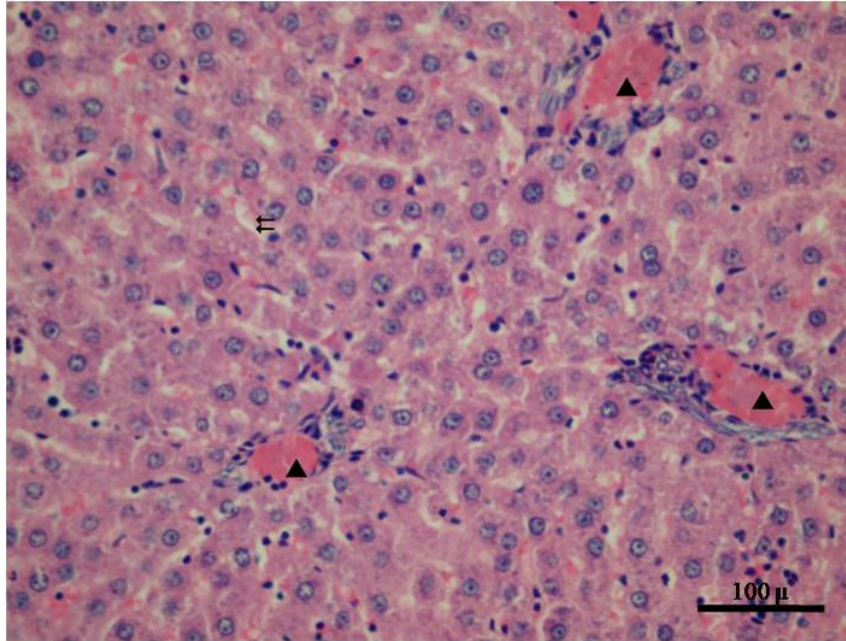
Resim 4.7. Klorprifos muamelesinden 4 hafta sonra ratların karaciğerinde piknoz ($\Rightarrow$), sitoplazmada eozinofilide artış ($\blacklozenge$),H&E



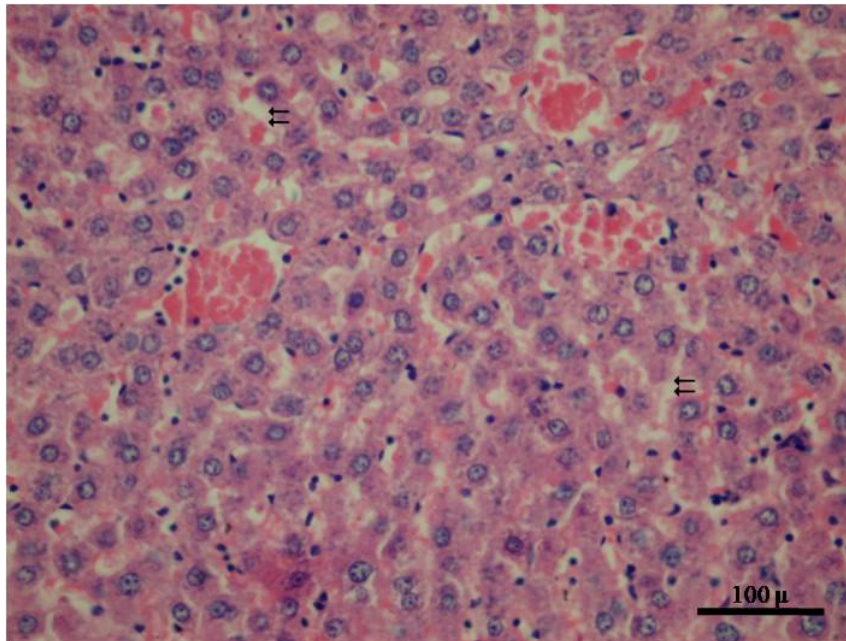
Resim 4.8. Klorprifos muamelesinden 4 hafta sonra ratların karaciğerinde binükleat çekirdek (→), piknoz (⇨),H&E



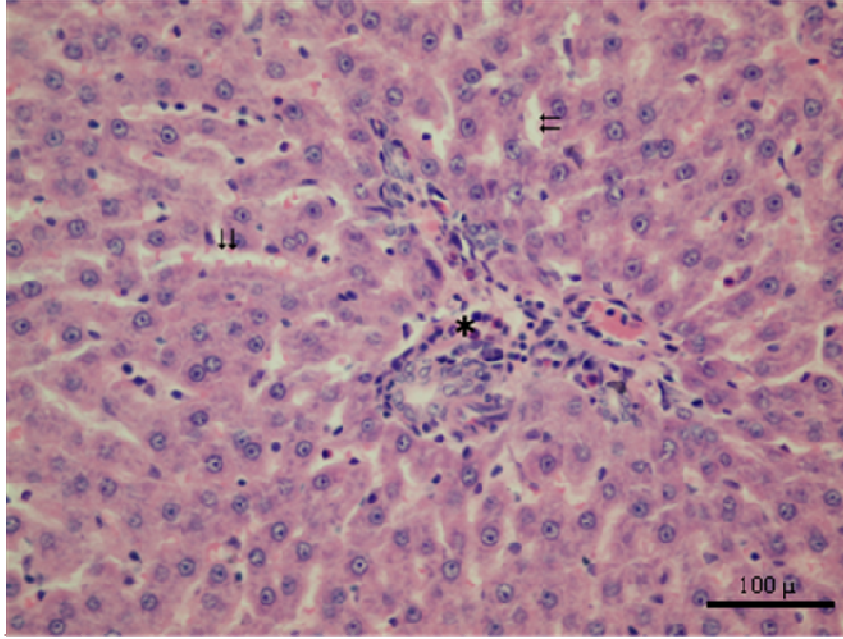
Resim 4.9. Klorprifos muamelesinden 4 hafta sonra ratların karaciğerinde Kupffer hücre sayısında artış (↘), ödem (■),H&E



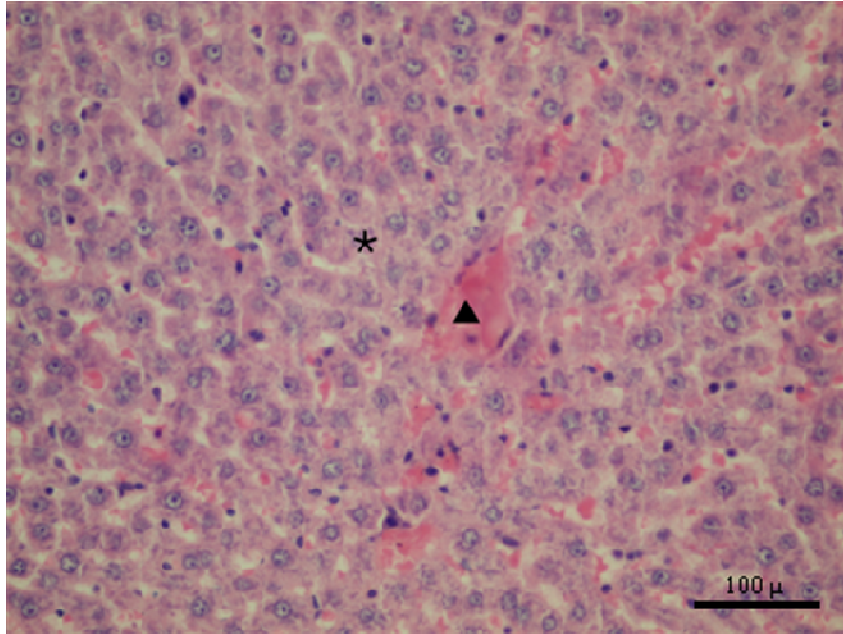
Resim 4.10. Kateşin+Klorprifos muamelesinden 4 hafta sonra ratların karaciğerinde konjesyon (▲), sinüzoidlerde genişleme (⇔),H&E



Resim 4.11. Kateşin+Klorprifos muamelesinden 4 hafta sonra ratların karaciğerinde sinüzoidlerde genişleme (⇔),H&E



Resim 4.12. Kuersetin+Klorprifos muamelesinden 4 hafta sonra ratların karaciğerinde mononükleer hücre infiltrasyonu (*), sinüzoidlerde genişleme (⇔),H&E



Resim 4.13. Kuersetin+Klorprifos muamelesinden 4 hafta sonra ratların karaciğerinde konjesyon (▲), dejenerasyon (*), H&E

Çizelge 4.2. Karaciğer dokusunda histopatolojik bulguların değerlendirilmesi

Patoloji Gruplar	İnfiltrasyon	Sinuzoidlerde genişleme	Konjesyon	Kupffer hücre sayısı	Binükleasyon	Piknoz	Ödem
Kontrol	-	-	-	+	-	-	-
Kateşin	-	-	-	+	-	-	-
Kuersetin	-	-	-	+	-	-	-
Klorprifos	+++	+++	++	+++	++	++	++
Kateşin+Klorprifos	+	+++	++	++	+	+	-
Kuersetin+Klorprifos	++	+++	+	++	+	+	-

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

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ülkemizde bitkilerin korunması daha çok kimyasal insektisitler kullanılarak yapılmaktadır. Kullanılan insektisitler hem zararlı böceklerin bu insektisitlere dayanıklılık kazanmasına sebep olmakta hem de çevredeki faydalı böcekleri, kuşları, balıkları ve hatta insanları etkileyerek ekolojik dengeyi bozmaktadırlar [Demirbağ ve ark., 2008].

Bu insektisitler zararlılardan daha çok, zararlıların doğal düşmanları olan predatör ve parazitoidleri ortadan kaldırarak, zararlı sayılarının daha da fazla artmasına neden olmaktadır. Bunların besinler üzerindeki kalıntıları gelecek nesilleri tehdit etmektedir. Böceklerde oluşan mukavemet nedeniyle günden güne artan dozda kimyasal insektisit kullanımı ve bu insektisitlerin kompleks formülleri hem doğaya daha çok zarar vermekte hem de üretim maliyetlerini arttırmaktadır [Demirbağ ve ark., 2008].

Pestisitler hayvan ve böcek popülasyonlarında azalmalara ve böylece doğal sistemlerinde dengesizliğe yol açmaktadırlar. Ayrıca tarım alanlarındaki kontrolsüz kullanımı ekolojik dengesizliğe yol açar böylece pek çok hedef olmayan organizmalar etkilenmektedir [Celik ve Suzek, 2009].

İnsanlar diyet yoluyla pek çok pestisite maruz kalmaktadırlar [Jacobsen ve ark., 2004]. Pestisitler çeşitli besinleri ve lifli bitkileri böceklerle ve diğer artropodlara karşı koruma amacıyla kullanılır [Farag ve ark., 2003]. Pestisitlerin dokularda ve diğer biyolojik sistemlerde serbest radikal üretimi ile hasar oluşturduğu, oksidatif strese ve lipid peroksidasyonuna yol açtığı bildirilmiştir [Verma ve ark., 2007; Elhalwagy ve ark., 2008].

Epidemiyolojik ve klinik çalışmalarda pestisitlere, metallere, organik toksik bileşenler gibi çevresel faktörlere maruz kalmanın kanser, diyabet, ateroskleroz ve nörodejeneratif bozukluklarla ilişkili olduğu belirtilmiştir. Ayrıca tüm bu durumların da ROS üretimi ile ya da ROS detoksifikasyonunun yetersiz olması nedeniyle

oksidatif stres oluşumuyla bağlantılı olduğu belirtilmiştir [Limón-Pacheco ve Gonsebatt, 2009].

