



**RATLARDA FENİTROİYON'UN AKCİĞER DOKUSUNA TOKSİK
ETKİSİ VE GALLİK ASİTİN KORUYUCU ROLÜ**

Utku Umut TUNA

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

HAZİRAN 2023

ETİK BEYAN

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

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

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

Utku Umut TUNA

01/06/2023

RATLARDA FENİTROİYON'UN AKCİĞER TOKSİSİTESİ ÜZERİNE GALLİK ASİTİN KORUYUCU ROLÜ

(Yüksek Lisans Tezi)

Utku Umut TUNA

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Haziran 2023

ÖZET

Fenitroiyon, zirai mücadelede sıklıkla kullanılan organofosfat bir insektisittir. Gallik asit (GA, 3,4,5-trihidroksibenzoik asit), meşe, kestane gibi bazı sert ağaç bitki türlerinin yanı sıra çay, üzüm ve çilek gibi diğer bazı meyvelerde bulunan antioksidan, antienflamatuar, antikanser ve serbest radikal süpürücü aktivitelere sahip doğal polifenolik bir bileşiktir. Bu çalışmada fenitroiyonun sebep olduğu akciğer toksisitesi üzerine gallik asitin koruyucu etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla ratlar, kontrol grubu, gallik asit (50 mg/kg gün) muameleli grup, fenitroiyon (32 mg/kg gün, 1/25 LD₅₀) muameleli grup ve, fenitroiyon (32 mg/kg gün) ve gallik asit(50 mg/kg gün) muameleli grup olmak üzere 4 gruba ayrıldı. 28 günlük deneylerin sonunda akciğer dokusunda malondialdehit (MDA) düzeyleri ve antioksidan enzim aktiviteleri [süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon-S-transferaz (GST)] kontrol grubu ile karşılaştırıldı. Kontrol grubu ile fenitroiyon muameleli gruplar MDA seviyesi bakımından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenirken, SOD, CAT, GPx ve GST enzim aktivitelerinde istatistiksel olarak bir azalma gözlemlendi. Fenitroiyon ve gallik asitin birlikte uygulandığı grup, fenitroiyon muameleli grupla karşılaştırıldığında MDA seviyesinde istatistiksel olarak bir azalma gözlenirken, SOD, CAT, GPx ve GST enzim aktivitelerinde de istatistiksel olarak bir artış gözlemlendi. Histopatolojik çalışmalarımız da biyokimyasal çalışmalarımızı desteklemiştir. Fenitroiyon muameleli ratların akciğerlerinde interalveolar septumda kalınlaşmalar ve alveolar keselerde daralmalar gözlenirken fenitroiyon ve gallik asit muameleli ratlarda bu etkilerin azaldığı gözlenmiştir.

Bilim Kodu : 20137
Anahtar : Fenitroiyon, gallik asit, histopatoloji, oksidatif stres,
Kelimeler : antioksidan enzimler
Sayfa Adedi : 48
Danışman : Prof. Dr.Yusuf KALENDER

FENITROTHION INDUCED LUNG TOXICITY AND PROTECTIVE ROLE OF GALLIC ACID IN RATS

(M. Sc. Thesis)

Utku Umut TUNA

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

June 2023

ABSTRACT

Fenitrothion is an organophosphate insecticide that is frequently used in agricultural control. Gallic acid (GA, 3,4,5-trihydroxybenzoic acid) is a natural polyphenolic compound with antioxidant, anti-inflammatory, anticancer and free radical scavenging activities found in some hardwood plant species such as oak, chestnut, as well as some other fruits such as tea, grapes and strawberries is composite. In this study, the protective effect of gallic acid on lung toxicity caused by fenitrothion was investigated. For this purpose, rats, control group, gallic acid (50 mg/kg day) treated group, fenitrothion (32 mg/kg day, 1/25 LD₅₀) treated group, and fenitrothion (32 mg/kg day) plus gallic acid (50 mg/kg day) were separated from 4 groups. At the end of the 28-day experiments, malondialdehyde (MDA) levels and antioxidant enzyme activities [superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione-S-transferase (GST)] in the lung tissue were compared with the control group. When the control group and fenitrothion treated groups were compared in terms of MDA levels, a statistically significant increase was observed, while a statistically significant decrease was observed in SOD, CAT, GPx and GST enzyme activities. Compared to the group treated with fenitrothion and gallic acid, a statistically significant decrease was observed in MDA level, while a statistical increase was observed in SOD, CAT, GPx and GST enzyme activities. Our histopathological studies also supported our biochemical studies. While thickening of the interalveolar septum and contractions of the alveolar sacs were observed in the lungs of rats treated with fenitrothion, these effects were decreased in rats applied with fenitrothion and gallic acid group.

Science Code : 20137

Key Words : Fenitrothion, gallic acid, histopathology, oxidative stress, antioxidant enzymes

Page Number : 48

Supervisor : Prof. Dr.Yusuf KALENDER

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca kıymetli yardım ve bilgileriyle beni yönlendiren tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Yusuf KALENDER'e en içten teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımlarını eksik etmeyen değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Fatma Gökçe APAYDIN ve Dr. Öğr. Üyesi Çağlar ADIGÜZEL'e teşekkür ederim. Bu tez çalışmasının deney hayvanları çalışmalarını destekleyen Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Birimine çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	ix
RESİMLERİN LİSTESİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. MATERYAL METOD	19
2.1. Deney Hayvanları.....	19
2.2. Kimyasal Maddeler.....	19
2.3. Hayvanlara Uygulama Planı	19
2.3.1. Kontrol grubu	19
2.3.2. Fenitrothiyon grubu.....	19
2.3.3. Gallik asit grubu	19
2.3.4. Fenitrothiyon+Gallik asit grubu	19
2.4. Dokuların Elde Edilmesi	20
2.5. Malondialdehit (MDA) seviyelerinin belirlenmesi	20
2.6. Antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi.....	20
2.6.1. Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesinin belirlenmesi	20
2.6.2. Katalaz (CAT) enzim aktivitesinin belirlenmesi.....	21
2.6.3. Glutatyon peroksidaz (GPx) enzim aktivitesinin belirlenmesi	21
2.6.4. Glutatyon S transferaz (GST) enzim aktivitesinin belirlenmesi	21

	Sayfa
2.7. Işık Mikroskobu İncelemeleri.....	21
2.8. Verilerin Değerlendirilmesi	22
3. ARAŞTIRMA BULGULARI	23
3.1. Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Değerlendirilmesi	23
3.2. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Değerlendirilmesi	23
3.3. Işık Mikroskobu Bulgularının Değerlendirilmesi	26
4. TARTIŞMALAR VE ÖNERİLER.....	31
KAYNAKLAR	47
ÖZGEÇMİŞ	48

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Organosfosfatlu bir insektisit olan fenitrotiyon' un kimyasal yapısı.....	6
Şekil 1.2. Serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki denge.....	9
Şekil 1.3. Polifenolik bir bileşik olan gallik asit' in kimyasal formülü	15
Şekil 3.1. Kontrol ve uygulamalı grupların akciğer dokularındaki MDA düzeyleri	23
Şekil 3.2. Kontrol ve uygulamalı grupların akciğer dokularındaki SOD enzim aktiviteleri	24
Şekil 3.3. Kontrol ve uygulamalı grupların akciğer dokularındaki CAT enzim aktiviteleri.	24
Şekil 3.4. Kontrol ve uygulamalı grupların akciğer dokularındaki GPx enzim aktiviteleri.	25
Şekil 3.5. Kontrol ve uygulamalı grupların akciğer dokularındaki GST enzim aktiviteleri.	25

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Kontrol grubu ratların akciğer dokusunun genel histolojik yapısı	26
Resim 3.2. Gallik asit grubu ratların akciğer dokusunun genel histolojik yapısı	26
Resim 3.3. Fenitrothiyon uygulanan ratların akciğer dokusundaki interalveoler septanın kalınlaşması ve alveoler kesenin büzülmesi	27
Resim 3.4. Fenitrothiyon uygulanan ratların akciğer dokusundaki interalveoler septanın kalınlaşması ve alveoler kesenin büzülmesi	27
Resim 3.5. Fenitrothiyon uygulanan ratların akciğer dokusundaki interalveoler septanın kalınlaşması ve alveoler kesenin büzülmesi.....	28
Resim 3.6. Fenitrothiyon uygulanan ratların akciğer dokusunda hücre infiltrasyonu ...	28
Resim 3.7. Fenitrothiyon uygulanan ratların akciğer dokusunda hemoraji ve hücre infiltrasyonu	29
Resim 3.8 Fenitrothiyon ve gallik asit uygulanan ratların alveoler keselerinde ve interalveolar septumda histopatolojide azalma.	29
Resim 3.9. Fenitrothiyon ve gallik asit uygulanan ratların alveoler keselerinde ve interalveolar septumda histopatolojide azalma	30
Resim 3.10. Fenitrothiyon ve gallik asit muameleli ratların akciğerlerinde hemoraji	30

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler

Açıklamalar

°c	Santigrat
μmol	Mikromol
gr	Gram
kg	Kilogram
l	Litre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mol	Mol
nm	Nanometre
u	Unit

Kısaltmalar

Açıklamalar

AChE	Asetilkolin esterase enzim
CAT	Katalaz
CDNB	1-chloro- 2,4dinitrobenzen
DDT	Diklorodifeniltri-kloroetan
DNA	Deoksiribonükleik asit
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
FNT	Fenitrothiyon
GPX	Glutasyon peroksidaz
GST	Glutasyon S-transferaz
İ.M.	İntramuscular
K+	Potasyum
LD	Letal doz
MDA	Malondialdehit
Na+	Sodyum

Kısaltmalar**Açıklamalar****NADPH**

Nikotinamid-adenin-dinükleotid hidrojen fosfat

OCs

Organoklorinli pestisitler

OP

Organofosfat

RNA

Ribonükleik asit

ROS

Oksijenden oluşan serbest reaktif tür

SOD

Süperoksit dismutaz

TBA

Tiyobarbitürik asit

WHO

Dünya Sağlık Örgütü

1.GİRİŞ

Böcek ilaçlarının ilk kaydedilen kullanımı yaklaşık 4500 yıl önce böcekleri ve akarları kontrol etmek için kükürt bileşiklerini kullanan Sümerler tarafından yapılmıştır (Umetsu ve Shirai, 2020).

Pestisitler, besin maddelerinin, tarım ürünlerinin, üretilmesi, işlenmesi, taşınması, depolanması ve pazarlanması sırasında oluşabilecek zararın önlenmesi amacıyla kullanılan maddelerdir. Bununla birlikte pestisitler çeşitli vektörel hastalıkların yayılmasında da sıklıkla kullanılmaktadır (Altıkat ve diğerleri 2009).

Pestisitler sadece hedef organizmaları etkilemekle kalmaz, atmosfer, toprak, yeraltı suyu ve yüzey suyu da dahil olmak üzere tüm çevreyi etkileyerek ekosistemi kirletir (Souza ve diğerleri, 2020).

Pestisitlerin kullanımı ekosistemi olumsuz yönde etkilemektedir. Özellikle bilinçsiz olarak kullanılan pestisitler, toprakta ve suda kirlenmelere sebep olmaktadır (Altıkat ve diğerleri 2009).

Pestisitler, tarımsal, evsel ve kurumsal ortamlarda hayvanları, bitkileri, böcekleri ve zararlıları, yabancı otları, mantarları, bakterileri canlı organizmaları öldürmek için kullanılan kasıtlı olarak çevreye salınan kimyasal maddeler olarak nitelendirilmiştir (Kim, Kabir ve Jahan 2017 Sharma, Thapa ve diğerleri, 2012).

Tarım, çeşitli zararlıları kimyasal olarak kontrol etmek için pestisitlerin en büyük tüketicisi olmuştur. Ayrıca, pestisitler, süs peyzajlarında, parklarda ve bahçelerde vektör kaynaklı hastalıkları ve istenmeyen bitkileri kontrol etmek için halk sağlığı faaliyetlerinde de kullanılmaktadır. Bununla birlikte, pestisitlere istenmeyen maruz kalma, zehirli olacak şekilde tasarlandıkları için insanlar ve diğer canlı organizmalar için son derece tehlikeli olabilir (Kim, Kabir ve Jahan 2017).

Geçtiğimiz yıllarda, tarımda yüksek verimli üretimler için farklı pestisit türleri yaygın olarak kullanılmıştır. Pestisit uygulamaları tüm dünyada bitkisel üretimin neredeyse üçte birini sağlamıştır. Dünya nüfusundaki artış, gıda üretiminin artışına neden olmuştur. Buna bağlı olarak da tarımsal alanlardan daha fazla ürün elde edebilmek için pestisit kullanımı giderek artmıştır (Samsidar ve diğerleri 2018).

Pestisitler, çeşitli vektörel hastalıklar başta olmak üzere zararlılarla mücadele metotları arasında en çok tercih edilen metotların başında yer almaktadır. Pestisitlerin kullanılmadığı durumlarda ise ürünlerde yaklaşık olarak % 60'lık bir verim kaybı olduğu ifade edilmektedir. Bazı pestisit türleri buharlaşabilme özelliğine sahiptir. Bu nedenle atmosferde de ciddi birikim ve kirlenmelere sebep olarak canlı sağlığını tehdit etmektedir (Tiryaki ve diğerleri, 2010).

Pestisitler, hedef organizmaları yok etmek için üretilmiş kimyasal maddelerdir. Bu nedenle pestisitler hedef organizmalarda çeşitli sistemler üzerine etki ederek zararlı organizmaların popülasyonlarında azalmaya neden olmaktadır. Ancak pestisitler sadece hedef organizmalara değil aynı zamanda hedef olmayan organizmalar üzerine de etki etmektedir (Jayaraj ve diğerleri, 2016).

Dünya çapında yılda 4 milyon tondan fazla pestisit uygulanmaktadır. Tarım ürünlerinde kullanıldıktan sonra pestisitler birikimlerinin kalıcılığına bağlı olduğu toprak, hava ve su kütlelerine ulaşır ve farklı çevre kısımlarında önemli konsantrasyonlara ulaşabilirler (Trellu ve diğerleri, 2021).

Sentetik pestisitlerin yaklaşık 6000 adetinin patenti vardır fakat, sadece 600 kadarı ticari olarak kullanılmaktadır (Yeşil, ve Öğür, 2011). Her yıl Türkiye'de 40 bin ton pestisit kullanılmaktadır Türkiye'de pestisit kullanımı etkin olarak, 2002 yılında yaklaşık olarak %50'lik bir artış göstermiştir. Ülkemizde pestisit kullanımı, diğer ülkelerle karşılaştırıldığında daha azdır (Delen ve diğerleri, 2005).

Pestisitler, besin zinciri ve doğal kaynakların kirlenmesi yoluyla dolaylı olarak insanlar için büyük bir risk oluşturmaktadır. Örneğin, pestisit kirliliği, yaygın pestisit kullanımı nedeniyle kanserden ölüm oranının ortalamadan önemli ölçüde yüksek olmasından kaynaklanan kanser yükselişinde rol oynamıştır (Sun ve diğerleri, 2018).

Dünya sağlık Örgütü'ne (WHO) göre, pestisitle temastan kaynaklanan akut zehirlenmeden yaklaşık 1000,000 insan etkilenmektedir. Ayrıca pestisitlerin, DNA'daki hasarları tetikleyen bileşenleri oluşturdukları için muhtemel mutajenler olduğu düşünülmektedir (Hassaan ve Nemr 2020).

Pestisitlerin canlılardaki antioksidan enzim sistemlerini bozduğu ve baskıladığı gözlenmiştir (Blasiak ve diğerleri 1991). Başka bir çalışmada da pestisitlerin kas sistemi üzerinde olumsuz etkileri olduğu gösterilmiştir (Izushi ve Ogata, 1990).

Pestisitlerin anne karnındaki fetüsün ya da yeni doğan bebeklik döneminde nöron gelişimini olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir (Munoz ve diğerleri 2013).

Kişisel koruyucu ekipman kullanılmasına rağmen, iş faaliyetleri sırasında çeşitli maruz kalma türleri tarım uygulamalarında çiftçilerin sağlık koşullarını etkileyebilir. Çok sayıda çalışmada mesleki maruziyet ile ilişkili yan etkiler gözlenmiştir. Tüm bu etkiler biyomoleküler değişiklikleri içerebilir ve bu da spesifik hastalıkların gelişmesine neden olabilir (Dhananjayan ve Ravichandran, 2018).

Etki ettikleri canlı organizmaya göre pestisitler:

- İnsektisit
- Herbisit
- Fungusit
- Rodentisit
- Akarisit
- Virisit
- Bakterisit
- Nematosit olarak sınıflandırılmıştır.

Zirai mücadelede ülkemizde tüketilen pestisitlerin başında insektisitler gelmektedir (Tiryaki ve diğerleri, 2010).

Pestisitler hedef organizmalara etki etmesinin yanısıra hedef olmayan organizmalara da etki etmesi, bu canlılarda toksik etki göstermesi en büyük dezavantajdır (Özkaya ve diğerleri, 2013). İnsektisitlerin birçoğu nörotoksiktirler. Yani etkilerini sodyum ve potasyum iyonlarının taşınma mekanizmasını bozarak, asetilkolin esterazı inhibe ederek gösterebilirler. Bununla beraber pestisitler, oral, inhalasyon ve dermal yol ile de toksik etki göstermektedirler (Vural, 1996).

Kimyasal bileşime bağlı olarak, pestisitler 4 ana kategoriye ayrılır:

- Organoklorlu pestisitler,
- Organosfosfatlı pestisitler,
- Karbamatlı pestisitler,
- Piretroidli pestisitler olarak sınıflandırılmıştır (Hassaan ve Nemr 2020).

