



**RATLARDA FENİTROTİYONUN KARDİYOTOKSİK ETKİSİ VE
GALLİK ASİTİN KORUYUCU ROLÜ**

Kübra ÇALIK

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ŞUBAT 2023

ETİK BEYAN

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

- 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 çalışmasında 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.

Kübra ÇALIK

01/02/2023

RATLARDA FENİTROİYONUN KARDİYOTOKSİK ETKİSİ VE GALLİK ASİTİN
KORUYUCU ROLÜ
(Yüksek Lisans Tezi)

Kübra ÇALIK

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Aralık 2022

ÖZET

Fenitroiyon (FNT) geniş spektrumlu bir organofosfat insektisittir. Pirinç, tahıl, meyve ve sebzelerdeki zararlıları kontrol altına almak için tarımda kullanılır. Gallik asit (GA) polifenollerin tanen grubu üyesidir, güçlü bir antioksidandır ve oksidatif strese etkili bir koruyuculuk sağlamaktadır. Bu tez çalışmasında, sıçanın kalp dokusunda fenitroiyonun sebep olduğu hasarın üzerinde gallik asitin ne gibi bir koruyucu rol üstlendiği araştırılmıştır. Bu çalışmada deney hayvanları kullanımındaki etik standart protokollerine uyulmuştur. Deney hayvanları 4 gruba ayrılmıştır. Bunlar; kontrol grubu, gallik asit (50 mg/kg/gün) uygulanan grup, fenitroiyon uygulanan grup (32 mg/kg/gün) ve gallik asit ile fenitroiyon uygulanan gruptur. Kimyasal maddeler deney hayvanlarına günde bir kere olmak üzere gavaj yoluyla 28 gün boyunca verilmiştir. Deney hayvanlarına uygulama sonunda sıçan kalp dokularındaki malondialdehit (MDA) seviyeleri ve antioksidan aktiviteleri (GPx, CAT, SOD ve GST) çeşitli spektrofotometrik metotlarla olarak incelendi. Aynı zamanda gruplarda meydana gelen histopatolojik değişiklikler ışık mikroskobu aracılığı ile görüntülendi. MDA seviyeleri, antioksidan enzim (süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon-S-transferaz) aktiviteleri incelendiğinde kontrol grubuyla gallik asit uygulanan gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi. 4. hafta sonunda kontrol grubu ile fenitroiyon uygulanan grup karşılaştırıldığında SOD, CAT, GPx ve GST enzim aktivitelerinde azalma gösterirken MDA seviyelerinde yükselme göstermiştir. Gallik asit fenitroiyonun oluşturduğu oksidatif stresi azaltmıştır. Histopatolojik incelemelerde fenitroiyon rat kalp dokusunda pek çok patolojik değişime yol açmıştır. Gallik asit ratın kalp dokusundaki patolojik değişiklikleri azaltmıştır.

Bilim Kodu : 20137
Anahtar Kelimeler : Fenitroiyon, Gallik Asit, Kalp, Antioksidan, Oksidatif Stres
Sayfa Adedi : 49
Danışman : Prof. Dr. Fatma Gökçe APAYDIN

CARDIOTOXIC EFFECT OF FENITROTHIONE AND PROTECTIVE ROLE OF GALLIC ACID IN RATS

(M. Sc. Thesis)

Kübra ÇALIK

GAZİ UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

December 2022

ABSTRACT

Phenitrothione (FNT) is a broad spectrum organophosphate insecticide. It is used in agriculture to control pests on rice, cereals, fruits and vegetables. Gallic acid (GA) is a tannin group of polyphenols, it is a powerful antioxidant and provides an effective protection against oxidative stress. In this thesis, the protective role of gallic acid on the damage caused by phenitrothion in the heart tissue of the rat was investigated. Ethical standard protocols in the use of these consumer experimental animals were followed. Experimental animals were divided into 4 groups. These; control group, gallic acid (50 mg/kg/day) administered group, phenitrothione administered group (32 mg/kg/day) and gallic acid and phenitrothione applied group. Chemical substances were given to the experimental animals once a day by gavage for 28 days. At the end of the application to the experimental animals, malondialdehyde (MDA) levels and antioxidant cells (GPx, CAT, SOD and GST) in rat heart tissues were examined by various spectrophotometric methods. At the same time, the histopathological changes that occurred in the groups were visualized by light microscopy. MDA levels, antioxidant enzyme (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione-S-transferase) in general did not make any significant difference between the groups in the control and gallic acid groups. At the end of the 4th week, the control group and the phenitrothione administered group showed a decrease in SOD, CAT, GPx and GST enzyme activities, an increase was observed in MDA levels. It reduced the oxidative stress caused by gallic acid phenitrothiation. In histopathological examinations, phenitrothione caused many pathological changes in rat heart tissue. Gallic acid reduced the pathological groups in rat heart tissue.

Science Code : 20137
Key Words : Fenitrothion, Gallic acid, Heart, Antioxidants, Oxidative stress
Page Number : 49
Supervisor : Prof. Dr. Fatma Gökçe APAYDIN

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım süresince yardım ve bilgileriyle beni yönlendiren tez danışmanım Sayın Prof. Dr. F. Gökçe APAYDIN'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca yine bilgileri ve desteğiyle yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Yusuf KALENDER hocama teşekkür ederim. Laboratuvarında yapmış olduğum çalışmalar boyunca yardımlarda bulunan değerli hocalarım Sayın Öğr. Gör. Dr. Çağlar ADIGÜZEL'e ve Öğr. Gör. Dr. Hatice KARABODUK'a teşekkür ederim. Bu tez çalışmasının deney hayvanları çalışmalarını destekleyen Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Birimine çok teşekkür ederim.

Canım aileme bana sundukları her şey için ve beni özel kıldıkları için minnettarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	x
RESİMLERİN LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. MATERYAL METOT.....	19
2.1. Deney Hayvanları	19
2.2. Kimyasal Maddeler	19
2.3. Hayvanlara Uygulama Planı	19
2.3.1. Kontrol grubu.....	20
2.3.2. Fenitrotyon grubu.....	20
2.3.3. Gallik asit grubu.....	20
2.3.4. Fenitrotyon + gallik asit grubu.....	20
2.4. Dokuların Elde Edilmesi.....	20
2.5. Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Ölçülmesi.....	21
2.6. Antioksidan Enzim Miktarlarının Tayini.....	21
2.6.1. Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesinin ölçülmesi	21
2.6.2. Katalaz (CAT) enzim aktivitesinin ölçülmesi.....	22
2.6.3. Glutasyon peroksidaz (GPx) enzim aktivitesinin ölçülmesi	22
2.6.4. Glutasyon S transferaz (GST) enzim aktivitesinin ölçülmesi	22

	Sayfa
2.7. Işık Mikroskobu İncelemeleri	22
2.8. Verilerin Değerlendirilmesi	23
3. ARAŞTIRMA BULGULARI	25
3.1. Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Sonuçları	25
3.2. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Sonuçları	25
3.3. Işık Mikroskobu Bulgularının Değerlendirilmesi	27
4. TARTIŞMALAR VE ÖNERİLER	31
KAYNAKLAR	37
ÖZGEÇMİŞ	49

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Çalışmada yer alan gruplar ve bu uygulanan kimyasal dozları	20

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 3.1. Kontrol ve diğer uygulama gruplarının kalp dokularındaki MDA seviyeleri. Gruplar arasında anlamlı farklılığı sütunlar üzerindeki harfler ifade etmektedir	25
Şekil 3.2. Kontrol diğer uygulama gruplarının kalp dokularındaki SOD seviyeleri. Gruplar arasında anlamlı farklılığı sütunlar üzerindeki harfler ifade etmektedir	26
Şekil 3.3. Kontrol diğer uygulama gruplarının kalp dokularındaki CAT seviyeleri. Gruplar arasında anlamlı farklılığı sütunlar üzerindeki harfler ifade etmektedir	26
Şekil 3.4. Kontrol diğer uygulama gruplarının kalp dokularındaki GPx seviyeleri. Gruplar arasında anlamlı farklılığı sütunlar üzerindeki harfler ifade etmektedir	26
Şekil 3.5. Kontrol diğer uygulama gruplarının kalp dokularındaki GST seviyeleri. Gruplar arasında anlamlı farklılığı sütunlar üzerindeki harfler ifade etmektedir.	27

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Kontrol grubu ratların kalp dokusunun histolojik yapısı, H&E, X400.....	28
Resim 3.2. Gallik asit grubu ratların kalp dokusunun histolojik yapısı, H&E, X400	28
Resim 3.3. Fenitrotyon uygulamasından 4 hafta sonra ratların kalp dokusunda nekrotik değişimler ($\Rightarrow$), miyositlerde vakuolizasyon ($\rightarrow$), bağ dokuda ödem ($\blacklozenge$), H&E, X400.....	29
Resim 3.4. Fenitrotyon uygulamasından 4 hafta sonra ratların kalp dokusunda miyositlerde dejenerasyon ($\star$), miyositlerde hiyalin dejenerasyonu ($\Rightarrow$), H&E, X400.....	29
Resim 3.5. Fenitrotyon+Gallik asit uygulamasından 4 hafta sonra ratların kalp dokusunda miyositlerde dejenerasyon ($\star$), miyositlerde disorganizasyon ($\leftrightarrow$) H&E, X400.	30
Resim 3.6. Fenitrotyon+Gallik asit uygulamasından 4 hafta sonra ratların kalp dokusunda miyositlerde dejenerasyon ($\star$), interfibriler hemoraji ($\blacktriangleup$), H&E, X400.....	30

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler

Açıklamalar

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

Kısaltmalar

Açıklamalar

Ach	Asetilkolin
AChE	Asetilkolinesteraz Enzim
ALT	Alanin Aminotransferaz
ALP	Alkalen Fosfataz
AST	Aspartat Aminotransferaz
BuChE	Bütil Kolinesteraz
CAT	Katalaz
FNT	Fenitrotiyon
GA	Gallik Asit
GPX	Glutasyon Peroksidaz
GST	Glutasyon S-Transferaz
LD	Letal Doz
MDA	Malondialdehit
OP	Organofosfat

Kısaltmalar**Açıklamalar****PCEM**

Polikromatik eritrosit mikronükleuslar

ROS

Reaktif Oksijen Türleri

SOD

Süperoksit Dismut

1. GİRİŞ

Tarımdaki üretimi sürdürmek ancak uygun tarım yöntemlerini kullanmakla mümkündür. Nüfustaki artışla birlikte gıda ihtiyaçlarındaki artışın sonucu olarak gıda pazarındaki ekonomik büyüme beraberinde çevresel zararların meydana gelmesine sebep olmuştur (Sönmez, Kaplan ve Sönmez, 2008).

Gelişmiş ülkelerin nüfusundaki artık %0,5’de kalırken bu oran gelişmekte olan ülkelerde %2,5’e kadar yükselebilmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde imkanların daha kısıtlı olduğu düşünülürse yüksek nüfusun ihtiyaçlarına cevap verebilmek için, çevre kirliliği gibi etkilerinin uzun zaman sonra ancak oldukça da tahrip edici bir şekilde görüleceği bir konuya daha az hassasiyet gösterilmektedir ve bu sebeple kontrolsüz gübreleme ve ilaçlama söz konusu olabilmektedir (Atılğan ve diğerleri, 2007).

Besin maddelerinin besin değerini bozup yok eden zararlıları, mikroorganizmaları, haşereleri yok eden biyolojik, fiziksel ve kimyasal maddelere pestisit denir (Vural, 1996). Bu grupta bulunan ve böcekleri yok etmek için kullanılan insektisitler bilinçsiz olarak kullanıldığında insan sağlığına büyük zararlar vermektedir (Casida, 2010; Eddleston ve Bateman, 2012; Özkaya ve diğerleri, 2013).

Modern tarım yöntemlerinin kullanılmasıyla birlikte artış gösteren pestisit kullanımı çevrede geniş alanlarda yayılım göstermektedir. Kullanılan pestisitlerin büyük bir çoğunluğu tehlikeli ve zehirlidir (Karpuzcu, Sedlak ve Stringfellow, 2013). Çevrede uzun süre varlık gösteren pestisitlerin en büyük tehlikesi biyolojik olarak birikim göstermeleri ve hedef olmayan türlere karşı sağlık ve ekosistem olarak zarar göstermeleridir. Pestisitlerin geniş alanlara yayılışının en önemli nedeni yüzey akışıdır. İlaçlama sonrası yapılan sulamalar ya da tarım arazilerindeki yağışlardan kaynaklanan yüzey akışı, çözünmüş haldeki pestisitleri yüzey sularına taşımakta ve bu sularda yaşayan canlılara zarar vermektedir (Pedersen, Yeager ve Suffet, 2006).

II. Dünya Savaşı sırasında Gerard Shraeder ve diğer araştırmacılar tarafından soman, sarin, tabun gibi organofosfatlı bileşikler sinir gazı olarak geliştirilmiştir. Devamında geliştirilen farklı organofosfatlı bileşiklerle birlikte bu sayı 1970’lerin başında 200’den fazlaya

ulaşmıştır. Günümüzde daha güvenli grupların senteziyle kullanılan organofosfatlı bileşiklerin sayısı azalmıştır (Chambers ve diğerleri, 2010).

Pestisit sınıfları

Pestisitleri, etkili oldukları canlıya, kimyasal yapılarına ve kalıcılıklarına göre sınıflandırmak mümkündür.

Etkili oldukları canlıya göre;

- Herbisitler istenmeyen bitkilere karşı,
- İnsektisitler istenmeyen böceklerle karşı,
- Fungusitler istenmeyen mantarlara mücadelede,
- Akarisitler akarlar karşı,
- Larvasitler karasinek ve sivrisineklere karşı,
- Nematositler istenmeyen nematodlara karşı,
- Mollusisitler istenmeyen yumuşakçalara karşı,
- Bakteriositler istenmeyen bakterilere karşı,
- Afisitler yaprak bitlerine karşı,
- Ixodisitler kenelere karşı ve
- Rodentisitler istenmeyen kemirgenlere karşı kullanılan pestisitlerdir (WHO, 2009).

Pestisitlerin alt sınıfı olan insektisitler; istenmeyen böceklerle karşı kullanılırlar (Aydın ve Mammadov, 2017), tarımsal üretimde verimi artırma ve halk sağlığının korunması açısından önemli yer teşkil etmektedirler. İnsektisitlerin yaygın kullanılmaları ve bu yüzden üretimi ve uygulaması sırasında oluşan maruz kalmaya ek olarak koruyucu donanım kullanılmaması, yetersiz eğitim ve bilinçsiz kullanım gibi etmenlerden dolayı insektisit zehirlenmeleri meydana gelebilmektedir (Özkaya ve diğerleri, 2013). Kimyasal insektisitler nörotoksik olup hedef organizmanın sinir sistemini inhibe etmektedirler (Vural, 2005).

İnsektisitler kimyasal yapılarına göre 4 grupta incelenebilir (WHO, 2009);

- Organoklorlu

- Karbamatlı
- Piretroidli
- Organofosfatlı

Organofosfatlı bileşiklerle çalışmaya ilk olarak 1932 yılında Krueger ve Lange tarafından başlanmıştır (Gilman, Goodman, Sande ve Mandell, 1985). Bu grubun üyelerinden biri olan tetraetilpirofosfat ilk olarak 1854'te Philippe de Clermont tarafından sentezlenmiştir.

Organofosfatlı bileşiklerin yapısı merkezde bir fosfor atomu ve çevresinde 4 atomdan oluşmaktadır.

Lipofilik yapıda olmaları sebebiyle çok hızlı emilim göstermekte ve bunun sonucu olarak da vücudun her tarafına dakikalar içerisinde dağılarak toksisitelerini gösterebilmektedirler (Thiermann ve diğerleri, 2007). Bu bileşikler temel etkilerini asetilkolinesteraz enzimi ile göstermektedirler. Asetilkolinesteraz enzimine geri dönüşü olmayacak şekilde bağlanmaktadır, bunun neticesi olarak nöromusküler kavşakta ve nöral sinapslarda asetilkolin aşırı birikim göstermektedir ve en nihayetinde de kolinerjik reseptörler aşırı uyarılmış olmaktadır (Worek ve diğerleri, 2005). Bu uyarılmanın neticesinde de asetilkolin aşırı birikim gösterdiği için sinapslarda nikotik, muskarinik ve kolinerjik belirtiler ortaya çıkmaktadır (Ojha ve diğerleri, 2011).