Yapılan pek çok çalışmada çeşitli araştırmacılar OP'li insektisitlerin nörotoksik [Slotkin ve Seidler, 2012], kardiyotoksik [Baş ve Kalender, 2011], genotoksik [Giri ve ark., 2002], teratojenik [Akhtar ve ark., 2006], hepatotoksik [Rezg ve ark., 2008a], nefrotoksik [Uzun ve Kalender, 2011] gibi pek çok olumsuz etkilerini bildirmişlerdir.

CPF, orta dereceli toksik OP'li bir insektisittir [Karanth ve ark., 2004]. Erkek ratlar için klorprifosun oral LD₅₀ dozu 135 mg/kg vücut ağırlığıdır [Goel ve ark., 2007]. Bu tez çalışmasında klorprifosun LD₅₀ dozunun 1/25'i 28 gün boyunca erkek ratlara oral olarak gavaj yoluyla verilmiştir. Uygulama süresince ratların hiçbirinde ölüm meydana gelmemiştir.

Klorprifos geniş spektrumlu bir OP'li insektisittir [Busby-Hjerpe ve ark., 2010; Tripathi ve Srivastav, 2010] ve çevresel kirlenmeye yol açar [Nostrandt ve ark., 1997]. Klorpirifos diğer OP'li insektisitler gibi başlıca toksik etkisini AChE enzimini inhibe ederek gösterir [Farg ve ark., 2003; Jacobsen ve ark., 2004; Verma ve ark., 2007]. CPF'nin mutajenik, karsinojenik ve teratojenik etkileri olduğu belirtilmiştir [Farg ve ark., 2003]. Klorpirifos bağırsaklardan hızlı bir şekilde emilerek çok çabuk kana karışmaktadır. Klorprifosun detoksifikasyonunun ve aktivasyonunun gerçekleştiği organ karaciğerdir [Tripathi ve Srivastav, 2010]. Bu nedenle bu tez çalışmasında CPF'nin 1/25 LD₅₀ dozda karaciğer dokusunda meydana getirdiği etkiler araştırılmıştır.

CPF'nin deney hayvanlarında pek çok dokuda toksik etkiler oluşturduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur [Çetin ve ark., 2007; Joshi ve ark., 2007; Tripathi ve Srivastav, 2010]. Bu tez çalışmasında da CPF'nin hepatotoksik etkisi, CPF'nin karaciğer dokusunda histopatolojik değişimler, antioksidan enzim aktiviteleri ve lipid peroksidasyonu ile kanda biyokimyasal ve hematolojik değişimler göz önüne alınarak araştırılmıştır.

Karaciğer pestisitler gibi pek çok kimyasalın metabolize olduğu başlıca organdır, karaciğerde bu kimyasallar daha toksik ya da daha az toksik hale gelebilmektedirler [Ncibi ve ark., 2008]. CPF lipofilik bir moleküldür ve hücre membranından sitoplazmaya kolaylıkla geçebilmektedir. Böylelikle hücre içinde pek çok hasara yol açmaktadır [Ncibi ve ark., 2008].

Örneğin, Sarabia ve ark., yaptıkları çalışma sonucunda OP'li bir insektisit olan diazinonun DNA yapısında hasar meydana getirdiğini belirterek, bunun diazinonun lipofilik özelliği nedeniyle epididimis epitelinden geçerek ve bu şekilde spermatozoaların olduğu alana ulaşarak gerçekleştirebildiğini belirtmişlerdir [Sarabia ve ark., 2009a]. Bu tez çalışmasında da CPF'nin lipofilik özelliği sebebiyle hücre membranında kolaylıkla geçerek hücrelerde patolojik değişimlere yol açtığı düşünülmektedir.

Bu tez çalışmasında klorprifos uygulanan gruptaki hayvanların karaciğerinde kontrol grubuna kıyasla konjesyon, mononükleer hücre infiltrasyonu, sinuzoidlerde genişleme ve Kupffer hücre sayılarında artış şeklinde histopatolojik değişimler görülmüştür. Kateşin+klorprifos ile kuersetin+klorprifos uygulanan ratların karaciğerinde ise kontrol grubuna kıyasla mononükleer hücre infiltrasyonu, konjesyon ve sinuzoidlerde genişleme tespit edildi. Bu histopatolojik değişimler klorprifos uygulamasına karşı karaciğer dokusunun verdiği bir yanıttır. Kupffer hücre sayısındaki artışın nedeni bu hücrelerin hepatik makrofaj olmaları ve fagositik özelliğe sahip olmaları dolayısıyla da nekrotik dokuda arta kalan yapıları ortadan kaldırmaları nedeniyle açıklanabilir [Tripathi ve Srivastav, 2010]. CPF serbest radikal oluşumuna yol açarak hücre membranında hasara neden olduğu düşünülmektedir [Goel ve ark., 2005]. Klorprifosun oksidatif strese yol açtığı bilinmektedir [Verma ve ark., 2007]. Bu hücresel hasarda histopatolojik değişimlere ve biyokimyasal değişimler oluşmasını desteklemektedir. Pestisitlerde yapılan pek çok çalışmada olduğu gibi bu çalışmada da klorprifos uygulaması ratlarda infiltrasyona ve konjesyona yol açmıştır. Bunlar da karaciğer hasarının birer göstergeleridir [Kalender ve ark., 2010].

Kostka ve ark., deney hayvanlarına uyguladıkları pestisit sonucu inceledikleri karaciğer örneklerinde binükleat sayısında artış tespit etmişlerdir. Bu tez çalışmasında da CPF uygulaması yapılan hayvanların hepatositlerinin pek çoğunda binükleasyon gözlenmiştir. Araştırmacılar binükleasyonun hem fizyolojik hem de patolojik durumlarda gelişebileceğini belirtirken, muhtemelen sitokinezin baskılanması veya ifadesinde hatadan kaynaklanabileceği ya da sitokinez olayında rol oynayan proteinlerin fosforilasyon/defosforilasyonundan dolayı olabileceğini belirtmişlerdir [Kostka ve ark., 2000].

Klorprifosla yapılan bir çalışmada, farklı dozlarda ve yaklaşık 8 hafta süren uzun süreli kloririfos uygulamasında erkek ratların karaciğerinde hepatik vakuolizasyon, hepatositlerde dejenerasyon, hiperkromatik ve hipertrofi olmuş çekirdek, Kupffer hücrelerin sayısında artış, sinuzoidal dilatasyon ve fokal nekroz şeklinde histopatolojik değişimler görülmüştür [Tripathi ve Srivastav, 2010].

Yapılan pek çok çalışmada pestisitlere muamele sonucunda kanda serum albümin, total protein, AST, ALT, ALP, LDH, trigliserit ve kolesterol değerleri ile hematolojik parametrelerde değişimler meydana geldiği belirtilmiştir [Kalender ve ark., 2007; Ogutcu ve ark., 2008; Kalender ve ark., 2010]. Bu çalışmada da CPF uygulaması olan deney hayvanlarında ve kuersetin+klorprifos ile kateşin+klorprifos uygulanan gruplardaki deney hayvanlarında kan serum albümin, total proteinlerinde ve trigliserit seviyelerinde azalma, AST, ALT, ALP, LDH ve total kolesterol seviyelerinde kontrol grubuna kıyasla artış tespit edilmiştir. Ayrıca hematolojik parametreler olan lökosit (WBC) ve trombositlerde (PLT) de kontrole kıyasla artış belirlenmiştir.

Bu değişimlerin CPF'nin neden olduğu karaciğer hücre harabiyeti sonucu meydana gelebileceği düşünülmektedir. Çünkü karaciğer hücre membranı hasar gördüğü zaman normalde hücre sitoplazmasında bulunan ALP, ALT, AST ve LDH enzimleri bu hasarla birlikte hücre dışına çıkarak kandaki oranlarında artış meydana getirirler [Kalender ve ark., 2010]. Ayrıca bu enzimlerdeki değişimler hepatotoksisitenin göstergeleri olarak belirtilmektedir [Celik ve ark., 2009]. Serum ya da plazmadaki

karaciğer enzimlerindeki yükseliş dokulardaki hücre membran geçirgenliğinin değişmesi ve aminotransferaz katabolizmasının azalması veya sentezinin artışı nedeniyle gerçekleşebilir [Elhalwagy ve ark., 2008]. Serum LDH aktivitesindeki artış hepatoselüler nekroz nedeniyle enzimin kana salınmasıyla gerçekleşmiş olabilir [Mansour ve Mossa, 2010].

Celik ve ark., OP'li bir insektisit olan diklorvosla yaptıkları çalışmada AST, ALT, LDH ve ALP aktivitelerinin ratlara uygulanan 5 ve 10 ppm'lik dozajlarda artış gösterdiğini belirtmişlerdir [Celik ve ark., 2009].

Benzer çalışmalarda OP'li insektisitlerin total kolesterol ve total lipid seviyelerinde de artışa neden olduğu belirtilmiştir [Ogutcu ve ark., 2008]. Kolesterol memelilerde hücre membranının önemli yapısal bileşenlerindendir. Lipid bilayer tabaka dinamiklerini düzenler ve normal hücre fonksiyonları için gereklidir. Kolesterolün fosfolipidlerle etkileşimi membranda moleküllerin yakınlığını artırır ve küçük moleküllerin pasif geçişine yol açar. Bu nedenle, antioksidanların lipid tabakadaki yerleşimi, düzeni ve birbirleriyle teması, membrandaki kolesterol konsantrasyonunun değişikliğinden etkilenebilmektedir [López-Revuelta ve ark., 2006].

Albumin karaciğerde sentezlenen, ilaç ve kimyasalların taşınmasında görevli bir proteindir. Yapılan çalışmalarda pestisite maruz kalan hayvanlarda plazma proteininde azalma görüldüğü bildirilerek bu azalmanın karaciğer fonksiyonundaki düzensizlik neticesinde karaciğerde meydana geldiği öngörülmüştür [Uzunhisarcikli ve Kalender, 2011]. Total protein ve albumin seviyelerindeki azalma protein metabolizmasında bozukluk olduğuna işaretir [Eraslan ve ark., 2009b].

Önceki çalışmalarda pestisit maruziyeti sonucu karaciğerde lipid metabolizmasının bozulduğuna ve serum kolesterolünün arttığına işaret edilmiştir [Uzunhisarcikli ve Kalender, 2011]. Bu çalışmada da total kolesterolde artış meydana gelmiştir bu artışın nedeni CPF'nin neden olduğu membran hasarı ile veya safra kanalı tıkanmasıyla ilgili de olabilir [Ogutcu ve ark., 2008]. Kolesterol ve trigliserit

seviyesindeki artışlar aynı zamanda hepatositlerin zar geçirgenliğinin değiştiğinin birer göstergeleridir [Eraslan ve ark., 2009b].

Celik ve Suzek OP'li bir insektisit olan metil paratyonla yaptıkları çalışmada artan lökosit seviyesini lökositosis ile açıklamışlardır. Toksik maddelere karşı immün sistemin harekete geçmesi ve lökosit mobilizasyonunun artması ile meydana geldiği şeklinde açıklanmıştır [Celik ve Suzek, 2008].

Bu tez çalışmasında hematolojik parametrelerden lökositlerdeki artış da inflamatuvar bir hasarın oluştuğunun bir göstergesidir. Bu inflamatuvar yanıtın klorpirifosun meydana getirdiği toksisiteye karşı bir yanıt olarak meydana geldiği düşünülmektedir. Ayrıca histopatolojik incelemelerde inflamatuvar alanlarda lökositlerin bulunması da bu bulguyu desteklemektedir. Kanda trombosit artışı karsinojenik durum sonucunda meydana gelen nefrotik sendromdan dolayı olabileceği yapılan bir takım çalışmalarda belirtilmiştir [Tkaczyk ve Baj, 2002; Celik ve Temur, 2009].