Fosforik asitten türetilen bazı esterler organosfosfatlı pestisitler olarak bilinir. Oluşan bu esterler, insan ve böceklerin merkezi sinir sisteminde nörotoksiktir. Asetilkolinesteraz enziminin (AChE) inhibisyonuna dayanan ve insanların merkezi sinir sistemi üzerinde etkilerini gösterirler (Samsidar ve diğerleri 2018, Hassaan ve Nemr 2020). Yarı ömürleri, çevresel koşullara bağlı olarak birkaç günden birkaç ay süreye kadar değişiklik gösterir (Binter ve diğerleri, 2020).

Günümüzde organosfosfatlı insektisitlerin halk sağlığı ve tarımda yaygın olarak kullanılması, çevre kirliliğine ve bir dizi akut ve kronik zehirlenme olaylarına neden olmaktadır (Hussain, 2010). İnsanlar bu pestisitlere doğrudan tarım işçisi olarak veya dolaylı olarak gıda tüketimi yoluyla maruz kalmaktadır (Alam ve diğerleri 2019). Genel popülasyonun maruz kalma yolunun, organosfosfat kalıntıları ile kirlenmiş yiyecek veya içme suyunun tüketilmesi olduğu düşünülmektedir (Binter ve diğerleri, 2020).

Çoğu organosfosfatlı zehirlenme vakaları oral yol ile meydana gelmektedir. Zehirlenme vakalarında organosfosfat pestisit konsantrasyonu en yüksek değerleri yağ dokularında göstermiş ve bunu akciğer dahil birçok organ izlemiştir (Budin ve diğerleri, 2012). Bu bileşiklerden etkilenebilecek hematolojik sistem, karaciğer, böbrek, kas ve immün sistem ve diğerleri olarak söylenebilir (Possamai ve diğerleri, 2007, Teimouri ve diğerleri, 2006).

Organosfosfatlı insektisitler ile akut zehirlenmenin ana klinik etkisi, asetilkolinesteraz enziminin (AChE) kan ve sinir sistemindeki aktivitesinin geri dönüşümsüz olarak inhibe edilmesini içerir, bu da ölüme yol açabilecek muskarinik ve nikotinik reseptörlerin aktivasyonuna neden olabilir. Bu insektisitler veya metabolitleri, esterazın aktif bölgesi içindeki serin hidroksil kısmının fosforilasyonu yoluyla güçlü serin esteraz inhibitörleridir (Aygün ve diğerleri, 2007, Savolainen, 2001).

Organofosfatın, canlılarda kolinesterazın inhibisyonu ve kolinerjik etkilerin varlığı dışında, oksidatif stres ve hiperglisemi etkileri de bulunmaktadır. Organofosfatlı insektisitlerin sebep olduğu oksidatif stres, çeşitli organ ve dokuların işlevlerinde bozulmalara yol açabilmektedir. Subkronik veya kronik organofosfat maruziyetinde oksidatif stresin indüklenmesi, toksisitesinin ana mekanizmasıdır (Hussain, 2010).

Organofosfatlı pestisitlerin akut toksisitede uzun süreli bir etkisi olmadığı ancak kronik seviyede toksisitenin etkilerinin uzun olduğu gözlemlenmiştir. Gözyaşı, salya, idrar tutamama, diare ve göz bebeğinde büyüme gibi semptomlara yol açabilir (Agrawal ve Sharma, 2010).

Organofosfat toksisitesinde doğal veya sentetik antioksidan takviyesi faydalı olabilmektedir. Bu yüzden, organofosfat toksisitesine karşı korunmada antioksidanların etkinliğini araştırmak için klinik deneylere ihtiyaç duyulmaktadır (Hussain, 2010).

Artık birçok hastalığın nedenlerinden biri olarak kabul edilen antioksidan seviyesindeki değişiklikler göz önüne alındığında, organofosfat bileşiklerinin vücutta oksidatif stres indüksiyonu üzerindeki etkisinin daha fazla araştırılması son derece önemli görünmektedir (Deng ve diğerleri, 2016, Tripathi ve Srivastav, 2010).

2005 yılında, yapılan bir çalışmada, organofosfatların antioksidan enzim seviyelerinde düşüşe, lipid peroksidasyonunda artışa ve asetilkolinesteraz enzim aktivitesinde düşüşe sebep olduğu gösterilmiştir (Mashali ve diğerleri, 2005).

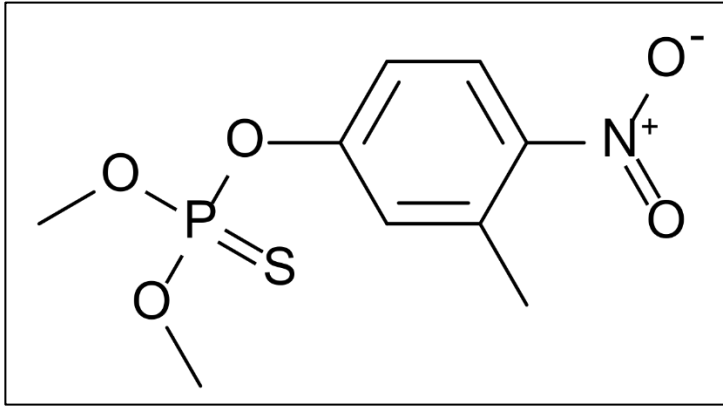
Yapılan bir çalışmada kronik yorgunluk hali ile organofosfat maruziyeti arasındaki ilişki incelenmiştir. Organofosfat toksisitesi yaşayan küçükbaş hayvan yetiştiricilerinde kronik yorgunluk hali olduğu tespit edilmiş ve bu durum organofosfat kullanımıyla kronik yorgunluk arasında nispeten de olsa bir ilişki olabileceğini ortaya koymuştur (İstanbuluoğlu, Oğur ve Güleç, 2009; Slotkin, Oliver ve Seidler, 2005).

Yapılan bir çalışmada, organofosfatlı pestisitlerin küçük çocuklar üzerindeki nörodavranışsal etkileri incelenmiştir. Nörodavranışsal açıdan çocuklar değerlendirildiğinde organofosfatlı pestisitlere maruz kalanlar ile maruz kalmayanlar arasında maruz kalanlar, maruz kalmayanlara göre motor becerilerinde ve sosyal davranış gelişimlerinde aksamalar görülmüştür (Handal ve diğerleri, 2007, İstanbuluoğlu ve diğerleri, 2009).

Organofosfatlı bir pestisit olan klorpirifos ile yapılan bir çalışmada, sub-letal dozda klorpirifos uygulanan sıçanlarda toksisiteye bağlı olarak beyin, dalak, böbrek ve karaciğerinde hasar ve dokulardaki biyokimyasal parametrelerde değişikliğe yol açtığı gözlenmiştir (Verma ve diğerleri, 2007). Klorpirifos ile yapılan deneylerde farelerin böbrek

dokusunda hücre infiltrasyonu, hemoraji ve ödem olduğu ve bu yüzden toksisiteye neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca vücut ağırlığında azalmaya yol açtığı ve oksidatif stres düzeyini arttırdığı ifade edilmiştir (Tripathi ve Srivastav, 2010; Deng ve diğerleri, 2016).

Bu tez çalışmasında kullanılan fenitrotyon FNT) [O, O-dimetil-O- (3-metil-4-nitrofenil) fosforotioat] organofosfatlı bir insektisittir (Şekil 1.1). Fenitrotyon, pamuk, pirinç ve sebze üzerindeki çiğneyici ve emici ağız yapısına sahip olan böcek zararlılarını ve akarları kontrol etmede yaygın olarak kullanılan geniş spektrumlu organosfosfatlu (OP) bir insektisittir (Milošević ve diğerleri 2019, Galal ve diğerleri 2019, Abdel-Ghany ve diğerleri 2016). Dünya Sağlık Örgütü tarafından (WHO) listelenen tüm rahatsız edici haşarelere karşı da etkilidir ve sıtma için önemli bir vektör kontrol maddesidir. Paratiyonun yasaklandığı bazı ülkelerde tercih edilmektedir (Sarıkaya ve diğerleri, 2004).



Şekil 1.1. Organosfosfatlı bir insektisit olan fenitrotyon' un kimyasal yapısı

Toprakta, suda ve gıda ürünlerindeki FNT varlığı, hedef olmayan organizmalar üzerinde toksik etkilere sahiptir. Oral uygulamadan sonra, fenitrotyon (FNT) memeli bağırsak yolundan hızla ve yoğun bir şekilde emilir ve esas olarak memelilerin karaciğeri ve kanda birikime sebep olur (Afshar ve diğerleri 2008). Türler arasındaki toksisite dozu değişse de sucul omurgasızlar yüksek sistemik toksisite gösterirken, balıkların daha az duyarlı olduğu görülmüştür (Faria ve diğerleri 2021). İnsanlar FNT'ye doğrudan iş yoluyla veya dolaylı olarak gıda alımı olarak iki şekilde maruz kalabilirler (Abd-Elhakim ve diğerleri 2021).

FNT, tarım ve halk sağlığı programlarında yaygın olarak kullanıldığından, FNT' nin oral yol ile alınmasına bağlı olarak subakut akciğer toksisitesi riskini artırır. Bunun sebebi, subakut toksisitenin gıda yoluyla küçük miktarlarda pestisit kimyasalına sürekli olarak maruz kalınmasından sonra ortaya çıkma olasılığının daha yüksek olmasıdır. Akciğer toksisitesi,

özellikle aerosol formdaki organosfosfatlu pestisitlerle ilgili olarak halk için önemli bir endişe kaynağıdır. Bunun sebebi, solunabilir küçük boyutlu sprey damlacıklarının insanlar tarafından yanlışlıkla inhalasyon yoluyla maruz kalınabilmesidir (Budin ve diğerleri, 2012). Bununla ilgili yapılan çalışmalarda, farklı dozlarda fenitrotiyon uygulanan sıçanların böbrek ve karaciğerlerinde histopatolojik anomalilere, akciğerlerinde ise sitotoksik etkilere ve sıçanlarda immünosupresif etkilere sebep olduğunu göstermiştir. 20 mg/kg vücut ağırlığı dozuyla oral yol ile erkek sıçanlara uygulanan fenitrotiyon, karaciğer ve böbreklerde önemli hasara ve akciğerlerin histolojisinde değişikliklere neden olmuştur (Elhalwagy ve diğerleri, 2008; Hayes ve Laws, 1991).

Ayrıca FNT solunum, sindirim ve boşaltım sistemleri olmak üzere birçok sistemin yapısında bozulmalara ve hasarlara neden olmaktadır (El Demerdash, 2011). FNT, karaciğerde hücre infiltrasyonuna, nekroza ve hücre hasarına sebep olduğu gözlenmiştir (Elhalwagy ve diğerleri, 2008). Albino ratlara 12-21 günlük gebelik döneminde FNT uygulandığında erkek ratların üreme sisteminin gelişiminde sıkıntılara neden olduğu görülmüştür (Farag ve diğerleri 2010). FNT toksisitesinin en önemli etkilerinden biri de antioksidan enzim aktivitesinin değişmesi ve oksidatif stresin indüklenmesidir (Galal ve diğerleri 2019). Bununla birlikte, sitokrom P450 tarafından FNT metabolizmasının bir yan ürünü olan reaktif oksijen türleri (ROS) büyük miktarda üretilir (Milosevic ve diğerleri 2017). Bu metabolitler, oksidatif stres ve apoptozu indükleyen reaktif oksijen türleri (ROS) ürettikleri için FNT' nin kardiyotoksitesinde de büyük pay sahibidir (Ibrahim ve diğerleri 2022).

Başka bir çalışmada, FNT, ratların böbreklerinde, biyokimyasal ve histopatolojik değişikliklere neden olmuştur. FNT tarafından asetilkoliesterazın inhibe olduğu ve biyokimyasal olarak kreatin, ürik asit ve ürenin yükseldiği bildirilirken, histopatolojik olarak böbrek tübüllerinde dilatasyona, atrofiye neden olurken, hücrelerde infiltrasyona yol açtığı belirtilmiştir (Kerem ve diğerleri 2007).

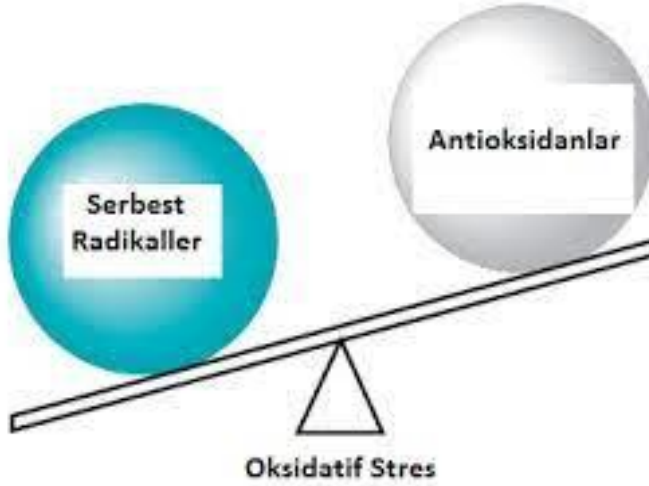
2008 yılında yapılan çalışmada, wistar cinsi ratlarda fenitrotiyonun böbrek dokusunda toksikolojik etkisi olduğu ortaya koyulmuştur. Histopatolojik incelemelerde, tübüllerde hücre dejenerasyonu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte medulla ve korteks bölgesinde hemorajiye, tübüler dilatasyona ve konjesyona yol açtığı gözlemlenmiştir (Afshar ve diğerleri, 2008).

2005 yılında yapılan bir çalışmada, buğdayda fenitrotiyon kalıntılarını, büyüklüğünü ve depolama koşulları araştırılmıştır. Kepek ekmekte, en yüksek miktarda insektisit ve metabolit bulunurken beyaz ekmekte ise en az seviyede bulunmuştur. Kepekli ekmekler dışında fenitrotiyon seviyesinde maksimum kalıntı limitlerinin aşılmadığı görülmüştür (Uygun ve diğerleri, 2005).

Ratlarla yapılan bir çalışmada, fenitrotiyona akut ve kronik maruz kalma, karaciğer ve böbrek hücrelerinde nükleer membranın tamamen bozulmasına, bütünlüğün tümüyle kaybına ve aşırı derecede genişlemiş düz endoplazmik retikulum ile yapısal değişikliklere yol açtığı belirtilmiştir (Elhalwagy ve diğerleri, 2008).

2004 yılında balıklar üzerinde yapılan bir araştırmada, kontrol grubu dışındaki 5 farklı gruba, her grup farklı konsantrasyonda olacak şekilde fenitrotiyon uygulanmıştır. 96 saat boyunca incelenen gruplarda, en düşük doz uygulanan grupta (2.5 mg/l) kontrole göre bir farklılık görülmezken, diğer gruplarda davranışsal değişimler ve ölümler gerçekleşmiştir. En yüksek doz uygulanan gruptaki (4.5 mg/l) tüm canlıların 48 saat içerisinde öldüğü görülmüştür (Sarıkaya ve diğerleri, 2004).

2013 yılında Sprague-Dawley cinsi sıçanlarla yapılan bir çalışmada, 20 mg/kg fenitrotiyon art arda 28 gün boyunca hayvanlara oral yoldan verilmiştir. Sperm ve kan örnekleri alınan çalışma, fenitrotiyonun vücut ve organ ağırlığını etkilediği, biyokimyasal ve oksidatif stres seviyelerini değiştirdiği, sperm özelliklerini, testis histolojisindeki değişimler ve ultrastrüktürel değişikliklere yol açtığını göstermiştir. Fenitrotiyon, vücut ağırlığı artışı ve epididim ağırlığını kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde azaltmıştır. Ayrıca kontrol grubu ile kıyaslandığında plazma kolinesteraz aktivitesinin azaldığı gözlenmiştir. Fenitrotiyon maruziyeti sonucu gruplarda sperm konsantrasyonu, sperm canlılığı ve normal sperm morfolojisi gibi sperm özellikleri değişmiştir. Fenitrotiyon uygulanan grubun testislerinin histopatolojik ve ultrastrüktürel incelemesi, kontrol grubu ile kıyaslandığında biyokimyasal değişiklikler gözlenmiştir. 20 mg/kg fenitrotiyon dozunun Sprague-Dawley sıçanlarında testis ve spermelerde zararlı etkilere yol açtığı dile getirilmiştir (Taib ve diğerleri, 2013). Pestisitlerin yol açtığı toksisitede serbest radikallerin rolü büyüktür. Antioksidan mekanizmalarda bozulmalardan dolayı serbest radikaller oksidatif strese yol açabilirler (Kehrer, 1993). Oksidatif stres, hücre homeostasisinin bozulmasında önemli bir göstergedir (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki denge (Ecevit, 2018)

Oksidatif stres, yüksek düzeyde reaktif oksijen türlerinin (ROS) varlığı ile antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilir. Yapısında oksijen bulunduran serbest reaktif türleri (ROS) serbest radikallerin büyük çoğunluğunu oluşturmaktadır (Ozbek, 2012). Bu moleküller, yükseltgenme-indirgeme reaksiyonları yoluyla oluşur ve oldukça reaktiftirler (Bullon ve diğerleri 2015). Serbest radikaller, eşleşmemiş bir ya da daha fazla elektronu bulunan yapılardır (Karakan ve diğerleri, 2017). Bu moleküller iyonize edici radyasyon, elektron transfer zincirindeki elektronların transferi ya da molekül içi bağların homolitik olarak parçalanmasının bir sonucu olarak meydana gelebilmektedirler (Cherubini ve diğerleri, 2005). Serbest radikallerin büyük bir çoğunluğu oksijen içermektedir. Hücreler hastalık ya da yaşlılık durumlarında yüksek oranda serbest radikal sentezlerler ve kendilerini apoptoza yönlendirirler (McCord, 1993).