Organofosfatlı bileşikler sadece sinir sistemi üzerinde etki göstermemektedirler bunun yanında hematolojik sistemler, karaciğer, immün sistem, pankreas, üreme sistemi üzerinde de etkileri vardır. Diğer bir önemli özellikleri de reaktif oksijen türlerinin farklı dokularda oluşumundan kaynaklı oksidatif stresi meydana getirmektir (Kanter ve Çelik, 2011).

Meydana gelen reaktif oksijen türleri hücre membranında yer alan fosfolipitlere bağlanarak etki göstermektedirler, lipid peroksidasyon olarak adlandırılan bu olay hücrenin membran bütünlüğünün bozulmasıyla neticelenmektedir (Halliwell, 2011; Kalyanaraman, 2013).

Organofosfat pestisitler küresel olarak en yaygın kullanılan insektisitler arasındadır, yerel ve endüstriyel amaçlar için ticari olarak kolaylıkla kullanılmaktadır (Kalender, Uzun, Durak, Demir ve Kalender, 2010). Organofosfat pestisitlerin toplum sağlığı ve zirai programlar için yaygın olarak kullanılması büyük çevresel kirliliklere sebebiyet vermektedir (Lasram,

Annabi, Elj, 2009). Bu kirlilik insanların ve hayvanların kronik ya da akut zehirlenme yaşama olasılığından ötürü önemli sağlık sorunları teşkil etmektedir (Hernández, Parrón, Tsatsakis, Requena, Alarcón ve López-Guarnido, 2013).

Organofosfatlı bileşikler tarımda, tıpta ve endüstride geniş kullanım alanlarına sahiptir. Organofosfat pestisitleri, böceklerin ve diğer zararlı böceklerin kontrol altına alınması gibi beklenen etkilerinin yanı sıra bazı zamanlar da insanların da içinde bulunduğu hedef olmayan organizmaları etkilediği de görülmüştür (Cantelli-Forti ve diğerleri, 1993). Bu insektisitlere maruz kalan popülasyonun geniş bir kısmı tarım işçileri ve aileleri, tarım alanlarına yakın yaşayanlar ile pestisitlerin ev uygulamalarına ya da yiyeceklerdeki kalıntılara maruz kalanlardan oluşmaktadır (Chaudhuri, 1999).

Organofosfatlar çok sayıda hayati organı etkilerler; organofosfat pestisitlerin sebebiyet verdiği kronik toksisite karaciğer hücrelerinde büyük hasarlara sebebiyet verebilmektedir (Kumar, Fareedullah, Sudhakar, Venkateswarlu ve Kumar, 2010). Sıçanlar kronik organik fosfor pestisiti zehirlenmesi yaşadıktan sonra karaciğer enzimlerinin, endojen antioksidan durumunun ve ana eser elementlerin olumsuz yönde etkilendiği bulunmuştur (Orabi, Elbially ve Shwaky, 2013). Üstelik hemoglobin, lökosit sayısı ve kan pıhtılaşması gibi hematolojik parametreler malatyonun (Durak, Uzun, Kalender, Ogutcu, Uzunhisarcıklı ve Kalender, 2009) ve piretroidin kronik maruziyetinin devamında toksisitenin biyoindikatörleri olarak görülmüştür (Vani, Saharan ve Roy, 2012).

Soman (Petras, 1981), fention (Veronesi, Jones ve Pope, 1990) ve metamidofos (Pelegrino, Calore, Saldiva, Almeida, Peres ve Vilela-de-Almeida, 2006) gibi organofosfat pestisitlere (Kumar, Fareedullah, Sudhakar, Venkateswarlu ve Kumar, 2010) maruz kalan deneysel hayvanların birçoğunun kortikal ve korteks altı bölgesinde nöronal nekroz gözlenmiştir. Ayrıca kronik organofosfat pestisit zehirlenmesinin semptomları baş ağrısı, terleme, Parkinson hastalığı, hafızadaki değişiklikler ve psikiyatrik ya da nörofizyolojik fonksiyon bozuklukları olarak farklılıklar gösterilmektedir (Dassanayake, Weerasignhe ve Dangahadeniya, 2008). Bunun yanında solunum sisteminde organik fosfor pestisit zehirlenmesinin temel bulguları nefes darlığını ve nefes alma başarısızlığıyla sonuçlanan solunum dürtüsü kaybından kaynaklanan apneye sebebiyet veren hızlı gelişen bradipneyi de içerir (Carey, Dunn ve Gaspari, 2013). Organafosfat pestisitler kronik maruziyet böbrek

iflasına yol açar (Attia ve Nasr, 2009). Ayrıca bu pestisitlerin böbrek kanseriyle de ilişkili olduğu bildirilmiştir (Kalender, Uzun, Durak, Demir ve Kalender, 2010).

Organofosfat pestisitlerin bütirilkolinesteraz aktivitesi (BuChE) (Cataudella, Malaguarnera ve Gagliano, 2012) ve asetilkolinesterazı engelleyerek memelilerde toksisiteye neden olduğu belirtilmiştir bu da asetilkolin birikimine, kolinerjik müskarinik ve nikotinik reseptörlerin (Collombet, 2011) sonraki aktivasyonuna yol açar. Sonrasında da nöronal ikaz ve onun akabinde kolinerjik iletimin paralizi gerçekleşir (Osman, Mastan, Rabia Banu ve Indira, 2015). Bu yüzden asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirilkolinesteraz (BuChE) inhibisyonu, organofosfat insektisitleri zehirlenmelerinin kabul gören bir dizinidir (Pohanka, 2014).

Organofosfat pestisitler, süperoksit anyon ve hidrojen peroksit meydana getirdikleri redoks döngülerinde ya da antioksidanların boşaltımıyla sonuçlanan normal antioksidan dengesimindeki değişiklikler kanalıyla reaktif oksijen türlerinin meydana gelişinde oksidatif strese neden olabilir (Al-Othman, Aş-Numair ve El-Desoky, 2011). Organofosfat pestisitlerin iltihaba ve hücre infiltrasyonuna neden olduğu gösterilmiştir (Elhalwagy ve Zaki, 2009).

Dünyadaki zirai mücadelede yaygın olarak kullanılan bu organofosfatlı bileşikler, Türkiye’de de yaygın olarak kullanılmaktadır (Delen, Durmuşoğlu, Güncan, Güngör, Turgut ve Burçak, 2005). Türkiye’de kullanılan pestisit miktarı 30.000 tonun üzerindedir. Bunların 47’si böcek ilaçlarından oluşmaktadır (Tiryaki, Canhilal ve Horuz, 2010). Kullanılan insektisitlerin büyük çoğunluğunu organofosfatlı bileşikler oluşturmaktadır (Delen, Durmuşoğlu, Güncan, Güngör, Turgut ve Burçak, 2005). Organofosfatlı pestisitlerden kaynaklanan zehirlenmelerin oranı Türkiye’de %21 iken, bu oran Amerika Birleşik Devletleri’nde %33’tür (Demirdöğen, 2010).

Organofosfatlar, fosfor içeren bütün insektisitleri kapsayan bir terimdir. Fenitrotiyon (O,O-dimetil-O-(3-metil-4-nitrofenil) fosforotiyoat) da bunlardan biridir ve oda sıcaklığında hoş olmayan bir kokuya sahip sarı-kahverengi bir sıvıdır. Fenitrotiyon temel olarak ormanlık alanlarda ve pirinç, tahıl, meyve, sebze, depo edilmiş hububat ve pamuk üstündeki çiğneyici ve emici böcekleri kontrol altına almak için de tarımda kullanılır. Bunlardan başka sinek, sivrisinek, hamam böceklerinin kontrole alınmasında kullanıldığı gibi toplum sağlık

programlarında ve/veya iç mekân kullanımlarında malarya için vektör kontrol ajanı olarak da başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (IPCS, 1992).

Fenitrotiyon asetilkolinesteraz aktivitesini engelleyerek sinir sistemini strese sokan geniş spektrumlu bir organik fosfor pestisittir (Sarikaya ve diğerleri, 2004). Bu engelleme, nöron/nöron ve nöron/kas (nöromüsküler) bağlantılar ya da sinapslarda asetilkolin birikimiyle sonuçlanır ve istemli kaslarda ani kasılmalara ve neticesinde de felce sebep olur (Afshar ve diğerleri, 2008). İnsanlara ve çevreye tehlike arz eden pestisitlerle ilişki sorunlar sadece gelişmekte olan ülkelerle sınırlı değildir, gelişmiş ülkelere genişleme göstermiştir ve belirli ülkeler halen daha bazı sorunlarla karşı karşıya kalmaktadır (Suresh, 2007).

Fenitrotiyon depolanmış tahıllardaki böceklerin kontrolü için yaygın olarak kullanılmaktadır. Memelilere kısmen toksik etki gösterdiğinden ötürü sadece depolama tanklarının yüzeylerinin muamelesi için kullanılır (Uygun, Köksel ve Atlı, 2005). FNT'nin memelilerdeki akut toksisitesi düşük olarak değerlendiriliyor ve yeterli dozlarda verilecek bir bileşim tipik kolinerjik zehirlenme üretir. Zehirlenerek ölen hastaların akciğer ve karaciğerlerinde sitotoksik etkiler de mevcuttur (Hayes ve Laws, 1990). FNT ile muamele alanin aminotransferaz (ALT) ve serum aspartat aminotransferaz (AST) aktivitelerinde, bunların yanında fizyolojik işlevlerde önemli rolleri olabilecek kreatinin ve ürede önemli ölçüde artışa sebep olmuştur. Dahası farklı sıçan dokularında birikime de sebebiyet vermiştir. (48 saate kadar) FNT tatbiki sıçanların farklı organlarındaki nötral lipidlerin ve fosfolipitlerin çeşitli bileşenlerinin oranlarındaki değişimle ilişkilidir (Roy ve Sharma, 2004). Karaciğer ve böbrekteki histopatolojik inceleme kronik fenitrotiyon maruziyetinden sonra sıçanlardaki önemli hasarları gözler önüne serdi (Afshar, Farshid, Heidari ve Ilkhanipour, 2008).

Birleşik Krallık Çevre Ajansı tarafından sucul çevreye karşı en tehlikeli maddelerden biri olarak değerlendirilip “kırmızı liste”ye alınmıştır (Crathorne ve Dobbs, 1990). FNT'nin karada, havada ve gıda ürünlerinde varlık göstermesi hedef olmayan organizmalarda da toksik etkilere yol açabilir (Derbalah, Nakatani ve Sakugawa, 2004).

İnsanlar FNT'ye ya doğrudan olarak mesleki maruziyet ya da dolaylı olarak gıda tüketimiyle maruziyet yaşarlar. Önceki çalışmalar gösterdi ki farklı FNT konsantrasyonları sıçanların karaciğer ve böbreklerinde histopatolojik etkilere, akciğerlerinde sitotoksik etkilere ve yine

sıçanlarda immünosupresif etkilere sebep olmaktadır (Elhalwagy, Darwish ve Zaher, 2008). Buna ek olarak, 15 ve 30 mg/kg dozluk yedi günlük bir FNT maruziyetinden sonra bileşik, sıçanlarda androjen-bağımlı dokuların büyümesini azaltan bir anti-androjen gibi davranmıştır (Tamura, Maness, Reischmann, Dorman, Gray ve Gaido, 2001). Ancak spermelerde ve testislerde FNT'nin patofizyolojik etkileri belirsizdir ve bilgiler yetersizdir.

Bu toksik etkilerin sitokrom p450'ler vasıtasıyla FNT metabolizmasının bir sonucu olarak üretilen reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi aracılığıyla ya da oksidatif fosforilasyonun inhibisyonu ile ilgili/birlikte yüksek enerji tüketimi nedeniyle meydana gelmesi olasıdır (Milatovic, Gupta ve Aschner, 2006). ROS yapısının ve vücut savunma sistemi olarak enzimatik ile enzimatik olmayan antioksidanların mekanizmasının arasındaki dengesizlik oksidatif strese sebebiyet verebilir. Oksidatif stres uzun süreli maruziyetin sonrasındaki organofosfat toksisitesinin öncül mekanizması olduğu rapor edilmiştir (Lukaszewicz-Hussain, 2010). Dahası oksidatif stres durumları/koşulları plazma membranlarında yüksek oranlarda çoklu doymamış yağ asidine bağlı olarak sperm hücrelerinde değişimlere neden olabilir (Sarıkaya, Selvi ve Erkoç, 2004).

Ağızdan uygulamayla 20 mg/kg vücut ağırlığına bir doz FNT, erkek albino sıçanlarda böbrekler ile karaciğerde önemli hasarlara (Elhalwagy, Darwish ve Zaher, 2008) ve akciğerlerin histolojisinde değişikliklere (Hayes ve Laws, 1991) neden oldu.

Fenitrotyonun yüksek lipit çözünürlüğü yağ dokusunda ana bileşik ve toksik metabolitlerinin biyoakümülyasyonuna yol açabilir. Yağ deposundan bu bileşiğin salınımı hastalık ve diyet/beslenme değişimi gibi stresli durumlarda artış gösterebilir (Ecobichon, Ozere, Reid ve Crocker, 1977). Mevcut toksisite senaryoları erkek üreme sisteminde organofosfatın toksik etkilerini çalışan araştırmacıların dikkatini cezbedi. FNT'nin Japonya'daki püskürteçlerde sperm kalitesinin azalması gibi bazı üreme anormalliklerine neden olduğu bulunmuştur (Kamijima, Hibi, Gotoh, Taki, Saito ve Wang, 2004).

Fenitrotyonun uzun süreli uygulanması erkek sıçanların plazmasında kortikosteron ve glukoz konsantrasyonlarını artırmıştır. Ayrıca adrenal bezlerin ağırlığını da artırmış ve fonksiyonlarını değiştirmiştir. Fenitrotyona dermal, solunum ve ağız yoluyla maruziyetler memelilerin beyinde, eritrositlerinde ve plazmasında asetilkolinesteraz enzimini (AChE)

engeller (Ishimatsu ve diğeri, 1988). İlaveten serum aminotransferazdaki (ALT ve AST) yükselmeye kayda değeri karaciğeri ve böbrek hasarları kanıtlanmıştır.

Plazma protein ve pestisitlerin etkileşimi toksikolojik öneme sahiptir çünkü vücutta pestisit hareketlerinin zaman ve derecesini kontrol eder (Cszerhasti ve Forgacs, 1995). Albümine bağlı pestisitler, insanlarda maruziyet yaratan pestisitlerin yeni bir biyogösterfesi olarak işlev görebilirler. Son çalışmalar gösterdi ki sıçanlar 28 gün boyunca 1/30 ve 1/60 oranında fenitrotiyonla muamele edildiklerinde albümin oranında azalma gerçekleşti (Elhalwagy ve diğeri, 2008).

Genotoksik etkiler pestisitlerin en ciddi yan etkileri arasında değerlendiriliyor. Dünya genelindeki farklı çalışmalar instektisitlere maruziyetten sonra kanser riski olduğunu gösterdi (IARC, 1991; Wild, 2978). Geçmiş çalışmalar çeşitli biyolojik test sistemlerinde mutajenik ve klastojenik aktiviteleri ispatladı (Celik ve diğeri, 2003). Organik pestisitler kimyasal alkilleyici ajanlardır ve bu sebeple mutajenik/karsinojenik olabilirler (Chen ve diğeri, 1981). Bazı organik fosfor pestisitlerin uzun vadeli ya da tekrarlayan ağır maruziyetlerle muhtemel bir bağlantı gösteren in-vivo genotoksik etkiye sahip olabileceklerine dair kanıtlar var (Hatjian ve diğeri, 2000).

Kimyasalların klastojenik potansiyellerini hesaplamak için mikronükleus test kullanılmıştır. Mikroçekirdekler merkezi kromozom parçalarıdır ya da mitoz hücre bölünmesi süresince arda kalan bütün kromozomdur ve küçük ek çekirdekler olarak interfaz hücrelerinin sitoplazmalarında görünürler. Birçok çalışma, pestisitlerin etkisi altında oluşmuş DNA hasarını tespit etmede mikronükleus tahlilinin yeterliliğini ispatlamıştır (Holland ve diğeri, 2002). Sıçanların kemik iliğinde organik fosforun genotoksik etkisi birçok araştırmacı tarafından mikronükleus assay kullanılarak çalışıldı (Abdel-Mottaleb, 2007). Polikromatik eritrosit mikronükleuslarının (PCEM) indüksiyonunda önemli ölçüde bir artış gözlemlenildi.

