



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA
TEZİ**

**MALATHİONUN, RAT SERUMUNDA OKSİDAN VE
ANTIOKSİDAN SİSTEM, İNFLAMATUAR
BELİRTEÇLER VE BAZI METABOLİK BİYOMOLEKÜLLER
ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

MURAT EKREMOĞLU

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

MAYIS 2016



**MALATHİONUN, RAT SERUMUNDA OKSİDAN VE ANTIOKSİDAN
SİSTEM, İNFLAMATUAR BELİRTEÇLER VE BAZI METABOLİK
BİYOMOLEKÜLLER ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Murat EKREMOĞLU

**DOKTORA TEZİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

MAYIS 2016

Murat EKREMOĞLU tarafından hazırlanan "MALATHİONUN, RAT SERUMUNDA OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN SİSTEM, İNFLAMATUAR BELİRTEÇLER VE BAZI METABOLİK BİYOMOLEKÜLLER ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Ayşe BİLGİHAN

Tıbbi Biyokimya AD/ Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

Üye, Danışman : Prof. Dr. Hatice Paşaoğlu

Tıbbi Biyokimya AD/ Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

Üye : Prof. Dr. Gürsel BİBEROĞLU

Çocuk Sağ. ve Hast. AD/ Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

Üye : Prof. Dr. Aslıhan AVCI

Tıbbi Biyokimya AD/ Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

Üye : Prof. Dr. Berrin İmge ERGÜDER

Tıbbi Biyokimya AD/ Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

Tez Savunma Tarihi: 13/05/2016

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Doktora Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....
Doç. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

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

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

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


Murat EKREMOĞLU

13.05.2016

MALATHİONUN, RAT SERUMUNDA OKSİDAN VE ANTIOKSİDAN SİSTEM,
İNFLAMATUAR BELİRTEÇLER VE BAZI METABOLİK BİYOMOLEKÜLLER
ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

(Doktora Tezi)

Murat EKREMOĞLU

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MAYIS 2016

ÖZET

Çalışmamızda tarımda pestisit olarak kullanılan bir organofosfat olan Malathion'un akut (24 saat) farklı doz uygulamalarıyla Wistar albino rat serum parametrelerine etkileri incelenmiştir. Bu amaçla her grupta 6 tane olmak üzere kontrol (Grup1) ve 100 mg/kg (Grup 2), 200 mg/kg (Grup 3), 400 mg/kg (Grup 4) doz grupları oluşturularak seçilen serum parametreleri üzerindeki değişimler araştırılmıştır. Serum malondialdehit (MDA), glukoz, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD), laktat dehidrojenaz (LDH), amilaz, alkale fosfataz (ALP), kreatinin ve üre (BUN) seviyelerinde, gruplar arasında istatistiksel olarak farkın anlamlılığı bulunamamıştır. Serum aspartat aminotransferaz (AST) düzeylerinde Grup 3 ve Grup 4, Grup 1 ve Grup 2'ye göre anlamlı olarak artmıştır. Serum alanin aminotransferase (ALT) düzeylerinde Grup 3, Grup 1'e göre anlamlı bir artış bulunmaktadır. Kreatin kinaz (CK) düzeylerinde Grup 3 ve Grup 4 ile Grup 1 ve Grup 2'ye göre bir artış gözlenmiştir. Lipaz kontrol grubu dışındaki tüm doz gruplarında inhibe olmuştur. Total oksidan durum (TOS) düzeyinin Grup 4'te, Grup 1 ve Grup 2'ye göre arttığı bulunmuştur. Serum ileri glikolizasyon son ürünleri (AGEs), insulin ve tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) Grup 4'te Grup 1'e göre artış gözlenmiştir. Korelasyon analizlerine bakıldığında Serum AGEs ve Serum TOS düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur. AGEs ile TNF- α düzeyleri aralarında pozitif korelasyon olduğu tespit edilmiştir. TNF- α ile TOS, TNF- α ile AST arasında pozitif bir korelasyon gözlenmişken, TNF- α ve ALP arasında negatif bir korelasyon tespit edilmiştir. Ayrıca ALP ile AST ve ALP ile CK arasında da kuvvetli negatif bir korelasyon olduğu bulunmuştur. Glukoz ile G6PD arasında ve TOS ile insulin arasında da pozitif bir korelasyon olduğu gözlenmiştir. Insulin ile AGEs arasında da pozitif bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlarımıza göre Malathionun akut artan doz uygulamalarında, serum parametreleri incelendiğinde oksidan-antioksidan sistem, doku hasarı, inflamasyon ve bazı metabolik olayları etkilediği ve bu sebeple insan-toplum-çevre sağlığı açısından doz uygulamalarında gerekli eğitim ve önlemlerin alınması gerektiği sonucu ortaya çıkmaktadır.