ROS'nin üretimi çeşitli hastalıkların (örneğin, nörodejenerasyon, diyabet, kanser ve ateroskleroz) başlangıcında ve ilerlemesinde rol oynamaktadır. Bununla birlikte, moleküler düzeyde ROS' un biyolojik sistemler için sinyal ve hücre fonksiyonunu değiştiren roller sergilediği açıklanmıştır (Sarkar ve diğerleri 2018). Hücre içi redoks durumundaki dengesizliğin, hücre proliferasyonunu, immün yanıtları, metabolizmayı, gen ekspresyonunu ve hücre ölümünden sorumlu sinyal yollarını değiştirdiği gözlenmiştir. Bu dengesizlik, yaygın enfeksiyon ile indüklenen akut akciğer hasarının patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır (Galvão ve diğerleri 2016).

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) en yaygın biçimleri, hidroksil radikalleri ve süperoksit radikalleri gibi oksijen radikalleri ve serbest olmayan hidrojen peroksit (H_2O_2) radikalleridir (Baş ve diğerleri, 2014).

Süperoksit radikalleri mitokondrinin iç zarında bulunan oksijenin azalması sırasında oluşur. Bu radikaller, zardaki yağ asitlerinde zincir reaksiyonlarını tetikleyerek, zardaki lipid peroksidasyonuna ve zara bağlı enzim ve reseptör fonksiyonuna bağlı olarak gerekli olan çift katmanlı membran organizasyonun kaybına neden olabilir (Evans, 2000).

Süperoksit Anyon ($O_2^{\cdot-}$) radikali, moleküler oksijenin indirgenmesi sırasında meydana gelen ara ürünlerden biridir. Süperoksit anyon aslında çok zararlı değildir fakat hidrojen peroksit (H_2O_2) kaynağı ve geçiş metal iyonlarının bir indirgeyicisi olması ikincil olarak radikal üretebildiği anlamına gelebilmektedir. Üretilen bu ikincil radikaller zararlıdır (Memişoğulları ve diğerleri, 2003).

Hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit anyon radikalinin ($O_2^{\cdot-}$) aksine zarlardan geçebilir ve sitoplazmada yayılabilir. Hidrojen peroksitin zarlardan geçebilen yapısıyla zarlarla korunan yapılara ulaşması ve onlara zarar vermesi veya süperoksit anyon radikaliyle tepkimeye girerek hidroksil radikalini oluşturabilir. Hidroksil ($OH^{\cdot}$) radikali, en reaktif radikallerden biridir ve bundan dolayı en zararlı radikaldir (Vincent ve diğerleri, 2004).

Yarı ömrü çok kısa olan Hidroksil ($OH^{\cdot}$) radikali oldukça reaktif bir oksidan radikaldir. Oldukça kısa yarılanma ömründe bile büyük hasarlara yol açabilmektedir. Nükleik asitler, aminoasitler, şekerler ve fosfolipitler gibi biyokimyasal maddelerle kolayca tepkimeye girebilir ve onların yapılarını, işlevlerini bozabilirler (Cherubini ve diğerleri, 2005; Young ve Woodside, 2001).

Hücrelerde metabolik bozukluklara sebep olan serbest oksijen radikalleri oksidatif hasara yol açmaktadır. Birçok enzimin aktivitesini olumsuz yönde etkilemektedirler. Hücrenin yapısında istenmeyen değişikliklere reaktif oksijen türlerinin sayısındaki aşırı artış sebep olabilmektedir. Zar yapısında bulunan poliansatüre yağ asitlerinde lipid peroksidasyonuna yol açarak, DNA, RNA ve proteinlerde modifikasyonlara sebep olur. Ek olarak antioksidan savunma sistemi üzerinde baskı oluşturduğu bilinmektedir (Baş ve diğerleri, 2013).

Zar lipidlerinde oluşan peroksidasyon sonucu genel olarak doku hasarını tetiklenmektedir (Possamai ve diğerleri, 2007). Zar yapısında bulunan kolestrol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle reaksiyona girer ve bu reaksiyonun sonucunda peroksidasyon ürünleri meydana gelmektedir. Hücre için poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif yıkımı oldukça zararlıdır. Meydana gelen yıkım lipid peroksidasyonu olarak adlandırılmaktadır. Pozitif geri beslemeli olarak zincir tepkime şeklinde devam etmekte ve bu tarz zar hasarları onarılamamaktadır (Akkuş, 1995).

Çoklu doymamış yağ asitlerinin parçalanmasıyla üç veya daha fazla çift bağ içeren lipid üç karbonlu malondialdehit (MDA) oluşmaktadır. Peroksidasyonun göstergelerinde biri de MDA oluşumudur (Freeman ve Crapo, 1982).

MDA, hücre zarında iyon alışverişini değiştirerek hücre zarındaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına ve enzim aktivitesinin sekteye uğramasına yol açmaktadır. MDA bu özelliği sayesinde, DNA'nın nitrojen bazları ile tepkimeye girebilir, mutajenite ve karsinojeniteye sebep olabilir (Niki, 1987).

Reaktif oksijen türlerinin oluşmasını engellemek için ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunu sağlamak üzere vücutta görev alan savunma sistemine, antioksidan savunma sistemi antioksidanlar adı verilir (Karabulut ve diğerleri, 2016). Oksidatif strese karşı antioksidan savunma sisteminin önemli bir role sahiptir (Wilms ve diğerleri 2008).

Antioksidanlar, hücrelerde, serbest radikal ve reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engellemede ve yıkımında, hücre hasarının onarılmasında rol oynarlar (Sen, 1995).

Hücrede oluşabilecek hasarı engelleyen ya da geri çevirmeye çalışan zararlı etkilerinden hücre içi ve dışı korumak üzere endojen ve eksojen antioksidanlar ve enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan sistemleri vardır.

İlk hat savunma antioksidanları, hücrelerde serbest radikallerin veya reaktif türlerin oluşumunu bastırmak veya önlemek için çalışan bir antioksidan hattıdır. Serbest radikale dönüşme potansiyeli olan herhangi bir molekülü veya başka radikallerin üretimini tetikleme yeteneğine sahip herhangi bir serbest radikali nötralize etmekte oldukça hızlıdır. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) bu hattın başında gelir. Bu enzimler sırasıyla süperoksit radikalini dismute eder, hidrojen peroksitleri ve

hidroperoksitleri zararsız moleküllere (H_2O_2 /alkol ve O_2) indirger (Ighodaro ve Akinloye, 2017).

Glutasyon-S Transferaz, birçok yaşam formunda bulunan ve hücrel homeostazı sürdürmek için hayati önem taşıyan faz II detoksifikasyon enzimidir (Ighodaro ve Akinloye, 2017). Hücre içinde detoksifikasyon ile birlikte bağlayıcı ve taşıyıcı görevleri de vardır. Glutatyondaki oksidanları sisteine ait $-SH$ grubu ile bağlayarak, oksidanların elektrofilik özelliklerini ortadan kaldırır. Oluşan bu yapı suda daha kolay çözünmekte ve canlıdan daha kolay atılmaktadır (Akkuş, 1995). GST, esas olarak indirgenmiş glutatyonun (GSH) ve sitokrom P450 metabolizması tarafından GSH konjugatları oluşturmak üzere üretilen konjugasyon reaksiyonunu katalizler. Meydana gelen GSH konjugatları ya safra yoluyla atılır ya da böbreğe taşınır (Sing ve Reindl 2021). Sınıf aynı zamanda sırasıyla demir ve bakır ayırarak şelatör görevi görür ve sonuç olarak serbest radikal oluşumunu önleyen transferrin ve seruloplazmin gibi metal iyonu bağlayıcı proteinleri içerir (Ighodaro ve Akinloye, 2017).

CAT, dört hem grubundan oluşur ve her hem grubunda bir prostetik Fe^{+3} grubu içeren bir hemoproteindir. Peroksizomlarda bulunur ve süperoksit dismutazın oluşturduğu hidrojen peroksiti parçalıyarak su ve oksijen e indirger. Katalaz (CAT) çoğunlukla eritrositler, karaciğer ve böbreklerde bulunmaktadır (Cherubini ve diğerleri, 2005; Young ve Woodside, 2001).

Süperoksiti hidrojen peroksit ve oksijene dönüşümünü katalizleyen SOD, antioksidan savunmasının birinci aşamasını oluşturmaktadır. Bu özelliği ile SOD hücre içindeki süperoksit seviyesinin artmasını önleyerek toksisiteyi engellemektedir (Akkuş, 1995).

Antioksidan enzimlerin hücrede içerisindeki reaktif oksijen türlerini temizlemede önemli bir rolünün olduğu gösterilmiştir (Kalender ve diğerleri, 2015).

Karbamatlı pestisitlerin kullanıldığı sanayide çalışan işçiler ile ilgili yapılan bir çalışmada, karbamatlı pestisitlere maruz kalan çalışanların antioksidan seviyelerinde azalma, MDA düzeylerinde ise artış gözlemlenmiştir (Ranjbar ve diğerleri, 2005).

Erkek albino ratlar üzerinde organafosfatlı bir pestisit olan fenitrotiyonun etkisi 14 ve 28 gün uygulanmıştır. Ayrıca yeşil çay özünde bulunan polifenollerin antioksidan olarak fenitrotiyonun etkilerini hafifletip hafifletmediği incelenmiştir.

Araştırmacılar kontrol grubu, düşük doz fenitrotyon, yüksek doz fenitrotyon, düşük doz fenitrotyon ve yeşil çay özütü, yüksek doz fenitrotyon ve yeşil çay özütü, yeşil çay özütü olmak üzere 6 gruptan oluşan bir çalışma yapmışlardır. Biyokimyasal analizlerde MDA, GSH ve GST değerlerini inceleyen araştırmacılar, yeşil çay özütünün fenitrotyonun neden olduğu yüksek MDA seviyesini azaltırken, GSH ve GST değerlerinin fenitrotyona rağmen artış gösterdiği gözlemlenmiştir (Elhalwagy ve diğerleri, 2008).

Fenitrotyonun testis dokusu üzerindeki negatif göstergesi ve bu göstergelere karşı palmye yağının antioksidan etkileri araştırılmıştır. Kontrol grubu, fenitrotyon uygulanan grup, palmye yağı uygulanan grup, hem fenitrotyon hem palmye yağı uygulanan 4 gruptan oluşan çalışmada erkek sprague-dawley cinsi ratlar kullanılmıştır. Ratlar oral gavaj yoluyla 28 gün beslenmiştir. Çalışma sonucunda incelenen SOD, CAT, GPX, GST, MDA ve GSH değerlerinde, palmye yağının fenitrotyonun olumsuz etkilerini azaltabildiğini ortaya koymuşlardır (Taib ve diğerleri, 2015).

Diyabetik sıçanlar üzerinde 2005 yılında yapılan bir çalışma, aloe vera jel ekstraktının oral yol ile verilmesi, kan şekeri, glikolize edilmiş hemoglobin ve yükselen hemoglobin düzeylerini kayda değer şekilde azalttığını göstermiştir. Diyabetik sıçanların dokularındaki artan lipid peroksidasyon ve hidroperoksit seviyeleri, aloe vera jel ekstraktı ile tedavi edildikten sonra aloe vera ekstraktının peroksidasyon ve hidroperoksit seviyelerini normale yakın seviyelere geri döndürdüğü gözlemlenmiştir. Ayrıca aloe vera jel ekstraktı verilen ratlarda diyabetik kontrol grubuna göre daha yüksek SOD, CAT, GPx ve GST antioksidan enzim aktiviteleri ölçülmüştür (Rajasekaran ve diğerleri, 2005).

İkinci hat savunma antioksidanları genellikle süpürücü antioksidanlar olarak adlandırılır. Zincir başlangıcını engellemek ve zincir reaksiyonlarını kırmak için aktif olarak hareket eden radikalleri temizlerler. Serbest radikallere elektron vererek nötralize eder veya süpürürler ve bu süreçte kendileri de serbest radikaller gibi hareket ederler, ancak daha az zararlı etkilere sahiptirler. Bu "yeni oluşan radikaller", gruptaki diğer antioksidanlar tarafından kolayca nötralize edilir ve tamamen zararsız hale getirilir.

Hidrofilik olarak askorbik asit, (C vitamini) ürik asit, glutatyon, lipofilik olarak alfa tokoferol (E vitamini) ve ubiquinol gibi çoğu antioksidan bu sınıfa girer (Ighodaro ve Akinloye, 2017). Askorbik asit ve alfa tokoferol yara iyileşmesinde ve enzimatik aktivitenin, gen ekspresyonunun düzenlenmesi, anemik durumların engellenmesinde görev alır. Ayrıca

E vitamini serbest radikal oluşumunu engeller ve canlı sistemlerde lipid peroksidasyonu oluşumunu en aza indirir. C vitamininin, yardımcı bir antioksidan olarak E vitamini ile kombinasyon halinde in vitro lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği ve radikalleri doğrudan durdurduğu gösterilmiştir (Adıgüzel ve Kalender, 2019). E vitamini serbest radikallerin zincir reaksiyonunu durdurmak için hidrojen vericisi olarak lipid peroksil radikallerini (LOOH.) temizlerken, askorbik asit membranlarda α -tokoferoksi radikalini ve LDL'yi hızla α -tokoferole redükler ve α -tokoferoksi radikal hasarını durdurur (Fuchs, 2013).

Ayrıca C vitamininin görevlerinden biri süperoksit anyon radikalini ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi reaktif oksijen ve nitrojen türlerini, peroksil radikallerini, O_2 , ozon, peroksinitrit, nitrojen dioksit, nitrik oksit radikallerini ve HOCL gibi serbest radikalleri etkisiz hale getirmektir (Iqbal ve diğerleri, 2004). E Vitamini, stabil bir lipid hidroperoksit vermek üzere membran fosfolipidleri veya lipoproteinlerde ki çoklu doymamış yağ asitlerinden üretilen peroksil radikalleri ile reaksiyona girer. Bu biyokimyasal reaksiyon yoluyla, E vitamini lipid peroksidasyonunun sebep olduğu zararlı serbest radikalleri etkili bir şekilde azaltır ve dokuları serbest radikal saldırılarından korur (Chew, 1996).

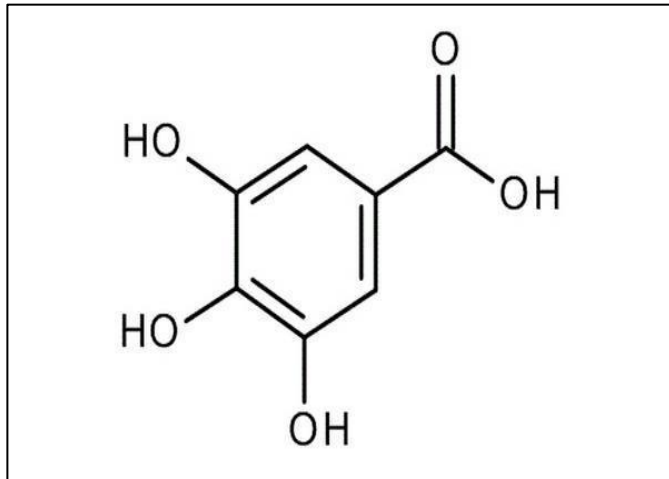
Üçüncü hat antioksidan kategorisi, ancak hücrede serbest radikal hasarı meydana geldikten sonra devreye girerler. Bu grup serbest radikallerin biyomoleküllere verdiği zararı onaran ve zarar görmüş hücre zarını yeniden oluşturan de novo enzimlere sahiptir. Hasar görmüş DNA, protein ve lipidlerin onarımında rol oynayan bir gruptur. Vücut dokuları için toksik olabilecek birikimleri önlemek için oksitlenmiş veya hasar görmüş proteinleri, DNA'yı ve lipidleri tanır, parçalarlar ve uzaklaştırarak bir tür 'temizlik görevi' yaparlar. Grupta bulunan yaygın örnekler, memeli hücrelerinin hem sitozolünde hem de mitokondrisinde bulunan DNA onarım enzim sistemlerini (polimerazlar, glikosilazlar ve nükleazlar), proteolitik enzimleri (proteinazlar, proteazlar ve peptidazlar) içerir (Ighodaro ve Akinloye, 2017).

Dördüncü hat antioksidan kategori etkisi temel olarak, serbest radikallerin oluşumunu veya reaksiyonunu önlemek için serbest radikal üretimi ve reaksiyonu için gerekli sinyalleri kullandıkları bir adaptasyon mekanizmasını içerir. Oluşan serbest radikalden üretilen sinyal, uygun bir antioksidanın oluşumunu ve doğru bölgeye taşınmasını tetikler (Ighodaro ve Akinloye, 2017).

Fenolik bileşiklerin serbest radikalleri nötralize etme yeteneğini bulundurduğu tarif edilmiştir. Fenolik ajanların antioksidan aktivitesi, genellikle onların hidrojen donörü, singlet oksijen söndürücü ve indirgeyici ajanlar olarak etki göstermelerine izin veren redoks

özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Fenolik ajanlar, hücrel metabolizmanın ürünleri olan serbest radikalleri yakalamanın yanında, Fenton reaksiyonu (kirleticileri veya atık suları oksitlemede kullanılan, katalizör olarak demir içeren bir demir bileşiği ile hidrojen peroksitin bir çözeltisidir) yoluyla radikal oluşumuna sebep olabilen demir ve bakır metal iyonları ile bağlantı kurabilir ve bu reaksiyonu önleyebilir (Moradi ve diğerleri, 2021).

Fenol ve karboksilik asit özelliklerine sahip olan gallik asit (GA), sadece bir benzen halkası yapısı içeren organik bir asittir ve 3, 4, 5 konumlarında üç bitişik OH grubu ve 1 konumunda bir - COOH grubu vardır (Bai ve diğerleri, 2021). (Şekil 1.3). İlk olarak GA' yı bitkilerde 1786'da Carl Wilhelm Scheele'ye tanımlamıştır. Ticari olarak gallik asidin elde edilmesinde en çok meşe ağaçları, kestane ve üzüm ağaçları kullanılmıştır (Stanely ve diğerleri, 2009). GA'nın moleküler ağırlığı 170.11954 g/mol'dür ve katı sarı renkli kristal halinde bulunur. GA 210 santigrad erime noktasıyla su, alkol, eter veya gliserol içinde çözünür ama benzen, kloroform ve petrol eterinde çözünmez (Ashrafizadeh ve diğerleri 2021).