Fenitrotiyon in vitroda antagonist olarak androjen reseptörle etkileşir. Buna karşın FNT muamelesi sebebiyle anti androjenik etki belirsizdir/muğlak (Sohoni ve diğeri, 2001; Sunami ve diğeri, 2000; Tamura ve diğeri, 2001). Bu sebeple FNT anti-androjenik aksiyonu, bozukluk/biçimsizlik, az gelişmişlik ve azalan sperm hareketi gibi OP teşvikli spermatoksisitenin nedenini açıklayamayabilir.

Aslında FNT genotoksik değildir ancak dejenere sperm parametrelerinin artışıyla lipid peroksidasyonu da içine alan oksidatif strese sebep olabilir (Taib ve diğerleri, 2013).

Yaygın kullanılan çoğu pestisit çeşitli türlerdeki deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalarda gösteriyor ki karaciğer, böbrek, tiroid bezi ve diğer biyolojik sistemlerde bazı toksik ve ters etkiler üretebiliyor (Kovacic, 2003). Bu toksik etkiler muhtemelen hücrenin çeşitli zarsı öğelerinde hasara neden olan reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu vasıtasıyla meydana gelmektedir (Goel ve diğerleri, 2005). Bu reaktif oksijen türleri (ROS), sitokrom p450 vesilesiyle fenitrotiyon (FNT) metabolizmasının bir sonucu olarak ya da oksidatif fosforilasyonun inhibisyonu ile ilgili yüksek enerjili tüketimle alakalı olarak üretilmiş olabilir (Milatovic ve diğerleri, 2006). Reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve bir vücut savunma sistemi olarak enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar arasındaki dengesizlik oksidatif strese yol açabilir. Oksidatif stres, uzun süreli maruz kalmanın ertesinde organofosfat toksisitesinin ana mekanizması olarak bildirilmiştir (Lukaszewicz-Hussain, 2010).

Antioksidanların pestisitlerle ve diğer toksik maddelerle bulaşımından üretilmiş olabilen serbest radikal etkilerine karşı iyi bir savunma mekanizması olduğu kanıtlanmıştır (Goldfarb, 1999, Valko ve diğerleri, 2007). Vücudun katalaz, süperoksit dismutaz ve metal bağlayıcı proteinler gibi enzimlerden oluşan kendine ait bir antioksidan sistemi vardır. Oksidatif hasara karşı hücrel savunma sistemi glutatyon ve oksitlenmiş molekülleri indirgeyenlere dönüştüren diğer enzimler tarafından iç kaynaklı olarak aktive edilmiştir. Oksidatif hasara karşı iç kaynaklı savunma sistemi antioksidanlar tarafından tamamlanmıştır.

Bu insektisit insanlarda yarattığı sağlık riskleri birçok araştırmacının dikkatini çekmiştir çünkü insanlar ya direkt olarak mesleki sebeple ya da dolaylı olarak su ve gıda tüketimiyle buna maruz kalmaktadır (Taib ve diğerleri, 2013). FNT maruziyeti hayvan dokularında biyokimyasal, morfolojik ve fonksiyonel değişimleri indüklemiştir (Abdel-Ghany ve diğerleri, 2016; Elhalwagy ve diğerleri, 2008; Taib ve diğerleri, 2013). Organik fosfor toksisite mekanizmasının en önemlilerinden biri antioksidan enzim aktivitesinin değişimi ve oksidatif stres indüksiyonudur (Ranjbar ve diğerleri, 2005).

Organik fosfor zehirlenmesi için uygulanan klasik tedavilere ek olarak, antioksidan etkilere sahip ilaçlar reaktif oksijen türlerini (ROS) temizlemek ve antioksidan enzim sistemini kurtarmak için umut verici ajanlar olabilirler (Cankayali ve diğerleri, 2005; El-Ebiary ve diğerleri, 2016).

Yangı ve oksidatif stres birbiriyle yakinen ilişkilidir ve patofizyolojik süreçlere sıkıca bağlıdır (Biswas, 2016). Elde edilen veriler gösteriyor ki FNT zehirlenmesi sıçanların karaciğer, böbrek ve beyin dokularında dejeneratif, nekrotik ve yangılı değişimleri fark edilir düzeyde tetikledi. Kısaca bu etkiler oksidatif stres ve TNF- α ve IL-6 inflamatur markerlarında önemli bir yükseliş aracılığıyla oluşan fenitrotyonun sitotoksitesiyle doğrudan ilişkilidir. Duzguner ve Erdogan (2012) imidaklopid zehirlenmesinin, sıçanların beyin ve karaciğer dokularındaki TNF- α ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin yükselişine neden olduğunu kaydetti. Dahası malatiyon maruziyeti sıçanlardaki hepatik IL-6 seviyelerini önemli ölçüde artırmaktadır (Lasram ve diğerleri, 2014).

Bununla birlikte düşük dereceli inflamasyon bile doku işlevine zarar verebilir (Oishi ve Manabe, 2016) ve doku hasarının kesintisiz ilerleyişi en nihayetinde geri döndürülemez doku fonksiyon bozukluğuna neden olabilir. Kontrol grubundaki sıçanlara kıyasla FNT zehirlenmesi yaşayan sıçanların serum ALT, AST, ALP seviyelerindeki (hepatik işlev markerları), üre ve kreatinin (renal işlev markerları) seviyelerindeki önemli artış bozulmuş karaciğer işlevini ispatlar sonuçlar ortaya koydu. Benzer sonuçlar daha önceki çalışmalarda da ortaya konmuştur (Abdel-Ghany ve diğerleri, 2016; Elhalwagy ve diğerleri, 2008; Milosevic ve diğerleri, 2018).

Oksidatif stres çevresel kirleticilere maruziyetin bir sonucu olarak erkek kısırlığının patojenitisinde önemli bir rol oynamaktadır (Saleh ve Agarwal, 2002). Antioksidant seviyesindeki düşüş ve ROS'un aşırı üretilmesi nedeniyle meydana gelen oksidatif stres, SOD ve CAT'ı da içeren antioksidan savunma sistemi tarafından baskılanmıştır. SOD serbest radikallerin daha ileri dejenerasyonları engellediği için H₂O₂'in ters değişimini hızlandırır. CAT, SOD reaksiyonu süresince oluşmuş H₂O₂'in giderilmesine yardım eder (Liu ve diğerleri, 2010). Ratlar FNT (Taib ve diğerleri, 2013), metoksiklor ve düşük dozda kloropirifos ile muamele edildiğinde SOD ve CAT aktivitelerinde düşüş yaşanmıştır.

Oksidatif stres, oksidasyon hızlandırıcılar hasarlanan hücrelerin neticesinde oluşan antioksidanlarla denge oluşturmadığında üretilir. Malondialdehit (MDA) gibi lipid peroksidasyon ürünleri, indirgenmiş glutatyon gibi endojen serbest oksijen radikal tutucular ve süperoksit dismutaz (SOD) fenitrotyon toksisitesinden kaynaklı oksidatif stresi ölçmek için efektif markerlardır (Hundekari, Suryakar ve Rath, 2013).

Asetilkolinesteraz (AChE), nörotransmitter asetilkolini (ACh) kolin ve asetik asite indirgeyen bir enzimdir. Fenitrotyonun oral toksisitesi, beyin dokusunun içine işleyerek ve beyin asetilkolinesteraz aktivitesini engelleyerek asetilkolinesteraz aktivitesinde belirgin bir azalma üretmiştir (Kunimatsu, Kamita, Isobe ve Kawasaki, 1996). Ayrıca asetilkolinesterazın aktif bölgesinde konumlanmış serin hidroksil grubunu fosforlayarak asetilkolinesterazı inaktive eder. Fosforilasyon, organofosfat ayrılan grup kaybıyla ve asetilkolinesterazla kovalent bağ tesisiyle oluşur (Reiner, Radic ve Vera, 2007). Organofosfat pestisitlerin öncül aksiyon mekanizması karboksil ester hidrolazların özellikle de asetilkolinesterazın inhibisyonudur.

Oral alımın sonrasında FNT gastrointestinal kanal tarafından güçlü bir şekilde emilir ve metabolitlerin hızla vücuttan boşaltımı sağlanır bu yüzden genel olarak FNT memeliler için düşük toksisitelidir (Budin ve diğerleri, 2013). FNT'nin ana aksiyonu asetilkolinesteraz aktivitesinin engellemesidir ancak bunun yanında reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimiyle toksik etkilerini tam olarak kullanır. Böylece lipid peroksidasyon indüklenir ve doymamış yağ asitleri, proteinler ve nükleik asitlerde oksidatif hasar oluşur (Budin ve diğerleri, 2013).

Karaciğer, biyotransformasyondaki rolü ve ksenobiyotiklerin boşaltımıyla ilişkili olarak toksik etkilerde bilinen bir hedef organdır. Alım gerçekleşikten sonra, portal kan dolaşımı vasıtasıyla ilk maruziyet yaşayan organ karaciğerdir (Roganovic-Zafirova ve Jordanova, 1998). Hepatotoksisite karaciğer, safra kanalı ve safra kesesine toksiktir. Karaciğer geniş kan akışı ve metabolizmadaki rolü sebebiyle özellikle ksenobiyotiklere karşı duyarlıdır.

FNT maruziyeti yaşayan ratlerin karaciğerlerindeki hispatolojik değişiklikler kayda alınmıştır (Al-Jahdali ve diğerleri, 2007). Ratler günlük olarak sırayla 80 ve 100 mg/kg vücut ağırlığı fenitrotyonla enjekte edildi. Sumithion tarafından tetiklenen karaciğer fonksiyonlarında kayda değer bir hasar gözlemlendi. Ayrıca işlem görmüş hayvanların karaciğerinde kan birikmesi, yağ dejenerasyonu, hepatosit şişmesi ve nekrozu da içeren

histolojik değişimler gözlemlendi. Karaciğer sendrom yoğunluğu doz ve süre artışıyla yakinen ilişkilidir (Al-Jahdali ve diğerleri, 2007).

Böbrekler metabolik artığın eliminasyonunda ve vücut sıvılarının yapı ve miktar kontrolünden sorumludurlar. Ayrıca arteriyel kan basıncının düzenlenmesinde ve kırmızı kan hücre üretimi, kalsiyum dengesi ve karbohidrat metabolizmasını etkileyen maddelerin çözünmesi/indirgenmesi, değişmesi ya da üretiminde önemlidirler.

Böbrek zehirli maddelere karşı iki nedenden dolayı yüksek hassasiyet gösterir; içinde boylu boyunca yüksek hacimli kan akışı yaşanır ve böbrek tübülerinde yoğunlaşabilecek büyük oranlardaki toksinleri filtreler. Nefrotoksisite böbreklere toksiktir. Sistemik toksisiteyle sonuçlanıp vücut artıklarının boşaltım kabiliyetinde azalmaya, vücut sıvısı ve elektrolit dengesini sürdürmede yetersizliğe ve ana/esas hormonların sentezinde azalmaya neden olabilir.

Mevcut çalışmalar gösteriyor ki farklı dozlarda FNT, rat böbreklerinde histopatolojik değişimleri indüklüyor. 25 mg/kg'lık dozda tübüler epitelinde hafif değişiklikler, az oranda tıkanıklık ve kanama gözleniyor. 50 mg/kg'lık dozda renal tübül hücrelerinde hafif parenkimatoz dejenerasyonu, hafif tıkanıklık ve yine hafif kanama gözleniyor. En yüksek doz olan 100 mg/kg'da tübüler epitelinde hidropik dejenerasyon gibi renal tübül hücrelerinde daha çok dejenerasyon ve tübüler genişleme, hafif tıkanıklık ve böbreğin kortikal ve medüller kısmında kanama gözleniyor (Afshar ve diğerleri, 2008).

Gallik asit (GA) bileşiği, düşük molekül ağırlıklı, polifenolik bir bileşiktir ve potansiyel pek çok faydalı etkileriyle bilinmektedir (Lu, Nie, Belton, Tang ve Zhao, 2006). 3,4,5 trihidroksibenzoik asit yapısındadır ve çeşitli polimorfik modifikasyonlarda yer aldıkları bilinen –COOH ve –OH parçalarını içeren multifonksiyonel bir organik moleküldür. Hidrojen bağı alan ve veren kısımların varlığına bağlı olarak GA kokristal formasyonu için mükemmel bir adaydır. Bu molekül antioksidan, antibakteriyel (Chanwitheesuk, Teerawutgulrag, Kilburn ve Rakariyatham, 2007), antitümör (Liu, Huang, Wu, Lin, Chueh, Yang, Lu, Chiang, Meng ve Chung, 2011), antiviral (Ozcelik, Kartal ve Orhan, 2011) gibi çeşitli farmakolojik aktivitelere sahiptir. Bunların yanında GA, yüksek dozlarda dahi herhangi bir toksisiteye ve yan etkiye sahip değildir. Bütün bu sebeplerden dolayı GA, farmakolojik araştırmalarda büyük dikkat çekmiştir (Badhani, Sharma ve Kakkar, 2015)

Diğer yandan düşük ısı stabilitesi, partikülün büyüklüğü ve absorpsiyon sırasındaki yetersiz çözünürlük GA'nın farmakolojik aktivitelerinin önemli ölçüde azaltılmasının sebeplerinden bazılarıdır. Bu materyallerin tedavi edici etkileri çözünürlükleriyle çok büyük ölçüde genişlemektedir çünkü düşük çözünürlük aynı zamanda düşük biyoyararlanıma sebep olmaktadır (Daneshfar, Ghaziaskar, Homayoun ve Chem, 2008). Önceki çalışmalar gösteriyor ki GA'nın çözülme ve bozulma oranı çeşitli kokristal yapıcılarının yardımıyla GA-temelli kokristallerin inşasıyla oldukça artış gösterebiliyor (Surov, Churakov, Proshin, Dai, Lu ve Perlovich, 2018).

Gallik asit ya da 3,4,5-trihidroksibenzoik asit bitkiler aleminde en çok bulunan fenolik asitlerden biridir. Renksiz ya da çok açık sarı rengindedir, kristal yapıdadır ve besin ile farmasötik alanda geniş kullanım alanına sahiptir. Molekül ağırlığı 170.12 g/mol, erime noktası 250°C ve suda çözünürlüğü 20°C'de %1.1'dir (Verma, Singh ve Mishra, 2013). Fenilalanin'den kafeik asit veya trihidroksisinnamik asit yoluyla sentezlenebilir. Gallik asidin ayrıca metal iyonlarının varlığında konsantrasyona bağlı bir şekilde prooksidan özelliğine sahip olduğu rapor edilmiştir. Gallik asidin ayrıca metal iyonlarının varlığında konsantrasyona bağlı olarak prooksidan özelliği gösterdiği rapor edilmiştir. Gallik asidin prooksidan özelliği, kanser hücre dizilerinde apoptoz indükleyici olarak kabul edilmektedir. Ayrıca bazı tümör hücre hatlarında apoptozu indüklediği ve in vivo malign transformasyonu ve kanser gelişimini önlemede önemli bir rol oynadığı bulunmuştur (Urizzi, Monje ve Souchard, 1999).

Gallik asit *Quercus* spp. ve *Punica* spp. gibi farklı bitki türlerinden çeşitli kromatografik yöntemler vasıtasıyla izole edilmektedir. Bununla birlikte, endüstri çerçevesinden bakılırsa gallik asit, glikoprotein esteraz diğer bir adıyla tanaz kullanılarak tanen asidinin hidrolitik yıkımıyla üretilmektedir (Fernandes ve Salgado, 2016).