Bilim Kodu : 1010
Anahtar Kelimeler : Malathion, serum, lipaz, aspartat aminotransferaz, malondialdehit alanin aminotrasferaz, ileri glikasyon son ürünü, insulin, total oksidan durum, tümör nekrozis faktör α , laktat dehidrojenaz, amilaz, kreatinin, üre, alkale fosfataz, glukoz, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz
Sayfa Adedi : 87
Danışman : Prof. Dr. Hatice PAŞAOĞLU

THE INVESTIGATION OF MALATHION'S EFFECT ON OXIDANT AND ANTIOXIDANT
SYSTEMS, INFLAMMATORY MARKER AND SOME METABOLIC BIOMOLECULES IN
RAT SERUM
(Ph. D. Thesis)

Murat EKREMOĞLU

GAZİ UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCE
MAY 2016

ABSTRACT

In this study, we investigated the acute effects of different doses of Malathion, which is an organophosphate used as a pesticide in agriculture, on serum parameters of Wistar albino rat. For this purpose, we set 4 groups containing 6 animals (control (Group 1), 100 mg/kg (Group 2), 200 mg/kg (Group 3), 400 mg/kg (Group 4)) and the change of serum parameters was analyzed. We found that there was no significant change in serum malondialdehyde (MDA), glucose, glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD), lactate dehydrogenase (LDH), amylase, alkaline phosphatase (ALP) creatinine and urea levels among the Groups. Serum aspartate aminotransferase (AST) levels of Group 3, and Group 4 were significantly higher than Group 1 and Group 2. The serum alanine aminotransferase (ALT) significantly increased in Group 3 compare to Group 1. Creatine kinase (CK) increased in Group 3 and Group 4 compare to Group 1 and Group 2. Serum lipase activity has lose all dose groups (Group 2, Group 3 and Group 4). Serum total oxidant status (TOS) levels increased in Group 4 compare to Group 1 and Group 2. Serum advanced glycation end products (AGEs), Insulin and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) levels were increased in Group 4 compare to Group 1. In correlation analysis, we found that there is a positive correlation between serum TOS levels and AGEs levels. We observed that there is a strong positive correlation between AGEs levels and TNF- α levels in serum. Also there is positive correlation between TNF- α and TOS levels and TNF- α and AST levels. On the other hand negative correlation has found between TNF- α and ALP levels in serum. Additionally, negative correlation has observed between ALP and AST levels and ALP and CK levels in serum. There is strong positive correlation has found between glucose and G6PD levels and TOS and insulin levels. Also we observed that positive correlation between serum AGEs and insulin levels. According to our result, In acute ascending dose of Malathion application, when serum parameters examined, it effects oxidant-antioxidant status, tissue damage, inflammation and any other metabolic status, so for this purpose we consider that necessary precautions and educations should be taken for human, public and environment health.

Science Code : 1010
Key Words : Malathion, serum, lipase, aspartate aminotransferase, malondialdehyde alanine aminotransferase, advanced glycation end products, , total oxidant status, amylase, creatinine, urea, tumour necrosis factor α , lactate dehydrogenase, insulin, glucose, glucose-6-phosphate dehydrogenase
Page Number : 87
Supervisor : Prof. Dr. Hatice PAŞAOĞLU

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez çalışmamın boyunca her türlü destek ve yardımlarını esirgemeyen, karşılaştığım problemlerin çözümünde bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, değerli hocam, tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Hatice PAŞAOĞLU'na,

Yardım ve desteklerini esirgemeyen Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Ayşe BİLGİHAN'a

Doktora eğitimim boyunca teorik derslerimde değerli bilgi ve birikimlerini benimle paylaşan tüm Gazi Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyelerine,

Tez projesinin başından bugüne kadar ortak projede çalıştığım, birlikte yorulup bugünlere getirdiğimiz projemizde büyük katkıları olan, ihtiyaç duyduğum her anımda desteklerini hissettiğim, değerli arkadaşlarım doktora öğrencisi Çınar SEVERCAN'a, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Öğretim Görevlisi Dr. Özge Tuğçe PAŞAOĞLU'na ve Tıbbi Biyokimya A.D asistanlarından Dr. Bayram ŞEN'e,

Tez projemizde yardım ve desteklerini bizden esirgemeyen sevgi ve saygı duyduğum değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Canan YILMAZ DEMİRTAŞ'a