Şekil 1.3. Polifenolik bir bileşik olan gallik asitin kimyasal formülü

3,4,5-trihidroksibenzoik asit olarak da bilinen gallik asit (GA), meşe, kestane gibi bazı sert ağaç bitki türlerinin yanı sıra çay, üzüm ve çilek gibi diğer bazı meyvelerde bulunan antioksidan, antienflamatuar, antikanser ve serbest radikal süpürücü aktivitelerle donatılmış doğal endojen moleküler formülü C_7H_6O olan polifenolik bir bileşiktir (Ajibade ve diğerleri, 2016, Verma ve diğerleri, 2013, Ashrafizadeh ve diğerleri 2021). Ayrıca, antidiyabetik etkisi de daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Obafemi ve diğerleri, 2021).

Diyabetik ratlar ile yapılan bir çalışmada gallik asit 21 günlük periyotlar ile oral şekilde verilmiştir. Pankreasın histopatolojik incelemelerinden sonra gallik asidin pankreas dokusu üzerinde koruyucu özelliğe sahip olduğu görülmüştür. Biyokimyasal parametreler, ise gallik asidin antiglisemik ve antilipid etkileri olduğunu göstermiştir (Punithavathia ve diğerleri, 2011).

Ayrıca çay ve kahve gibi içecekler yüksek miktarda gallik asit (GA) içerir ve geleneksel tıpta kullanılan çeşitli bitkisel ilaçların yararlı etkilerinde önemli bir rol oynarlar (Ferk ve diğerleri, 2011).

Gallik asidin antikanser etkileri, tümör gelişiminin farklı aşamalarına müdahale ederek tümör anjiyojenini baskılar. Kozmetiklerde, ilaçlarda ve gıdalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Dehghani ve diğerleri, 2020).

Gallik asit türevlerinin biyolojik ve farmakolojik aktivitelerinin yanı sıra, reaktif oksijen türleri (ROS) temizleyicileri oldukları ve kanser hücrelerinin apoptoza yönlendirilmesinde etkin rol oynadıkları belirtilmektedir (Inoue ve diğerleri, 2000). Yapılan çalışmalar, gallik asidin, ROS kaynaklı hücresel hasarı önlediği gibi, glutatyon peroksidaz (GPx) ekspresyonunu yukarı doğru regüle etmesi ve serbest radikallerin varlığını hafifletme yeteneğine ve enflamatuvar aktiviteyi iyileştirdiği öne sürüldü (Lee ve diğerleri, 2021).

Ek olarak yüksek dozlarda uygulandığı hayvan çalışmalarında antioksidan enzimleri indüklediği, karaciğeri sitotoksik etkilere karşı koruduğu ve radyasyona bağlı lipid peroksidasyonunu (LP) önlediği ve çok çeşitli inflamasyonla ilgili hastalıklar üzerinde güçlü terapötik etkileri olduğunu göstermiştir (Ferk ve diğerleri, 2011, Bai ve diğerleri, 2021).

Solunum sistemi, üst solunum yolu (yani, burun boşluğu, farinks, ağız boşluğu, gırtlak) ve alt solunum yolundan (trakea; akciğerin üst, orta ve alt lobları; diyafram) oluşur. Diyafram, sessiz nefes almaktan (yani normal nefes alma ve verme) sorumlu olan ana kastır (Lynch ve diğerleri, 2021).

Akciğer, omurgalılarda göğüs boşluğunda sağda 3 loba ve solda 2 loba ayrılmış olarak bulunan, koruyucu bir zar ile (pleura) sarılmıştır. Sağ ve sol yana dallanmaların hava keselerini oluşturarak havanın hareketini, oksijenin dolaşıma verilmesini ve karbondioksitin dolaşımdan uzaklaştırılması gibi temel işlevleri yerine getirdiği bildirilmiştir (Tomashefski ve diğerleri 2008).

Akciğerler çocukluk ve ergenlik döneminde büyür ve değişir, genç erişkinlikte maksimum işlevine ulaşır. Yetişkinlerde akciğer fonksiyonu etnik köken, cinsiyet, boy ve yaşa göre değişir ve kilo ve diğer tıbbi durumlardan etkilenebilir. Bir kişi yaşlandıkça, akciğer fonksiyonunun saniyedeki ekspirasyon (soluk verme) hacminde (FEV1) yaklaşık 20-50 cc/yıl oranında zaman ile azalır.

Akciğer fonksiyonu genç erişkinlikte (20-25 yaş) zirve yapar. Vücut kompozisyonu (yani yağ ve kas oranı), akciğer boyutu, boy cinsiyet ve diğer fizyolojik ölçümler, akciğer fonksiyonuna katkıda bulunur. Dinlenme halindeki normal bir yetişkinde, dakikada yaklaşık 5-8 L hava akciğerlere girip çıkar. Solunum hızı, diğer beyin merkezlerindeki aktivite, ilaçlar, uyku ve hormon seviyeleri dahil olmak üzere çok sayıda değişkenden etkilenir (Lynch ve diğerleri, 2021).

Solunum sisteminin solunum bölümü alveolar kanallar, alveolar keseleri ve respiratör bronşiyolları içerir. Terminal bronşiyolların dallanmasıyla respiratör bronşiyollar, respiratör bronşiyolların duvarlarında alveoller, respiratör bronşiyolların dallanmasıyla alveolar kanallar oluşur. Solunum bronşiyolları, alveol kanalları ve alveol keselerinde bulunan kese şeklindeki çıkıntılar alveol olarak adlandırılırlar. Akciğerlerin gaz alışverişini sağlayan fonksiyonel birimler alveollerdir. Alveollerin açıldığı cep şeklindeki süngerimsi yapılara alveolar keseler denir. Komşu iki alveolün duvarları ortak olursa bu duvar interalveolar septum olarak adlandırılır. İnteralveolar septumda kapillerin endotel hücreleri, Tip 1 alveolar hücreler, Tip 2 alveolar hücreler, fibroblast ve mast hücrelerinden oluşan interstisyel hücreler ve alveolar makrofajlar bulunur (Junqueira ve Carneiro 2003).

Organofosforlu bir pestisit olan fentiyon ile yapılan bir çalışmada ratların akciğerlerinde peribronşiyal ve intraparenşimal infiltrasyon, intraparenşimal vasküler tıkanma, trombozis, alveolar yıkım, anfizem gibi patolojik bulgular gözlenmiştir (Fidan ve diğerleri, 2007).

Klorpirifos uygulanan ratların akciğer dokularında, hücre infiltrasyonu, hiperplazi ve interalveolar septumda kalınlaşma tespit edilmiştir. Antioksidan olarak vitamin E'nin klorpirifos birlikte uygulandığı grupta ise vitamin E'nin histopatolojik değişiklikleri hafiflettiği gözlenmiştir (Karaöz ve diğerleri, 2002).

Bu tez çalışmasında, organafosfatlı bir insektisit olan fenitrotiyonun erkek Wistar albino rat akciğer dokusu üzerindeki toksik etkisi ve antioksidan özelliklere sahip gallik asidin

koruyucu etkisi araştırılmıştır. Araştırmada akciğer dokusundaki antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, CAT, GPx, GST) ve lipid peroksidasyonun son ürünü ve önemli bir belirleyicisi olan MDA seviyesindeki değişiklikler ve akciğer dokusundaki histopatolojik değişiklikler incelenmiştir.

2. MATERYAL METOT

2.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmadaki hayvan deneyleri için Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan izin alınmıştır (G.Ü. ET-19.025). Deneylerde 250-300 g ağırlığında 24 adet erkek Wistar rat kullanılmıştır. Hayvanlar oda sıcaklığında, laboratuvar diyeti ve su ile beslendiler ve 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık fotoperiyodu, uygulanmıştır.

2.2. Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan fenitrotyon ve gallik asit sigma-aldrich firması tarafından alınmıştır.

2.3. Hayvanlara Uygulama Planı

2.3.1. Kontrol grubu

Kontrol grubunda yer alan ratlara 1 ml/kg vücut ağırlığı (v.a.) distile su oral gavaj yoluyla verilmiştir.

2.3.2. Fenitrotyon grubu

Fenitrothiyon grubunda yer alan ratlara her gün 32 mg/kg v.a. (1/25 LD₅₀) fenitrotyon distile su (1 ml/kg v.a.) içinde çözülerek oral gavaj yoluyla verilmiştir.

2.3.3. Gallik asit grubu

Gallik asit grubunda yer alan ratlara her gün 50 mg/kg v.a. gallik asit distile su (1 ml/kg v.a.) içinde oral gavaj yoluyla verilmiştir.

2.3.4. Fenitrotyon + gallik asit grubu

Bu grupta bulunan ratlara hergün fenitrotyon (32 mg/kg v.a.) ve gallik asit (50 mg/kg v.a) distile su (1 ml/kg v.a.) içinde çözülerek oral gavaj yoluyla verilmiştir.

Maddelerin uygulanması sabah 09.00–11.00 arası aç olmayan ratlara yapılmıştır. Ratlara yapılan uygulamanın ilk günü deneyin 0. günü olarak kabul edilmiştir. Uygulamalar 28 gün (dört hafta) boyunca devam etmiştir. Araştırmada kullanılan kimyasal maddeler ratlara her gün bir defa oral-gavaj yolu ile uygulanmıştır.

2.4. Dokuların Elde Edilmesi

Bütün gruplarda bulunan ratlar 28 günün sonunda, ketamin (45 mg/kg) + xylazin (5 mg/kg) anestezi madde karışımı ile intramuskular (i.m.) olarak anestezi uygulandıktan sonra disekte edilmiştir. Disekte edildikten sonra ratlardan alınan akciğer dokusu üzere önce tamponda yıkanmış, sonrasında nötral formalin içine alınıp ışık mikroskopunda incelemek üzere hazırlanmıştır. MDA seviyesinin ve antioksidan enzimleri olan SOD, CAT, GPx ve GST enzim aktivitelerinin gözlemlenmesi için akciğer dokusundan örnekler alınmıştır. Biyokimyasal analiz için alınan bu örnekler, -80°C’de muhafaza edilmiştir.

Bu araştırmada MDA seviyeleri ile antioksidan enzim aktivitelerini (SOD, CAT, GPx ve GST) incelemek için elde edilen akciğer dokuları homejenizasyon tamponunda (pH:7.4) homojenizatör (Heidolph Silent Crusher M) cihazının yardımıyla homojenize edilmiştir. MDA düzeyleri ve antioksidan enzimlerin aktiviteleri, spektrofotometre (Shimadzu UV-1700) sayesinde ölçülmüştür. Lowry ve arkadaşları (1951) tarafından belirlenen methot ile (Lowry, Rosebrough, Farr ve Randall, 1951), 4°C sıcaklıkta protein içeriği tespit edilmiştir.

2.5. Malondialdehit (MDA) Seviyelerinin Belirlenmesi

Akciğer dokularındaki MDA seviyeleri, Ohkawa, Ohishi ve Yagi (1979) tarafından belirlenen yöntem kullanılarak ölçülmüştür. Bu yöntemde tiyobarbitürik asitin 95 °C’ de lipid peroksidasyonu tepkimeye girmesi sonucu oluşan MDA düzeyleri ölçülmüştür. 532 nm’de dalga boyunda spektrofotometrede ölçümü yapılmış ve sonuçlar nmol/mg protein şeklinde ifade edilmiştir.

2.6. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

2.6.1. Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesinin belirlenmesi

SOD enzim aktivitesinin total olarak belirlenmesinde Marklund S. ve Marklund, G. (1974) geliştirdiği yöntem kullanılmıştır. Absorbans spektrofotometrede ölçülmüş ve pyrogallol’un otooksidasyonunun %50 inhibisyonuna sebep olan protein miktarı toplam SOD aktivitesi olarak hesaplanmıştır. Homojenattaki 1mg protein başına toplam SOD aktivitesi U/mg protein şeklinde ifade edilmiştir.

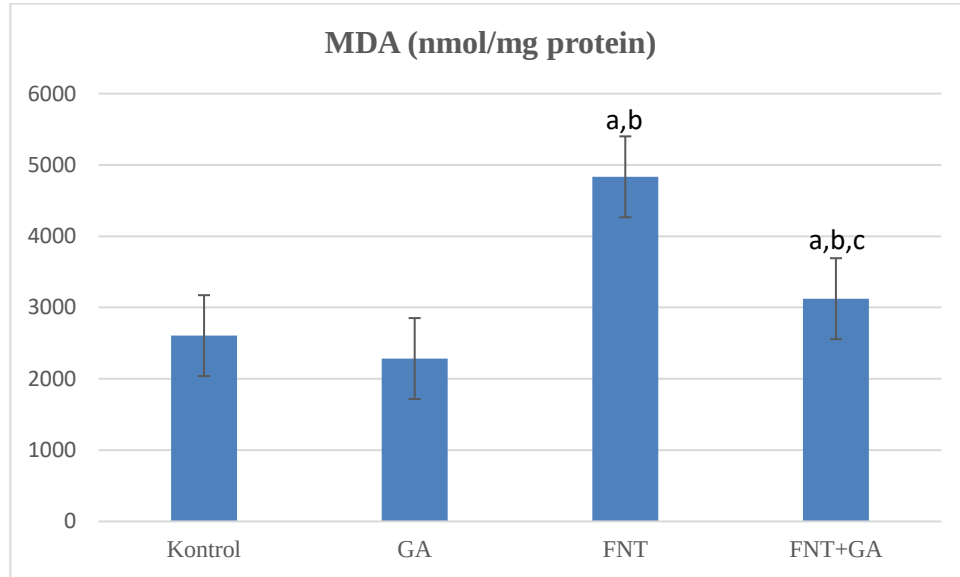
2.8. Verilerin Değerlendirilmesi

Bu çalışmadaki gruplar, IBM SPSS Statistics 23 programıyla kıyaslanmıştır. Tukey ve Anova testleriyle yapılan değerlendirmelerde ortalama, $\pm$ standart hata ortalaması ($P < 0.05$) olarak verilmiştir.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1. Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Değerlendirilmesi

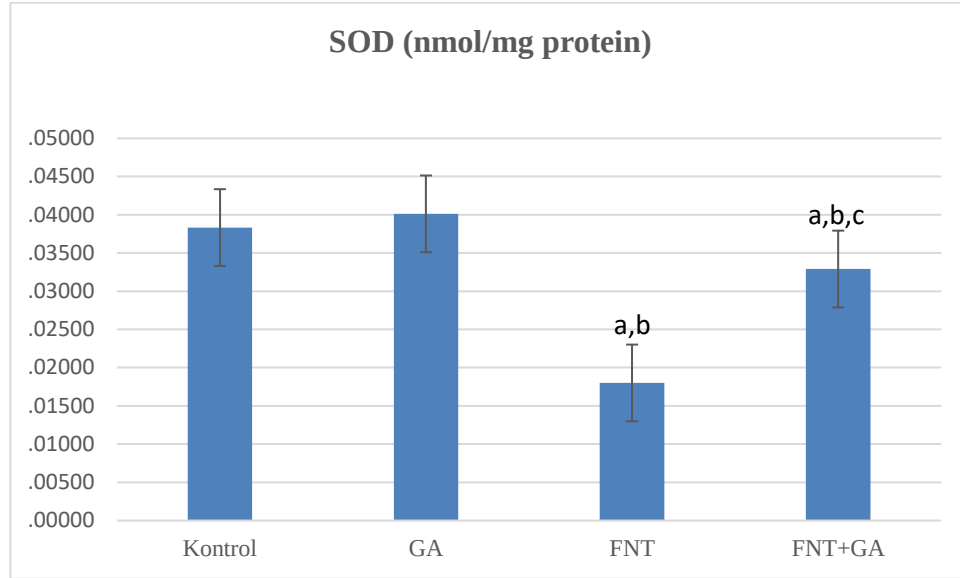
MDA düzeyi bakımından, kontrol ve gallik asit uygulanan grupların akciğer dokularında istatistiksel olarak anlamlı bir fark meydana gelmemiştir. Kontrol grubu ile fenitrotyon ve fenitrotyon + gallik asit muameleli gruplar karşılaştırıldığında ise, akciğer dokularındaki MDA miktarlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlenmiştir. Fenitrotyon uygulanan grup ile fenitrotyon + gallik asit uygulanan grup karşılaştırıldığında MDA miktarlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir ($P<0.05$) (Şekil 3.1).