Total lökosit miktarındaki özellikle de nötrofillerdeki artış pestisitlerin kemik iliğine olan toksik etkisinden dolayı olabilir. Ayrıca bu artış pestisitlerin yol açtığı doku hasarı veya nekrozdan ötürü de meydana gelebilir [Morowati, 1998].

Bu tez çalışmasında görülen biyokimyasal, hematolojik veriler ile histopatolojik değerlendirmeler paralellik göstermektedir. Bu çalışmada klorprifos 28 günlük uygulaması ratlarda hepatotoksisiteye yol açmıştır.

Bu tez çalışmasında kullanılan klorprifos, diğer pek çok ksenobiyotik veya toksik maddeler gibi elektrofilik ya da serbest radikal araçlarının direk biyotransformasyonu ile, peroksizom ve mitokondrilerdeki serbest radikal oluşumuna yol açan sitokrom P450 gibi hücre içi enzim sistemlerini uyararak, serbest radikalleri temizleyen ve hücreleri koruyan enzimatik ve nonenzimatik antioksidan sistemlerini inhibe ederek ya da hücre içindeki tamir mekanizmalarına

fazla yük binmesi gibi yollarla oksidatif stres meydana getirmiş olabilir [Karaöz ve ark., 2002].

Canlı sistemlerde oksidasyon redüksiyon reaksiyonu homeostazisi, antioksidanlar ve prooksidanlar arasındaki hassas dengedir. İnsan vücudunda süperoksit anyonları ($O_2^{\bullet-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($\bullet OH$) gibi başlıca reaktif oksijen türleri hücre içerisinde sürekli olarak oluşmaktadır. Bunların meydana gelişi dış çevreden kaynaklanan ksenobiyotiklere maruziyetler kadar normal endojen metabolik yollar esnasında da gerçekleşmektedir. Organizmaların ekzojen kaynaklı maruziyetlerin ve endojen faktörlerin aşırı ROS üretimine yol açarsa peroksidanlarla antioksidan sistem arasında dengesizlik oluşur. ROS da biyomolekülleri (nükleik asit, lipid, protein) okside eder ve potansiyel olarak nekroz ve apoptoz şeklinde hücre ölümüne yol açar [Kebieche ve ark., 2009].

Canlı organizmada normal metabolizma sırasında ya da patolojik yolla ortaya çıkan serbest radikaller ve bunlara karşı koruyucu sistem olan antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin serbest radikaller lehine kayması oksidatif stres olarak adlandırılır. Normal fizyolojik şartlarda serbest radikal ürünleri antioksidan sistemler tarafından dengelenir. Bu antioksidan moleküller serbest oksijen radikallerinin temizlenmesinde ve dolayısıyla oksidatif hasarın önlenmesinde oldukça önemlidirler [Aydın ve ark., 2001].

Oksidatif stres serbest radikal oluşumu ve antioksidan savunma arasındaki dengesizliktir, reaktif oksijen türleri hücresel antioksidan kapasiteyi aştığında meydana gelir ve aterosklerosis, hipertansiyon, kalp krizi, diyabet gibi pek çok kardiyovasküler hastalıkla ilişkilidir [Limón-Pacheco ve Gonsebatt, 2009; Motoyama ve ark., 2009]. Oksidatif stresin neden olduğu patolojik durumlar tiyol-disülfid redoks durumunda değişimler, glukoz toleransında bozulma ve inflamatuvar sürecin aktivasyonunu içermektedir [Limón-Pacheco ve Gonsebatt, 2009].

Serbest radikal aracılı oksidatif hasara karşı savunma mekanizması şu basamakları içermektedir:

- a. serbest radikal ve reaktif türlerin katalaz, süperoksid dismutaz, peroksidazlar ve tiyol-spesifik antioksidanlar gibi faktörler tarafından katalitik yıkımı ile
- b. pro-oksidan metal iyonlarının (demir, bakır gibi), proteinlere bağlanmasıyla (transferin, haptoglobin gibi)
- c. makromoleküler hasara karşı ısı şok proteinleri tarafından koruma
- d. GSH, vitamin E, vitamin C gibi elektron donörleri tarafından serbest radikallerin ortadan kaldırılmasıyla [Limón-Pacheco ve Gensebatt, 2009].

Ksenobiyotikler ve radyasyon gibi egzojen kaynaklar serbest radikal oluşumuna neden olurlar. Aerobik solunum ve bazı metabolik reaksiyonlar esnasında da serbest radikal oluşumu gerçekleşir. Eritrositler tarafından vücudun her tarafındaki organlara oksijen taşındığı için, eritrositler kendi yaşam döngüleri boyunca daima serbest radikallere maruz kalırlar [López-Revuelta ve ark., 2006].

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma mekanizması gelişmiştir. Bunlar antioksidan savunma sistemleri veya kısaca antioksidanlar olarak bilinirler. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek, reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler [Akkuş, 1995]. Bu tez çalışmasında birer antioksidan olarak kullanılan kuersetin ve kateşin de lipid peroksidasyonda önemli derecede azalmaya yol açmıştır.

Hücreler oksidatif hasara karşı enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan sistem ve moleküllerle korunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Hücresel seviyede etkili olan enzimatik sistemler içinde birincil olan antioksidan enzimler arasında SOD (süperoksit dismutaz), CAT (katalaz), GSH-Px (glutasyon peroksidaz) ve GST (glutasyon S-transferaz) bulunur. Enzimatik olmayan antioksidanlara ise vitamin E, vitamin C, flavonoidler ve glutasyon örnek olarak verilebilir [Aydın ve ark., 2001; Karaoz ve ark., 2002; Verma ve ark., 2007]. Bu tez çalışmasında kullanılan kuersetin ve kateşin birer enzimatik olmayan antioksidandır.

Antioksidan enzimler serbest radikaller tarafından meydana gelen hasara karşı hücrel bileşikleri koruyabilme özelliğine sahiptirler. SOD, CAT, GPx ve GST önemli antioksidan enzimlerdir [Boots ve ark., 2008; Liu ve ark., 2010].

SOD, detoksifikasyon sürecinde rol alan ilk enzimdir [Boujbiha ve ark., 2009]. Süperoksidin hidrojen perokside dismutasyonunu katalize eden bir metaloenzimdir. İnsan hücrelerinde özellikle sitozolde bunun dışında nükleusta da bulunan bakır ve çinko iyonu içeren (Cu/Zn-SOD) SOD ile manganez iyonu içeren mitokondriyal SOD (Mn-SOD) olmak üzere SOD'un iki izoenzimi bulunur [Çavdar ve ark., 1997; Hammadeh ve ark., 2009; Liu ve ark., 2010]. SOD, süperoksit radikallerini ($O_2^{\bullet-}$) parçalayarak, H_2O_2 üretir. Süperoksit radikallerinin dismutasyonu ile ya da direkt olarak oluşan hidrojen peroksit ise GPx ve CAT enzimleri tarafından suya dönüştürülerek detoksifiye edilir [Çavdar ve ark., 1997]. H_2O_2 'in parçalanması ise CAT tarafından peroksizomlarda hızlı bir şekilde ya da GPx tarafından sitozolde GSH'a okside edilme şeklinde gerçekleşir [Liu ve ark., 2010]. Böylece bu enzimler ROS'un toksik etkisine karşı koruma sağlarlar [Mansour ve Mossa, 2009]. Dolayısıyla bu enzimlerin aktiviteleri hücredeki oksidatif stresi belirlemede kullanılır [Liu ve ark., 2010]. Bu tez çalışmasında yapılan incelemeler sonucunda CPF muameleli grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında CPF uygulanmış grupta SOD aktivitesinde kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir artışın meydana geldiği gözlenmiştir. SOD aktivitesindeki artış serbest radikalleri ortadan kaldırmak için meydana gelmiş olabilir [Celik ve Suzek, 2009].

CAT, hidrojen peroksiti suya dönüştürmekle görevli olan bir enzimdir [Mansour ve Mossa, 2009]. CAT bütün hücrelerde bulunur ve hidrojen peroksiti suya dönüştürerek hücre içi hidrojen peroksit seviyesini belirli bir düzeyde tutar [Bebe ve Panemangalore, 2003]. Hücrede esas olarak peroksizomlarda daha az olarak ise sitozolde ve mikrozomal fraksiyonlarda bulunur [Hammadeh ve ark., 2009]. OP'li pek çok pestisit dokularda CAT aktivitesinde artış meydana getirdiği belirtilmiştir [Durak ve ark., 2009; Uzun ve ark., 2010]. Bu tez çalışması sonucunda CPF muameleli grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında CPF uygulanmış grupta CAT

aktivitesinde kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir artışın meydana geldiği gözlenmiştir.

SOD ve CAT ksenobiyotik maruziyeti boyunca serbest radikal üretimine karşı hareket eden iki temel antioksidan savunma mekanizmasıdır [Messerah ve ark., 2010] ve fizyolojik konsantrasyonlarda oksijen türlerinin ortadan kaldırılmasında birlikte çalışırlar [Boujbiha ve ark., 2009]. Dolayısıyla SOD ve CAT aktivitelerinde birlikte görülen artış serbest radikalleri temizlemek için gerçekleştirebilir.

GPx, glutatyonu substrat olarak kullanır ve temel görevi hidrojen peroksit ve alkil peroksitlerinin çözünürlüğünü azaltmaktır [Bebe ve Panemangalore, 2003]. GPx toksik hidroperoksitlerin alkol ve suya indirgenmesini GSH'nun GSH disülfid (GSSG) oksidasyonu ile meydana getirir. [Köksal ve ark., 1999]. GPx, sitozolde bulunur [Hammadeh ve ark., 2009]. Reduced glutatyon, mitokondri ve hücre zarının yapısında bulunur ve GPx ile birlikte hücreleri oksijen stresine karşı korumaktadır [Zal ve ark., 2007]. GPx, başlıca biyolojik rolü oksidatif hasardan organizmayı korumak olan, peroksidaz aktiviteli enzim ailesinin bir üyesidir. Lipid peroksitlerini alkollere indirger ve serbest hidrojen peroksid radikalini azaltır [Aly ve ark., 2010].

GPx, peroksitler vücut dokularında hasar meydana getirmeden önce onları parçalayan enzimdir. Selenyum da bu enzimin önemli bir parçasıdır [El-Demerdash, 2004]. Pestisitlerin neden olduğu oksidatif stres nedeniyle GPx aktivitesinde azalma meydana geldiğini bildiren çalışmalar mevcuttur [Khan ve ark., 2005]. Bu tez çalışmasında uygulama süresinin sonunda yapılan incelemeler sonucunda klorprifos muameleli grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında klorprifos uygulanmış grupta GPx aktivitesinde kontrole göre istatistiksel açıdan önemli bir azalmanın meydana geldiği gözlenmiştir.