Tez yazım esnasında yardım ve desteklerini benden esirgemeyen değerli çok değerli ailem ve arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Pestisitler.....	3
2.1.1 Pestisitlerin çevreyle olan ilişkisi.....	4
2.2. Organofosfatlar	5
2.2.1. Organofosfatların etki mekanizması ve toksikoloji.....	6
2.2.2. Toksisite.....	7
2.2.3. Organofosfat bileşikler ve akut toksikoloji.....	9
2.3. Malathion	11
2.4. Organofosfat bileşikler ve malathionun etkileri.....	12
2.4.1. Oksidatif stres	12
2.4.2. Doku Hasarı	17
2.4.3. İmmun yanıt ve inflamasyon	18
2.4.4. Glukoz metabolizması	19
2.4.5. Antioksidan sistem.....	23
3. YÖNTEM.....	25
3.1. Kullanılan Gereçler	25

Sayfa

3.1.1. Deney hayvanları	25
3.1.2. Kullanılan aletler ve cihazlar	25
3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler	25
3.2. Seçilen Deney Hayvanları ve Grupların Oluşturulması.....	26
3.3. Serum Örneklerinin Hazırlanması	26
3.4. Metotların Uygulanması	26
3.4.1. Serum Malondialdehit (MDA) analizi	26
3.4.2. Serum TOS Analizi.....	28
3.4.3. Serum AGEs Analizi.....	29
3.4.4. Serum TNF- α Analizi.....	31
3.4.5. Serum İnsulin Analizi	33
3.4.6. Serum ALT aktivitesi Analizi.....	35
3.4.7. Serum AST aktivitesi Analiz	35
3.4.8. Serum LDH aktivitesi Analizi	36
3.4.9. Serum ALP aktivitesi Analizi	36
3.4.10. Serum CK aktivitesi Analizi	37
3.4.11. Serum BUN Tayini	37
3.4.12. Serum Glukoz Tayini.....	37
3.4.13. Serum Kreatinin Tayini.....	38
3.4.14. Serum Amilaz aktivitesi Tayini	38
3.4.15. Serum Lipaz aktivitesi Tayini.....	39
3.4.16. Kan Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz aktivitesi Tayini.....	39
3.5. Verilerin Analizi	40
4. BULGULAR.....	41

Sayfa

4.1. Malathion - AST İlişkisi	42
4.2. Malathion - ALT İlişkisi	42
4.3. Malathion - ALP İlişkisi	43
4.4. Malathion CK İlişkisi.....	44
4.5. Malathion Lipaz İlişkisi	44
4.6. Malathion Amilaz İlişkisi.....	45
4.7. Malathion LDH İlişkisi	46
4.8. Malathion MDA İlişkisi	46
4.9. Malathion TOS İlişkisi.....	47
4.10. Malathion AGEs İlişkisi.....	48
4.11. Malathion G6PD İlişkisi	48
4.12. Malathion Glukoz İlişkisi.....	48
4.13. Malathion İnsulin İlişkisi	50
4.14. Malathion TNF- α İlişkisi.....	50
4.15. Malathion BUN İlişkisi.....	51
4.16. Malathion Kreatinin İlişkisi	52
4.17. Malathion Korelasyon Analizi	52
5.TARTIŞMA.....	59
6.SONUÇ	67
KAYNAKLAR	69
EKLER.....	79
EK-1. Yerel Etik Kurul Onayı	80

EK-2. Eylül, 2015 Avrupa Toksikoloji Kongresi'nde (EuroTox) (Porto/Portekiz), "Effect of Malathion on Serum Parameters in Rats" adlı çalışmamızın poster sunumu.....	82
EK-3. Kasım 2015, XXVII. Ulusal Biyokimya Kongresi'nde (Antalya) kongresinde "Malathionun Farklı Dozlarda, Oksidan ve Antioksidan Durum Üzerine Etkisi" adlı çalışmamızın poster sunumu	83
ÖZGEÇMİŞ	84