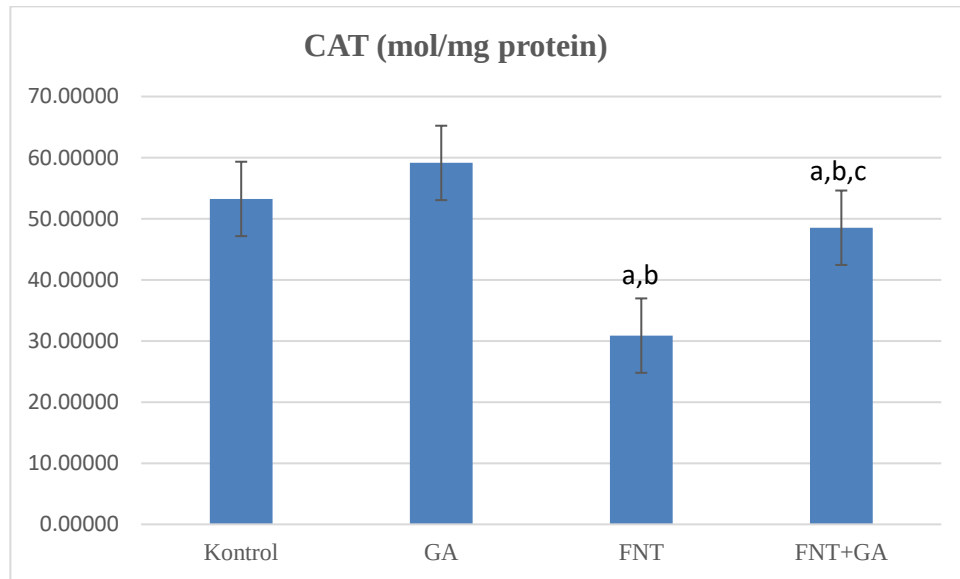
Şekil 3.1. Kontrol, gallik asit (GA), fenitrotyon (FA) ve fenitrotyon+gallik asit (FNT+GA) muameleli grupların akciğer dokularındaki MDA düzeyleri. Sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

3.2. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

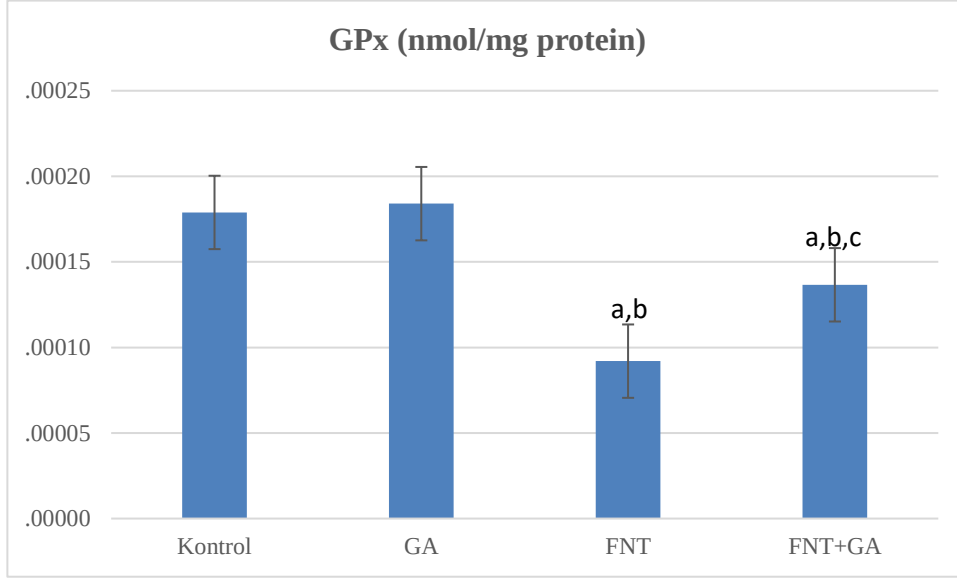
SOD, CAT, GPx ve GST enzim aktiviteleri bakımından, kontrol ve gallik asit uygulanan grupların akciğer dokularında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Kontrol grubu ile fenitrotyon ve fenitrotyon+gallik asit uygulanan gruplar karşılaştırıldığında, akciğer dokularındaki SOD, CAT, GPx ve GST aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış meydana gelmiştir. Fenitrotyon muameleli grup ile fenitrotyon+gallik asit muameleli grup karşılaştırıldığında SOD, CAT, GPx ve GST aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($P<0.05$) (Şekil 3.2-3.5).



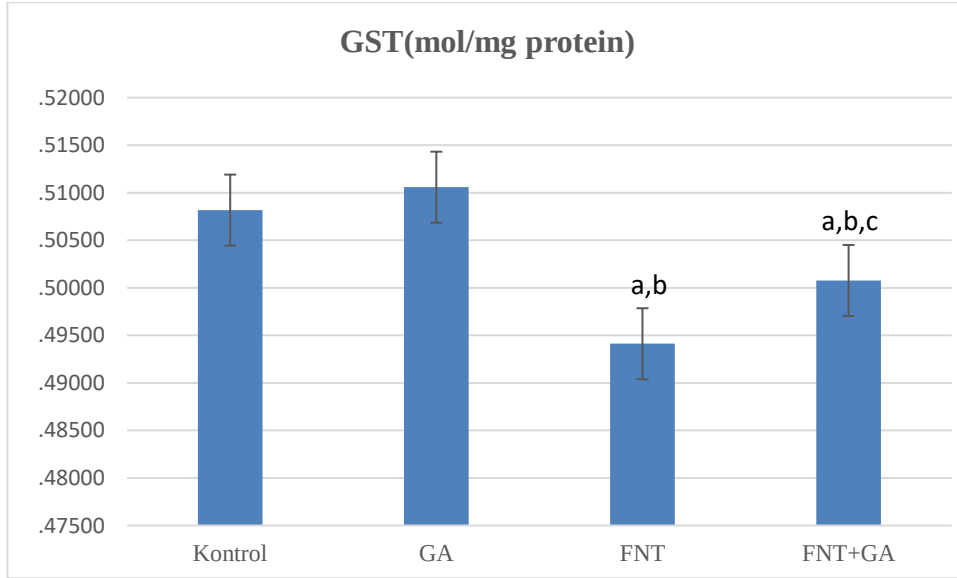
Şekil 3.2. Kontrol, gallik asit (GA), fenitrotiyon (FA) ve fenitrotiyon+gallik asit (FNT+GA) muameleli grupların akciğer dokularındaki SOD enzim aktiviteleri. Sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.



Şekil 3.3. Kontrol, gallik asit (GA), fenitrotiyon (FA) ve fenitrotiyon+gallik asit (FNT+GA) muameleli grupların akciğer dokularındaki CAT enzim aktiviteleri. Sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.



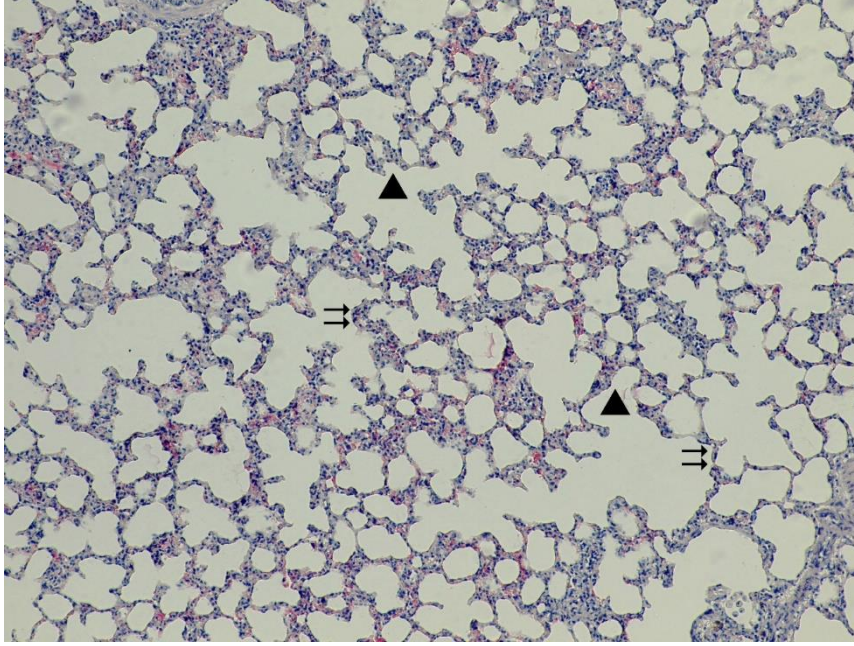
Şekil 3.4. Kontrol, gallik asit (GA), fenitrotiyon (FA) ve fenitrotiyon+gallik asit (FNT+GA) muameleli grupların akciğer dokularındaki GPx enzim aktiviteleri. Sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.



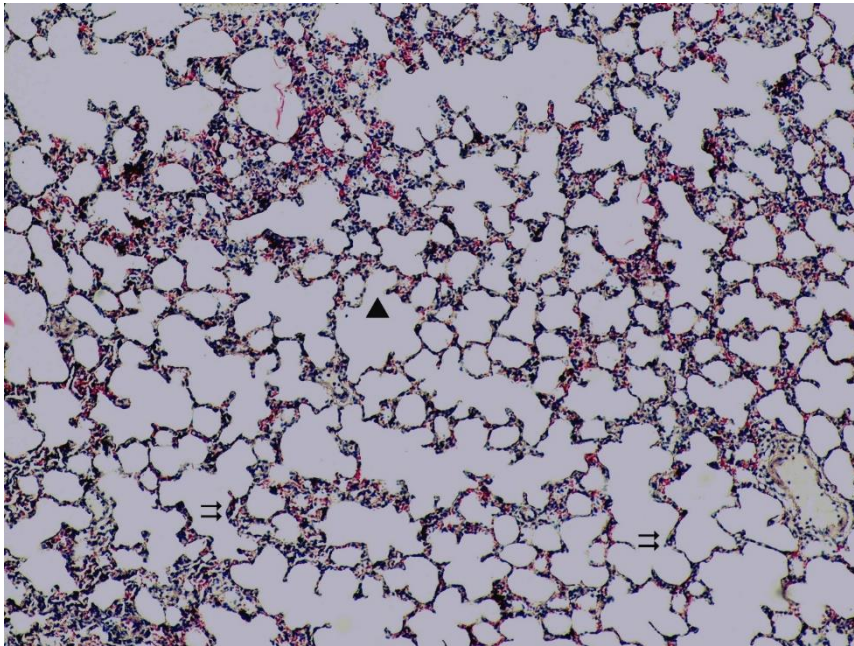
Şekil 3.5. Kontrol, gallik asit (GA), fenitrotiyon (FA) ve fenitrotiyon+gallik asit (FNT+GA) muameleli grupların akciğer dokularındaki GST enzim aktiviteleri. Sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

3.3. Işık Mikroskobu Bulgularının Değerlendirilmesi

Işık mikroskobu kullanılarak yapılan histolojik incelemelerde kontrol grubu ve gallik asit gruplarındaki ratların akciğerlerinde patolojik bir bulgu gözlenmemiştir. Alveoler hücreler (▲) ve interalveoler septa (⇒) normal yapıda gözlenmiştir (Resim 3.1, Resim 3.2).

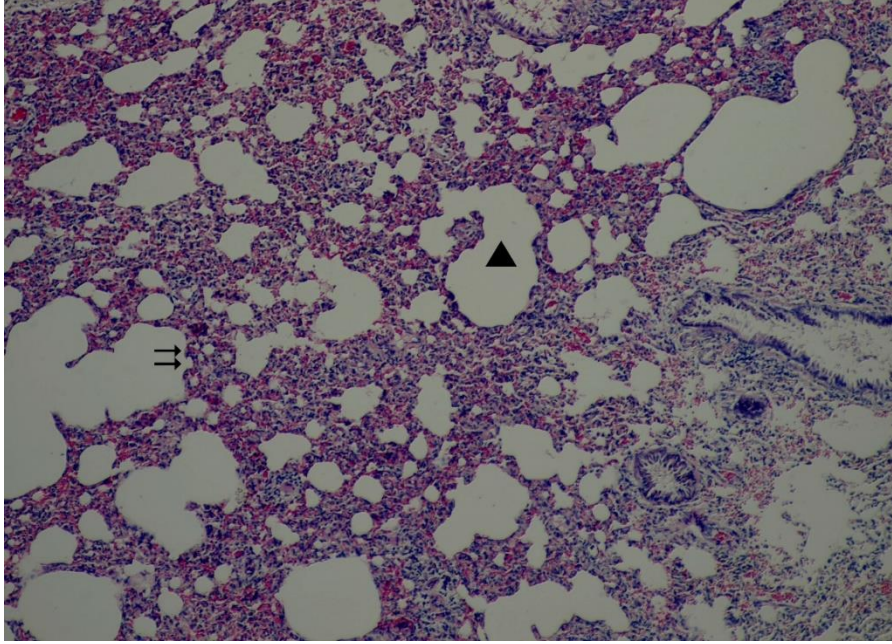


Resim 3.1. Kontrol grubu ratların akciğer dokusunun histolojik yapısı, H&E, X100

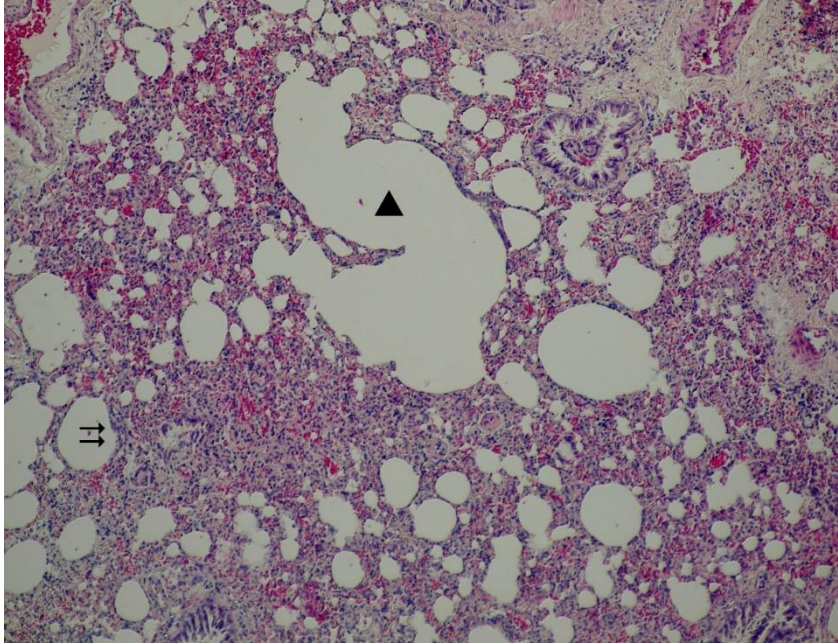


Resim 3.2. Gallik asit grubu ratların akciğer dokusunun genel histolojik yapısı, H&E, X100

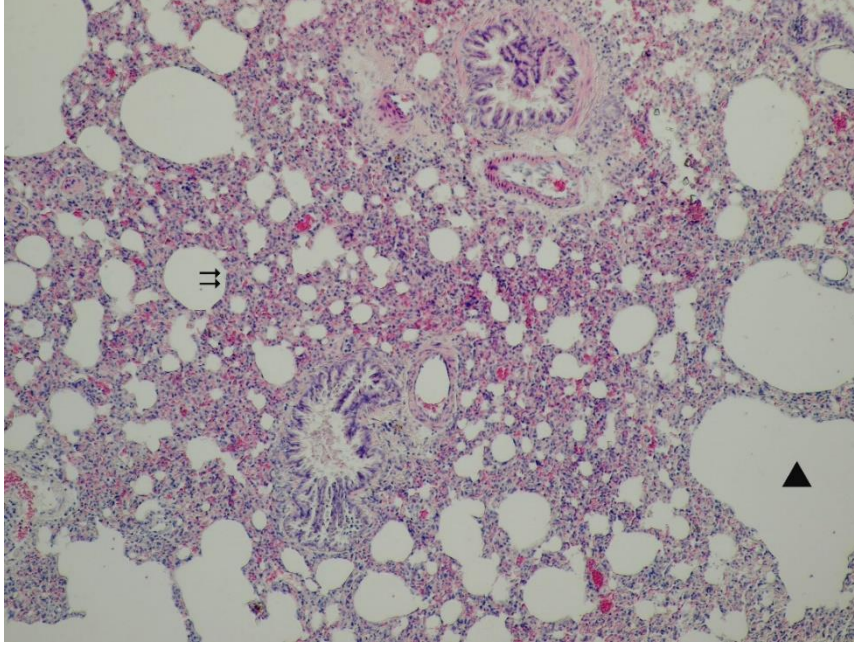
Fenitrothiyon ratlara uygulandıktan 4 hafta sonra tüm ratların akciğer dokularında, interalveoler septumda kalınlaşma, alveoler keselerde daralma, hücre infiltrasyonu, konjesyon ve hemoraji gözlenmiştir (Resim 3.3-3.7).