Geniş uygulama alanları sayesinde, tıp ve kimya araştırmalarında yaygın olarak ve bunlara ilaveten ilaç, kozmetik ve gıda endüstrileri gibi diğer endüstrilerde de kullanılmaktadır (Brewer, 2011). Gallik asit, polifenolik fonksiyonelliğin varlığı sebebiyle yüksek oksijen kaynaklı serbest radikal süpürme aktivitesine sahiptir (Locatelli, Filippin-Monteiro ve Creczynski-Pasa, 2013). Ayrıca Folin-Ciocalteu testi ile fenolik içeriğin belirlenmesinde standart olarak kullanılır, bunun yanı sıra boyalarda, fotoğrafta ve matbaa mürekkeplerinde de kullanılır (Saeed, Khan ve Shabbir, 2012). Antioksidan özelliğinden dolayı katı ve sıvı

yağların ekşimesini ve bozulmasını önleyerek unlu mamuller, şekerlemeler ve sakızlar gibi çeşitli yenilebilir malzemelerde gıda katkı maddesi olarak kullanılmasını kolaylaştırır (Singleton, 1981). Hücreleri UV-B veya iyonlaştırıcı ışıklardan korur ve bu sebeple kozmetikte kullanılabilir (Sawa, Nakao, Akaike, Ono ve Maeda, 1999). B16F10 melanosit hücreleri üzerinde yapılan bir araştırma, gallik asidin, pigmentasyonun üstesinden gelmek için kozmetikte bir katkı maddesi haline getirebilecek melanogenezi inhibe ettiğini gösterdi (Su, Lin ve Tsai, 2013).

Gallik asidin *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Klebsiella pneumonia* gibi çok çeşitli patojenlere karşı antibakteriyel özellik gösterdiği bildirilmiştir (Vaquero, Alberto ve de Nadra MC, 2007). Bunlara ek olarak oksidatif hasara karşı insan hücrelerini korumada, albüminüri ve diyabet tedavisinde antioksidan olarak; iç kanama durumlarında da dolaylı kan durdurucu olarak kullanılabilir (Abbasi, Daneshfar, Hamdghadareh ve Farmany, 2011). Normal hücrelere zarar vermeden kanser hücrelerine karşı sitotoksik etki gösterdiği ortaya konmuştur (Beniwal, Kumar, Goel ve Chhokar, 2013). Gallik asit tedavisinin alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı olan bir farenin metabolizmasını normale döndürdüğüne dair bulgular mevcuttur (Chao, Huo ve Cheng, 2014). Obezitenin antioksidan enzimlerinin seviyesini düşürerek antioksidan seviyesini azalttığı bilinmektedir. Gallik asidin antiobezite etkilerini araştırmak için yüksek yağlı besinlerle ve gallik asitle beslenen sıçanlarda bir çalışma yapılmıştır.

Oksidatif stres, dislipidemi ve hepatosteatoz gibi komplikasyonların azalmasının yanı sıra kilo alımının azalmasıyla birlikte antioksidan enzimlerin seviyesinin arttığı gözlenmiştir (Hsu ve Yen, 2007). Polifenollerin antioksidan özellikleri, Alzheimer ve Parkinson hastalığı gibi rahatsızlıklara yol açan fibriler protein birikintilerinin inhibisyonunda kullanılmıştır (Porat, Abramowitz ve Gazit, 2006). Gallik asidin, Parkinson hastalığının hayvan modelini 6-hidroksidopamin tarafından indüklenen oksidatif strese bağlı nöral hasara karşı koruduğu bulundu (Mansouri, Farbood, Sameri, Sarkaki, Naghizadeh ve Rafeirad, 2013).

Gallik asit ve laurik galat, propil galat, oktil galat, tetradecyl galat ve heksadecil galat gibi türevleri serbest radikalleri temizleme ve antioksidan özellikleri bulunan yağların oksidasyonunu ve ransiditesini artıracı rol oynayabilir. Bu sebeple katkı maddeleri olarak yiyecek endüstrisinde kullanılabilirler (Choubey, Varughese, Kumar ve Beniwal, 2015).

Gallik asitin ve ester türevlerinin gıda sektöründe tatlandırıcı ve koruyucu olarak kullanımlarının yanında, bu fitokimyasalların antioksidan, antimikrobiyal, anti-inflamatuar, antikanser, kardiyoprotektif, gastroprotektif ve nöroprotektif gibi biyolojik ve farmakolojik etkilerinin de olduğunu vurgulayan pek çok sayıda bilimsel rapor vardır (Choubey, Varughese, Kumar ve Beniwal, 2015).

Gallik asitle ön işlem yapılması miyokardiyal enfarktüsündeki antioksidan potansiyel içeriğinde yer alan zararlı oksidatif sonuçları azaltmaktadır (Priscilla ve Prince, 2009). Bunu hem SOD, CAT, GST ve GPx gibi antioksidan enzimlerinin aktivitelerini arttırarak hem de GSH, vitamin C ve vitamin E gibi enzimatik olmayan antioksidan ajanlarının seviyelerini yükselterek ayrı ayrı ya da birlikte yapmaktadır (Priscilla ve Prince, 2009).

Bütün bu aktiviteler serbest radikallerin, miyositlerin membran bütünlüklerindeki ve işlevlerindeki zararlı etkilerini engellemektedir. Sonuç olarak da kardiyak troponin T and kreatin kinaz-MB'ın da dahil olduğu serum kardiyak biyomarkerlarının konsantrasyonunu enfarktüsden sonra artırmaktadır (Kasper, Hauser, Jameson, Fauci, Longo ve Loscalzo, 2015).

Oksidatif stres reaktif oksijen türlerinin oluşumunun artış göstermesi ve/veya vücudun kendi antioksidan savunma sistemlerinin azalmasıyla oluşan denge kaybıdır (Peluso, Morabito, Urban, Ioannone ve Serafini, 2012). Reaktif oksijen türleri, inflammatuar cevaplarda, apoptoziste, hücre büyümesinde ve vasküler tonusun değişikliğinde büyük rol oynamaktadır (Zhang ve Gutterman, 2007). Damar duvarlarında reaktif oksijen türlerinin yapımı, hipertansiyon, diyabet, sigara ve dislipidemi gibi aterosklerotik kalp hastalıkları için risk faktörü olarak düşünülen bütün etkenlerde artış göstermektedir (Förstermann, Xia ve Li, 2017).

Kullanımda olan pek çok farmakolojik ajan, oksidatif stresi module edip aterojeneze sebep olabilmektedir. Reaktif oksijen türlerini düzenleyen sistemleri azaltıp antioksidan mekanizmaları artırmaktadırlar (Li, Horke ve Förstermann, 2013). Hücresel düzeydeki antioksidanların konsantrasyonunun belirgin bir etki oluşturmak için yeterli olmadığı ya da hastalık sırasında antioksidan terapisinin çok geç başladığı düşünülmektedir.

Kalp, çoğunlukla kas dokusundan oluşan, bir ritme bağlı olarak kasılıp gevşeyen dört odacıklı kese şeklinde bir organdır. Üstte bulunan iki odacığa atrium, altta bulunan diğer iki odacığa da ventrikül denir. Vücuttan gelen venöz kan sağ atriumda toplanır. Sağ atriumdan sağ ventriküle geçen bu kan temizlenmek amacıyla sağ ventrikülden de akciğerlere gönderilir. Akciğerlerden gelen arteriyal kan sol atriumda toplanır. Buradan sol ventriküle geçen kan son olarak bütün vücuda yayılım gösterir. (Murathanoğlu, 1996).

Kalp duvarı ana olarak üç tabakadan oluşur. İçten dışarıya doğru bunlar; endokardiyum, miyokardiyum ve epikardiyum olarak sıralanabilir. Endokardiyum tabakasının en içini endotel oluşturur. Endotel hücreleri birbirlerine sıkı şekilde bağlıdır ve apikal plazma zarlarında kısa boyutlarda mikrovilluslar bulunmaktadır. Serbest yüzeylerini örten ince tabaka glikoprotein yapıdadır. Bazal lamina incedir. Endotelin alt kısmında gevşek bağ dokusundan oluşan bir tabaka bulunur ve bu tabaka kollajen fibriller içerir. En altta bulunan bu tabakaya subendotel tabaka denir. Bu tabakanın ardından subendokardiyum gelir. Endokardiyumu miyokardiyuma bağlayan bu tabakadır ve kan damarları, elastic fibriller, kollajen, iletim sistemine ait özel kas fibrilleri burada yer alır (Murathanoğlu, 1996).

Kalbi ara tabakasını miyokardiyum oluşturur ve yapısı kalp dokusunun bir çeşidi olan kalp kasındandır. Miyokardiyum, atriumlarda ince ve ventriküllerde daha kalın yapı gösterir ancak en kalın yapıda olduğu yer sol ventrikül duvarıdır. Miyokardiyumda bulunan kas hücreleri üç boyutlu düzendedir. Bu sebeptendir ki histoloji preparatlarında küçük bir bölgede dahi her yöndeki kas kesitlerine tanıklık edilebilir. Kasılan ve uyarı üreten hücreler olarak kalp kası hücreleri ikiye ayrılır (Murathanoğlu, 1996).

Epikardiyum, kalbi sarmalayan seröz örtüdür ve perikardiyumun visceral tabakası epikardiyumdan oluşur. Bu tabakanın dış tarafı tek tabakalı yassı epitelden oluşur ve ince bağ dokusu sırası üzerine konumlanmış mezotel ihtiva eder. Bu bağ dokusu tabakasıyla viseral perikardiyumun arasında kan damarları, sinir gangliyonları, sinirler ve ünilocüler yağ dokusu bulunduran, gevşek bağ dokusundan yapılmış bir tabaka ile doldurulmuştur. Bu tabaka subepikardiyum diye adlandırılmaktadır (Murathanoğlu, 1996).

Kasılmalarıyla kanı dolaşım sisteminine pompalayan kalp, kaslardan oluşan bir organdır. Kalp kası hücrelerinde çok fazla sayıda mitokondri bulunmaktadır. Sitoplazmanın hacminin

%40'ından fazlası mitokondriden oluşur. Buradan kalp kasının daimi şekilde oksidatif metabolizmaya ihtiyaç duyduğu anlaşılmaktadır (Junqueira ve Carneiro, 2003).

Kalender ve ark., yaptıkları bir çalışmada 6 hafta süresince ratlara bir pestisit çeşidi olan endosulfanı gavaj yoluyla vermişlerdir ve daha sonra control grubundaki ratlarla karşılaştırma yaptıklarında endosulfan muameleli gruptaki ratların kalp dokularında MDA, GPx, GST ve SOD seviyelerinin arttığını gözlemlemişlerdir. Daha sonrasında yapılan elektron mikroskobu incelemelerinde miyokardiyal hücrelerde sitoplazmik ödem, mitokondrilerde vakuolizasyon ve şişme görüldüğü ifade edilmiştir. Endosulfan ile birlikte vitamin E verildiğinde GPx ve SOD'un aktivite olarak, MDA'nın da seviye olarak azaldığı izlenmiştir ancak CAT aktivitesinde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Bununla birlikte miyokardiyal hücrelerin mitokondrilerinde şişme daha az gözlenmiştir (Kalender ve diğerleri, 2004).

Kalender ve ark., idarubisin verilen ratların kalp dokularında elektron mikroskobu ile inceleme yaptıklarında miyositlerin sarkoplazmik retikulumlarında dilatasyona, mitokondrilerde vakuolizasyon ve şişme oluştuğunu gözlemliyorlar. Muameleli gruptaki ratlara E vitamini verildiğinde kalp dokularında sadece sarkoplazmik retikulumdaki dilatasyon oranının düştüğüne tanıklık ediyorlar (Kalender ve diğerleri, 2002).

Bir organofosfatlı insektisit olan diazinonun kalp dokusuna etkileri araştırılmış ve kalp ağırlığında azalma ve bunun yanında MDA seviyesinde artış görülmüştür. Dokular elektron mikroskobu altında incelendiğinde mitokondrilerde şişme, miyokardiyal hücrelerde vakuolizasyon gözlenmiştir. Diazino muameleli gruplara E vitamini verildiğinde kalp dokusunda sadece birkaç mitokondride şişme gözlenmiştir (Ogutcu ve diğerleri, 2006).

Bu tez çalışmasında, organofosfatlı bir insektisit olan fenitrotiyonun erkek ratların kalp dokusu üzerindeki toksik etkisi ve antioksidan özelliklere sahip gallik asidin koruyucu rolü antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, CAT, GPx, GST) ve lipid peroksidasyonun önemli bir belirleyicisi olan MDA seviyesindeki değişiklikler ile kalp histopatolojik değişiklikleri açısından incelenmiştir.

2. MATERYAL METOT

2.1. Deney Hayvanları

Tez kapsamında deney hayvanlarına uygulama aşaması için Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (G.Ü. ET-19.025). Çalışmamızda kullandığımız hayvanlar yaklaşık 250-300 g ağırlığında 24 adet erkek Wistar rat şeklindedir ve bu ratlar Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden (GÜDAM) temin edilmiştir. Her kafeste altı rat bulunacak şekilde, özel kafeslerde standart laboratuvar diyeti ile beslenmiş ve sınırsız su tükemi uygulanmıştır. Ratlar GÜDAM'da standart oda sıcaklığında, 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık fotoperiyot ve %40 nem bulunan ortamlarda muhafaza edilmiştir. Çalışmada yapılan tüm hayvanlara uygulama aşaması 28 gün boyunca Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde, yapılan spektrofotometrik ve histopatolojik analizler ve mikroskopik incelemeler ise Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi/Biyoloji Bölümü Mikroteknik laboratuvarında tamamlanmıştır.

2.2. Kimyasal Maddeler

Bu çalışmada deney hayvanlarına uygulanan fenitrotyon ve gallik asit sigma-aldrich marka kullanılmıştır.

2.3. Hayvanlara Uygulama Planı

Bu araştırmada deney hayvan grupları ve bu gruplara uygulanan maddeler Çizelge 2.1.'de gösterilmiştir (Çizelge 2.1). Deney hayvanlarına gavaj uygulamaları sabah saatlerinde 09.00–11.00 arası gerçekleştirilmiştir. Uygulamalar 28 gün (dört hafta) boyunca her gün gerçekleştirilmiştir. Araştırmada kullanılan kimyasal maddeler ratlara günde bir defa oral gavaj yolu ile verilmiştir.

Çizelge 2.1. Çalışmada yer alan gruplar ve bu uygulanan kimyasal dozları

Grup numarası	Grup	Rat adeti	Kimyasal dozu	Uygulama süresi
1	Kontrol	6	-	28 gün (4 hafta)
2	Fenitrotyon	6	32 mg/kg v.a	
3	Gallik asit	6	50 mg/kg v.a	
4	Fenitrotyon+Gallik asit	6	32 mg/kg v.a.+50 mg/kg v.a	

2.3.1. Kontrol grubu

Kontrol grubunda bulunan ratlara 1 ml/kg vücut ağırlığı (v.a.) distile suya gavaj yoluyla verilmiştir.

2.3.2. Fenitrotyon grubu

Ratlara her gün 32 mg/kg v.a. dozunda (1/25 LD₅₀) fenitrotyon distile su (1 ml/kg v.a.) içerisinde çözüldükten sonra gavaj aracılığı ile deney hayvanlarına uygulanmıştır.

2.3.3. Gallik asit grubu

Ratlara her gün 50 mg/kg v.a. gallik asit distile su (1 ml/kg v.a.) içerisinde çözüldükten sonra gavaj aracılığı ile deney hayvanlarına uygulanmıştır.

2.3.4. Fenitrotyon + gallik asit grubu

Ratlara hergün fenitrotyon (32 mg/kg v.a.) ve gallik asit (50 mg/kg v.a) distile su (1 ml/kg v.a.) içerisinde çözüldükten sonra gavaj aracılığı ile deney hayvanlarına uygulanmıştır.

2.4. Dokuların Elde Edilmesi

28 günün sonunda bütün gruplarda bulunan ratlar, ketamin ve ksilazin (45 mg/kg /5 mg/kg) maddeleri aracılığıyla intramuskular (i.m.) yoldan anestezi edildikten sonra disekte edilmiştir. Disekte edilen ratlardan çıkarılan kalp dokusu ışık mikroskopunda incelemek

üzere önce tamponda yıkanmış, sonrasında nötral formalin fiksatifine konulmuştur. Malondialdehit (MDA) düzeyinin ve antioksidan enzimleri olan katalaz (CAT), glutation S-transferaz (GST), süperoksit dismutaz (SOD), glutation peroksidaz (GPx) aktivitelerinin gözlemlenmesi için kalp dokusundan örnekler alınmıştır. Alınan bu örnekler, -80°C 'de muhafaza edilmiştir.

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

2.5. Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Ölçülmesi

Kalp dokularındaki MDA düzeyleri, Ohkawa, Ohishi ve Yagi (1979) tarafından belirlenen metot kullanılarak ölçülmüştür. Bu metoda göre tiyobarbitürik asit ile lipid peroksidasyonunun tepkimeye girmesi sonucu oluşan MDA düzeyleri ölçülmüştür. Spektrofotometrede 532 nm 'de absorbans ölçümü yapılmış ve sonuçlar nmol/mg protein olarak ifade edilmiştir.