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Serum MDA deneyi.....	27
Çizelge 3.2. Serum TOS Rel assay kit içeriği.....	28
Çizelge 3.3. Serum TOS deneyi.....	29
Çizelge 3.4. AGEs kit standartlarının hazırlanışı.....	30
Çizelge 3.5. Serum AGEs analizi	30
Çizelge 3.6. TNF- α kit standartlarının hazırlanışı.....	32
Çizelge 3.7. Serum TNF- α analizi.....	32
Çizelge 3.8. İnsulin kit standartlarının hazırlanışı	34
Çizelge 3.9. Serum İnsulin analizi	34
Çizelge 4.1 Kontrol ve doz gruplarının bütün parametrelerinin ortalama ve standart hata değerleri	41
Çizelge 4.2. Serum AST düzeyleri	42
Çizelge 4.3. Serum ALT düzeyleri	42
Çizelge 4.4. Serum ALP düzeyleri	43
Çizelge 4.5. Serum CK düzeyleri	44
Çizelge 4.6. Serum Lipaz düzeyleri.....	44
Çizelge 4.7. Serum Amilaz düzeyleri	45
Çizelge 4.8. Serum LDH düzeyleri.....	46
Çizelge 4.9. Serum MDA düzeyleri.....	46
Çizelge 4.10. Serum TOS düzeyleri	47
Çizelge 4.11. Serum AGEs düzeyleri	48
Çizelge 4.12. Kan G6PD düzeyleri.....	48

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.13. Serum Glukoz düzeyleri	49
Çizelge 4.14. Serum İnsulin düzeyleri.....	50
Çizelge 4.15. Serum TNF- α düzeyleri.....	50
Çizelge 4.16. Serum BUN düzeyleri.....	51
Çizelge 4.17. Serum Kreatinin düzeyleri	52

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Organofosfatların genel yapısı.....	5
Şekil 2.2. Malathionun genel yapısı.....	11
Şekil 2.3. Serbest radikal oluşum şeması.....	12
Şekil 2.4. İnsulin direnci oluşum şeması	20
Şekil 2.5. Protein glikasyonu ve AGE oluşumu	22
Şekil 2.6. AGE oluşum mekanizmaları.....	22
Şekil 3.1. MDA standart grafiği.....	28
Şekil 3.2. Serum AGEs standart eğri grafiği.....	31
Şekil 3.3. Serum TNF- α standart eğri grafiği.....	33
Şekil 3.4. Serum İnsulin standart eğri grafiği	35
Şekil 4.1. Serum AST düzeyleri	42
Şekil 4.2. Serum ALT düzeyleri	43
Şekil 4.3. Serum ALP düzeyleri	43
Şekil 4.4. Serum CK düzeyleri	44
Şekil 4.5. Serum Lipaz düzeyleri.....	45
Şekil 4.6. Serum Amilaz düzeyleri	45
Şekil 4.7. Serum LDH düzeyleri.....	46
Şekil 4.8. Serum MDA düzeyleri.....	47
Şekil 4.9. Serum TOS düzeyleri	47
Şekil 4.10. Serum AGEs düzeyleri	48
Şekil 4.11. Kan G6PD düzeyleri.....	49
Şekil 4.12. Serum Glukoz düzeyleri	49
Şekil 4.13. Serum Insulin düzeyleri.....	50

Şekil	Sayfa
Şekil 4.14. Serum TNF- α düzeyleri.....	51
Şekil 4.15. Serum BUN düzeyleri.....	51
Şekil 4.16. Serum Kreatinin düzeyleri.....	52
Şekil 4.17. AGEs-TOS korelasyon eğrisi	53
Şekil 4.18. AGEs-TNF- α korelasyon eğrisi	53
Şekil 4.19. AGEs-İnsulin korelasyon eğrisi.....	54
Şekil 4.20. TNF- α -TOS korelasyon eğrisi.....	54
Şekil 4.21. TNF- α -AST korelasyon eğrisi.....	55
Şekil 4.22. TNF- α -ALP korelasyon eğrisi.....	55
Şekil 4.23. TOS-İnsulin korelasyon eğrisi.....	56
Şekil 4.24. Glukoz-G6PD korelasyon eğrisi.....	56
Şekil 4.25. ALP-AST korelasyon eğrisi	57
Şekil 4.26. CK-AST korelasyon eğrisi	57
Şekil 4.27. CK-ALP korelasyon eğrisi	58

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler	Açıklama
CaCl₂	Kalsiyum klorür
CHCl₃	Kloroform
CH₃COOH	Asetik asit
C₂H₅OH	Etanol
C₄H₉OH	n-butanol
C₆H₆	Piridin
Cl T	Kloramin T
CuCl₂	Bakır klorür
CuSO₄	Bakır (II) sülfat
Fe⁺³	Ferrik
Fe⁺²	Ferröz
H₂O₂	Hidrojen peroksit
HOCl	Hipoklorik asit
H₂SO₄	Sülfürik asit
KCl	Potasyum klorür
KH₂PO₄	Potasyum fosfat
KI	Potasyum iyodür
KOH	Potasyum hidroksit
NaCl	Sodyum klorür
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotit
NADH₂	Nikotinamid adenin dinükleotit hidrojen molekülü
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat hidrojen
Na₂CO₃	Sodyum karbonat
Na₂HPO₄	Disodyum fosfat
NaOH	Sodyum hidroksit
NBT	Nitro blue tetrazolium klorür
NO	Nitrik Oksit
O₂	Moleküler oksijen
O₂^{-•}	Süperoksit radikali
¹O₂	Singlet oksijen
OH[•]	Hidroksil radikali
OOH[•]	Perhidroksil radikali
ONOO⁻	Peroksinitrit anyonu
ROO[•]	Peroksil radikali
SDS	Sodyum dodesil sülfat
TBA	Tiobarbitürik asit
TEP	1,1,3,3-tetraetoksipropan