GST, bazı toksik maddeleri daha az toksik hale dönüştüren detoksifikasyon özelliğine sahip antioksidan enzimlerden biridir [Mansour ve Mossa, 2009]. Başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipit peroksidlerine karşı

savunma mekanizması oluşturlar [Akkuş, 1995]. GST, GSH'ın tiyol gruplarına çeşitli elektrofilik substratların konjugasyonunu katalize eder. Böylece daha az toksik hale dönüşür [Mansour ve Mossa, 2009]. Hücrede sitozolde ve mikrozomal fraksiyonlarda bulunur [Hammadeh ve ark., 2009]. GSH, ROS ile SH gruplarının etkileşimi olduğu zaman non enzimatik antioksidan olarak hareket eder veya ROS için enzimatik detoksifikasyonu da içerebilir çünkü GSH sistein içeren bir tripeptittir [Liu ve ark., 2010]. GSH, GPx ve GST enzimlerinin substratıdır [Verma ve ark., 2007]. Pestisitlerin GST aktivitesinde azalma meydana getirdiğini gösteren çalışmalar mevcuttur [Rezg ve ark., 2008b]. Khan ve Kour klorprifos ile yaptıkları çalışmalarında karaciğerde GST ve GPx aktivitesinde azalma olduğunu göstermişlerdir. Bu azalmayı da her iki enzimin de GSH bağımlı çalıştıklarını ve GSH seviyesindeki azalmayla bu enzimlerin azalmış olduğunu belirterek açıklamışlardır. [Khan ve Kour, 2007]. Bazı araştırmacılar ise GST seviyesindeki azalmanın klorprifosun detoksifikasyonun yetersizliğinden kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir [Mansour ve Mossa, 2010]. Bu tez çalışmasında 4 haftalık uygulama sonucunda klorprifos muameleli grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında klorprifos uygulanmış grupta GST aktivitesinde kontrole göre istatistiksel açıdan önemli bir azalmanın meydana geldiği gözlenmiştir.

GPx, CAT ve SOD normal moleküler aktivitelerini gerçekleştirmek için çeşitli zaruri eser elementlere bağımlıdır. Eğer ROS üretimi ile antioksidan savunma arasındaki denge bozulursa, bu enzimler tükenir ve konsantrasyonları azalır [Liu ve ark., 2010]. Hücreler toksik türlere karşı kendilerini savunmak için çeşitli mekanizmalar geliştirmiş olmasına rağmen, artan oksidasyon endojen mekanizmalarla düzeltilememektedir. Bu nedenle besinlerde bulunan antioksidanlar oksidatif strese karşı koruma sağlamış olurlar [López-Revuelta ve ark., 2006].

Pek çok araştırmacı insektisitlerin antioksidan savunma mekanizmasında görevli enzimlerin aktivitesinde değişiklik meydana getirdiğini belirtmişlerdir. Antioksidan enzimler dokulardaki oksidan molekülleri kısıtlarlar [Mansour ve Mossa, 2009].

Hücreler antioksidan savunma sistemi ile oksidatif strese karşı korunmaktadırlar. Pestisitler tarafından pek çok türde lipid peroksidasyonu ve oksidatif stres oluşturulduğu rapor edilmiştir [Verma ve ark., 2007]. Verma ve ark., yaptıkları çalışmada pestisitlerin meydana getirdiği oksidatif hasara karşı antioksidan vitaminler olan vitamin A, E ve C'nin çeşitli dokularda koruyucu rol oynadığını belirtmişlerdir [Verma ve ark., 2007].

Bazı araştırmacılar serum ALT, AST yükselişiyle lipid peroksidasyonu arasında pozitif ilişkinin olduğunu ileri sürmüşlerdir. Serum transaminaz seviyesi ve MDA seviyesinin pozitif ilişkisi, karaciğer dokusunda meydana gelen lipid peroksidasyonu hücre harabiyeti ve bunun sonucunda transaminazların kana salınması şeklinde gerçekleşmektedir [Rezg ve ark., 2008b].

Membran lipidlerinin peroksidasyonu enzimlerin inaktivasyonuna ve membran lipid ve proteinlerinin çapraz bağlanmasına ve hücre ölümüyle sonuçlanır [Ambali ve ark., 2010]. Lipid peroksidasyonunun yan ürünleri hücre membranının fonksiyonları ve yapısal organizasyonunda (membran akışkanlığında azalma, membran permeabilitesinde artış, membrana bağlı enzimlerin aktivasyonunda artış ve esansiyel yağ asitlerinde kayıp) değişimlere neden olur [Ambali ve ark., 2010].

MDA, perokside olmuş poliansatüre yağ asitlerinin başlıca oksidasyon ürünüdür ve lipid peroksidasyonunun önemli göstergesidir. Lipid peroksidasyonu, organofosforlu, karbamatlı, organoklorlu bileşiklerin moleküler mekanizmasıdır. Biyolojik sistemlerde peroksidantlar ve antioksidanlar arasındaki eşitsizlik ksenobiyotiklerin oksidatif stres oluşturması hakkında bilgi verir [Mansour ve Mossa, 2010]. Bu tez çalışması sonucunda klorprifos muameleli grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında klorprifos uygulanmış grupta MDA düzeyinde kontrole göre istatistiksel açıdan önemli bir artışın olduğu gözlenmiştir. MDA'nın lipid peroksidasyonunun indikatörü olması sebebiyle [Jihen ve ark., 2009], bu artış CPF'nin lipid peroksidasyonuna yol açığının bir göstergesidir.

Fenolik bileşikler antiradikaldirler ve radikalleri temizleyici etki gösterirler [Eraslan ve ark., 2009b]. Flavonoidler bitkisel fenolik bileşiklerdir ve oksidatif strese karşı önemli rol oynarlar. Günümüzde 6000'den fazla flavonoid belirlenmiştir. Kuersetin ve kateşin flavonoid ailesinin birer üyesidir. Besinlerde yaygın olarak bulunurlar [Demir ve ark., 2011]. Kuersetinin kardiyovasküler koruma, antikanserojen, antiülseratif, antialerjik ve antiinflamatuvar gibi pek çok koruyucu önemli görevi bulunmaktadır [Anjaneyulu ve Chopra, 2003]. Kateşin ise diüretik ve kardivasküler koruma gibi çeşitli farmakolojik etkilere sahiptir [Kalender ve ark., 2005b].

Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda flavonoidlerin prostat, akciğer, meme kanseri gibi pek çok kanser türünde risk azaltıcı etkisinin olduğunu ve özellikle kuersetinin insanlarda akciğer riskini azalttığını belirtmişlerdir [Neuhouser, 2004].

Flavonoidlerin membrandaki yerleşimleri membranın polar yüzüne yakın şekildedir. Antioksidanların membrandaki yerleşimi ve bu yerleşimin membran bileşenlerinin akışkanlığındaki sınırlayıcı etkisi sonucu, serbest radikallerin difüzyonuna mani olabilir böylece serbest radikal reaksiyonları azalmış olur [López-Revuelta ve ark., 2006].

Flavonoidlerin lipid tabakaya tutunmaları ve etkileşimleri ile serbest radikal aracılı lipoperoksidasyonda membrana bağlı işlem süreç kapasitesi doğru orantılıdır. [López-Revuelta ve ark., 2006].

Kateşinler özellikle yeşil çay, siyah çay, meyve ve kakao ürünleri ve diğer bitkilerde bol miktarda bulunur [Baba ve ark., 2001] ve serbest radikalleri ortamdan uzaklaştırarak antioksidan görevi yaparlar [Chu ve ark., 2004]. Kateşinler fosfolipid tabakadaki peroksil radikallerle reaksiyona girerler ve böylece lipid peroksidasyonunu azaltırlar [Elhalwagy ve ark., 2008].

Kuersetin bitkiler aleminde en geniş yayılış gösteren fenolik bir flavonoiddir [Coskun ve ark., 2005; López-Revuelta ve ark., 2006]. Kuersetin birçok biyomolekülle etkileşime girerek çeşitli enzimlerin aktivitelerini ayarlar, bu şekilde

kuvvetli antioksidan özellik gösterir. Kuersetin hücrenin bilayer lipid tabakasıyla etkileşerek nüfuz eder. Bu özelliği ile hücreler için koruyucu özellik gösterir [Devi Priya ve Shyamala Devi, 1999]. Kuersetin ve kateşin gibi flavonoidler lipid peroksidasyonunu engellerler [Motoyama ve ark., 2009].

Pek çok araştırmacı kuersetinin pek çok yararlı etkisinin olduğunu belirterek yaptıkları deneysel çalışmalarda kuersetinin, diyabetik nöropatik ağrı [Anjaneyulu ve Chopra, 2003], eritrosit hasarı [López-Revuelta ve ark., 2006] gibi durumlarda koruyucu etkilerini belirtmişlerdir.

Flavonoidler süperoksit anyonları ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikalleri veya peroksil radikalleri gibi çeşitli oksijen türlerini temizleme özelliğine sahiptirler. Bu şekilde antioksidan etkilerini gösterirler. Ayrıca flavonoidler antiinflamatuvar, antitümöral, antibakteriyel, antifungal etkilere de sahiptirler [Harborne ve Williams, 2000]. Polifenollerin ve flavonoidlerin ksenobiyotik metabolizması sonucunda oluşan detoksifiye metabolitlerin uzaklaştırılmasında rol oynadığı bilinmektedir, böylelikle karaciğeri koruyucu özelliğe sahiptirler [Ncibi ve ark., 2008].

Yapılan bir çalışmada siyah çay ekstraktının pestisitlerin neden olduğu karaciğer hasarına karşı koruyucu etkisi olduğu ve bu diyetel antioksidanların ön uygulamasının lipid peroksidasyonunda azalmaya neden olduğu belirtilmiştir [Khan ve ark., 2005].

Pestisitlerde yapılan çalışmalarda kuersetin ve kateşinin eritrositler [Demir ve ark., 2011] ve akciğer [Uzun ve ark., 2010] üzerindeki koruyucu etkileri gösterilmiştir. Bu çalışmada kateşin ve kuersetinle birlikte klorprifosun uygulandığı gruplardaki deney hayvanlarında klorprifosun tek uygulandığı gruba kıyasla biyokimyasal ve hematolojik parametrelerde iyileşme olduğu tespit edilirken, kontrole kıyasla tamamen bir korumanın olmadığı görülmüştür. Histopatolojik incelemelerde ise kateşin ve klorprifos ile kuersetin ve klorprifosun birlikte uygulandığı gruplarda, yalnız klorprifos uygulanan gruba kıyasla daha az oranda histopatolojik değişimler olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak klorprifosun meydana getirdiği hepatotoksik

etkiye karşı kateşin ve kuersetin tam anlamıyla olmasa da kısmen koruyucu olmuştur.

Bu tez çalışmasında da klorprifos ve kateşin uygulamalı gruplarda araştırılan parametreler üzerine iyileştirici etkiler olduğu görülmüştür. Bu etkilerini sahip oldukları moleküler yapılarındaki fonksiyonel gruplardaki etkileriyle gerçekleştirdikleri düşünülmektedir. Tamamen koruyucu olmamaları ise kullanılan dozla ilişkili olabilir.

Bu sonuçlara dayanarak, insektisitlerin bilinçli kullanımı gerçekleştirilmelidir. Zirai mücadelede alternatif mücadele metodları denenmelidir. Günümüzde zararlı böceklerle mücadele çeşitli yollarla yapılmasına rağmen, daha etkili ve çevreye zararları daha az olan ve daha ekonomik mücadele yöntemleri halen araştırılmaktadır. Çoğu zaman birden fazla yöntemin bir arada kullanıldığı entegre mücadele yöntemlerinin uygulanması gerekmektedir. Son yıllarda sayısı oldukça artan biyolojik mücadele etmenleri son derece umut vericidir. Gelişen üretim ve uygulama teknolojileri ve gen klonlaması yöntemleriyle, biyoteknolojik olarak geliştirilen birçok organizma zararlı böceklerle mücadelede kimyasal insektisitlere alternatif oluşturmaktadır. Ayrıca antioksidan maddelerinin kullanımının iyileştirici etkileri göz önüne alınarak bunlarında uygun dozlarda kullanılmasına dikkat edilmesi gerektiği düşünülmektedir. Dolayısıyla hem insektisit kullanımında hem de iyileştirici amaçlı antioksidan özellikli maddelerin kullanımında bilinçli olmak gerekmektedir.