2.6. Antioksidan Enzim Miktarlarının Tayini

2.6.1. Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesinin ölçülmesi

Total SOD aktivitesinin belirlenmesinde Marklund S. ve Marklund, G. (1974) geliştirdiği metot kullanılmıştır. Spektrofotometrede pyrogallol'un 440 nm 'de 3 dakika boyunca alkali ortamda ile artan absorbans ölçülmüş ve pyrogallol'un otooksidasyonunun neticesinde bir ünite toplam SOD aktivitesi olarak hesaplanmıştır. Homojenattaki 1mg protein başına toplam SOD aktivitesi U/mg protein olarak ifade edilmiştir.

2.6.2. Katalaz (CAT) enzim aktivitesinin ölçülmesi

CAT enzim aktivitesi Aebi (1984) nin metoda metoda göre ölçülmüştür. %1'lik Triton X-100 ilave edilerek peroksizomlardaki katalaz açığa çıkartılmıştır. Enzimatik reaksiyonun başlatılması için hidrojen peroksit kullanılmış ve 1 dakika boyunca 240 nm'de H_2O_2 'in yıkımını gösteren azalan bir absorbans ölçülmüştür. Sonuçlar mmol/mg protein olarak ifade edilmiştir.

2.6.3. Glutasyon peroksidaz (GPx) enzim aktivitesinin ölçülmesi

GPx aktivitesinin çalışılırken Paglia ve Valentine (1987) araştırmacılarının tanımladığı metot kullanılmıştır. Nikotinamid-adenin-dinükleotid hidrojen fosfat'ı (NADPH) ve okside glutasyon (GSSG) substrat olarak kullanılarak glutasyon redüktaz enzimi 340 nm dalga boyunda NADPH'ı okside ederek oluşan absorbansın ölçülmesi temeline dayanmaktadır. Enziminin spesifik aktivitesi nmol/mg protein olarak ifade edilmiştir.

2.6.4. Glutasyon S transferaz (GST) enzim aktivitesinin ölçülmesi

GST enzim tayininde Habig, Pabst ve Jakoby (1974) araştırmacıları tarafından geliştirilen metot kullanılmıştır. GST enzimi çalışılırken için 1-chloro-2,4-dinitrobenzen kimyasalı substrat aracı olarak kullanılmaktadır. GST enzimi tayini 340 nm'de enzim aktivitesi tayini yapılmıştır. Hesaplamalar yapıldıktan sonra spesifik enzim aktivitesi nmol/mg protein olarak ifade edilmiştir.

2.7. Işık Mikroskobu İncelemeleri

Kalp dokusunun histopatoloji değerlendirmeleri için ratların diseke edilmesinin ardından alınan testis dokuları %10'luk nötral formalinde tespit edilmiştir. Daha sonra dokular yükselen alkol serilerinde dehidre edilerek parafin blok haline getirilmiştir. Parafin bloklardan 5-7 mikron (μ) kalınlığında Mikrotom aracılığıyla histolojik kesitler alınarak hemotoksilen-eozin ile boyanmış entellan ile kapatılmıştır. Boyalı kesitler Olympus BX-51 ışık mikroskobu ile incelenerek Olympus-E-330 kamera ile fotoğrafları çekilmiştir.

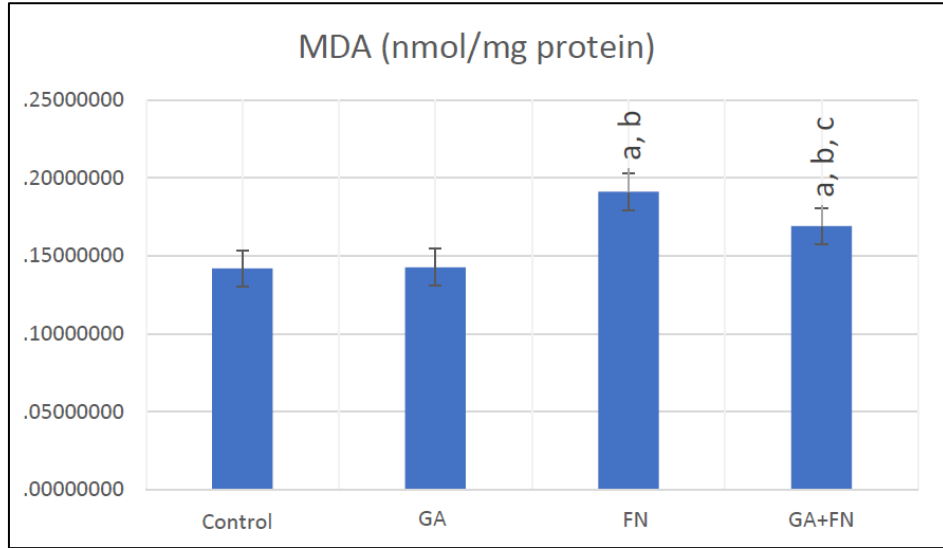
2.8. Verilerin Değerlendirilmesi

Bu çalışmadaki gruplar, IBM SPSS Statistics 23 programıyla karşılaştırılmıştır. Tukey ve Anova testiyle yapılan değerlendirmelerde alınan ortalama, $\pm$ standart sapma şeklinde ($P < 0.05$) olarak verilmiştir.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1. Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Sonuçları

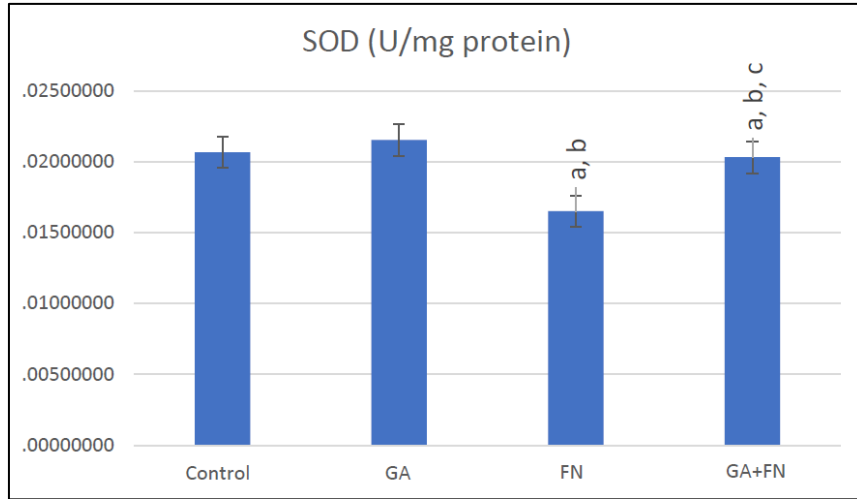
Kontrol grubu ve gallik asit muameleli gruplar arasındaki MDA parametrelerin analizlerinde anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Fenitrotiyon muameleli ratların kalp dokularındaki MDA seviyesi kontrol grubuna kıyasla daha yüksektir. Bununla birlikte, fenitrotiyon + gallik asit muameleli ratların kalp dokularındaki MDA seviyesi, fenitrotiyon uygulanan ratlara göre azalma göstermiştir ($P<0.05$) (Şekil 3.1).



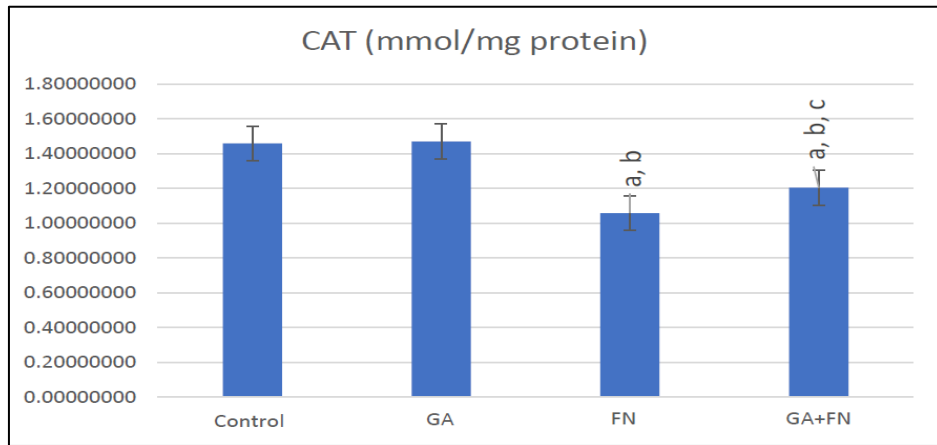
Şekil 3.1. Kontrol ve diğer uygulama gruplarının kalp dokularındaki MDA seviyeleri. Gruplar arasında anlamlı farklılığı sütunlar üzerindeki harfler ifade etmektedir

3.2. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Sonuçları

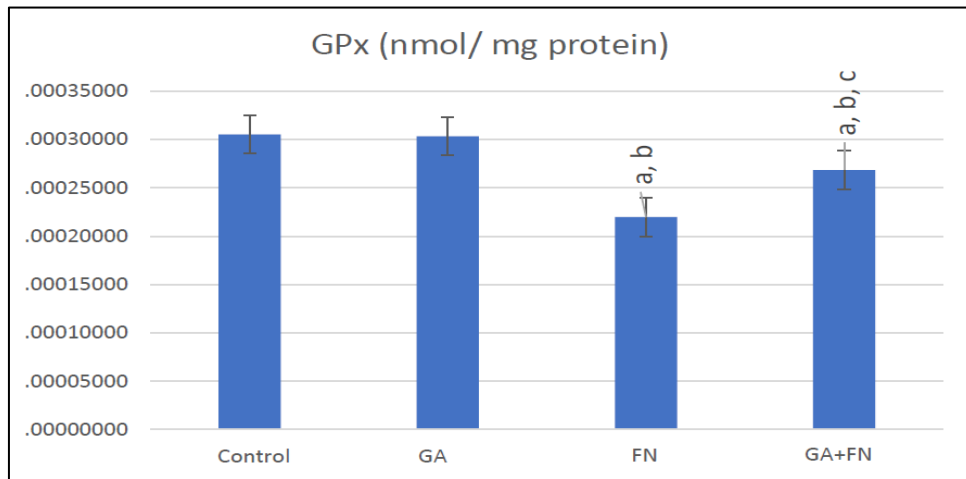
Gallik asit muameleli grupla kontrol grubu arasındaki antioksidan enzim aktiviteleri karşılaştırıldığında anlamlı belirgin bir farklılık gözlenmemiştir. Fenitrotiyon uygulanan gruptaki ratların kalp dokularında SOD, GPx, CAT ve GST enzim aktiviteleri kontrol gruptaki ratlara kıyasla anlamlı bir azalma göstermiştir. Antioksidan enzim aktiviteleri fenitrotiyon + gallik asit muameleli gruplara kıyasla artış göstermiştir ($P<0.05$) (Şekil 3.2-3.5).



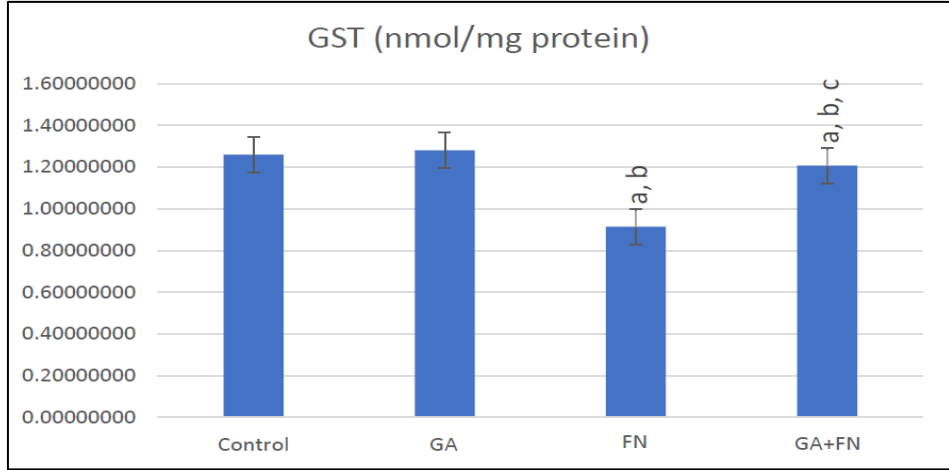
Şekil 3.2. Kontrol diğer uygulama gruplarının kalp dokularındaki SOD seviyeleri. Gruplar arasında anlamlı farklılığı sütunlar üzerindeki harfler ifade etmektedir



Şekil 3.3. Kontrol diğer uygulama gruplarının kalp dokularındaki CAT seviyeleri. Gruplar arasında anlamlı farklılığı sütunlar üzerindeki harfler ifade etmektedir



Şekil 3.4. Kontrol diğer uygulama gruplarının kalp dokularındaki GPx seviyeleri. Gruplar arasında anlamlı farklılığı sütunlar üzerindeki harfler ifade etmektedir



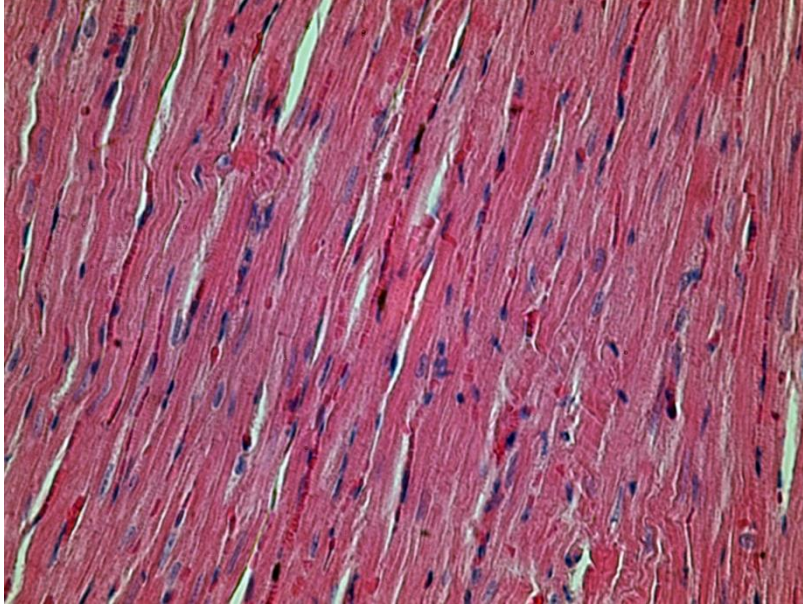
Şekil 3.5. Kontrol diğer uygulama gruplarının kalp dokularındaki GST seviyeleri. Gruplar arasında anlamlı farklılığı sütunlar üzerindeki harfler ifade etmektedir.

3.3. Işık Mikroskobu Bulgularının Değerlendirilmesi

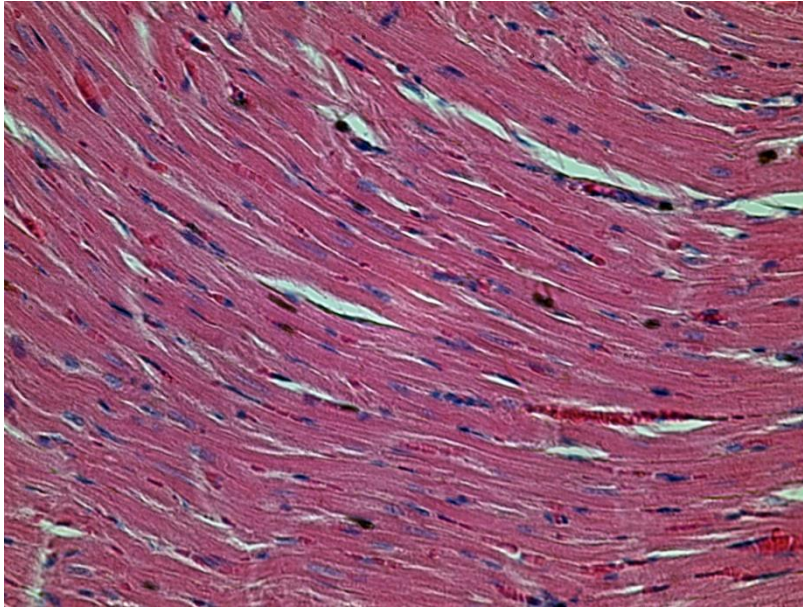
Işık mikroskobu altında incelemeler yapıldığında kontrol grubundaki ratların kalp dokularının histolojik kesitlerinde miyositler ve bağ doku normal şekilde görülmektedir (Resim 3.1). Yine gallik asit muameleli gruptaki (Resim 3.2) ratların kalp dokularındaki histolojik gözlemler kontrol grubundakilerle benzerlik göstermektedir.