Kısaltmalar

AChE
AGEs
ALP
ALT
AST
ATP
DDT
EDTA
IL-6
LDH
MDA
NF-KB
NO
ROT
SOD
TNF- α
TOS

Açıklama

Asetilkolinesteraz
İleri Glikasyon Ürünü
Alkalen Fosfataz
Alanin Aminotransferaz
Aspartat Aminotransferaz
Adenozin Trifosfat
Dikloro Difenil Trikloroethan
Etilendiamin Tetraasetik Asit
İnterlökin-6
Laktat Dehidrojenaz
Malondialdehit
Nükleer Faktör-Kappa B
Nitrik Oksit Radikali
Reaktif Oksijen Türleri
Süperoksit Dismutaz
Tümör nekrozis faktör alfa
Total Oksidan Durum

1. GİRİŞ

Pestisit ve diğer tarım koruyucu kimyasallar neredeyse bütün dünyada yaygın şekilde kullanılmaktadır fakat bu kimyasallar çevre ve halk sağlığını ciddi olarak tehdit etmektedir. Birçok ülkede, pestisit zehirlenmesinin morbidite ve mortalitede majör problem olduğu bildirilmektedir. Pestisitlerden, her yıl 3 milyon kişinin ciddi zehirlendiği ve 220 bin insanın ölümüne neden olduğu tahmin edilmektedir. Pestisitler arasında toplam zehirlenme durumunun %50'sini organofosfat bileşikler oluşturmaktadır. Organofosfatların, sinirler üzerinde ciddi tahribata neden olduğu bilinmektedir. Bilinen diğer toksik etkisi ise oksidatif strese yol açarak gerçekleştirdiği söylenmektedir. Bu etki sonucunda metabolik değişime ve sonucunda hücre ölümü (nekrozis ve apoptozis) ortaya çıkabilmektedir (Karami-Mohajeri ve diğerleri 2011; ve Soltaninejad ve diğerleri 2009). Organofosfatlar vücutta başlıca kolinesteraz (ChE) ve asetilkolinesteraz (AChE) enzimlerini inhibe etmektedir (Picco ve diğerleri, 2008). Bu enzimler lokalizasyonu ve kullandıkları substrat açısından farklı enzimlerdir (Chatonnet ve Lockridge, 1989).

Yapılan çalışmalarda malathionun akut ve kronik etkilerinde pankreas, karaciğer dokularında hasar ve kanda hiperglisemiye neden olduğu gösterilmiştir. Malathionun akut ve kronik dozlarında insülin sekresyonu da arttırdığı bazı çalışmada belirtilmiştir (Panahi ve diğerleri, 2006; ve Rodrigues ve diğerleri 1986). Reaktif oksijen türleri (ROT) hücrede normal metabolik süreçlerde ve transdüksiyon durumlarında üretilmektedir fakat patofizyolojik süreçlerde önemli rol oynamaktadır. Lipitler, proteinler ve nükleik asitler gibi biyomoleküller, ROT tarafından dejenerasyona uğramaktadır.

Çalışmamızda, Malathion'un 100 mg/kg, 200 mg/kg, 400 mg/kg dozlarında rat serum parametrelerinin doza bağımlı akut süreli etkisini inceledik. Bu amaçla rat serumunda lipaz, aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), alkalen fosfataz (ALP), laktat dehidrojenaz (LDH), amilaz, kreatin kinaz (CK) ve lipaz aktivelerini, tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) ve total oksidan durum (TOS) düzeyi, glukoz, insülin, kreatinin, BUN, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD) ve lipit peroksidasyon ürünü olan malondialdehit (MDA) düzeyini ölçtük. Ayrıca reaktif oksijen türlerinin artışı sonucunda enzimatik olmayan protein ve karbonhidratlar arasında gerçekleşen glikasyon reaksiyonunun ileri glikasyon son ürünü (AGEs) düzeyini belirlemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pestisitler