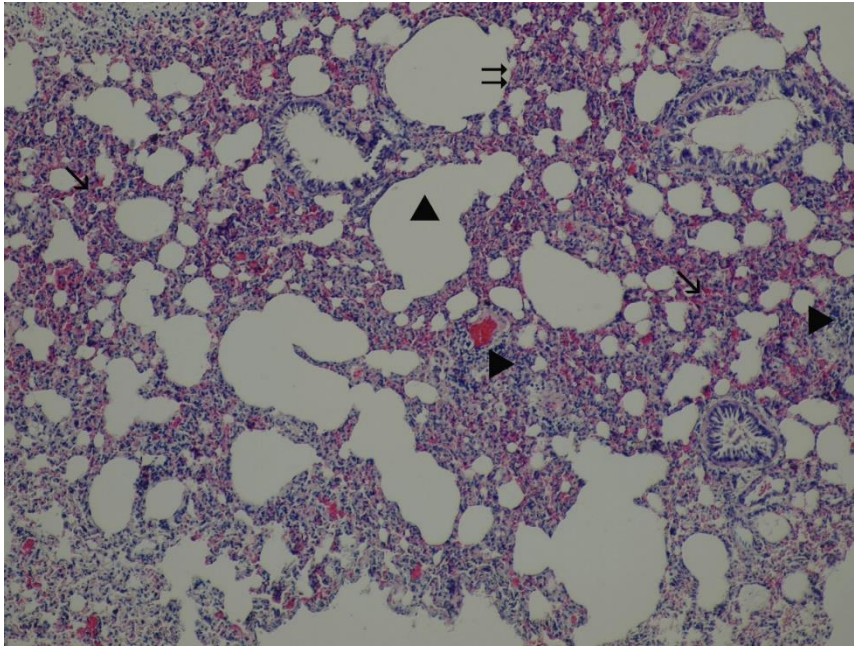
Resim 3.3. Fenitrothiyon uygulanan ratların akciğer dokusundaki interalveoler septanın kalınlaşması ($\Rightarrow$) ve alveoler kesenin büzülmesi, ($\blacktriangle$) H&E, X100



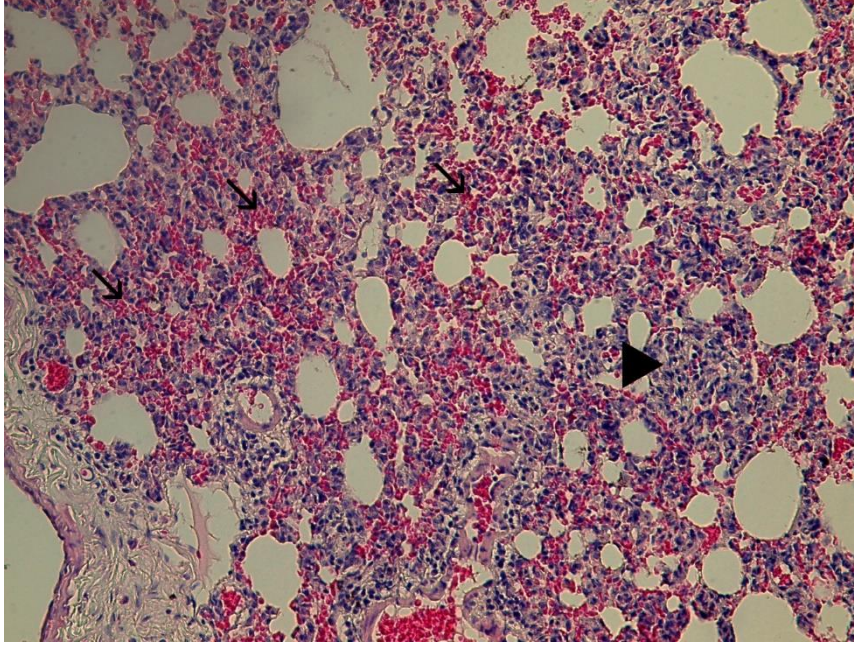
Resim 3.4. Fenitrothiyon uygulanan ratların akciğer dokusundaki interalveoler septada kalınlaşma ($\Rightarrow$) ve alveoler keselerde daralma ($\blacktriangle$) H&E, X100



Resim 3.5. Fenitrothiyon uygulanan ratların akciğer dokusundaki interalveoler septanın kalınlaşması (⇔) ve alveoler kesenin büzülmesi, (▲) H&E, X100

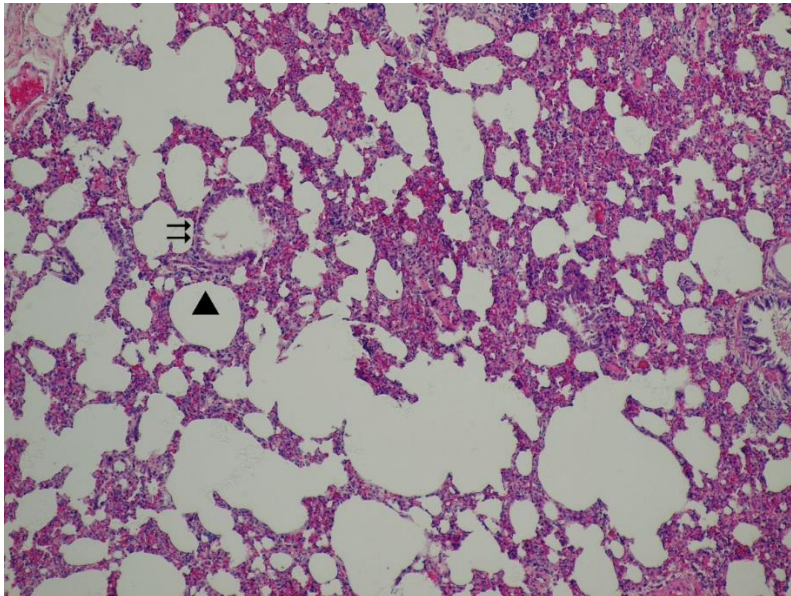


Resim 3.6. Fenitrothiyon uygulanan ratların akciğer dokusunda hücre infiltrasyonu (▲) H&E, X100

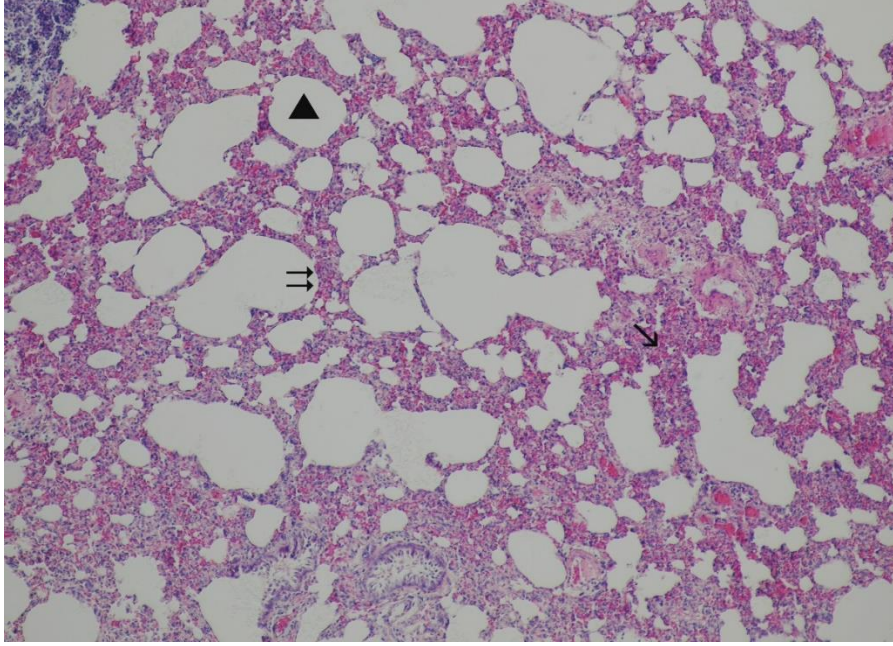


Resim 3.7. Fenitrothiyon uygulanan ratların akciğer dokusunda hemoraji (↘) ve hücre infiltrasyonu (►) H&E, X200

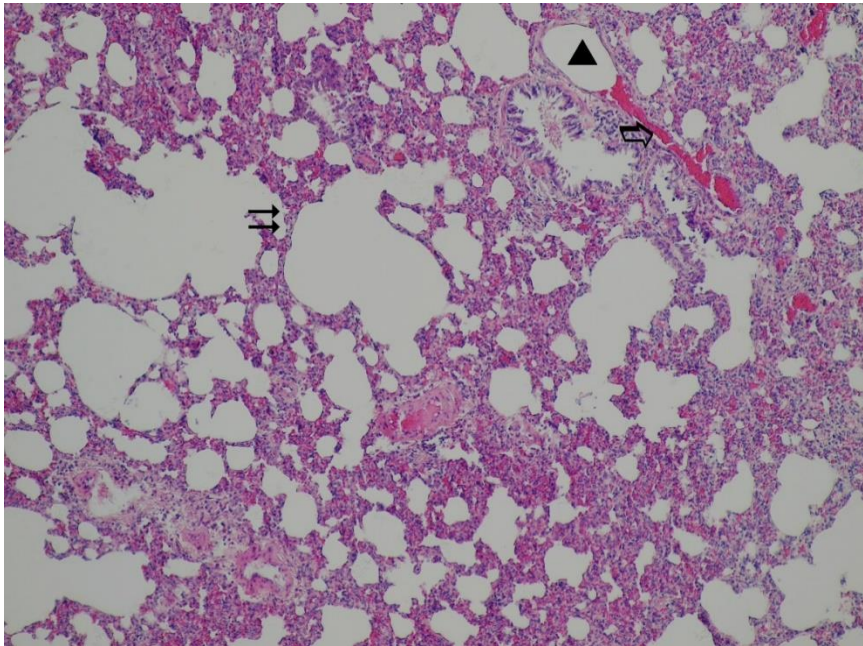
Ratlara fenitrothiyon ve gallik asit uygulandıktan 4 hafta sonra, ratların akciğer dokularındaki alveolar kese ve interalveolar septada, fenitrothiyonun tek başına uygulanan gruba göre bir iyileşme gözlenmiştir. Özellikle kalınlaşan interalveolar septumun normal yapıya benzer bir durum gösterdiği, alveolar keselerin de genişlediği gözlenmiştir. Ancak bazı bölgelerde az da olsa hemorajiye rastlanmıştır (Şekil 3.8-3.10).



Resim 3.8. Fenitrothiyon ve gallik asit muameleli ratların akciğerlerindeki alveolar keselerde (▲) ve interalveolar septumda (⇔) iyileşme. X100, H&E.



Resim 3.9. Fenitrotiyon ve gallik asit muameleli ratların akciğerlerindeki alveoler keseler (▲) ve interalveolar septum (⇔) X100, H&E.



Resim 3.10. Fenitrotiyon ve gallik asit muameleli ratların akciğerlerinde hemoraji (→) H&E, X100

4. TARTIŞMALAR VE ÖNERİLER

Tarımsal üretimi artırmak için pestisitlerin daha fazla kullanılması, çevre (toprak, su ve hava) kirliliğinin artmasına yol açmaktadır. Her yıl, yeni zararlıların ve hastalıkların ortaya çıkmasıyla birlikte sorunun büyüklüğü de artmaktadır (Syromyatnikov ve diğerleri 2020). Pestisitler, evlerde ve tarımsal üretimde kullanılan biyolojik aktivitesi yüksek olan bir grup kimyasaldır (Holeckova ve diğerleri, 2009). Pestisitlerin, yüksek biyolojik aktiviteleri çevre üzerindeki kalıcılıkları, populasyonlar üzerindeki maruziyetlerinden dolayı bu kimyasallar çevre ve sağlık açısından tehdit oluşturmaktadır. Pestisitlerin gösterdikleri etkiler türlere göre farklılık göstermektedir (Weiss ve diğerleri, 2004). Tarım zararlılarının müacedelesinde kullanılan kimyasalların çoğu, hedef organizmanın fizyolojik aktivitelerini bozmada ve canlılıklarının azalmasına yol açacak şekilde tasarlansa da bu kimyasallar yüksek biyolojik aktiviteye sahip oldukları için hedef olmayan organizmalara da zarar verebilirler (Jayaraj ve diğerleri 2016). Avrupa Birliği'nde olan ülkelerin ham ve paketlenmiş gıda ürünlerine uyguladıkları pestisit miktarı yılda 140,000 tonu aşmaktadır (Bjorling-Poulsen ve diğerleri, 2008).

Pestisitlerin bir kısmı kanserojen, üreme toksisitesi, nörotoksiste ya da endokrin sistemi bozacak aktiviteye sahip olabilirler (Costa ve diğerleri, 2008). Pestisitler birçok doku, organ ve sistemi etkilese de esas birincil olarak nörotoksik etki gösterirler. Bu etkiyi asetilkolinesteraz enzimini inhibe ederek gösterirler. Pestisitler hedef olmayan organizmalar üstünde ikincil etkilere de sahip olabilir. Bu ikincil etkilerden en dikkat çeken oksidatif stres seviyesinin yükselmesidir. Oksidatif stresin artması sonucu Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı ve çeşitli nörolojik hastalıkların yanında, kardiyotoksiste ve kardiyovasküler hastalıklara yol açtığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Abdollahi ve diğerleri, 2004; Derbalah ve diğerleri, 2004; Petrovitch ve diğerleri, 2002).

Karbamatlı ve organofosfatlı pestisitler her ne kadar organoklorlu pestisitlere göre daha az zararlı etkileri bulunsa da canlılar üzerinde önemli toksik etkileri vardır. En çok kullanılan pestisitlerden biri organofosfatlı insektisitlerdir (Tamura ve diğerleri, 2001). Bu çalışmada da organofosfatlı bir insektisit olan fenitrothiyon kullanılmıştır.

Pestisitler, canlı dokularda oksidatif stresin artmasına ve serbest radikal oluşumunun artmasına neden olmaktadır (Adıguzel ve Kalender, 2020; Uzun ve Kalender, 2011).

Serbest radikaller hücresel fonksiyon kaybına da sebep olabilirler (Evans, 2000). Serbest radikal seviyesi metabolizmada olması gereken seviyeden daha yükseklerle ulaştığında hücrelerde oksidatif stres oluşur (Betteridge, 2000). Serbest radikallerin biyomoleküllerle etkileşimi sırasında oluşan kararlı ara ürünler genelde oksidatif durum göstergeleri olarak görülür (Tejaswi ve diğerleri 2017). Serbest radikallerin birikimi mitokondrilerde hasara ve fonksiyonlarda kayıplara sebep olmaktadır. Bu yüzden, ATP üretiminin sekteye uğraması ve apoptotik ölüme yol açan proteolitik enzimlerle DNA'da hasar ve bozulmalar olmaktadır (Akhgari ve diğerleri, 2003).

Pestisitler lipid peroksidasyonun bir ürünü olan MDA' nın seviyesinde artışa ve hücre zarındaki iyon transferine müdahale ederek zardaki moleküllerin çapraz bağlanmasına sebep olmuştur. Bunun sonucunda iyon geçirgenliği değişmekte, enzim aktiviteleri olumsuz yönde etkilenmekte, serbest oksijen radikallerinde yükselmeye ve antioksidan aktivitelerde azalma meydana getirdikleri ve bunun sonucu olarak oksidatif stres oluşturdukları ifade edilmiştir (Baş ve Kalender, 2016; Banerjee ve diğerleri, 1999). MDA, DNA'nın azotlu organik nitrojen bazları ile tepkimeye girebilmektedir. Bunun bir sonucu olarak hücrede genotoksisite, mutajenite ve karsinojenite gözlemlenmektedir. Genel olarak pestisitler MDA seviyelerinde bir artışa sebep olmaktadır (Apaydın ve diğerleri, 2018; Milatovic ve diğerleri, 2006). MDA seviyesindeki artış lipid peroksidasyonu adına önemli bir gösterge olmasına karşın, aynı zamanda biyolojik membranların peroksidasyonun önemli bir belirticidir ve doku ve hücrelerdeki hasarın boyutunu yansıtmaktadır. Bu tez çalışmasında, organofosfatlı insektisit fenitrotiyon uygulanan grupların akciğer dokularındaki MDA seviyelerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış meydana gelmiştir. Fenitrotiyon, akciğer dokusundaki yapılarda peroksidasyona yol açmıştır. MDA seviyesindeki bu artış zar yapısının kimyasal bütünlüğünü olumsuz yönde olduğunu göstermektedir. Alveolar yapı başta olmak üzere, interalveolar septumdaki hücrelerin lipid yapılarının bütünlüğünün bozulması sonucunda lipid peroksidasyonuna yol açtığını söylenebilir.

Fenitrotiyonun LD₅₀ dozunun 1/30 ve 1/60'ı ratlara 28 gün boyunca verilmiş ve karaciğer ve böbrek dokusu üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Araştırmacılar deney sonucunda, plazma kolinesteraz seviyesinde, plazma alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), albümin, üre ve kreatinin seviyelerinde bir artış olduğunu gözlemlemişler. Bu yüzden fenitrothiyonun hem karaciğer göstergesi enzimlerde hem de böbrek fonksiyonlarını gösteren parametrelerde anlam ifade eden artışlara sebep olmuştur. Bununla birlikte

araştırmacılar aynı çalışmada fenitrotyon uygulanan ratların karaciğer ve böbrek dokularında MDA miktarlarında artış gözlerken, glutatyon (GSH) ve GST antioksidan enzim aktivitelerinde de anlamlı bir azalma olduğunu ifade etmişlerdir (Elhalwagy ve diğerleri, 2008). FNT uygulanan ratlarda lipid peroksidasyonunun arttığı tespit edilmiştir (Alam ve diğerleri, 2019; Elhalwagy ve diğerleri, 2008).

Yapılan bu tez çalışmasında fenitrotyonun ratlara 1/25 LD₅₀ dozu gavaj yoluyla 28 gün boyunca verilmiştir. Uygulama boyunca ratlarda ölüm gözlenmemiştir. Ancak fenitrotyon ve fenitrotyon ve gallik asit uygulanan gruplardaki ratların mobilitesinde bir azalma, saldırganlık davranışı ve yalnız kalma isteği gibi davranışlar gözlenmiştir. Bu gruplardaki ratların bu davranışlarına sebep olan şeyin organofosfatlı bir insektisit olan fenitrothiyon olduğu düşünülmektedir. Yapılan bu tez çalışmasında sadece fenitrotyonun akciğer dokusu ve üzerindeki etkisi incelense bile daha önce yapılan çalışmalar fenitrotyonun tüm sistemlere etki edebileceğini göstermektedir.

Antioksidan enzim sistemi, hücreleri oksidatif strese karşı korumakta ve hücrede meydana gelen reaktif oksijen türlerini temizledikleri bilinmektedir (Messarah ve diğerleri, 2012; El-Gendy ve diğerleri, 2010). GST, hücre detoksifikasyonunda görev alan çeşitli elektrofilik substratların glutatyonun tiol grubuna konjugasyonunu katalize ederek dokulara ait hücrelerin sitotoksiste ve olası hasarlardan korunmasını sağlar (Siddiqui ve diğerleri 1993; Abdel-Daim ve diğerleri, 2015). SOD ve CAT süperoksit anyon radikalini (*O₂) elimine etme ve H₂O₂ konsantrasyonunu azaltmaya karşı en etkili antioksidan enzim savunma mekanizmasına sahiplerdir (Patlevic ve diğerleri 2016). GPx, lipid detoksifikasyonunda önemli görev alır ve hidrojen peroksitin eliminasyonunda önemli bir role sahiptir (Wu ve diğerleri 2011).