Bu tez çalışmasında kullanılan klorprifos'un kullanımından kaçınılmalı eğer kullanılıyorsa zirai mücadelede kullanımı kontrol altına alınarak uygun dozlarda gerçekleştirilmelidir.

KAYNAKLAR

- Abdollahi, M., Mostafalou, S., Pournourmohammadi, S., Shadnia, S., "Oxidative stress and cholinesterase inhibition in saliva and plasma of rats following subchronic exposure to malathion", *Comparative Biochemistry and Physiology*, 137: 29-34 (2004).
- Abu-Qare, A.W., Abou-Donia, M.B., "Development of a high-performance liquid chromatographic method for the quantification of klorprifos, pyridostigmine bromide, N,N-diethyl-m-toluamide and their metabolites in rat plasma and urine", *Journal of Chromatography B*, 754: 533-538 (2001).
- Aebi, H., "Catalase in vitro", *Methods in Enzymology*, 105: 121-126 (1984).
- Aherne, S.A., O'Brien, N.M., "Dietary flavonols: Chemistry, food content, and metabolism", *Nutrition*, 18: 75-81 (2002).
- Ajay, M., Gilani, A.H., Mustafa, M.R., "Effects of flavonoids on vascular smooth muscle of the isolated rat thoracic aorta", *Life Sciences*, 74: 603-612 (2003).
- Ajay, M., Achike, F.I., Mustafa, A.M., Mustafa, M.R., "Effect of quercetin on altered vascular reactivity in aortas isolated from streptozotocin-induced diabetic rats", *Diabetes Research and Clinical Practice*, 73: 1-7, (2006).
- Akhtar, N., Srivastava, M.K., Raizada, R.B., "Transplacental disposition and teratogenic effects of chlorpyrifos in rats", *The Journal of Toxicological Sciences*, 31(5): 521-527 (2006).
- Akhtar, N., Srivastava, M.K., Raizada, R.B., "Assessment of chlorpyrifos toxicity on certain organs in rat, *Rattus norvegicus*", *Journal of Environmental Biology*, 30(6): 1047-1053 (2009).
- Akkuş, İ., "Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri", *Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları*, Konya, 33-42 (1995).
- Al-Attar, A.M., "Vitamin E attenuates liver injury induced by exposure to lead, mercury, cadmium and copper in albino mice", *Saudi Journal of Biological Sciences*, 18: 395-401 (2011).
- Ali, S.M., Chia, S.E., "Interethnic variability of plasma paraoxonase (PON1) Activity towards organophosphates and PON1 polymorphisms among Asian population", *Industrial Health*, 46: 309-317 (2008).
- Allderdice, P.W., Garner, H.A.R., Galutira, D., Lockridge, O., LaDu, B.N., McAlpines, J., "The cloned butyrylcholinesterase (BCHE) gene maps to a single chromosome site", *Genomics*, 11: 452-454 (1991).

Altuntas, I., Delibas, N., Sutcu, R., “The effects of organophosphate insecticide methidathion on lipid peroxidation and anti-oxidant enzymes in rat erythrocytes: Role of vitamins E and C”, *Human and Experimental Toxicology*, 21: 681-685 2002.

Aly, N., El-Gendy, K., Mahmoud, F., El-Sebae, A.K., “Protective effect of vitamin C against chlorpyrifos oxidative stress in male mice”, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 97: 7-12 (2010).

Ambali, S.F., “Ameliorative effect of vitamins C and E on neurotoxicological, hematological and biochemical changes induced by chronic chlorpyrifos in wistar rats”, Doktora Tezi, *Ahmadu Bello University*, Zaria, 356pp. (2009).

Ambali, S.F., Abbas, S.O., Shittu, M., Dzenda, T., Kawu, M.U., Salami, S.O., Ayo, J.O., “Effects of gestational exposure to chlorpyrifos on implantation and neonatal mice”, *Journal of Cell and Animal Biology*, 3(4): 50-57 (2009).

Ambali, S.F., Ayo, J.O., Ojo, S.A., Esievo, K.A.N., “Vitamin E protects Wistar rats from chlorpyrifos-induced increase in erythrocyte osmotic fragility”, *Food and Chemical Toxicology*, 48: 3477-3480 (2010).

Anjaneyulu, M., Chopra, K., “Quercetin, a bioflavonoid, attenuates thermal hyperalgesia in a mouse model of diabetic neuropathic pain”, *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 27: 1001-1005 (2003).

Armenta, S., Quintas, G., Garrigues, S., Guardia, M., “A validated and fast procedure for FTIR determination of cypermethrin and chlorpyrifos”, *Talanta*, 67: 634-639 (2005).

Aydın, A., Sayal, A., Işimer, A., “Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemi”, *Gülhane Askeri Tıp Akademisi Yayınları*, Sayı: 20, Ankara, 38-53 (2001).

Baba, S., Osakabe, N., Natsume, M., Muto, Y., Takizawa, T., Terao, J., “In vivo comparison of the bio availability of (+)-catechin, (-)-epicatechin and their mixture in orally administered rats”, *Journal of Nutrition*, 131: 2885-2891 (2001).

Barbosa, M., Rios, O., Velásquez, M., Villalobos, J., Ehrmanns, J., “Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase histochemical activities and tumor cell growth in several brain tumors”, *Surgical Neurology*, 55: 106-112 (2001).

Baş, H., Kalender, Y., “Chlorpyrifos induced cardiotoxicity in rats and the protective role of quercetin and catechin”, *Gazi University Journal of Science*, 24(3): 387-395 (2011).

Bayır, A., Yıldız, M., Kara, H., Köylü, Ö., Kocabaş, R., Ak, A., “Deneyisel akut organik fosfor toksisitesi tedavisine eklenen E vitaminin olumlu etkileri”, *Türkiye Acil Tıp Dergisi*, 11(2): 42-48 (2011).

Bebe, F.N., Panemangalore, M., "Exposure to low doses of endosulfan and chlorpyrifos modifies endogenous antioxidants in tissues of rats", *Journal of Environmental Science and Health B*, 38: 349–363 (2003).

Bhatt, K., Flora, S.J.S., "Oral co-administration of α -lipoic acid, quercetin and captopril prevents gallium arsenide toxicity in rats", *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 28: 140-146 (2009).

Boots, A.W., Haenen, G.R.M.M. Bast, A., "Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical", *European Journal of Pharmacology*, 585: 325-337. (2008).

Boujbiha, M.A., Hamden, K., Guermazi, F., Bouslama, A., Omezzine, A., Kammoun, A., El Feki, A., "Testicular toxicity in mercuric chloride treated rats: Association with oxidative stress", *Reproductive Toxicology*, 28: 81-89 (2009).

Busby-Hjerpe, A.L., Campbell, C.A., Smith, J.N., Lee, S., Poet, T.S., Barr, D.B., Timchalk, C., "Comparative pharmacokinetics of chlorpyrifos versus its major metabolites following oral administration in the rat", *Toxicology*, 268: 55-63 (2010).

Carlson, K., Ehrich, M., "Organophosphorus compound-induced modification of SH-SY5Y human neuroblastoma mitochondrial transmembrane potential", *Toxicology and Applied Pharmacology*, 160: 33-42 (1999).

Celik, I., Isik, I., "Neurotoxic effects of subacute exposure of diklorvos and methyl parathion at sublethal dosages in rats", *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 94: 1–4 (2009).

Celik, I., Suzek, H., "The hematological effects of methyl parathion in rats", *Journal of Hazardous Materials*, 153: 1117-1121 (2008).

Celik, I., Suzek, H., "Effects of subacute exposure of diklorvos at sublethal dosages on erythrocyte and tissue antioxidant defence systems and lipid peroxidation in rats", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 905-908 (2009).

Celik, I., Temur, A., "Determination hematotoxic and hepatotoxic effects of trichloroacetic acid at sublethal dosage in rats", *Food and Chemical Toxicology*, 47: 1324-1326 (2009).

Celik, I., Yilmaz, Z., Turkoglu, V., "Hematotoxic and hepatotoxic effects of diklorvos at sublethal dosages in rats", *Environmental Toxicology*, 24: 128-132. (2009).

Chander, V., Singh, D., Chopra, K., "Catechin, a natural antioxidant protects against rhabdomyolysis-induced myoglobinuric acute renal failure", *Pharmacological Research*, 48: 503-509 (2003).

- Chu, K.A., Wang, C.C., Chu, C.Y., Rogers, M.S., Choy, K.W., Pang, C.P., “Determination of catechins and catechin gallates in tissues by liquid chromatography with coulometric array detection and selective solid phase extraction”, *Journal of Chromatography B*, 810: 187-195 (2004).
- Chung, M.K., Kim, J.C., Han, S.S., “Developmental toxicity of flupyrzofos, a new organophosphate insecticide in rats”, *Food and Chemical Toxicology*, 40: 723-729 (2002).
- Cometa, M.F., Buratti, F.M., Fortuna, S., Lorenzini, P., Volpe, M.T., Parisi, L., Testai, E., Meneguz, A., “Cholinesterase inhibition and alterations of hepatic metabolism by oral acute and repeated chlorpyrifos administration to mice”, *Toxicology*, 234:90-102 (2007).
- Coskun, O., Kanter, M., Korkmaz, A., Oter, S., “Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and β -cell damage in rat pancreas”, *Pharmacological Research*, 51:117-123 (2005).
- Çavdar, C., Sifil, A., Çamsarı, T., “Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma”, *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 3-4: 92-95 (1997).
- Çetin, N., Çetin, E., Eraslan, G., Bilgili, A., “Chlorpyrifos induces cardiac dysfunction in rabbits”, *Research in Veterinary Science*, 82: 405-408 (2007).
- Demir, F., Uzun, F.G., Durak, D., Kalender, Y., “Subacute chlorpyrifos-induced oxidative stress in rat erythrocytes and the protective effects of catechin and quercetin”, *Pesticide and Biochemical Physiology*, 99: 77-81 (2011).
- Demirbağ, Z., Nalçacıoğlu, R., Katı, H., Demir, İ., Sezen, K., Ertürk, Ö., “Entomopatojenler ve Biyolojik Mücadele”, *Esen Ofset Matbaacılık*, Trabzon (2008).
- Dere, E., Bakır, S., Atalay, A., “Malathion’un fare karaciğer böbrek ve ince bağırsak alkalen fosfataz aktivitesi üzerine etkisi”, *Turkish Journal of Zoology*, 23: 709-713 (1999).
- Devi Priya, S., Shyamala Devi, C.S., “Protective effect of quercetin in cisplatin-induced cell injury in the rat kidney”, *Indian Journal of Pharmacology*, 31: 422-426 (1999).
- Donovan, J.L., Kasim-Karakas, S., German, J.B., Waterhouse, A.L., “Urinary excretion of catechin metabolites by human subjects after red wine consumption”, *British Journal of Nutrition*, 87: 31-37 (2002).
- Doyotte, A., Cossu, C., Jacquin, M., Babut, M., Vasseur, P., “Antioxidant enzymes, glutathione and lipid peroxidation as relevant biomarkers of experimental or field

exposure in the gills and the digestive gland of the freshwater bivalve *Unio tumidus*", *Aquatic Toxicology*, 39: 93-110 (1997).