Pestisitler, kısaca tarım zararlılarını zararsız hale getiren bileşikler olarak tanımlanabilir, ki bu bileşikler;

- 1-insektisitler (organofosfatlar, organoklorlar, karbamatlar),
- 2-rodentisitler (antikoagulanlar),
- 3-herbisitler (ör: paraquat)
- 4-fungisitler (ditiyokarbamatlar),
- 5-fumigantlar (etilen dibromid)

gibi alt gruplara sahiptir. Her ne kadar bu toksik kimyasallar memeliler ve diğer hedef olmayan canlılar için oldukça zarar verici olsa bile ekosistemle bütünleşmiş duruma gelmiştir (Soltaninejad ve diğerleri 2009) Tarımsal programlarda ve halk sağlığında pestisitlerin kullanımı birçok ciddi akut ve kronik zehirlenmelere neden olmaktadır. Çalışmalar göstermiştir ki pestisitler Parkinson Hastalığı başta olmak üzere nörolojik hastalıklar, kısırlığa neden olabilecek üreme bozuklukları, fetal doğum bozuklukları, solunum problemleri, endokrinolojik konular ve deri üzerinde de etkileri gösterilmiştir (Kesavachandran ve arkadaşları, 2009). Ayrıca pestisit maruziyeti ile solid tumor oluşumu, hematolojik kanser ve genotoksisite arasında pozitif bir korelasyon olduğu bildirilmiştir (Bassil ve arkadaşları, 2007).

Pestisit maruziyetinde birçok akut efekt ortaya çıkabilir. Bu etkiler maruz kalınan bileşiğin toksisitesine ve doza bağlı olarak değişebilir. Akut pestisit zehirlenmeleri kazara olabileceği gibi birçok gelişmekte olan ülkelerde mesleki olarak da birçok ölüme sebep olduğu rapor edilmiştir. Pestisitlerin kolay ulaşılabilir olması ve kullanımında denetlenebilirliğinin az olması zehirlenmelerin birincil sebebi olarak belirtilmektedir (Kesavachandran ve diğerleri, 2009). Kronik toksisitede ise pestisit kalıntılarının çevre kirliliği oluşturarak yarattığı etki çok önemli bir konudur.

2.1.1 Pestisitlerin çevreyle olan ilişkisi

Pestisitlerin en yaygın kullanılanları organofosfatlar, karbamatlar ve klorinlenmiş hidrokarbonlardır. Organoklorinler, dünyada çok yaygın olarak kullanılmıştır. Ancak doğada kalış süreleri organofosfatlara göre daha fazla olduğundan dolayı yasaklanmıştır. Kullanımı yasaklanmış dahi olsa hala bazı ülkelerde kullanılmaya devam etmektedir. Yağda çözülebilen bileşikler olduğu için karaciğer ve beyinde önemli sistemik hasarlara neden oldukları gösterilmiştir (Moses ve diğerleri, 2010).

Pestisitlerin insan sağlığı üzerine etkisi endüstriyel teknolojinin gelişmesine paralel olarak su, hava ve toprağı da ekleyerek yıllar boyu giderek artarak toksikolojik bir sorun olarak insanların karşısına çıkmaktadır. Çevre kirlenmesi sınıflandırılırken;

- Fiziksel Kirleticiler
- Kimyasal Kirleticiler
- Biyolojik Kirleticiler

olarak sınıflandırılmaktadır. Pestisitler bu gruplar içerisinde Kimyasal kirleticiler arasında önemli bir yere sahiptir (Dökmeçi, 2001; ve William ve diğerleri, 1992).

Başlıca kirlenme kaynaklarına göz atıldığında;

- Enerji eldesi
- Kimya endüstrisi
- Tarımsal aktiviteler

kirlenmenin en önemli faktörleri olarak göze çarpmaktadır.

Pestisitler gelişmiş ülkelerde olduğu gibi az gelişmiş ülkelerde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Bazı kullanımlar sırasında ya da yanlış uygulamalar neticesinde akut zehirlenmelere yol açabilirler. Ayrıca toksisitesi görece düşük olan pestisitler ise çevre ya da besin kirlilikleriyle birlikte insan sağlığına ciddi zararları dokunabileceğı belirtilmektedir (Dökmeçi, 2001:103 ve Bond ve diğerleri, 1974).