Birçok dokudaki çeşitli maddeler CAT, SOD, GST ve GPx enzim aktivitelerinde azalmaya yol açmaktadır ve bu azalmanın en önemli sebebi olarak da hücrede serbest radikal düzeylerinin artış göstermesi olarak yorumlanmaktadır (Baş ve Kalender, 2016; Ghany ve diğerleri, 2016; Kalender ve diğerleri, 2015). Budin ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada Sprague-Dawley cinsi ratlara 28 gün boyunca gavaj yoluyla fenitrothiyon uygulandığında FNT grubundaki sıçanlarda hipoaktivite, tremor, lakrimasyon ve piloereksiyon gibi toksiste belirtileri görülebiliyordu. Histopatolojik incelemede ise fenitrothiyon uygulanan gruplarda inflamasyon hücreleri, terminal bronşiyolde tahrip

nekroz, alveol hücre duvarlarının şiştiği ve bozulduğu gözlemlenmiştir (Budin ve diğerleri, 2012). Yapılan başka bir çalışmada fenitrotyon'a maruz kalan ratların akciğer dokularındaki SOD, CAT, GST ve GPx antioksidan enzimlerin aktivitelerinde gözle görülür azalmalar ortaya çıkmıştır (Tarlovsky, 2013). Bu tez çalışmasında FNT uygulanan grupta antioksidan enzim aktivitesinde bir azalma gözlenmiştir.

Albino ratlar ile ilgili yapılan başka bir çalışmada 6 hafta boyunca 10 mg/kg vücut ağırlığıyla fenitrotyon uygulanan ratlarda bir oksidatif stres belirtici olarak MDA seviyesinde önemli bir artış olduğu gözlemlendi. Bunun yanında fenitrotyonun sebep olduğu reaktif oksijen türleri özellikle kontrol grubu ile karşılaştırıldığında SOD, GSH, CAT gibi hücresel antioksidan enzim seviyelerini önemli ölçüde azalttı görüldü. Akciğer dokusundaki histopatolojik incelemelerde ise kontrol grubundaki ratların akciğerlerinin normal histoloji gösterdiği fakat, FNT uygulanan grupta, bronşlarda ve bronşiyollerde pul pul dökülen epitel, peribronşiyal ve perivasküler alanda ödem ve tıkanıklık, interalveolar septanın inflamatuvar hücreler tarafından kalınlaşması, inflamatuvar hücre infiltrasyonu alanları gözlemlenmiştir (Donia ve diğerleri, 2018).

Bu tez çalışmasında, fenitrotyon uygulanan grupta SOD, CAT, GPx ve GST antioksidan enzim aktivitelerinde azalma gözlenmiştir. Bu azalma fenitrotyonun antioksidan sistemde rol oynayan enzimleri inhibe ettiği ya da baskıladığı şeklinde yorumlanabilir.

Bu tez çalışmasında, histopatolojik olarak incelemelerde kontrol grubu ve Fenitrotyon uygulanan grup karşılaştırıldığında, Fenitrotyon uygulanan grupta akciğerin alveolar keseleri arasında bulunan ve birbirine komşu olan alveolleri birbirinden ayıran interalveolar septum dokusunun kalınlaşmasıyla beraber alveolar keselerde harabiyete ve buna bağlı olarak da alveolar yapıda büzölmelere daralmalara yol açtığı, alveoller, bronşlar ve bronşiyollerde ki epitel kaybı, dokudaki yangı ve enflamasyona bağlı olarak hücre infiltrasyonu, doku içinde hemoraji ve damar yapılarında tıkanıklığa bağlı olarak konjesyon gibi patolojik bulgular gözlenmiştir.

Gallik asit doğal ve oldukça güçlü bir antioksidandır. Doğal bir polifenol olarak bitkilerin yapısında bulunan gallik asit, çay, nar, çilek, yeşil çay vb. gibi diğer bitkisel gıdalardada bol miktarda bulunmaktadır (Kim ve diğerleri, 2009; Stanely ve diğerleri, 2009). Ticari olarak elde edimesinde meşe, kestane ve üzüm kullanılan gallik asit, süperoksit radikallerini yok

ettikleri bildirilmiştir (Stanley ve diğerleri, 2009). Buna ek olarak karaciğer ve böbrekte pestisitlerin toksisitesini azalttığı gösterilmiştir (Elwakeel ve Rahman, 2021; Galal ve diğerleri, 2019).

Yapılan bir çalışmada ratlarda meydana getirilen oksidatif stres durumunun gallik asit uygulanması ile azaldığı, antioksidan enzim aktivitelerde artış olduğu belirtilmiştir (Fanaei ve diğerleri, 2021). Başka bir çalışmada ise gallik asit uygulamasının böbrek ve karaciğer gibi dokularda oksidatif stresi azalttığı ifade edilmiştir (Padma ve diğerleri, 2011).

Bu tez çalışmasında fenitrotyonun akciğer dokusu üzerinde toksisitesi üzerine antioksidan özelliğe sahip gallik asitin koruyucu özelliği araştırılmıştır. Gallik asit, fenitrotyonun akciğer dokusunda oluşturduğu oksidatif stresi azaltmıştır. Fenitrotyonla birlikte gallik asit uygulanan grup, fenitrotyon uygulanan grupla karşılaştırıldığında, ratların akciğerlerindeki MDA seviyesinde anlamlı bir azalma gözlenirken, antioksidan enzim (SOD, CAT, GPx ve GST) aktivitelerinde de anlamlı bir artış gözlenmiştir. Fakat fenitrotyonla birlikte gallik asit uygulanan grup, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında antioksidan enzim aktivitelerinde bir artış olsa bile istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmemiştir. Yapılan bu subakut çalışmadaki kantitatif analizlere dayanarak, gallik asidin fenitrotyonun yol açtığı akciğer toksisitesini azalttığını söylemek mümkündür. Çalışmada kullanılan düşük doz fenitrotyon ratların akciğer dokusu üzerinde ciddi olumsuz değişikliklere yol açmıştır. Gallik asidin koruyucu özelliği olduğu bu tez çalışmasında gösterilmiştir. Ancak gallik asidin koruyucu özelliğini tam olarak göstermesi için belki daha uzun bir zamana daha uzun kronik ve/veya subkronik çalışmalara ihtiyacı olabilir ya da ratlara uygulanan gallik asit dozunu artırmak gerekebilir. Bu yüzden pestisit toksisitesine karşı gallik asidin antioksidan özelliğini araştıran bu tez çalışması gallik asitle yapılacak olan diğer çalışmalar ve özellikle kronik veya subkronik çalışmalara ışık tutacaktır.

KAYNAKLAR

- Abdel-Daim, M. M., Abd Eldaim, M. A., and Hassan, A. G. (2015). Trigonella foenum-graecum ameliorates acrylamide-induced toxicity in rats: roles of oxidative stress, proinflammatory cytokines, and DNA damage. *Biochemistry and Cell Biology*, 93(3), 192-198.
- Abdel-Ghany, R., Mohammed, E., Anis, S., and Barakat, W. (2016). Impact of Exposure to Fenitrothion on Vital Organs in Rats. *Journal of Toxicology*, 1–18.
- Abd-Elhakim, Y. M., Moustafa, G. G., El-Sharkawy, N. I., Hussein, M. M., Ghoneim, M. H., and El Deib, M. M. (2021). The ameliorative effect of curcumin on hepatic CYP1A1 and CYP1A2 genes dysregulation and hepatorenal damage induced by fenitrothion oral intoxication in male rats. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 179, 104959.
- Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S., and Rezaie, A. (2004). Pesticides and oxidative stress: a review. *Medical Science Monitor*, 10(6), 141-147.
- Adiguzel, C., and Kalender, Y. (2020). Bendiocarb-induced nephrotoxicity in rats and the protective role of vitamins C and E. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 6449-6458.
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126.
- Afshar, S., Farshid, A. A., Heidari, R., and Ilkhanipour, M. (2008). Histopathological changes in the liver and kidney tissues of Wistar albino rat exposed to fenitrothion. *Toxicology and industrial health*, 24(9), 581-586.
- Agrawal, A. N. J. U., and Sharma, B. (2010). Pesticides induced oxidative stress in mammalian systems. *International Journal of Biological and Medical Research*, 1(3), 90-104.
- Ajibade, T. O., Oyagbemi, A. A., Omobowale, T. O., Asenuga, E. R., Afolabi, J. M., and Adedapo, A. A. (2016). Mitigation of diazinon-induced cardiovascular and renal dysfunction by gallic acid. *Interdisciplinary toxicology*, 9(2), 66-77.
- Akhgari, M., Abdollahi, M., Kebryaezadeh, A., Hosseini, R., Sabzevari, O. (2003). Biochemical evidence for free radicalinduced lipid peroxidation as a mechanism for subchronic toxicity of malathion in blood and liver of rats. *Human and experimental toxicology*, 22(4), 205-211.
- Akkuş, I. (1995). *Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri*. (Birinci Baskı). Türkiye: Mimoza Yayınevi, 32-73.
- Alam, R. T., Imam, T. S., Abo-Elmaaty, A. M., and Arisha, A. H. (2019). Amelioration of fenitrothion induced oxidative DNA damage and inactivation of caspase-3 in the brain and spleen tissues of male rats by N-acetylcysteine. *Life sciences*, 231, 116534.

- Altıkat, A., Turan, T., Torun, F. E., ve Bingöl, Z. (2009). Türkiye’de pestisit kullanımı ve çevreye olan etkileri. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 40(2), 87-92.
- Aydın, Ç., and Mammadov, R. (2017). İnsektisit aktivite gösteren bitkisel sekonder metabolitler ve etki mekanizması. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 21(1), 30-37.
- Aygun, D., Erenler, A. K., Karatas, A. D., and Baydin, A. (2007). Intermediate syndrome following acute organophosphate poisoning: correlation with initial serum levels of muscle enzymes. *Basic and clinical pharmacology and toxicology*, 100(3), 201-204.
- Bai, J., Zhang, Y., Tang, C., Hou, Y., Ai, X., Chen, X., Meng, X. (2021). Gallic acid: Pharmacological activities and molecular mechanisms involved in inflammation-related diseases. *Biomedicine and pharmacotherapy*, 133, 110985.
- Banerjee, B. D., Seth, V., Bhattacharya, A., Pasha, S. T., and Chakraborty, A. K. (1999). Biochemical effects of some pesticides on lipid peroxidation and free-radical scavengers. *Toxicology letters*, 107(1-3), 33-47.
- Baş, H., and Kalender, Y. (2016). Nephrotoxic effects of lead nitrate exposure in diabetic and nondiabetic rats: involvement of oxidative stress and the protective role of sodium selenite. *Environmental Toxicology*, 31(10), 1229-1240.
- Baş, H., Kalender, S., and Pandir, D. (2014). In vitro effects of quercetin on oxidative stress mediated in human erythrocytes by benzoic acid and citric acid. *Folia Biologica (Kraków)*, 62(1), 57-64.
- Baş, H., Kara, Ö., Kara, M., and Pandir, D. (2013). Protective effect of vardenafil on ischemia–reperfusion injury in rat ovary. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 43(5), 684-689.
- Betteridge, D. J. (2000). What is oxidative stress?. *Metabolism*, 49(2), 3-8.
- Binter, A. C., Bannier, E., Saint-Amour, D., Simon, G., Barillot, C., Monfort, C., Chevrier, C. (2020). Exposure of pregnant women to organophosphate insecticides and child motor inhibition at the age of 10–12 years evaluated by fMRI. *Environmental Research*, 188, 109859.
- Bjørning-Poulsen, M., Andersen, H. R., and Grandjean, P. (2008). Potential developmental neurotoxicity of pesticides used in Europe. *Environmental Health*, 7, 1-22.
- Błasiak, J., Walter, Z., and Gawrońska, M. (1991). The changes of osmotic fragility of pig erythrocytes induced by organophosphorus insecticides. *Acta Biochimica Polonica*, 38(1), 75-78.
- Budin, S. B., Saimin, H., Taib, I. S., Jayusman, P. A., and Mohamed, J. (2012). A histological studies of rats’ lung subacutely treated with fenitrothion. *International Journal of Collaborative Research on Internal Medicine and Public Health*, 4(5), 744-752.

- Bullón, P., Román-Malo, L., Marín-Aguilar, F., Alvarez-Suarez, J. M., Giampieri, F., Battino, M., and Cordero, M. D. (2015). Lipophilic antioxidants prevent lipopolysaccharide-induced mitochondrial dysfunction through mitochondrial biogenesis improvement. *Pharmacological research*, 91, 1-8.
- Cherubini, A., Ruggiero, C., Polidori, M. C., and Mecocci, P. (2005). Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free radical biology and medicine*, 39(7), 841-852.
- Chew, B. P. (1996). Importance of antioxidant vitamins in immunity and health in animals. *Animal Feed Science and Technology*, 59(1-3), 103-114.
- Costa, L. G., Giordano, G., Guizzetti, M., and Vitalone, A. (2008). Neurotoxicity of pesticides: a brief review. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 13(4), 1240-1249.
- Dehghani, M. A., Maram, N. S., Moghimipour, E., Khorsandi, L., and Mahdavinia, M. (2020). Protective effect of gallic acid and gallic acid-loaded Eudragit-RS 100 nanoparticles on cisplatin-induced mitochondrial dysfunction and inflammation in rat kidney. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1866(12), 165911.
- Delen, N., Durmuşoğlu, E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C., and Burçak, A. (2005). Türkiye’de Pestisit Kullanımı, Kalinti ve Organizmalarda Duyarlılık Azalışı Sorunları. *Türkiye Ziraat Mühendisliği*, 6, 629-648.
- Deng, Y., Zhang, Y., Lu, Y., Zhao, Y., and Ren, H. (2016). Hepatotoxicity and nephrotoxicity induced by the chlorpyrifos and chlorpyrifos-methyl metabolite, 3, 5, 6-trichloro-2-pyridinol, in orally exposed mice. *Science of the Total Environment*, 544, 507-514.
- ASH, D., Wakatsuki, H., Yamazaki, T., and Sakugawa, H. (2004). Photodegradation kinetics of fenitrothion in various aqueous media and its effect on steroid hormones biosynthesis. *Geochemical Journal*, 38(3), 201-213.
- Donia, G. R., Tahoun, E. A. E. A., Hafez, A. A. E. N., and Mohammed, R. S. (2019). Evaluation of the Use of Green Tea Extract and Vitamin C on Lung, Brain and Testis of Rats Exposed to Fenitrothion Toxicity.
- Dhananjayan, V., and Ravichandran, B. (2018). Occupational health risk of farmers exposed to pesticides in agricultural activities. *Current Opinion in Environmental Science and Health*, 4, 31-37.
- Ecevit, H. (2018). *Oksidatif Stresin Apoptozis ve Hücre Proliferasyonu Üzerine Olan Etkisi* Doktora Tezi, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay.
- El-Demerdash, F. M. (2011). Lipid peroxidation, oxidative stress and acetylcholinesterase in rat brain exposed to organophosphate and pyrethroid insecticides. *Food and chemical toxicology*, 49(6), 1346-1352.

- El-Gendy, K. S., Aly, N. M., Mahmoud, F. H., Kenawy, A., and El-Sebae, A. K. H. (2010). The role of vitamin C as antioxidant in protection of oxidative stress induced by imidacloprid. *Food and chemical Toxicology*, 48(1), 215-221.
- Elhalwagy, M. E., Darwish, N. S., and Zaher, E. M. (2008). Prophylactic effect of green tea polyphenols against liver and kidney injury induced by fenitrothion insecticide. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 91(2), 81-89.
- Elwakeel, S. H., and Abdel Rahman, A. (2021). Protective Effect of Gallic Acid on Cyclophosphamide-Induced Nephrotoxicity, Oxidative Stress, Genotoxicity, and Histopathological Alterations in Male Albino Rats. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, B. Zoology*, 13(2), 225-244.
- Evans, W. J. (2000). Vitamin E, vitamin C, and exercise. *The American journal of clinical nutrition*, 72(2), 647S-652S.
- Fanaei, H., Mard, S. A., Sarkaki, A., Goudarzi, G., and Khorsandi, L. (2021). Gallic acid protects the liver against NAFLD induced by dust exposure and high-fat diet through inhibiting oxidative stress and repressing the inflammatory signaling pathways NF- κ B/TNF- α /IL-6 in Wistar rats. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 11(5), 527.
- Farag, A. G., Elhalwagy, M. E., and Farid, H. E. (2010). Effect of ginger supplementation on developmental toxicity induced by fenitrothion insecticide and/or lead in albino rats. *Pesticide biochemistry and physiology*, 97(3), 267-274.
- Faria, M., Prats, E., Ramírez, J. R. R., Bellot, M., Bedrossiantz, J., Pagano, M., and Raldua, D. (2021). Androgenic activation, impairment of the monoaminergic system and altered behavior in zebrafish larvae exposed to environmental concentrations of fenitrothion. *Science of the Total Environment*, 775, 145671.
- Ferk, F., Chakraborty, A., Jäger, W., Kundi, M., Bichler, J., Mišík, M., and Knasmüller, S. (2011). Potent protection of gallic acid against DNA oxidation: results of human and animal experiments. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 715(1-2), 61-71.
- Fidan, H., Sahin, O., Ela, Y., Kilbas, A., Bas, O., Yavuz, Y., and Altuntas, I. (2007). Influence of Different Atropine Therapy Strategies on Fenthion-Induced Organ Dysfunction in Rats. *Basic and clinical pharmacology and toxicology*, 100(5), 308-315.
- Fuchs-Tarlovsky, V. (2013). Role of antioxidants in cancer therapy. *Nutrition*, 29(1), 15-21.
- Freeman, B. A., and Crapo, J. D. (1982). Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 47(5), 412-426.
- Galal, A. A., Ramadan, R. A., Metwally, M. M., and El-Sheikh, S. M. (2019). Protective effect of N-acetylcysteine on fenitrothion-induced toxicity: The antioxidant status and metabolizing enzymes expression in rats. *Ecotoxicology and environmental safety*, 171, 502-510.