Durak, D., Uzun, F.G., Kalender, S., Ogutcu, A., Uzunhisarcikli, M., Kalender, Y., "Malathion-induced oxidative stress in human erythrocytes and the protective effect of vitamins C and E *in vitro*", *Environmental Toxicology*, 24(3): 235-242 (2009).

El-Demerdash, F., "Antioxidant effect of vitamin E and selenium on lipid peroxidation, enzyme activities and biochemical parameters in rats exposed to aluminium", *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 18: 113-121 (2004).

El-Demerdash, F.M., "Lipid peroxidation, oxidative stress and acetylcholinesterase in rat brain exposed to organophosphate and pyrethroid insecticides", *Food and Chemical Toxicology*, 49: 1346-1352 (2011).

El-Gendy, K.S., Aly, N.M., Mahmoud, F.H., Kenawy, A. El-Sebae, A. K., "The role of vitamin C as antioxidant in prodection of oxidative stress induced by imidacloprid", *Food and Chemical Toxicology*, 48: 215-221, (2010).

ElMazoudy, R.H., Attia, A.A., El-Shenawy, N.S., "Protective role of propolis against reproductive toxicity of chlorpyrifos in male rats", *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 101: 175-181 (2011).

Elhalwagy, M.E.A., Darwish, N.S., Zaher, E.M., "Prophylactic effect of green tea polyphenols against liver and kidney injury induced by fenitrothion insecticide", *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 91: 81-89 (2008).

Eraslan, G., Saygi, S., Essiz, D., Aksoy, A., Gul, H., Macit, E., "Evaluation of aspect of some oxidative stress parameters using vitamin E, proanthocyanidin and N-acetylcysteine against exposure to cyfluthrin in mice", *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 88: 43-49 (2007).

Eraslan, G., Kanbur, M., Silici, S., "Effect of carbaryl on some biochemical changes in rats: the ameliorative effect of bee pollen", *Food and Chemical Toxicology*, 47: 86-91 (2009a).

Eraslan, G., Kanbur, M., Silici, S., Liman, B.C., Altınordu, Ş., Sarıca, Z.S., "Evaluation of protective effect of bee polen against propoxur toxicity in rat", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 931-937 (2009b).

Erlund, I., "Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology", *Nutrition Research*, 24,: 851-874 (2004).

Farag, A.T., El Okazy, A.M., El-Aswed, A.F., "Developmental toxicity study of chlorpyrifos in rats", *Reproductive Toxicology*, 17, 203-208 (2003).

Farag, A.T., El-Aswad, A.F., Shaaban, N.A., "Assessment of reproductive toxicity of orally administered technical dimethoate in male mice", *Reproductive Toxicology*, 23: 232-238 (2007).

Farag, A.T., Radwan, A.H., Sorour, F., El Okazy, A., El-Agamy, E., El-Sebae, A.E., "Chlorpyrifos induced reproductive toxicity in male rats", *Reproductive Toxicology*, 29: 80-85 (2010).

Fidan, H., Sahin, O., Ela, Y., Kilbas, A., Bas, O., Yavuz, Y., Sahin, D. A., Altuntas, I., "Influence of different atropine therapy strategies on fenthion-induced organ dysfunction in rats", *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 100: 308-315 (2007).

Ghosh, A., Mandal, A.K., Sarkar, S., Panda, S., Das, N., "Nanoencapsulation of quercetin enhances its dietary efficacy in combating arsenic-induced oxidative damage in liver and brain of rats", *Life Sciences*, 84: 75-80 (2009).

Giri, S., Prasad, S.B., Giri, A. Sharma, G.D., "Genotoxic effects of malathion: an organophosphorus insecticide, using three mammalian bioassays in vivo", *Mutation Research*, 514: 223-231 (2002).

Goel, A., Dani, V., Dhawan, D.K., "Protective effects of zinc on lipid peroxidation, antioxidant anzymes and hepatic histoarchitecture in chlorpyrifos-induced toxicity", *Chemico-Biological Interactions*, 156: 131-140 (2005).

Goel, A., Dani, V., Dhawan, D.K., "Zinc mediates normalization of hepatic drug metabolizing enzymes in chlorpyrifos-induced toxicity", *Toxicology Letters*, 169: 26-33 (2007).

Gokalp, O., Gulle, K., Sulak, O., Cicek, E., Altuntas, I., "The effects of methidathion on liver: role of vitamins E and C", *Toxicology and Industrial Health*, 19 (2-6): 63-67 (2003).

Gokalp, O., Buyukvanli, B., Cicek, E., Ozer, M.K., Koyu, A., Altuntas, I., Koylu, H., "The effects of diazinon on pancreatic damage and ameliorating role of vitamin E and vitamin C", *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 81:123–128 (2005).

Gokcimen, A., Gulle, K., Demirin, H., Bayram, D., Kocak, A., Altuntas, I., "Effects of diazinon at different doses on rat liver and pancreas tissues", *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 87: 103-108 (2007).

Gökalp, O., Mollaoğlu, H., Yılmaz, H.R., Altuntaş, İ., "Organofosfat insektisit Fenthion'un rat amilaz ve lipaz enzimleri üzerine etkisi: Vitamin E ve C'nin rolü", *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 10(2): 21-23 (2003).

- Gradjeda-Cota, P., Ramirez-Mares, M.V., de Mejia, E.G., "Vitamin C protects against in vitro cytotoxicity of cypermethrin in rat hepatocytes", *Toxicology in vitro*, 18: 13-19 (2004).
- Gultekin, F., Ozturk, M., Akdogan, M., "The effect of organophosphate insecticide chlorpyrifos-ethyl on lipid peroxidation and antioxidant enzymes (in vitro)", *Molecular Toxicology*, 74: 533-538 (2000).
- Güven, E.Ç., Otkun, G. T., Boyacıoğlu, D., "Flavonoidlerin biyoyararlılığını etkileyen faktörler", *Gıda*, 35(5): 387-394 (2010).
- Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B., "Glutathione-S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation", *The Journal of Biological Chemistry*, 249: 7130-7139 (1974).
- Hammadeh, M.E., Flippas, A., Hamad, M.F., "Reactive oxygen species and antioxidant in seminal plasma and their impact on male fertility", *International Journal of Fertility and Sterility*, 3: 87-110 (2009).
- Harborne, J.B., Baxter, H., "Handbook of natural flavonoids", *Wiley*, Chichester (1999).
- Harborne, J. B., Williams, C. A., "Advantages in flavonoid research since 1992", *Phytochemistry*, 55: 481-504 (2000).
- Hollman, P.C.H., Katan, M.B., "Dietary flavonoids: Intake, health effects and bioavailability", *Food and Chemical Toxicology*, 37: 937-942 (1999).
- Hwang, M.K., Song, N.R., Kang, N.J., Lee, K.W., Lee, H.J., "Activation of phosphatidylinositol 3-kinase is required for tumor necrosis factor- α -induced upregulation of matrix metalloproteinase-9: Its direct inhibition by quercetin", *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 41: 1592-1600 (2009).
- IARC, "Monograph on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to man. Miscellaneous pesticides", *International Agency for Research on Cancer*, Lyon France (1983).
- Ikizler, M., Erkasap, N., Dernek, S., Kural, T., Kaygısız, Z., "Dietary polyphenol protects rat hearts during reperfusion: enhanced antioxidant capacity with chronic treatment", *Anadolu Kardiyoloji Dergisi*, 7: 404-410 (2007).
- Isik, I., Celik, I., "Acute effects of methyl parathion and diazinon as inducers for oxidative stress on certain biomarkers in various tissues of rainbowtrout (*Oncorhynchus mykiss*)", *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 92: 38-42 (2008).

İlim, M., Kılıç, E., Gözek, K., Yücel, Ü., “Mısır bitkisine geçen ^{14}C -Klorpirifos kalıntısının izotop izleme tekniği ile araştırılması”, *Nükleer Tarım ve Hayvancılık Kongresi*, Uludağ Üniversitesi Bursa, 52-57 (1996).

Jacobsen, H., Qstergaard, G., Lam, H.R., Poulsen, M.E., Frandsen, H., Ladefoged, O., Meyer, O., “Repeated dose 28-day oral toxicity study in Wistar rats with a mixture of five pesticides often found as residues in food: alphacypermethrin, bromopropylate, carbendazim, chlorpyrifos and mancozeb”, *Food and Chemical Toxicology*, 42: 1269-1277 (2004).

Jokanović, M., “Biotransformation of organophosphorus compounds”, *Toxicology*, 166:139-160 (2001).

Jihen, E.H., Imed, M., Fatima, H., Abdelhamid, K., “Protective effects of selenium (Se) and zinc (Zn) on cadmium (Cd) toxicity in the liver of the rat: Effects on the oxidative stress”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 1559-1564 (2009).

Jortner, B.S., “Effect of stress at dosing on organophosphate and heavy metal toxicity”, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 233: 162–167 (2008).

Joshi, S.C., Mathur, R., Gajraj, A., Sharma, T., “Influence of methyl parathion on reproductive parameters in male rats”, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 14: 91-98 (2003).

Joshi, S.C., Mathur, R., Gulati, N., “Testicular toxicity of chlorpyrifos (an organophosphate pesticide) in albino rat”, *Toxicology and Industrial Health*, 23: 439-444 (2007).

Joshi, A.K.R., Rajini, P.S., “Reversible hyperglycemia in rats following acute exposure to acephate, an organophosphorus insecticide: Role of gluconeogenesis”, *Toxicology*, 257: 40-45 (2009).

Kahraman, A., Serteser, M., Köken, T., “Flavonoidler”, *Kocatepe Tıp Dergisi*, 3:1-8 (2002).

Kalender, S., Ogutcu, A., Uzunhisarcikli, M., Acikgoz, F., Durak, D., Ulusoy, Y., Kalender, Y., “Diazinon-induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes”, *Toxicology*, 211: 197-206 (2005a).

Kalender, S., Kalender, Y., Durak, D., Ogutcu, A., Uzunhisarcikli, M., Cevrimli, B.S., Yildirim, M., “Methyl parathion induced nephrotoxicity in male rats and protective role of vitamins C and E”, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 88: 213-218 (2007).

Kalender, S., Uzun, F.G., Durak, D., Demir, F., Kalender, Y., “Malathion-induced hepatotoxicity in rats: The effects of vitamins C and E”, *Food and Chemical Toxicology*, 48: 633–638 (2010).

Kalender, Y., Yel, M., Kalender, S., “Doxorubicin hepatotoxicity and hepatic free radical metabolism in rats: The effects of vitamin E and catechin”, *Toxicology*, 209: 39–45 (2005b).

Kalender, Y., Uzunhisarcikli, M., Ogutcu, A., Acikgoz, F., Kalender, S., “Effects of diazinon on pseudocholinesterase activity and haematological indices in rats: the protective role of vitamin E”, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 22: 46–51 (2006).

Kalender, Y., Kaya, S., Durak, D., Uzun, F.G., Demir, F., “Protective effects of catechin and quercetin on antioxidant status, lipid peroxidation and testis-histoarchitecture induced by chlorpyrifos in male rats”, *Environmental Toxicology and Pathology*, 33: 141-148 (2012).

Kanbur, M., Eraslan, G., Beyaz, L., Silici, S., Liman, B.C., Altınordu, Ş., Atasever, A., “The effects of royal jelly on liver damage induced by paracetamol in mice”. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 61: 123-132 (2009).

Karanth, S., Liu, J., Oliver, K., Pope, C., “Interactive toxicity of the organophosphorus insecticide chlorpyrifos and methyl parathion in adult rats”, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 196: 183-190 (2004).