Bu kirlenmelerin ilk sırasında sulardaki kirlenme yer almaktadır. Bunun sebebi suyun yaşam için vazgeçilmez oluşudur. İçme ve temizlik gereksinimlerimizde kullandığımız suyun

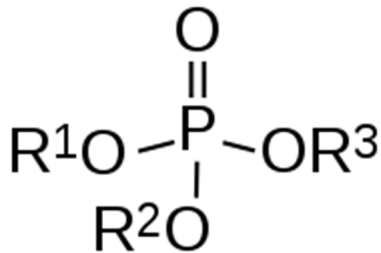
kirlenmesi sağlığımızı tehdit eden unsurların başında gelmektedir. Bu kirlenme biyolojik veya kimyasal şekilde olabilir ve pestisitler en önemli kaynaklardan biridir bu kirlenmenin. Bir diğer kirlenme kaynağı olan topraktır. Toprağın insektisitlerle kirlenmesi, kullanılan maddenin yapısına bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Yarılanma ömrü yüksek olan maddeler toprakta birikerek, zarar verici dozlara ulaşmakta ve zamanla bulunduğu ortamdaki diğer ortamlara taşınabilmektedir. Ülkemizde kullanılan pestisit miktarı yıllık 100 bin ton kadardır ve ölüm oranları diğer gelişmekte olan ülkelere oranla yaklaşık 15 kat daha yüksektir. Bu durumun sebepleri araştırıldığında; pestisitler konusunda yeteri kadar bilgili olunmaması, uygun olmayan koşullarda muhafaza edilmesi, gereksiz yüksek doz kullanımları, pestisit bulaşmış kaplara yiyecek ve içecek konması gibi nedenler olduğu belirtilmektedir (Dökmeci, 2001:103).

2.2. Organofosfatlar

Pestisitler içerisinde, organofosfatlar dünyada en yaygın kullanılan ve tüm dünyada en fazla zehirlenme olayına sebep olan gruptur. Organofosfat pestisitlerin, organoklor bileşikler yerine tercih edilme sebebi daha hızlı degrade olmalarıdır (John ve diğerleri, 2001).

Ancak kullanılan bu kimyasalların çevre ve halk sağlığı için tehlikeli olduğu bilinmektedir (Ojha ve diğerleri, 2012). Pestisitler arasında toplam zehirlenme durumunun %50'sini organofosfat bileşikler oluşturmaktadır (Karami-Mohajeri ve diğerleri, 2011). OF'ler merkezi bir fosfor atomu ve çok sayıda yan zincirden oluşan bileşiklerdir. İnsektisit olarak kullanılanların birçoğu dimetoksi ve dietoksi bileşikleridir. Bu pestisit grubu, en iyi bilinen insektisitler olan malathion ve diazinonu içerir. Organofosfatların genel yapısı şekil 2.1. de gösterilmiştir.

R: Genel olarak alkoksi (OCH₃ veya OC₂H₅)



şekil 2.1. Organofosfatların genel yapısı

OF'lerin daha yaygın kullanımına sebep olan özelliği DDT gibi organoklorlardan daha az kalıcı olmalarıdır. Bu bileşikler OF'ler geliştirilmeden önce tercih edilen pestisitlerdir. Omurgalılar için organofosfatların organoklorlara göre oldukça zehirli olduğu tespit edilmiştir (Ware ve diğerleri, 1986). Yapısal olarak organofosfat bileşikler fosforik asitin, fosfonik asitin ve fosfinik asitin ester, tiyol ve amid türevleridir. Tarımda kullanılan 100'ün üzerinde farklı türevi bulunmaktadır. Bunlar içerisinde en yaygın kullanılanları parathion, chlorpyrifos, dichlofenthion ve malathion'dur. İlk organofosfat olan tetraetil pirofosfat 1854 yılında sentezlenmiştir (Petrioianu ve diğerleri, 2008). O günden bu yana sentezlenen yüzlerce bileşik tarımda kullanımının yanında kimyasal silah olarak da kullanılmıştır (Solberg ve diğerleri, 1998).