Fenitrotyon uygunlandıktan 4 hafta sonra ratların kalplerinde kalp kası fibrillerinde nekrotik değişimler, miyositlerde dejenerasyon, bağ dokuda ödem, miyositlerde hiyalin dejenerasyonu (Resim 3.3 ve 3.4) tespit edilmiştir.

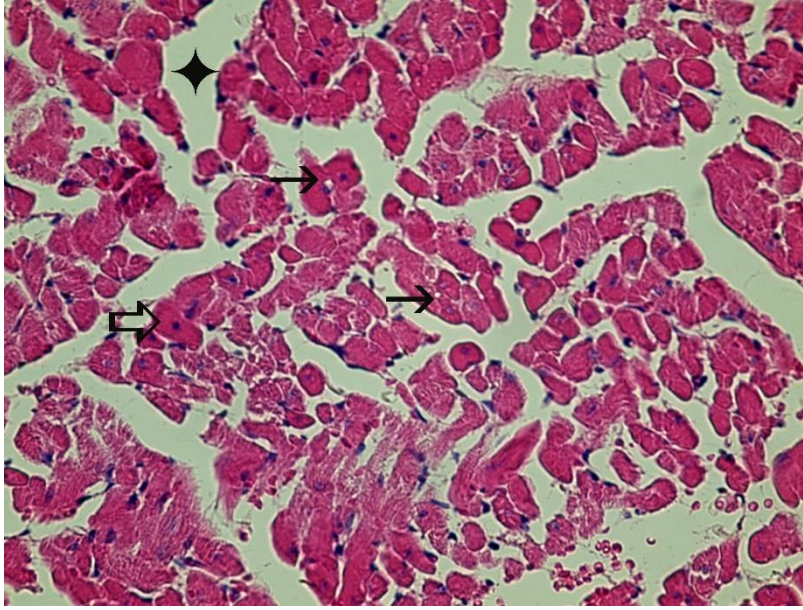
Ratlara fenitrotyon ve gallik asitin birlikte ile muamelesinden sonra kalp kası fibrillerinde disorganizasyon, interfibriler hemoraji, miyositlerde dejenerasyon, (Resim 3.5 ve 3.6) gözlenmiştir.



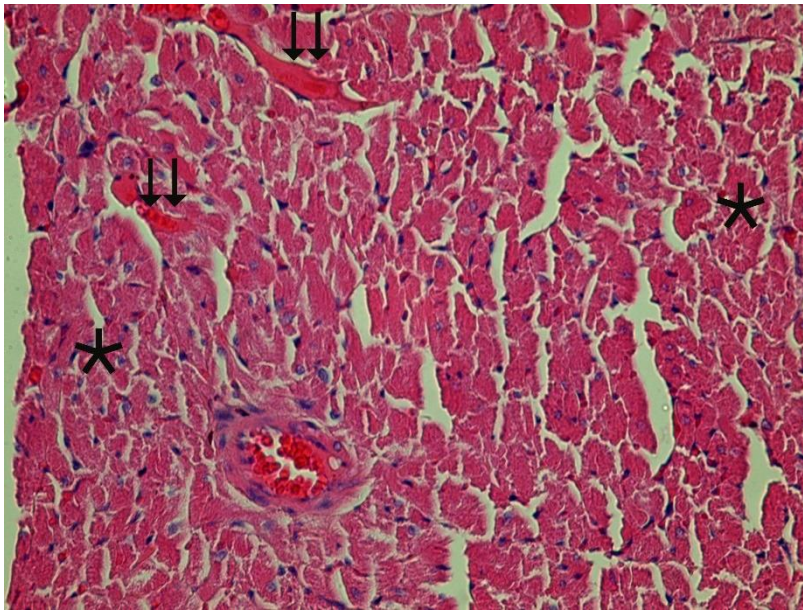
Resim 3.1. Kontrol grubu ratların kalp dokusunun histolojik yapısı, H&E, X400



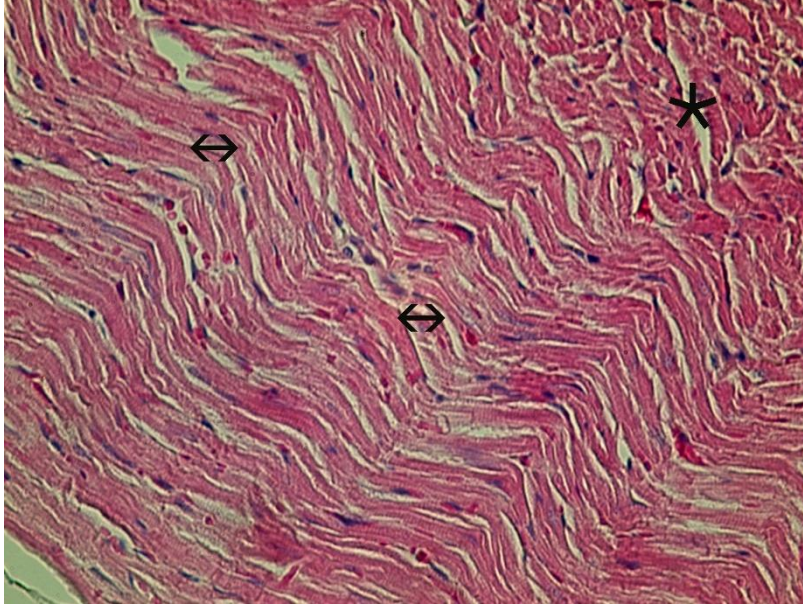
Resim 3.2. Gallik asit grubu ratların kalp dokusunun histolojik yapısı, H&E, X400



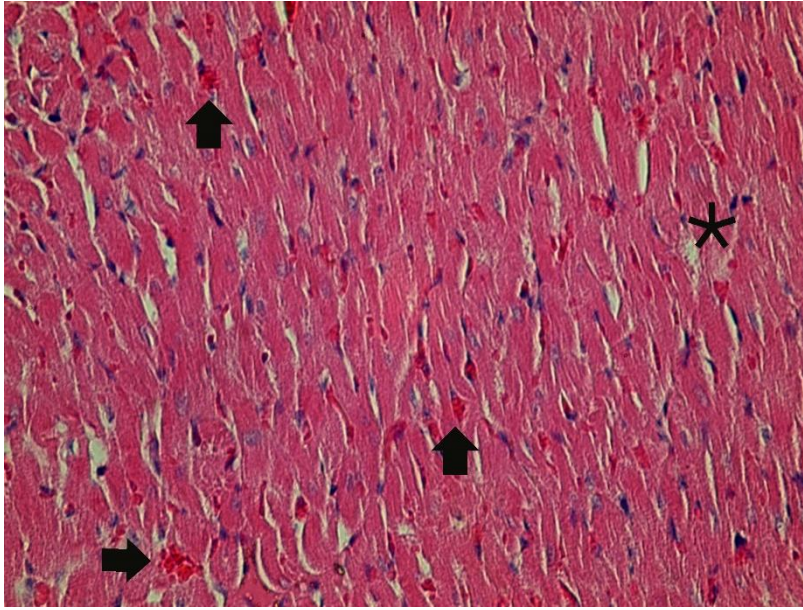
Resim 3.3. Fenitrotiyon uygulamasından 4 hafta sonra ratların kalp dokusunda nekrotik değişimler (⇨), miyositlerde vakuolizasyon (→), bağ dokuda ödem (◆), H&E, X400.



Resim 3.4. Fenitrotiyon uygulamasından 4 hafta sonra ratların kalp dokusunda miyositlerde dejenerasyon (★), miyositlerde hiyalin dejenerasyonu (⇨), H&E, X400.



Resim 3.5. Fenitrotiyon+Gallik asit uygulamasından 4 hafta sonra ratların kalp dokusunda miyositlerde dejenerasyon (*), miyositlerde disorganizasyon (↔) H&E, X400.



Resim 3.6. Fenitrotiyon+Gallik asit uygulamasından 4 hafta sonra ratların kalp dokusunda miyositlerde dejenerasyon (*), interfibriler hemoraji (↑), H&E, X400.

4. TARTIŞMALAR VE ÖNERİLER

Modern tarımla birlikte pestisitlerin dünyada kullanımı fazlasıyla artış göstermektedir. Pestisitlerin birçoğu çevreye zararlı, zehirli ve tehlikeli olarak adlandırılmakta ve kirletici maddeler olarak görülmektedirler (Karpuzcu ve diğerleri, 2013). Bunların sebepleri arasında uzun sürede çevrede aktif kalarak birikim göstermeleri ve bunun neticesinde hedef olmayan türlere de sağlık ve ekosistem olarak önemli ölçüde tehlikeye sebebiyet vermeleridir.

Kimyasal insektisitlerin bilinçsizce kullanılması ekolojik dengedeki bozulmaya sebebiyet vermektedir. Bu insektisitler hedef olmayan organizmalar için de büyük bir tehdit oluşturmaktadır. Önceki çalışmalarda pestisitlerin memeli dokularında patolojik değişikliklere neden olduğu gözlenmiştir (Kalender ve diğerleri, 2006).

Tarımsal alanda dünya genelinde geniş alanlarda kullanımı olan organofosfatlı pestisitler (OP) Türkiye’de yaygın olarak kullanılmaktadır (Singh, 2009; Delen ve diğerleri, 2005). Bu senede 30.000 tona kadar varmaktadır. 30.000 tonun %47’si böcek ilaçlarını içermektedir (Tiryaki, Canhilal ve Horuz, 2010). Kullanılan pestisitlerin çoğunluğu organofosfatlı bileşiklerdir. Ancak memelilerde sebebiyet verdikleri yüksek akut toksisite nedeniyle kullanımları diğer bir yandan da tartışılmaktadır (Karpouzas ve Singh, 2006). Türkiye’de pestisitten kaynaklanan zehirlenmelerin yüzden 21 iken, bu Amerika’da %33’tür. Bu pestisit zehirlenmelerinin ana unsuru organofosfatlı bileşiklerdir (Demirdöğen, 2010). Bütün bu bilgilerin ışığında organofosfatlı bileşiklerin çevreye yayılım göstermesi önlenmeli ve kontrol altına alınmalıdır.

Fenitrotyonun erkek ratlara oral LD₅₀ dozu 800mg/kg vücut ağırlığı olarak bildirilmiştir (Afshar ve diğerleri, 2008). Bu amaçla bu çalışmada subakut olarak (28 gün boyunca her gün) fenitrotyon 1/25 LD₅₀ dozu şeklinde ratlara oral gavaj yoluyla verilmiş ve hiçbir deney hayvanında ölüm gözlenmemiştir.

Pestisitlerin lipit peroksidasyonun son ürünü olan MDA seviyesinde ve serbest oksijen radikallerinde artışa, antioksidan seviyelerinde azalışa neden olduğu ve sonuç olarak da oksidatif stres oluşturduğu belirtilmektedir (Banerjee ve diğerleri, 1999). Aşırı oksitlenmiş doğmamış yağ asitlerinin major bir oksidasyon ürünü olan MDA, lipit peroksidasyonun

derecesine karar vermekte ve oksidatif stresin biyolojik markerı olarak kullanılmaktadır (Rael ve diğeri, 2004; Del Rio ve diğeri, 2005). Fenitrotyon muameleli ratlarda lipit peroksidasyonun artış gösterdiği gözlenmiştir (Alam ve diğeri, 2019; Elhalwagy ve diğeri, 2008). Başka bir çalışmada da fenitrotyon muameleli ratların beyin dokularında lipit peroksidasyonda artış olduğu kanıtlanmıştır (El-Demerdash, 2011).

Bu çalışmada, fenitrotyon muameleli kalp dokularındaki MDA seviyelerinde artış gözlenmiştir. MDA seviyesindeki artış hücredeki zarsı yapıların zarar gördüğünün bir belirtisi olarak değerlendirilmektedir.

Hücrel antioksidan sistem, entegre antioksidanlardan ve oksidatif hasara karşı farklı serbest radikal temizleyici antioksidan enzimlerden oluşur. Oksidatif hasara karşı savunma hattının ön sırasını antioksidan enzimler arasında SOD, GPx, CAT ve GST oluşturur. Antioksidan sisteminin inhibisyonu hidrojen peroksidin birikimine ya da bozunum ürünlerine sebep olabilmektedir (Halli-well, 1994).

SOD, $O_2^{\cdot-}$ yi H_2O_2 and H_2O 'ye dönüştürmektedir (Fridovich, 1972). Organofosfat pestisitlerin in vivo ve in vitro ortamlarda GPx aktivitesinde azalmaya sebep olduğu bilinmektedir (Altuntas ve diğeri, 2003; Verma ve Srivastava, 2003).

SOD ve CAT süperoksit anyon radikallerini elimine etmeye ve hidrojen peroksit konsantrasyonunu düşürmeye karşı en etkili antioksidan enzim savunma mekanizmasına sahiptir (Patlevic ve diğeri, 2016). Pestisit toksisitesini azaltan antioksidanlar üzerine pek çok çalışma bulunmaktadır (Kalender ve diğeri, 2004; Apaydın ve diğeri, 2017; Adıguzel ve Kalender, 2020).

Peroksizomların içine yerleşen CAT, hidrojen peroksidi suya ve moleküle dönüştüren bir enzimdir (Valko ve diğeri, 2006). CAT bunun yanında vücuda in vitro olarak emilen elemental civayı okside ederek Hg^{+2} 'ye dönüştürmektedir (Aydın ve diğeri, 2001).

GPx doğal bir antioksidandır. Organik peroksitleri indirger ve GSH ile birlikte elimine eder. GSH disülfid oksidasyonu ile GPc toksik olan hidroperoksitleri alkole ve suya indirmektedir (Köksal ve diğeri, 1999).

GST enzimi, ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda önemli bir role sahiptir (Aydın ve diğerleri, 2001). Başta lineolat peroksitler ve araşidonik asit olmak üzere lipid peroksitlere karşı savunmak mekanizması oluşturmaktadırlar (Akkuş, 1995).

Bu tez çalışmasında, fenitrotyon ratların kalp dokularında CAT, SOD, GST ve GPx enzim aktivitelerinde bir azalmaya neden olmuştur. Enzim aktivitelerindeki bu azalma, fenitrotyonun hücrelerdeki antioksidan enzim sisteminin inhibisyonuna neden olduğunun bir göstergesi olarak değerlendirilebilir. Fenitrotyon toksisitesi sonucu hücrelerde oluşan serbest radikaller, antioksidan enzim sisteminin baskılanması sonucu hücrelerde zedelenme veya hücre hasarı meydana gelmesine neden olmuştur. Histopatolojik bulgularımız, kalpte meydana gelen hücre ve doku hasarını desteklemektedir.

Gallik asit, meşe kabuğu, çay yaprakları, yeşil çay, elma kabuğu, üzüm gibi çeşitli bitkilerde bulunduğu bildirilen yaygın ve önemli bir antioksidandır. Özellikle Uzakdoğu'daki çayların formülasyonlarında daha yaygın olarak bulunmaktadır (Zanwar ve diğerleri, 2014). Gallik asidin ratlarda oksidatif stresi azalttığı ve antioksidan enzim aktivitelerini artırdığı kanıtlanmıştır (Adıgüzel ve diğerleri, 2021a ; Fanaei ve diğerleri, 2021). Başka bir çalışmada gallik asitin fenitrotyonun rat kanında sebep olduğu oksidatif stresi azalttığı bildirilmiştir (Adıgüzel ve diğerleri, 2021b).