Karaoz, E., Gultekin, F., Akdogan, M., Oncu, M., Gokcimen, A., “Protective role of melatonin and a combination of vitamin C and vitamin E on lung toxicity induced by chlorpyrifos-ethyl in rats”, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 54: 97-108 (2002).

Kebieche, M., Lakroun, Z., Lahouel, M., Bouayed, J., Meraihi, Z., Soulimani, R., “Evaluation of epirubicin-induced acute oxidative stress toxicity in rat liver cells and mitochondria, and the prevention of toxicity through quercetin administration”, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 61: 161-167 (2009).

Khan, S.M., Sobti, R.C., Kataria, L., “Pesticide-induced alteration in mice hepato-oxidative status and protective effects of black tea extract”, *Clinica Chimica Acta*, 358: 131-138 (2005).

Khan, S.M., Kour, G., “Subacute oral toxicity of chlorpyrifos and protective effect of green tea extract”, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 89:118-123 (2007).

Kılçıksız, S., Demirel, C., “Oksidatif stress, radyasyona bağlı hasar ve radyokoruyucu olarak N-asetil-sistein’in potansiyel rolü”, *Türk Onkoloji Dergisi*, 23(4): 200-207 (2008).

Knekt, P., Kumpulainen, J., Jarvinen, R., Rissanen, H., Heliövaara, M., Reunanen, A., Hakulinen, T., "Flavonoid intake and risk of chronic diseases", *American Journal of Clinical Nutrition*, 76: 560-568 (2002).

Korish, A.A., Arafah, M.M., "Catechin combined with vitamins C and E ameliorates insulin resistance (IR) and atherosclerotic changes in aged rats with chronic renal failure (CRF)", *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 46:25-39 (2008).

Kostka, G., Palut, D., Kopeć-Szlezak, J., Ludwicki, J.K., "Early hepatic changes in rats induced by permethrin in comparison with DDT", *Toxicology*, 142: 135-143 (2000).

Köksal, C., Konukoğlu, D., Ercan, M., Arslan, C., Kazımoğlu, K., Bozkurt, K., "Periferik arter hastalarında lipit peroksidasyonu ve antioksidan kapasite", *Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahi Dergisi*, 7: 244-246 (1999).

Lasram, M.M., Annabi, A.B., Elj, N., Selmi, S., Kamoun, A., El-Fazaa, S., Gharbi, N., "Metabolic disorders of acute exposure to malathion in adult Wistar rats", *Journal of Hazardous Materials*, 163: 1052-1055 (2009).

Liu, C.M., Zheng, Y.L., Lu, J., Zhang, Z.F., Fan, S.H., "Quercetin protects rat liver against lead-induced oxidative stress and apoptosis", *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 29: 158-166 (2010).

Limón-Pacheco, J., Gonsebatt, M.E., "The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress", *Mutation Research*, 674: 137-147 (2009).

López-Revuelta, A., Sánchez-Gallego, J.I., Hernández- Hernández, A., Sánchez-Yagüe, J., Llanillo, M., "Membrane cholesterol contents influence the protective effects of quercetin and rutin in erythrocytes damaged by oxidative stress", *Chemico-Biological Interactions*, 161: 79-91 (2006).

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., "Protein measurement with the Folin phenol reagent", *Journal of Biological Chemistry*, 19: 265 (1951).

Lu, J., Zheng, Y., Lou, L., Wu, D., Sun, D., Feng, Y., "Quercetin reverses D-galactose induced neurotoxicity in mouse brain", *Behavioral Brain Research*, 171: 251-260 (2006).

Lugli, E., Ferraresi, R., Roat, E., Troiano, L., Pinti, M., Nasi, M., Nemes, E., Bertocelli, L., Gibellini, L., Salomoni, P., Cooper, E.L., Cossarizza, A., "Quercetin inhibits lymphocyte activation and proliferation without inducing apoptosis in peripheral mononuclear cells", *Leukemia Research*, 33: 140-10 (2009).

Manach, C., Texier, O., Morand, C., Crespy, V., Regerat, F., Demigne, C., Remesy, C., "Comparison of the bioavailability of quercetin and catechin in rats", *Free Radical Biology and Medicine*, 27: 1259-1266 (1999).

Mansour, S.A., Mossa, A.H., "Lipid peroxidation and oxidative stress in rat erythrocytes induced by chlorpyrifos and the protective effect of zinc", *Pesticide Biochemistry Physiology*, 93: 34-39 (2009).

Mansour, S.A., Mossa, A.H., "Oxidative damage, biochemical and histopathological alterations in rats exposed to chlorpyrifos and the antioxidant role of zinc", *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 96: 14-23 (2010).

Marklund, S., Marklund, G., "Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase", *European Journal of Biochemistry*, 47: 469-474 (1974).

Mehmetoğlu, İ., Çağlayan, O., Gürbilek, M., Koçyiğit, A., "Klinik Biyokimya Laboratuvarı El Kitabı", *Yelken Basım* 3. Baskı Konya (2004).

Mehta, A., Verma, R.S., Srivastava, N., "Chlorpyrifos induced alterations in the levels of hydrogen peroxide, nitrate and nitrite in rat brain and liver", *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 94: 55-59 (2009).

Mercan, U., "Toksikolojide serbest radikallerin önemi", *Yüzüncü yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 15: 91-96 (2004).

Merhi, M., Demur, C., Racaud-Sultan, C., Bertrand, J., Canlet, C., "Gender-linked haematopoietic and metabolic disturbances induced by a pesticide mixture administered at low dose to mice", *Toxicology*, 267: 80-90 (2010).

Messerah, M., Boumendjel, A., Chouabia, A., Klibet, F., Abdenmour, C., Boulakoud, M.S., El Feki, A., "Influence of thyroid dysfunction on liver lipid peroxidation and antioxidant status in experimental rats", *Experimental and Toxicologic Pathology*, 62, 301-310 (2010).

Morales, A.I. Vicente-Sánchez, C., Santiago-Sandoval, J.M., Edigo, J., Mayoral, P., Arévalo, M.A., Fernández-Tagarro, M., López-Novoa, J.M., Pérez-Barriocanal, F., "Protective effect of quercetin on experimental chronic cadmium nephrotoxicity in rats is based on its antioxidant properties", *Food and Chemical Toxicology*, 44: 2092-2100 (2006).

Morowati, M., "Inhalation toxicity studies of thimet (phorate) in male swiss albino mouse, *mus musculus*: I. Hepatotoxicity", *Environmental Pollution*, 96: 283-288. (1997).

- Morowati, M., "Inhalation toxicity studies of thimet (phorate) in male swiss albino mouse, *Mus musculus*: II. Lung histopathology", ***Environmental Pollution***, 103: 309-315 (1998).
- Motoyama, K., Koyama, H., Moriwaki, M., Emura, K., Okuyama, S., Sato, E., Inoue, M., Shioi, A., Nishizawa, Y., "Atheroprotective and plaque-stabilizing effects of enzymatically modified isoquercitrin in atherogenic apoE-deficient mice", ***Nutrition***, 25: 421-427 (2009).
- Muthukumaran, S., Sudheer, A.R., Menon, V.P., Nalini, N., "Protective effect of quercetin on nicotine-induced prooxidant and antioxidant imbalance and DNA damage in Wistar rats", ***Toxicology***, 243: 207-215 (2008).
- Naraharisetti, S.B., Aggarwal, M., Ranganathan, V., Sarkar, S.N., Kataria, M., Malik, J.K., "Effects of simultaneous repeated exposure at high levels of arsenic and malathion on hepatic drug-biotransforming enzymes in broiler chickens", ***Environmental Toxicology and Pharmacology***, 28: 213-218 (2009).
- Narayana, K., Prashanthi, N., Nayanatara, A., Kumar, H.H.C., Abhilash K., Bairy, K.L., "Effects of methyl parathion (*o,o*-dimethyl *o*-4-nitrophenyl phosphorothioate) on rat sperm morphology and sperm count, but not fertility, are associated with decreased ascorbic acid level in the testis", ***Mutation Research***, 588: 28-34 (2005).
- Narayana, K., Prashanthi, N., Nayanatara, A., Kumar, S.G., Kumar, H.H.C., Bairy, K.L., Souza, U.J.A.D., "A broad-spectrum organophosphate pesticide *O,O*-dimethyl *O*-4-nitrophenyl phosphorothioate (methyl parathion) adversely affects the structure and function of male accessory reproductive organs in the rat", ***Environmental Toxicology and Pharmacology***, 22: 315-324 (2006).
- Ncibi, S., Othman, M.B., Akacha, A., Krifi, M.N., Zourgi, L., "*Opuntia ficus indica* extract protects against chlorpyrifos-induced damage on mice liver", ***Food and Chemical Toxicology***, 46: 797-802 (2008).
- Nelson, D.L., Cox, M.M., "Leninger Biyokimyanın İlkeleri, No:313", Editör: Nedret Kılıç, ***Palme Yayıncılık***, Ankara 798-809 (2005).
- Neuhouser, M.L., "Flavonoids and cancer prevention: What is the evidence in humans?", ***Pharmaceutical Biology***, 42, 36-45 (2004).
- Nostrandt, A.C., Padilla, S., Moser, V.C., "The relationship of oral chlorpyrifos effects on behavior, cholinesterase inhibition, and muscarinic receptor density in rat", ***Pharmacology Biochemistry and Behaviour***, 58: 15-23 (1997).
- Novak, R., "Histological changes in gills induced by residues of endosulfan", ***Aquatic Toxicology***, 23: 65-84 (1992).

Ogutcu, A., Suludere, Z., Kalender, Y., “Diklorvos-induced hepatotoxicity in rats and the protective effects of vitamins C and E”, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 26, 355-361 (2008).

Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K., “Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction”, *Analytical Biochemistry*, 95: 351-358 (1979).

Okamura, A., Kamijima, M., Shibata, E., Ohtani, K., Takagi, K., Ueyama, J., Watanabe, Y., Omura, M., Wang, H., Ichihara, G., Konda, T. Nakajima, T., “A comprehensive evaluation of the testicular toxicity of diklorvose in Wistar rats”, *Toxicology*, 213: 129-137 (2005).

Paglia, D.E., Valentine, W.N., “Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes glutathione peroxidase”, *Journal Laboratory Medicine*, 70: 158-169 (1967).

Pandey, A.C., “Impact of endosulfan (thiodon) EC 35 on behavior and dynamics of oocyte development in the teleost fish, *Colisa (Trichogaster) fasciatus*”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 15: 221-225, (1988).

Peres, W., Tuñón, M.J., Collado, P.S., Herrmann, S., Marron, N., González-Gallego, J., “The flavonoid quercetin ameliorates liver damage in rats with biliary obstruction”, *Journal of Hepatology*, 33: 742-750 (2000).

Poet, T.S., Kousba, A.A., Dennison, S.L., Timchalk, C., “Physiologically based pharmacokinetic/pharmacodynamic model for the organophosphorus pesticide diazinon”, *NeuroToxicology*, 25: 1013-1030 (2004).

Polat, C., Tokyol, Ç., Kahraman, A., Sabuncuoğlu, B., Yılmaz, S., “The effects of desferrioxamine and quercetin on hepatic ischemia-reperfusion induced renal disturbance”, *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 74: 379-383 (2006).

Possamai, F.P., Fortunato, J.J., Feier, G., Agostinho, F.R., Quevedo, J., Wilhelm Filho, D., Dal-Pizzol, F., “Oxidative stress after acute and sub-chronic malathion intoxication in Wistar rats”, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 23:198-204 (2007).