- Galvão, A. M., Galvao, J. S., Pereira, M. A., Cadena, P. G., Magalhães, N. S. S., Fink, J. B., and de Sousa Maia, M. B. (2016). Cationic liposomes containing antioxidants reduces pulmonary injury in experimental model of sepsis: Liposomes antioxidants reduces pulmonary damage. *Respiratory Physiology and Neurobiology*, 231, 55-62.
- Gökçe Apaydın, F., Pandır, D., Kalender, S., Baş, H., and Kalender, Y. (2018). Hematoprotective effect of vitamins C and E against subchronic toxicity of bendiocarb: Biochemical evidences. *Journal of Food Biochemistry*, 42(6), e12659.
- Ghany, R. Mohammed, E. Anis, S. and Barakat W. (2016). Impact of Exposure to Fenitrothion on Vital Organs in Rats, *Journal of Toxicology*, 16 (12), 1-18.
- Habig, W. H., Pabst, M. J., and Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of biological Chemistry*, 249(22), 7130-7139.
- Handal, A. J., Lozoff, B., Breilh, J., and Harlow, S. D. (2007). Effect of community of residence on neurobehavioral development in infants and young children in a flower-growing region of Ecuador. *Environmental health perspectives*, 115(1), 128-133.
- Hassaan, M. A., and El Nemr, A. (2020). Pesticides pollution: Classifications, human health impact, extraction and treatment techniques. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 46(3), 207-220.
- Hayes, W.J. and Laws E.J. (1991). *Fenitrothion. Handbook of Pesticide Toxicology, Classes of Pesticides*. (Third edition) San Diego: Academic Press, 1020-1023.
- Holečková, B., Šivíková, K., and Dianovský, J. (2009). Effect of N-methylcarbamate pesticide bendiocarb on cattle lymphocytes after in vitro exposure. *Acta Biologica Hungarica*, 60(2), 167-175.
- Ibrahim, K. A., Abdelgaid, H. A., Eleyan, M., Mohamed, R. A., and Gamil, N. M. (2022). Resveratrol alleviates cardiac apoptosis following exposure to fenitrothion by modulating the sirtuin1/c-Jun N-terminal kinases/p53 pathway through pro-oxidant and inflammatory response improvements: In vivo and in silico studies. *Life Sciences*, 290, 120265.
- Ighodaro, O. M., and Akinloye, O. A. (2017). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria journal of medicine*, 54(4), 287-293.
- Inoue, M., Sakaguchi, N., IsuzuGAWA, K., TANI, H., and OGIHARA, Y. (2000). Role of reactive oxygen species in gallic acid-induced apoptosis. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 23(10), 1153-1157.
- Iqbal, K., Khan, A., and Khattak, M. M. A. K. (2004). Biological significance of ascorbic acid (vitamin C) in human health-a review. *Pakistan Journal of Nutrition*, 3(1), 5-13.

- Izushi, F. and Ogata, M. (1990). Hepatic and muscle injuries in mice treated with heptaclor. *Toxicology Letters*, 54(1), 47-54.
- İstanbuluoğlu, H., Oğur, R. ve Güleç, M. (2009). Pestisit maruziyeti ve nörolojik bozukluk. *Genel Tıp Dergisi*, 19(4), 187-195.
- Jayaraj, R., Megha, P., and Sreedev, P. (2016). Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment. *Interdisciplinary toxicology*, 9(3-4), 90-100.
- Junqueira, L.C., Carneiro, J., (2003), *Temel Histoloji*, Ankara; Nobel Tıp Kitabevleri, (10. Baskı), 207, 226-231, 355-359, 366
- Kalender, S., Apaydin, F.G., Baş, H. and Kalender, Y. (2015). Protective effects of sodium selenite on lead nitrate-induced hepatotoxicity in diabetic and non-diabetic rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 40(2), 568-574.
- Karabulut, H., and Gülay, M. Ş. (2016). Antioksidanlar. *Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University*, 1(1), 65-76.
- Karakan, M., and Nazlıkul, H. (2017). Oksidatif stres ve serbest radikallerin vücut üzerindeki etkisi. *Bilimsel Tamamlayıcı Tıp Regülasyon ve Nöral Terapi Dergisi*, 11(2), 7-11.
- Karaoz, E., Gultekin, F., Akdogan, M., Oncu, M., ve Gokcimen, A. (2002). 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(2), 97-108.
- Kehrer, J. P. (1993). Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Critical reviews in toxicology*, 23(1), 21-48.
- Kerem, M., Bedirli, N., Guerbuez, N., Ekinci, O., Bedirli, A., Akkaya, T., ve PAŞAOĞLU, H. (2007). Effects of acute fenthion toxicity on liver and kidney function and histology in rats. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 37(5), 281-288.
- Kim, J. H., Lee, B. K., Lee, K. W., and Lee, H. J. (2009). Resveratrol counteracts gallic acid-induced down-regulation of gap-junction intercellular communication. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 20(3), 149-154.
- Kim, K. H., Kabir, E., and Jahan, S. A. (2017). Exposure to pesticides and the associated human health effects. *Science of the total environment*, 575, 525-535.
- Lee, J. H., Park, M., Jung, K., Hong, G., Lee, H. L., Kim, D. W., and Kang, K. S. (2021). Identification of gallic acid as a active ingredient of *Syzygium aromaticum* against tacrolimus-induced damage in renal epithelial LLC-PK1 cells and rat kidney. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 41, 128012.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the folin reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 19, 265-275.

- Lukaszewicz-Hussain, A. (2010). Role of oxidative stress in organophosphate insecticide toxicity—Short review. *Pesticide biochemistry and physiology*, 98(2), 145-150.
- Lynch, H. N., Goodman, J. E., and Bachman, A. N. (2021). Lung physiology and controlled exposure study design. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 112, 107106.
- Marklund, S., and Marklund, G. (1974). Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European journal of biochemistry*, 47(3), 469-474.
- Mashali, A. A., Nounou, H. A., Sharara, G. M., and Abdel Aziz, M. H. (2005). Role of oxidative stress and apoptosis into acute organophosphorus intoxicated patients. *Journal of Medical Research*, 26, 255-263.
- Mccord, J. M. (1993). Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clinical biochemistry*, 26(5), 351-357.
- Memisoğullari, R., Taysı, S., Bakan, E., and Capoglu, I. (2003). Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus. *Cell Biochemistry and Function: Cellular biochemistry and its modulation by active agents or disease*, 21(3), 291-296.
- Messarah, M., Klibetb, F., Boumendjel, A., Abdenmour, C., Bouzerna, N., Salah, M., Abdelfattah, B. and Fekic, E. (2012). Hepatoprotective Role and Antioxidant Capacity Of Selenium On Arsenic-Induced Liver Injury In Rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64(3), 167-174.
- Milatovic, D., Gupta, R.C. and Aschner, M. (2006). Anticholinesterase Toxicity and Oxidative Stress Review Article. *The Scientific World Journal*, 6, 295–310.
- Milošević, M. D., Paunović, M. G., Matić, M. M., Ognjanović, B. I., and Saičić, Z. S. (2017). The ameliorating effects of selenium and vitamin C against fenitrothion-induced blood toxicity in Wistar rats. *Environmental toxicology and pharmacology*, 56, 204-209.
- Milošević, M. D., Paunović, M. G., Matić, M. M., Ognjanović, B. I., and Saičić, Z. S. (2018). Role of selenium and vitamin C in mitigating oxidative stress induced by fenitrothion in rat liver. *Biomedicine and pharmacotherapy*, 106, 232-238.
- Mirzaei, S., Hushmandi, K., Zabolian, A., Saleki, H., Torabi, S. M. R., Ranjbar, A. and Ahn, K. S. (2021). Elucidating role of reactive oxygen species (ROS) in cisplatin chemotherapy: a focus on molecular pathways and possible therapeutic strategies. *Molecules*, 26(8), 2382.
- Moradi, A., Abolfathi, M., Javadian, M., Heidarian, E., Roshanmehr, H., Khaledi, M., and Nouri, A. (2021). Gallic acid exerts nephroprotective, anti-oxidative stress, and anti-inflammatory effects against diclofenac-induced renal injury in malerats. *Archives of medical research*, 52(4), 380-388.

- Muñoz-Quezada, M. T., Lucero, B. A., Barr, D. B., Steenland, K., Levy, K., Ryan, P. B., and Vega, C. (2013). Neurodevelopmental effects in children associated with exposure to organophosphate pesticides: a systematic review. *Neurotoxicology*, 39, 158-168.
- Niki, E. (1987). Antioxidant in relation to lipid peroxidation. *Chemistry and Physics of Lipids*, 44, 227-253.
- Obafemi, T. O., Jaiyesimi, K. F., Olomola, A. A., Olasehinde, O. R., Olaoye, O. A., Adewumi, F. D., and Ojo, O. A. (2021). Combined effect of metformin and gallic acid on inflammation, antioxidant status, endoplasmic reticulum (ER) stress and glucose metabolism in fructose-fed streptozotocin-induced diabetic rats. *Toxicology Reports*, 8, 1419-1427.
- Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95, 351-358.
- Ozbek, E. (2012). Induction of oxidative stress in kidney. *International Journal of Nephrology*, 12(4), 1-10.
- Özkaya, G., Çeliker, A. ve Koçer-Giray, B. (2013). İnsektisit zehirlenmeleri ve Türkiye’deki durumun değerlendirilmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 70(2), 75-102.
- Padma, V. V., Sowmya, P., Felix, T. A., Baskaran, R., and Poornima, P. (2011). Protective effect of gallic acid against lindane induced toxicity in experimental rats. *Food and Chemical Toxicology*, 49(4), 991-998.
- Paglia, D. E. and Valentine, W. N. (1987). Studies on the quantative and qualitative characterization of glutathione peroxidase. *Journal Laboratory Medicine*, 70, 158-165.
- Patlevič, P., Vašková, J., Švorc Jr, P., Vaško, L., and Švorc, P. (2016). Reactive oxygen species and antioxidant defense in human gastrointestinal diseases. *Integrative medicine research*, 5(4), 250-258.
- Petrovitch, H., Ross, G. W., Abbott, R. D., Sanderson, W. T., Sharp, D. S., Tanner, C. M., and White, L. R. (2002). Plantation work and risk of Parkinson disease in a population-based longitudinal study. *Archives of neurology*, 59(11), 1787-1792.
- Possamai, F.P. Fortunato, J.J. Feier, G. Agostinho, F.R. Quevedo, J. Wilhelm Filho, D. and Dal-Pizzol F. (2007). Oxidative stress after acute and sub-chronic malathion intoxication in Wistar rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 23, 198–204.
- Punithavathi, V. R., Prince, P. S. M., Kumar, R., and Selvakumari, J. (2011). Antihyperglycaemic, antilipid peroxidative and antioxidant effects of gallic acid on streptozotocin induced diabetic Wistar rats. *European journal of pharmacology*, 650(1), 465-471.

- Prince, P. S. M., Priscilla, H., and Devika, P. T. (2009). Gallic acid prevents lysosomal damage in isoproterenol induced cardiotoxicity in Wistar rats. *European journal of pharmacology*, 615(1-3), 139-143.
- Rajasekaran, S., Sivagnanam, K. and Subramanian, S. (2005). Antioxidant effect of Aloe vera gel extract in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Pharmacological Reports*, 57, 90-96.
- Ranjbar, A., Pasalar, P. and Abdollahi, M. (2002). Induction of oxidative stress and acetylcholinesterase inhibition in organophosphorous pesticide manufacturing workers. *Human and Experimental Toxicology*, 21, 179-182.
- Samsidar, A., Siddiquee, S., and Shaarani, S. M. (2018). A review of extraction, analytical and advanced methods for determination of pesticides in environment and foodstuffs. *Trends in Food Science and Technology*, 71, 188-201.
- Sarikaya, R. Selvi, M. and Erkoc, F. (2004). Investigation of acute toxicity of fenitrothion on peppered corydoras (*Corydoras paleatus*). *Chemosphere*, 56, 697–700.
- Sarkar, P. K., Halder, A., Adhikari, A., Polley, N., Darbar, S., Lemmens, P., and Pal, S. K. (2018). DNA-based fiber optic sensor for direct in-vivo measurement of oxidative stress. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 255, 2194-2202.
- Savolainen, K. (2001), *Understanding the toxic action of organophosphates, Handbook of Pesticide Toxicology*. (Second Edition). USA: Academic Press, 1013–1043.
- Sen, C. K. (1995). Oxidants and antioxidants in exercise. *Journal of applied physiology*, 79(3), 675-686.
- Sharma, D. R., Thapa, R. B., Manandhar, H. K., Shrestha, S. M., and Pradhan, S. B. (2012). Use of pesticides in Nepal and impacts on human health and environment. *Journal of Agriculture and environment*, 13, 67-74.
- Singh, R. R., and Reindl, K. M. (2021). Glutathione S-transferases in cancer. *Antioxidants*. 10, 701.
- Siddiqui, M. K. J., Mahboob, M., Anjum, F., Mustafa, M. (1993). Alterations in extra hepatic glutathione S-transferase activity in pigeon exposed to dimethoate, piperonyl butoxide and DDT. *Indian Journal of Experimental Biology*, 31, 278-279.
- Slotkin, T., Oliver, C. and Seidler, F. (2005). Critical periods for the role of oxidative stress in the developmental neurotoxicity of chlorpyrifos and terbutaline, alone or in combination. *Developmental Brain Research*, 157, 172-80.
- de Souza, R. M., Seibert, D., Quesada, H. B., de Jesus Bassetti, F., Fagundes-Klen, M. R., and Bergamasco, R. (2020). Occurrence, impacts and general aspects of pesticides in surface water: A review. *Process Safety and Environmental Protection*, 135, 22-37.

- Sun, S., Sidhu, V., Rong, Y., and Zheng, Y. (2018). Pesticide pollution in agricultural soils and sustainable remediation methods: a review. *Current Pollution Reports*, 4, 240-250.
- Syromyatnikov, M. Y., Isuwa, M. M., Savinkova, O. V., Derevshchikova, M. I., and Popov V. N. (2020). The effect of pesticides on the microbiome of animals *Agriculture*, 10(3), 79.
- Taib, I. S., Budin, S. B., Ghazali, A. R., Jayusman, P. A., Louis, S. R., and Mohamed, J. (2013). Fenitrothion induced oxidative stress and morphological alterations of sperm and testes in male sprague-dawley rats. *Clinics*, 68, 93-100.
- Taib, I.S., Budin, S.B., Ghazali, A.R., Jayusman, P.A., Louis, S.R. and Mohameda, J. (2015). Palm oil tocotrienol-rich fraction attenuates testicular toxicity induced by fenitrothion via an oxidative stress mechanism. *Toxicology Research*, 4, 132–142.
- Teimouri, F., Amirkabirian, N., Esmaily, H., Mohammadirad, A., Aliahmadi, A., and Abdollahi, M. (2006). Alteration of hepatic cells glucose metabolism as a non-cholinergic detoxication mechanism in counteracting diazinon-induced oxidative stress. *Human and experimental toxicology*, 25(12), 697-703.
- Tejaswi, G., Suchitra, M. M., Rajasekhar, D., Kiranmayi, V. S., and Rao, P. S. (2017). Myeloperoxidase, protein carbonyls and oxidative stress in coronary artery disease. *Journal of Indian College of Cardiology*, 7(4), 149-152.
- Tiryaki, O., Canhilal, R., and Horuz, S. (2010). Tarım ilaçları kullanımı ve riskleri. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 26(2), 154-169.
- Tomashefski, J. F., Cagle, P. T., Farver, C. F., and Fraire, A. E. (Eds.). (2008). *Dail and Hammar's Pulmonary Pathology: Volume I: Nonneoplastic Lung Disease*, New York, Springer.
- Trellu, C., Vargas, H. O., Mousset, E., Oturan, N., and Oturan, M. A. (2021). Electrochemical technologies for the treatment of pesticides. *Current Opinion in Electrochemistry*, 26, 100677.
- Tripathi, S., and Srivastav, A. K. (2010). Nephrotoxicity induced by long-term oral administration of different doses of chlorpyrifos. *Toxicology and industrial health*, 26(7), 439-447.
- Umetsu, N., and Shirai, Y. (2020). Development of novel pesticides in the 21st century. *Journal of Pesticide Science*, 45(2), 54-74.
- Uygun, U., Koksel, H., and Atli, A. (2005). Residue levels of malathion and its metabolites and fenitrothion in post-harvest treated wheat during storage, milling and baking. *Food Chemistry*, 92(4), 643-647.
- Uzun, F. and Kalender, Y. (2011). Protective effect of vitamins c and e on malathion-induced nephrotoxicity in male rats. *Gazi University Journal of Science*, 24 (2), 193-201.

- Verma, R. S., Mehta, A., and Srivastava, N. (2007). In vivo chlorpyrifos induced oxidative stress: attenuation by antioxidant vitamins. *Pesticide biochemistry and physiology*, 88(2), 191-196.
- Verma, S., Singh, A., and Mishra, A. (2013). Gallic acid: molecular rival of cancer. *Environmental toxicology and pharmacology*, 35(3), 473-485.
- Vincent, A. M., Russell, J. W., Low, P., and Feldman, E. L. (2004). Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocrine reviews*, 25(4), 612-628.
- Vural, N., (1996), *Toksikoloji*, (2.Baskı). Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 354-355.
- Weiss, B., Amler, S. and Amler, R. W. (2004). Pesticides. *Pediatrics*, 4, 1030-1036.
- Wilms, L. C., Kleinjans, J. C., Moonen, E. J., and Briedé, J. J. (2008). Discriminative protection against hydroxyl and superoxide anion radicals by quercetin in human leucocytes in vitro. *Toxicology in vitro*, 22(2), 301-307.
- Wu, H., Zhang, R., Liu, J., Guo, Y., and Ma, E. (2011). Effects of malathion and chlorpyrifos on acetylcholinesterase and antioxidant defense system in *Oxya chinensis* (Thunberg)(Orthoptera: Acrididae). *Chemosphere*, 83(4), 599-604.
- Yeşil, S., and Ögür, E. (2011). *Zirai mücadelede pestisit kullanımının Türkiye ve Konya ölçeğinde değerlendirilmesi ve pestisit kullanımının olası sakıncaları*. I. Konya Kent Sempozyumu, 26, 27.
- Young, I. S., and Woodside, J. V. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of clinical pathology*, 54(3), 176-186.



Gazili olmak ayrıcalıktır...