Miyokardiyal hücreler yetersiz oksijen kaynağı veya glikoz nedeniyle hasar gördüğünde veya yok edildiğinde, kalp zarı geçirgen hale gelir veya bu enzimlerin sızmasına neden olacak şekilde yırtılabilir. Bu enzimler kan dolaşımına girerek serumdaki konsantrasyonlarını arttırırlar (Mathew ve diğerleri, 1985). Bir bitki fenolik asidi olan gallik asit, antioksidan aktiviteye sahiptir; bu, gallik asitle ön işleme tabi tutulmuş izoproterenol ile indüklenmiş kardiyotoksik Wistar sıçanlarında kreatin kinaz-MB ve laktat dehidrojenazın kana sızmasını önleyerek miyokardiyumu hasardan koruma yeteneğini açıklayabilir. Çoklu doymamış yağ asitlerinin bir tür oksidatif bozulması olan lipid peroksidasyonu, değişen membran yapısı ve enzim inaktivasyonu ile ilişkilendirilmiştir. İzoproterenol ile indüklenen kardiyotoksik sıçanlarda artan lipid peroksidasyon ürünleri, dokuyu oksidatif hasara karşı daha duyarlı hale getiren ilk aşama gibi görünmektedir. Artan serbest radikal üretimi, tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri ve lipid hidroperoksitler açısından yüksek lipid peroksidasyonu ile kanıtlandığı gibi, gözlemlenen zar hasarından sorumlu olabilir. Gallik asit ön tedavisi, izoproterenol ile indüklenen kardiyotoksik sıçanların plazma ve

kalplerindeki lipid peroksit seviyelerini azaltmıştır. Bu, gallik asidin antilipoperoksidatif etkisini gösterir.

Serbest oksijen radikalleri kısmen miyokard enfarktüsünün erken evresinde üretilir ve glutasyon, hidrojen peroksit radikallerinin indirgenmesinde yer alır ve bu dönemde glutasyon seviyelerinde bir azalmaya neden olur (Kocak ve diğerleri, 1992). Glutasyon, miyokard oksijen serbest radikal hasarına karşı korumada önemlidir ve bu nedenle hücrel glutasyon içeriğindeki bir azalma, kısa süreli iskemiden sonra iyileşmeyi bozabilir. Miyokard enfarktüsünde oksidatif strese karşı geliştirilmiş koruyucu mekanizma, indirgenmiş glutasyonu tüketebilir ve azaltılmış glutasyon seviyelerini baskılayabilir. İndirgenmiş glutasyon seviyelerinde gözlenen azalma, tiol içeren proteinlerin lipid peroksitlerden ve diğer reaktif oksijen türlerinden korunmasında artan kullanımdan kaynaklanıyor olabilir. Gallik asit ile ön tedavi, izoproterenol ile indüklenen kardiyotoksik sıçanların plazma ve kalplerindeki indirgenmiş glutasyon seviyelerini arttırdı. Bu da gallik asidin antioksidan özelliğini gösterir. Reaktif oksijen türleri, kardiyovasküler patolojide doku hasarının araçları olarak gösterilmiştir (Kukreja ve Hess, 1992).

Araştırma raporları, asit hidrolazların kardiyak miyositlerdeki lokalizasyonunun lizozomda olduğunu ve bu enzimlerin lizozomdan sitozole salınmasının miyokardiyal hücrel hasara ve kalbin iskemik durumunda ölüme yol açtığını göstermiştir (Ricciutti, 1992). İzoproterenol ile muamele edilmiş lipid peroksidasyonu ile lizozomların zarının bozulması, kapalı keselerden serum ve miyokard asit hidrolazlarının sızmasına neden olmuş olabilir. Lizozomlardan ve sarkoplazmik retikulumdan salınan sitozolik asit hidrolazlarının mitokondri, sarkolemma ve diğer organellerin işlev bozukluğuna ve yıkımına neden olduğunu gösteren bir çalışma gerçekleştirilmiştir (Kennett ve Weglicki, 1978).

Bu çalışmanın sonuçları göz önüne alındığında, Gallik asitin, fenitrotyon ile indüklenen histopatolojik ve oksidatif kalp hasarına karşı anti-oksidatif etkiler yoluyla koruyucu özellik gösterdiğini varsayabiliriz. GA'nın serbest radikal süpürücü ve antioksidan özellikleri yoluyla, FNT ile indüklenen kardiyotoksisiteyi azaltmada yardımcı olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmada fenitrotyonun enzim aktivitelerini azalttığı ortaya konulmuştur. Fenitrotyonun enzim aktivitelerini inhibe ettiği ya da enzimlerin yapısındaki bozulmaları teşvik ettiği düşünülmektedir. Bulgularımız gösteriyor ki fenitrotyon sebepli toksisiteye

karşı gallik asit koruyucu rollere sahiptir ancak bu koruyuculuk tamamen değil kısmendir. Gallik asidin koruyucu özelliğini tam olarak göstermesi için farklı dozlarda ya da daha uzun süreli kullanımı gerekebilir. Bu nedenle pestisit toksisitesine karşı gallik asidin antioksidan özelliğini araştıran bu tez çalışması gallik asitle yapılacak olan diğer çalışmalar ve özellikle kronik veya subkronik çalışmalara yön gösterecektir.

KAYNAKLAR

- Abbasi, S., Daneshfar, A., Hamdghadareh, S., Farmany, A. (2011). Quantification of sub-nanomolar levels of gallic acid by adsorptive stripping voltammetry. *International Journal of Electrochemistry*, 6(10), 4843–4852.
- Adıgüzel, Ç., and Apaydın, F. G. (2021a). *The Protective Role of Gallic Acid on Fenitrothion Induced Epididymal Toxicity in Rats*. 4th International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (Eurasian BioChem 2021). Ankara, Türkiye.
- 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(6), 6449-6458.
- Adıgüzel, Ç., Apaydın, F.G., ve Kalender, Y. (2021b). *Fenitrothion'un Sıçan Kanında Meydana Getirdiği Oksidatif Stres Üzerine Gallik Asit'in Koruyucu Rolü*. 3. Ulusal Başkent Disiplinler Arası Bilimsel Çalışmalar Kongresi, Ankara, Türkiye.
- 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, 581-586.
- Agarwal, A., and Saleh, R. A. (2002). Role of oxidants in male infertility: rationale, significance, and treatment. *Urologic Clinics*, 29(4), 817-827.
- Ahmed, O., Mastan, S. A., Banu, S. R., and Indira, P. (2015). Sub-lethal effect of cypermethrin on acetylcholinesterase (AChE) activity and acetylcholine (Ach) content in selected tissues of *Channa striatus* (Bloch.). *Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences*, 7(4), 31-37.
- 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.
- Al-Jahdali, M. O., and Bisher, A. S. B. (2007). Testicular histopathological alterations in rats treated with sumithion® NP 25/2.5 EC, insecticide. *Journal of Biological Sciences*, 7(3), 520-5.
- Al-Othman, A. M., Al-Numair, K. S., El-Desoky, G. E., Yusuf, K., Al Othman, Z. A., and AboulSoud, M. A. (2011). Protection of α -tocopherol and selenium against acute effects of malathion on liver and kidney of rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5(10), 1263- 71.
- Altuntas, I., Delibas, N., Doguc, D. K., Ozmen, S., and Gultekin, F. (2003). Role of reactive oxygen species in organophosphate insecticide phosalone toxicity in erythrocytes in vitro. *Toxicology in Vitro*, 17(2), 153-157.
- Apaydın, F. G., Baş, H., Kalender, S., and Kalender, Y. (2017). Bendiocarb induced histopathological and biochemical alterations in rat liver and preventive role of vitamins C and E. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 49, 148-155.

- Atılğan, A., A. Coşkan, B. Saltuk ve M. Erkan, (2007). Antalya Yöresindeki Seralarda Kimyasal ve Organik Gübre Kullanım Düzeyleri ve Olası Çevre Etkileri. *Ekoloji Dergisi*, 15(62), 37-47.
- Attia, A. M., and Nasr, H. M. (2009). Evaluation of protective effect of omega-3 fatty acids and selenium on paraquat intoxicated rats. *Slovak Journal of Animal Science*, 42(4), 180-187.
- Badhani, B., Sharma, N., and Kakkar, R. (2015). Gallic acid: a versatile antioxidant with promising therapeutic and industrial applications. *RSC Advances*, 5(35), 27540-27557.
- 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.
- Beniwal, V., Kumar, A., Goel, G., and Chhokar, V. A. (2013). Novel low molecular weight acido-thermophilic tannase from *Enterobacter cloacae* MTCC 9125. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2(2), 132–137.
- Biswas, S. K. (2016). Does the Interdependence between Oxidative Stress and Inflammation Explain the Antioxidant Paradox? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 5698931.
- Brewer, M. S. (2011). Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10(4), 221–247.
- Budin, S. B., Han, K. J., Jayusman, P. A., Taib, I. S., Ghazali, A. R., and Mohamed, J. (2013). Antioxidant activity of tocotrienol rich fraction prevents fenitrothion-induced renal damage in rats. *Journal of Toxicologic Pathology*, 26(2), 111-118.
- Cankayali, I., Demirag, K., Eris, O., Ersoz, B., and Moral, A. R. (2005). The effects of N-acetylcysteine on oxidative stress in organophosphate poisoning model. *Advances in Therapy*, 22(2), 107-16.
- Carey, J. L., Dunn, C., and Gaspari, R. J. (2013). Central respiratory failure during acute organophosphate poisoning. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 189(2), 403-410.
- Casida, J. E. (2010). Pest toxicology: the primary mechanisms of pesticide action. *Chemical Research in Toxicology*, 22(4), 609-619.
- Cataudella, E., Malaguarnera, G., Gagliano, C., Condorelli, G., Antic, T., Rampello, L., Erdogan, O., Rampello, L., and Malaguarnera, M. (2012). Pesticides Exposure and the Management of Acute Hepatic Injury. *Acta Medica Mediterranea*, 28, 245-252.
- Çelik, A., Çavaş, T., and Ergene-Gözükara, S. (2003). Cytogenetic biomonitoring in petrol station attendants: micronucleus test in exfoliated buccal cells. *Mutagenesis*, 18(5), 417-421.

- Chambers, H. W., Meek, E. C., and Chambers, J. E. (2010). Chemistry of organophosphorus insecticides. In *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology*. Cambridge: Academic Press, 1395-1398.
- Chao, J., Huo, T. I., Cheng, H. Y. (2014). Gallic acid ameliorated impaired glucose and lipid homeostasis in high fat diet-induced NAFLD mice. *PLoS ONE*, 9(6), e96969.
- Chaudhuri, K., Selvaraj, S., and Pal, A. K. (1999). Studies on the genotoxicity of endosulfan in bacterial systems. *Mutation Research*, 439, 63–67.
- Chen, H. H., Hsueh, J. L., Sirianni, S. R., and Huang, C. C. (1981). Induction of sister-chromatid exchanges and cell cycle delay in cultured mammalian cells treated with eight organophosphorus pesticides. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 88(3), 307-316.
- Choubey, S., Varughese, L. R., Kumar, V., and Beniwal, V. (2015). Medicinal importance of gallic acid and its ester derivatives: a patent review. *Pharmaceutical Patent Analyst*, 4(4), 305-315.
- Collombet, J. M., Béracochéa, D., and Liscia, P. (2011). Long-term effects of cytokine treatment on cognitive behavioral recovery and neuronal regeneration in soman-poisoned mice. *Behavioural Brain Research*, 221(1), 261-270.
- Crathorne, B., Dobbs, A. J., and Rees, Y. (1990). Chemical pollution of the aquatic environment by priority pollutants and its control. *Pollution: Causes, Effects and Control*, 2, 1-31.
- Cszerharti, T., and Orgacs, E. F. (1995). Charge transfer chromatographic study of the binding of commercial pesticides to various albumins. *Journal of Chromatography A*, 699, 285-290.
- Daneshfar, A., Ghaziaskar, H. S., and Homayoun, N. (2008). Solubility of gallic acid in methanol, ethanol, water, and ethyl acetate. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 53(3), 776-778.
- Dassanayake, T., Weerasinghe, V., Dangahadeniya, U., Kularatne, K., Dawson, A., Karalliedde, L., and Senanayake, N. (2008). Long-term event-related potential changes following organophosphorus insecticide poisoning. *Clinical Neurophysiology*, 119(1), 144-50.
- Del Rio, D., Stewart, A. J., and Pellegrini, N. (2005). A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 15(4), 316-328.
- Delen, N., Güngör, N., Durmuşoğlu, E., Turgut, Ç., Güncan, A. ve Burçak, A., (2005). *Türkiye’de Pestisit Kullanımı Kalıntı ve Organizmalarda Duyarlılık Azalışı Sorunları*. Türkiye Ziraat Mühendisleri 6. Teknik Kongre, Ankara, 629-648.
- Demirdöğen, B. C. (2010). Organofosfatlı pestisit zehirlenmeleri ve serum paraoksonaz 1 PON1 enziminin organofosfat metabolizmasındaki rolü. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 67(2), 97-112.

- Derbalah, A. S., Nakatani, N., and Sakugawa, H. (2004). Photocatalytic removal of fenitrothion in pure and natural waters by photo-Fenton reaction. *Chemosphere*, 57(7), 635-644.
- Duzguner, V., and Erdogan, S. (2012). Chronic exposure to imidacloprid induces inflammation and oxidative stress in the liver & central nervous system of rats. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 104(1), 58-64.
- Ecobichon, D., Ozere, R., Reid, E. and Crocker, J. (1977). Acute Fenitrothion poisoning. *Canadian Medical Association Journal*, 19, 377–379.
- Eddleston, M., and Bateman, D. N. (2012). Pesticides. *Medicine*, 40(3), 147-150.
- 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-Ebiary, A. A., Elsharkawy, R. E., Soliman, N. A., Soliman, M. A., and Hashem, A. A. (2016). N-acetylcysteine in acute organophosphorus pesticide poisoning: A randomized, clinical trial. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 119(2), 222-227.
- Elhalwagy, M. E. A. and Zaki, N. I. (2009). Comparative study on pesticide mixture of organophosphorus and pyrethroid in commercial formulation. *Environ. Toxicology Pharmacology*, 28, 219-224.
- 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.
- Elhalwagy, M. E. A., 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, 81-89.
- Fanaei, H., Mard, S. A., Sarkakil, 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, 527-540.
- Fernandes, F. H. A., and Salgado, H. R. N. (2016). Gallic acid: review of the methods of determination and quantification. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 46(3), 257-265.
- Förstermann, U., Xia, N., and Li, H. (2017). Roles of vascular oxidative stress and nitric oxide in the pathogenesis of atherosclerosis. *Circulation Research*, 120(4), 713-735.
- Fridovich, I. (1972). Superoxide radical and superoxide dismutase. *Accounts of Chemical Research*, 5(10), 321-326.
- 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.

- Goel, A., Vijayta, D., and Dhawan, D. K. (2005). Protective effects of zinc on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and hepatic histoarchitecture in chlorpyrifos-induced toxicity. *Chemico-Biological Interactions*, 156(2-3), 131-140.
- Goldfarb, A. H. (1999). Nutritional antioxidants as therapeutic and preventive modalities in exercise-induced muscle damage. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 24(3), 249-66.
- Halliwell, B. (1994). Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition Reviews*, 52(8 Pt 1), 253-65.
- Halliwell, B. (2011). Free radicals and antioxidants—quo vadis. *Trends in Pharmacological Sciences*, 32(3), 125-130.
- Hammam, M. A. and Abdel-Mottaleb, E. M. (2007). Studies of the genotoxic and histopathological effects of the organophosphorus insecticide profenofos on white rats. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, 29, 685-706.
- Hatjian, B. A., Mutch, E., Williams, F. M., Blain, P. G., and Edwards, J. W. (2000). Cytogenetic response without changes in peripheral cholinesterase enzymes following exposure to a sheep dip containing diazinon in vivo and in vitro. *Mutation Research*, 472(1-2), 85-92.
- Hayes, W. J. and Laws, E. R. (1990). *Handbook of Pesticide Toxicology*, Vol. 3, Classes of Pesticides, New York: Academic Press, 315-324.
- Hayes, W. J. and Laws, E. R. (1991). *Handbook of Pesticide Toxicology*. New Delhi: Academic Press Inc, 25-30.
- Hernández, A. F., Parrón, T., Tsatsakis, A. M., Requena, M., Alarcón, R., and López-Guarnido, O. (2013). Toxic effects of pesticide mixtures at a molecular level: Their relevance to human health. *Toxicology*, 307, 136-45.
- Holland, N. T. (2002). Micronucleus frequency and proliferation in human lymphocytes after exposure to herbicide 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid in vitro and in vivo. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 521(1-2), 165-178.
- Hrelia, P., Vigagni, F., Maffei, F., Morotti, M., Colacci, A., Perocco, P., Grili, S., and Cantelli-Forti, G. (1993). Genetic safety evaluation of pesticides in different short-term tests. *Mutation Research*, 321, 219-228.
- Hsu, C. L., and Yen, G. C. (2007). Effect of gallic acid on high fat diet-induced dyslipidaemia, hepatosteatosis and oxidative stress in rats. *British Journal of Nutrition*, 98, 727-735.
- Hundekari, I. A., Suryakar, A. N., and Rathi, D. B. (2013). Acute organo-phosphorus pesticide poisoning in North Karnataka, India: oxidative damage, haemoglobin level and total leukocyte. *African Health Sciences*, 13(1), 129-36.