Prakasam, A., Sethupathy, S. Lalitha, S., “Plasma and RBCs antioxidant status in occupational male pesticide sprayers”, *Clinica Chimica Acta*, 20: 107-112 (2001).

Procházková, D., Boušová, I., Wilhelmová, N., “Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids”, *Fitoterapia*, 82: 513-523 (2011).

Quin, D.M., “Acetylcholinesterase: enzyme structure, reaction Dynamics, and virtual transition states”, *Chemical Reviews*, 87: 955-989 (1987).

- Ram, R.N., S.K., Singh, "Carbofuran induced histopathological and biochemical changes in liver of the teleost fish, *Channa punctatus* (Bloch)", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 16: 194–201 (1988).
- Ramesh, E., Jayakumar, T., Elanchezhian, R., Sakthivel, M., Geraldine, P., Thomas, P.A., "Green tea catechins, alleviate hepatic lipidemic-oxidative injury in Wistar rats fed an atherogenic diet", *Chemico-Biological Interactions*, 180: 10-19 (2009).
- Raveh, L., Grauver, E., Grunwald, J., Cohen, E., Ashani, Y., "The stoichiometry of protection against soman and VX toxicity in monkeys pretreated with human butyrylcholinesterase", *Toxicology and Applied Pharmacology*, 145: 43-53: (1997).
- Rezg, R., Mornagui, B., Kamoun, A., El-Fazaa, S., Gharbi, N., "Effect of subchronic exposure to malathion on metabolic parameters in the rat", *Comptes Rendus Biologies*, 330: 143–147 (2007).
- Rezg, R., Mornagui, B., El-Fazaa, S., Gharbi, N., "Caffeic acid attenuates malathion induced metabolic disruption in rat liver, involvement of acetylcholinesterase activity", *Toxicology*, 250: 27–31 (2008a).
- Rezg, R., Mornagui, B., El-Fazaa, S., Gharbi, N., "Biochemical evaluation of hepatic damage in subchronic exposure to malathion in rats: Effect on superoxide dismutase and catalase activities using native PAGE", *Comptes Rendus Biologies*, 331: 655-662 (2008b).
- Romero, M., Jiménez, R., Sánchez, M., López-Sepúlveda, R., Zarzuelo, M.J., O'Valle, F., Zarzuelo, A., Pérez-Vizcaíno, F., Duarte, J., "Quercetin inhibits vascular superoxide production induced by endothelin-1: Role of NADPH oxidase, uncoupled eNOS and PKC", *Atherosclerosis*, 202: 58-67 (2009).
- Sarabia, L., Maurer, I., Bustos-Obregón, E., "Melatonin prevents damage elicited by the organophosphorous pesticide diazinon on mouse sperm DNA", *Exotoxicology and Environmental Safety*, 72: 663-668 (2009a).
- Sarabia, L., Maurer, I., Bustos-Obregob, E., "Melatonin prevents damage elicited by the organophosphorous pesticide diazinon on the Mouse testis", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 938-942 (2009b).
- Sarkar, R., Mohanakumar, K.P., Chowdhury, M., "Effects of an organophosphate pesticide, quinalphos, on the hypothalamo-pituitary-gonadal axis in adult male rats", *Journal of Reproductive Fertility*, 118: 29-38 (2000).
- Saulsbury, M.D., Heyliger, S.O., Wang, K., Johnson, D.J., "Chlorpyrifos induces oxidative stress in oligodendrocyte cells", *Toxicology*, 259: 1-9 (2009).

Sayım, F., Yavaşoğlu, N.Ü., Uyanıkgil, Y., Aktuğ, H., Yavaşoğlu, A., Turgut, M., “Neurotoxic effects of cypermethrin in wistar rats: a haematological, biochemical and histopathological study”, *Journal of Health Science*, 51(3): 300-307 (2005).

Sayım, F., “Dimethoate-induced biochemical and histopathological changes in the liver of rats”, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 59: 237-243 (2007).

Scandalios, J. G., “Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defences”, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 38: 995-1014 (2005).

Silberberg, M., Morand, C., Manach, C., Scalbert, A., Remesy, C., “Co-administration of quercetin and catechin in rats alters their absorption but not their metabolism”, *Life Sciences*, 77: 3156-3167 (2005).

Slotkin, T.A., Seidler, F.J., “Developmental neurotoxicity of organophosphates targets cell cycle and apoptosis, revealed by transcriptional profiles in vivo and in vitro”, *Neurotoxicology and Teratology*, 34: 232-241 (2012).

Steinberg, F.M., Bearden, M.M., Keen, C.L., “Cocoa and chocolate flavonoids: Implications for cardiovascular health”, *Journal of the American Dietetic Association*, 103: 215-223 (2003).

Storm, J.E., Karl, K.R., Doull, J., “Occupational exposure limits for 30 organophosphate pesticides based on inhibition of red cell acetylcholinesterase”, *Toxicology*, 150: 1-29 (2000).

Sulak, O., Altuntas, I., Karahan, N., Yildirim, B., Akturk, O., Yılmaz, H.R., Delibas, N., “Nephrotoxicity in rats induced by organophosphate insecticide methidathion and ameliorating effects of vitamins E and C”, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 83: 21-28 (2005).

Suzuki, J., Ogawa, M., Futamatsu, H., Kosuge, H., Sagesaka, Y.M., Sobe, M., “Tea catechins improve left ventricular dysfunction, suppress myocardial inflammation and fibrosis, and alter cytokine expression in rat autoimmune myocarditis”, *European Journal of Heart Failure*, 9: 152-159 (2007).

Tkaczyk, M., Baj, Z., “Surface markers of platelet function in idiopathic nephrotic syndrome in children”, *Pediatric Nephrology*, 17: 673-677 (2002).

Tos-Luty, S., Obuchowska-Przebirowska, D., Latuszynska, J., Tokarska-Rodak, M., Haratym-Maj, A., “Dermal and oral toxicity of malathion in rats”, *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 10: 101-106 (2003).

Tripathi, S., Srivastav, A.K., “Liver profile of rats after long-term ingestion of different doses of chlorpyrifos”, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 97: 60-65 (2010).

Ural, M., Özgüner, M., Büyükvanlı, B., Kuplay, H., Köylü, H., “Akut diazinon toksisitesinin testis dokusunda oluşturduğu histolojik değişiklikler ve bu değişikliklere C vitamini ve E vitaminin etkisi”, *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 13: 22-25 (2006).

Uzun, F.G., Kalender, S., Durak, D., Demir, F., Kalender, Y., “Malathion-induced testicular toxicity in male rats and the protective effect of vitamins C and E”, *Food and Chemical Toxicology*, 47: 1903-1908 (2009).

Uzun, F.G., Demir, F., Kalender, S., Bas, H., Kalender, Y., “Protective effect of catechin and quercetin on chlorpyrifos-induced lung toxicity in male rats”, *Food and Chemical Toxicology*, 48: 1714-1720 (2010).

Uzun, F.G., Kalender, Y., “Protective effect of vitamins C and E on malathion-induced nephrotoxicity in male rats”, *Gazi University Journal of Science*, 24(2), 193-201 (2011).

Uzunhisarcikli, M., Kalender, Y., Dirican, K., Kalender, S., Ogutcu, A., Buyukkomurcu, F., “Acute, subacute and subchronic administration of methyl parathion-induced testicular damage in male rats and protective role of vitamins C and E”, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 87: 115-122 (2007).

Uzunhisarcikli, M., Kalender, Y., “Protective effects of vitamins C and E against hepatotoxicity induced by methylparathion in rats”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74: 2112-2118 (2011).

Verma, R.S., Mehta, A., Srivastava, N., “In vivo chlorpyrifos induced oxidative stress: Attenuation by antioxidant vitamins”, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 88: 191-196 (2007).

Verma, R.S., Mehta, A., Srivastava, N., “Comparative studies on chlorpyrifos and methyl parathion induced oxidative stress in different parts of rat brain: Attenuation by antioxidant vitamins”, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 95: 152-158 (2009).

Vicente-Sánchez, C., Egido, J., Sánchez-González, P.D., Pérez-Barriocanal, F., López-Novoa, J.M., Morales, A.I., “Effect of the flavonoid quercetin on cadmium-induced hepatotoxicity”, *Food and Chemical Toxicology*, 46: 2279-2287 (2008).

Vural, N., “Toksikoloji”, *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları*, No:73, Ankara. 344, 354 (1996).

Wafa, T., Amel, N., Issam, C., Imed, C., Abdelhedi, M., Mohamed, H., “Subacute effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic herbicide on antioxidant defence system and lipid peroxidation in rat erythrocytes”, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 99: 256-264 (2011).

WHO, The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard 1996–1997, *International Programme on Chemical Safety*, WHO/IPCS/96.3 (1997).

Wu, J., Lin, L., Luan, T., Gilbert, Y.S.C., Lan, C., “Effects of organophosphorus pesticides and their ozonation byproducts on gap junctional intercellular communication in rat liver cell line”, *Food and Chemical Toxicology*, 45: 2057-2063 (2007).

Yang, C., Deng, J., “Intermediate syndrome following organophosphate insecticide poisoning”, *Journal of the Chinese Medical Association*, 70 (11): 467-472 (2007).

Yarsan, E., Tanyuksel, M., Celik, S., Aydın, A., “Effects of aldicarb and malathion on lipid peroxidation”, *Bulletin of Environmental Contamination Toxicology*, 63: 575-581 (1999).

Yehia, M.A.H., El-Banna, S.G., Okab, A.B., “Diazinon toxicity affects histophysiological and biochemical parameters in rabbits”, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 59: 215-225 (2007).

Yousef, M.I., Awad, T.I., Mohamed, E.H., “Deltamethrin-induced oxidative damage and biochemical alterations in rat and its attenuation by vitamin E”, *Toxicology*, 227, 240-247 (2006).

Yu, F., Wang, Z., Ju, B., Wang, Y., Wang, J., Bai, D., “Apoptotic effect of organophosphorus insecticide chlorpyrifos on mouse retina in vivo via oxidative stress and protection of combination of vitamins C and E”, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 59: 415-423 (2008).

Zaahkouk, S.A.M., Helal, E.G.E., Abd-Rabo, T.E.I., Rashed, S.Z.A., “Carbamate toxicity and protective effect of vit. A and vit. E on some biochemical aspects of male albino rats”, *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, 1: 60-77 (2000).

Zal, F., Mosfatavi-Pour, Z., Vessal, M., “Comparison of the effects of vitamin E and/or quercetin in attenuating chronic cyclosporine A-induced nephrotoxicity in male rats”, *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 34: 720–724 (2007).

Zayed, S.M.A.D., Farghaly, M., El-Maghraby, S., “Fate of ¹⁴C-chlorpyrifos in stored soybeans and its toxicological potential to mice”, *Food and Chemical Toxicology*, 41: 767–772 (2003).

Zheng, Q., Oliver, K., Won, Y.K., Pope, C.N., “Comparative cholinergic neurotoxicity of chlorpyrifos exposure in preweaning and adult rats”, *Toxicological Sciences*, 55: 124-132 (2000).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı :UZUN, Fatma Gökçe
 Uyuğu :T.C.
 Doğum tarihi ve yeri :05.09.1983 Ankara
 Telefon :0 (312) 2021506
 e-mail :fguzun@gazi.edu.tr

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi FBE Biyoloji Bölümü	2007
Lisans	Gazi Üniversitesi FEF Biyoloji Bölümü	2005
Lise	Anıttepe Süper Lisesi	2001

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2005-devam	Gazi Üniv. FEF Biyoloji Bölümü	Araştırma Görevlisi

Yabancı Dil

İngilizce