- Ishimatsu, A., Hicks, J. W., and Heisler, N. (1988). Analysis of intracardiac shunting in the lizard, *Varanus niloticus*: a new model based on blood oxygen levels and microsphere distribution. *Respiration Physiology*, 71(1), 83-100.
- Kalender, S., Uzun, F. G., Durak, D., Demir, F., and Kalender, Y. (2010). Malathion-induced hepatotoxicity in rats: the effects of vitamins C and E. *Food and Chemical Toxicology*, 48(2), 633-638.
- Kalyanaraman, B., (2013). Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: oxidants, antioxidants and disease mechanisms. *Redox Biology*, 1(1), 244-257.
- Kamijima, M., Hibi, H., Gotoh, M., Taki, K., Saito, I., Wang, H., Itohara, S., Yamada, T., Ichihara, G., Shibata, E., Nakajima, T., and Takeuchi, Y. (2004). A survey of semen indices in insecticide sprayers. *Journal of Occupational Health*, 46(2), 109-118.
- Kanter, A., and Celik, I., (2012). Acute effects of fenthion on certain oxidative stress biomarkers in various tissues of frogs (*Rana ridibunda*). *Toxicology and Industrial Health*, 28(4), 369-376.
- Karpouzas, D. G., and Singh, B. K. (2006). Microbial degradation of organophosphorus xenobiotics: metabolic pathways and molecular basis. *Advances in Microbial Physiology*, 51, 119-225.
- Karpuzcu, M. E., Sedlak, D. L., and Stringfellow, W. T. (2013). Biotransformation of chlorpyrifos in riparian wetlands in agricultural watersheds: implications for wetland management. *Journal of Hazardous Materials*, 244-245, 111-20.
- Kasper, D. L., Fauci, A. S., Hauser, S. L., Longo, D. L., Jameson, J. L., and Loscalzo, J. (2015). *Harrison's Principles of Internal Medicine*. New York: McGraw Hill Professional, 19.
- Kennett, F. F., and Weglicki, W. B. (1978). Effects of well-defined ischemia on myocardial lysosomal and microsomal enzymes in a canine model. *Circulation Research*, 43, 750-758.
- Kocak, H., Yekeler, I., Basoglu, A., Pac, M., Senocak, H., Yüksek, M. S., Ates, A., and Göksu, S. (1992). The effect of superoxide dismutase and reduced glutathione on cardiac performance after coronary occlusion and reperfusion—an experimental study in dogs. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 40, 140-143.
- Kovacic, P. (2003). Mechanism of organophosphates (nerve gases and pesticides) and antidotes: electron transfer and oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry*, 10, 2705-9.
- Kukreja, R. C., and Hess, M. L. (1992). The oxygen free radical system: from equations through membrane-protein interactions to cardiovascular injury and protection. *Cardiovascular Research*, 26, 641-655.
- Kumar, S. V., Fareedullah, M. D., Sudhakar, Y., Venkateswarlu, B., and Kumar, E. A. (2010). Current review on organophosphorus poisoning. *Archives of Applied Science Research*, 2(4), 199-215.

- Kunimatsu, T., Kamita, Y., Isobe, N., and Kawasaki, H. (1996). Immunotoxicological insignificance of fenitrothion in mice and rats. *Fundamental and Applied Toxicology*, 33(2), 246-253.
- Lasram, M. M., Annabi, A. B., Elj, N., Selmi, S., Kamoun, A., El-Fazaa, S., and Gharbi, N., (2009). Metabolic disorders of acute exposure to malathion in adult Wistar rats. *Journal of Hazardous Materials*, 163, 1052-1055.
- Lasram, M. M., Lamine, A. J., Dhouib, I. B., Bouzid, K., Annabi, A., Belhadjhmida, N., and Gharbi, N. (2014). Antioxidant and anti-inflammatory effects of N-acetylcysteine against malathion-induced liver damages and immunotoxicity in rats. *Life Sciences*, 107(1-2), 50-58.
- Li, D., Liu, Z., Zhao, W., Xi, Y., Niu, F. (2011). A straightforward method to determine the cytotoxic and cytopathic effects of the functional groups of gallic acid. *Process Biochemistry*, 46(11), 2210–2214.
- Li, H., Horke, S., and Förstermann, U. (2013). Oxidative stress in vascular disease and its pharmacological prevention. *Trends in Pharmacological Sciences*, 34(6), 313-319.
- Liu, K. C., Huang, A. C., Wu, P. P., Lin, H. Y., Chueh, F. S., Yang, J. S., Lu, C. C., Chiang, J. H., Meng, M., and Chung, J. G. (2011). Gallic acid suppresses the migration and invasion of PC-3 human prostate cancer cells via inhibition of matrix metalloproteinase-2 and -9 signaling pathways. *Oncology Reports*, 26(1), 177-84.
- Liu, Y., Zhou, Q., Xie, X., Lin, D., and Dong, L. (2010). Oxidative stress and DNA damage in the earthworm *Eisenia fetida* induced by toluene, ethylbenzene and xylene. *Ecotoxicology*, 19(8), 1551-1559.
- Locatelli, C., Filippin-Monteiro, F. B., Creczynski-Pasa, T. B. (2013). Alkyl esters of gallic acid as anticancer agents: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 60, 233–239.
- Lu, Z., Nie, G., Belton, P. S., Tang, H., and Zhao, B. (2006). Structure–activity relationship analysis of antioxidant ability and neuroprotective effect of gallic acid derivatives. *Neurochemistry International*, 48(4), 263-274.
- Lukaszewicz-Hussain, A. (2010). Role of oxidative stress in organophosphate insecticide toxicity—Short review. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 98(2), 145-150.
- Mansouri, M. T., Farbood, Y., Sameri, M. J., Sarkaki, A., Naghizadeh, B., Rafeirad, M. (2013). Neuroprotective effects of oral gallic acid against oxidative stress induced by 6-hydroxydopamine in rats. *Food Chemistry*, 138(2–3), 1028–1033.
- Mathew, S., Menon, P. V., Kurup, P. A. (1985). Effect of administration of vitamin A, ascorbic acid and nicotinamide adenine dinucleotide and flavine adenine nucleotide on severity of myocardial infarction induced by isoproterenol in rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, 23, 500–504.
- Milatovic, D., Gupta, R. C., and Aschner, M. (2006). Anticholinesterase toxicity and oxidative stress. *The Scientific World Journal*, 6, 295-310.

- 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 & Pharmacotherapy*, 106, 232-238.
- Ogutcu, A., Uzunhisarcikli, M., Kalender, S., Durak, D., Bayrakdar, F., and Kalender, Y. (2006). The effects of organophosphate insecticide diazinon on malondialdehyde levels and myocardial cells in rat heart tissue and protective role of vitamin E. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 86(2), 93-98.
- Oishi, Y., and Manabe, I. (2016). Macrophages in age-related chronic inflammatory diseases. *NPJ Aging and Mechanisms of Disease*, 28(2), 16018.
- Ojha, A., Yaduvanshi, S. K., and Srivastava, N., (2011). Effect of combined exposure of commonly used organophosphate pesticides on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat tissues. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 99(2), 148-156.
- Orabi, S. H., Elbially, B. E., and Shawky, S. M. (2013). Ameliorating and hypoglycemic effects of zinc against acute hepatotoxic effect of chlorpyrifos. *Global Veterinaria*, 10(4), 439-446.
- Ozçelik, B., Kartal, M., and Orhan, I. (2011). Cytotoxicity, antiviral and antimicrobial activities of alkaloids, flavonoids, and phenolic acids. *Pharmaceutical Biology*, 49(4), 396-402.
- 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.
- Pedersen, J. A., Yeager, M. A., and Suffet, I. (2006). Organophosphorus insecticides in agricultural and residential runoff: Field observations and implications for total maximum daily load development. *Environmental Science & Technology*, 40(7) 2120-2127.
- Pelegriño, J. R., Calore, E. E., Saldiva, P. H. N., Almeida, V. F., Peres, N. M., and Vilela-de-Almeida, L. (2006). Morphometric studies of specific brain regions of rats chronically intoxicated with the organophosphate methamidophos. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 64, 251-255.
- Peluso, I., Morabito, G., Urban, L., Ioannone, F., Serafini, M. (2012). Oxidative stress in atherosclerosis development: the central role of LDL and oxidative burst. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets*, 12(4), 351-60.
- Petras, J. M. (1981). Soman neurotoxicity. *Fundamental and Applied Toxicology*, 1(2), 242.
- Pohanka, M. (2014). Alzheimer's Disease and Oxidative Stress: A Review. *Current Medicinal Chemistry*, 21, 356-364.
- Porat, Y., Abramowitz, A., Gazit, E. (2006). Inhibition of amyloid fibril formation by polyphenols: structural similarity and aromatic interactions as a common inhibition mechanism. *Chemical Biology & Drug Design*, 67, 27-37.

- Priscilla, D. H., Prince, P. S. (2009). Cardioprotective effect of gallic acid on cardiac troponin-T, cardiac marker enzymes, lipid peroxidation products and antioxidants in experimentally induced myocardial infarction in Wistar rats. *Chemico-Biological Interactions*, 179(2-3), 118-24.
- Rael, L. T., Thomas, G. W., Craun, M. L., Curtis, C. G., Bar-Or, R., and Bar-Or, D. (2004). Lipid peroxidation and the thiobarbituric acid assay: standardization of the assay when using saturated and unsaturated fatty acids. *BMB Reports*, 37(6), 749-752.
- Ranjbar, A., Solhi, H., Mashayekhi, F. J., Susanabdi, A., Rezaie, A., and Abdollahi, M. (2005). Oxidative stress in acute human poisoning with organophosphorus insecticides; a case control study. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 20(1), 88-91.
- Reiner, E., Radić, Z., and Simeon-Rudolf, V. (2007). Mechanisms of Organophosphate Toxicity and Detoxication with Emphasis on Studies in Croatia. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 58(3), 329-338.
- Ricciutti, M. A. (1992). Myocardial lysosome stability in the early stages of acute ischemic injury. *American Journal of Cardiology*, 30, 492-497.
- Roganovic-Zafirova, D., and Jordanova, M. (1998). Liver lesions in bleak (*Alburnus alburnus alborella* Filippi) collected from some contaminated sites of lake Ohrid. A histopathological evidence. *Ekologija i Zastita na Zivotnata Sredina*, 6(1/2), 11-18.
- Roy, S., Roy, S., Kumar, R., Sharma, C. B., and Pereira, B. J. (2004). Biodegradation and bioaccumulation of fenitrothion in rat liver. *Biomedical Chromatography*, 18(2), 132-136.
- Saeed, N., Khan, M. R., Shabbir, M. (2012). Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts *Torilis leptophylla* L. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 12(1), 221.
- Sande, M. A. and Maxdell, G. L. (1985). Antimicrobial agents. General considerations. In: A. Goodman Gilman, L. S. Goodman, T. W. Rail and F. Murad (eds), *The Pharmaceutical basis of therapeutics*. New York: Macmillan Publishing Company, 1066-94.
- Sarikaya, R., Selvi, M. and Erkoc, F. (2004). Investigation of acute toxicity of fenitrothion on peppered corydoras (*Corydoras paleatus*). *Chemosphere*, 56, 697-700.
- Sawa, T., Nakao, M., Akaike, T., Ono, K., and Maeda, H. (1999). Alkylperoxyl radical-scavenging activity of various flavonoids and other phenolic compounds: Implications for the anti-tumor-promoter effect of vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(2), 397-402.
- Singh, B. K. (2009). Organophosphorus-degrading bacteria: ecology and industrial applications. *Nature Reviews Microbiology*, 7(2), 156.
- Singleton, V. L. (1981). Naturally occurring food toxicants: phenolic substances of plant origin common in foods. *Advances in Food Research*, 27, 149-242.

- Sohoni, P. (2001). Possible androgenic/anti-androgenic activity of the insecticide fenitrothion. *Journal of Applied Toxicology: An International Journal*, 21(3), 173-178.
- Sönmez, İ. Kaplan, M. ve Sönmez, S. (2008). 'Kimyasal gübrelerin çevre kirliliği üzerine etkileri ve çözüm önerileri. *Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Derim Dergisi*, 25(2), 24-34.
- Su, T. R., Lin, J. J., and Tsai, C. C. (2013). Inhibition of melanogenesis by gallic acid: possible involvement of the I3K/Akt, MEK/ERK and Wnt/ β -catenin signaling pathways in B16F10 cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 14, 20443–20458.
- Sunami, O. (2000). Evaluation of a 5-day Hershberger assay using young mature male rats: methyltestosterone and p, p'-DDE, but not fenitrothion, exhibited androgenic or antiandrogenic activity in vivo. *The Journal of Toxicological Sciences*, 25(5), 403-415.
- Suresh, S. (2007). Biomechanics and biophysics of cancer cells. *Acta Biomater*, 3(4), 413-438.
- Surov, A. O., Volkova, T. V., and Churakov, A. V. (2017). Cocrystal formation, crystal structure, solubility and permeability studies for novel 1,2,4-thiadiazole derivative as a potent neuroprotector. *European Journal of Pharmaceutical Sciences: Official Journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*, 109, 31-39.
- 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(1), 93-100.
- Tamura, H., Maness, S. C., Reischmann, K., Dorman, D. C., Gray, L. E., Gaido, K. W. (2001). Androgen receptor antagonism by the organophosphate insecticide fenitrothion. *Toxicological Sciences*, 60(1), 56-62.
- Thiermann, H., Szinicz, L., Eyer, P., Felgenhauer, N., Zilker, T., and Worek, F., (2007). Lessons to be learnt from organophosphorus pesticide poisoning for the treatment of nerve agent poisoning. *Toxicology*, 233(1), 145-154.
- Thitilertdecha, N., Teerawutgulrag, A., Kilburn, J. D., and Rakariyatham, N. (2010). Identification of major phenolic compounds from *Nephelium lappaceum* L. and their antioxidant activities. *Molecules*, 15(3), 1453-65.
- Tiryaki, O., Canhilal, R., ve Horuz, S. (2010). Tarım ilaçları kullanımı ve riskleri. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 26(2), 154-169.
- Urizzi, P., Monje, M. C., and Souchart, J. P. (1999). Antioxidant activity of phenolic acid and esters present in red wine on human low-density lipoproteins. *Journal de Chimie Physique*, 96, 110–115.
- 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, 643–647.

- Uzun, F. G., Kalender, S., Durak, D., Demir, F., and Kalender Y. (2009). Malathion-induced testicular toxicity in male rats and the protective effect of vitamins C and E. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 1903–1908.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44-84.
- Vani, T. (2012). Alteration in haematological and biochemical parameters of *Catla catla* exposed to sub-lethal concentration of cypermethrin. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38(6), 1577-1584.
- Vaquero, M. J., Alberto, M. R., and de Nadra, M. C. (2007). Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control*, 18(2), 93–101.
- Verma, M., and Srivastava, S. (2003). New cancer biomarkers deriving from NCI early detection research. *Tumor Prevention and Genetics*, 4, 72-84.
- Verma, S., Singh, A., and Mishra, A. (2013). Gallic acid: molecular rival of cancer. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 35(3), 473–485.
- Veronesi, B., Jones, K., and Pope, C. (1990). The neurotoxicity of subchronic acetylcholinesterase (AChE) inhibition in rat hippocampus. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 104(3), 440-56.
- Worek, F., Koller, M., Thiermann, H., and Szinicz, L., (2005). Diagnostic aspects of organophosphate poisoning. *Toxicology*, 214(3), 182-189.
- Zanwar, A. A., Badole, S. L., Shende, P. S., Hegde, M. V., and Bodhankar, S. L. (2014). Antioxidant role of catechin in health and disease. In *Polyphenols in human health and disease*. Cambridge: Academic Press, 267-271.
- Zhang, D. X., and Gutterman, D. D. (2007). Mitochondrial reactive oxygen species-mediated signaling in endothelial cells. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 292(5), H2023-H2031.



Gazili olmak ayrıcalıktır