2.2.1 Organofosfatların Etki Mekanizması ve Toksikoloji

Organofosfat bileşikler immun sistem, üriner sistem, pankreas, karaciğer gibi organlarda ve serumdaki biyokimyasal parametrelerde değişikliğe sebep olduğu gösterilmiştir. Bu bileşiklerin etki mekanizması böceklerde ve memelilerde aynıdır. Bu bileşikler asetilkolinesteraz (AChE) enziminin inaktive olmasına sebep olduğu bildirilmektedir. Bu enzim kolinerjik sinapslarda asetilkolini hidrolizler ve nöronların iletişiminin sağlanmasında önemli rol oynar. Asetilkolin esterazın inhibisyonu nöron dejenerasyonu ile solunum sisteminin kontrolünü azaltarak ölüme varabilen defektlere neden olabildiği söylenmektedir (Sparling ve diğerleri, 2007). Organofosfatlar, kimotripsin, asetilkolinesteraz, plazma ya da butirilkolinesteraz gibi karboksilik ester hidrolazları, hepatik karboksilesterazları, paraoxanazı ve diğer spesifik olmayan esterazları, inhibe ederek etki gösterir (Abdollahi ve diğerleri, 1996; Shadnia ve diğerleri, 2003; ve Ellenhorn ve diğerleri, 1997). Dünya sağlık örgütünün rakamlarına göre Asya ülkelerinde yılda üç milyon kişi organofosfat zehirlenmesi yaşamakta ve bunların iki yüz elli bininin ölmekte olduğu bildirilmiştir (WHO, UNEP. 1990) Organofosfat zehirlenmelerinde tedavi için kolinerjik depresyonun restorasyonu yoluyla gerçekleştirilmektedir, yüksek doz atropin uygulanarak tedavi uygulanmaya çalışılmaktadır (Rahimi ve diğerleri, 2006).

2.2.2 Toksisite

Canlı organizmalara zarar veren mineral, bitkisel, hayvansal ya da sentetik maddelere toksik madde ve bu maddelerle organizmanın geçici ya da sürekli olarak bozulması yani toksik etki oluşturmaları toksisite (zehirlenme, intoksikasyon) olarak tanımlanır.

Toksisite oluşumunu etkileyen faktörler:

1. Temas Yolu
2. Temas Süresi ve sıklığı
3. Doz

Temas Yolu

Toksik maddelerin vücuda giriş yolları oral, inhalasyon, dermal ve parantral yollardır. Toksik maddeler genel olarak en hızlı etkiyi ve en hızlı cevabı intravenöz yol ile vücuda alındıklarında meydana getirirler. Diğer giriş yolları için sıralama şu şekildedir: intravenöz > inhalasyon > intraperitoneal > subkutan > intramuskuler > intradermal > oral > dermal. (Nevin, 2005:20-36)

Temas Süresi ve Sıklığı

Ksenobiyotiklerle meydana gelen zehirlenmeler, toksik maddeye maruz kalma süresi ve sıklığına bağlı olarak;

- a) Akut zehirlenme
- b) Subakut zehirlenme
- c) Subkronik zehirlenme
- d) Kronik zehirlenme

Akut Zehirlenme

Akut zehirlenme, ksenobiyotiğin toksik dozuna bir kere veya 24 saatten az bir süre içinde birçok kere maruz kalma sonucu görülür. Akut maruz kalma sonucu maddeye ait akut zehirlenme belirtileri kısa bir süre içerisinde ortaya çıkar. Bu durum için bazı istisnai durumlardan da söz etmek mümkündür. Radyasyona akut maruz kalma sonucu karsinojenik etki maruziyetten yıllar sonra ortaya çıkabilir. Bu şekilde akut maruziyete rağmen toksik

etkinin sonradan görülmesine gecikmiş akut toksik etki denir. Maddelere ait akut zehirlenme belirtileri 24 saatlik temas testleri ile belirlenir (Tunçok, 2003 ve Güley, 1978)

Subakut Zehirlenme

1 ay veya daha az süre içerisinde toksik etki oluşturabilecek miktarda toksik maddenin organizmaya girmesi ile oluşan zehirlenmeye subakut zehirlenme denir. Pestisitlerin özellikle organik fosforlu insektisitlerin tarımda uygulanması sırasında bu tip zehirlenme olaylarına rastlanır. Subakut zehirlenme belirtileri akut zehirlenme belirtilerine çok benzerdir. Subakut zehirlenme belirtileri, 14 veya 28 günlük temas testleri ile saptanır (Dökmeci, 2001; Güley, 1978; ve Tunçok 2003).

Subkronik Zehirlenme

Ksenobiyotiğe temas süresi subakut ile kronik süre (1-3 ay) arasındadır. Zehirlenme belirtileri ve toksik etki şekli kronik zehirlenmeye daha yakındır. Subkronik zehirlenme belirtileri 90 günlük temas testleri ile saptanır (Dökmeci, 2001; Güley 1978; ve Tunçok 2003).

Kronik Zehirlenme

Organizmada birikme özelliğine sahip olan toksik maddelere 3 ay veya daha uzun sürede maruz kalma sonucu ortaya çıkan zehirlenmelerdir. Genel olarak bir maddenin organizmadan atılım hızı absorpsiyon hızına göre daha yavaş ise bu madde organizmada birikebilir yani kümülatif özellik gösterir. Kronik zehirlenme endüstride kimyasal maddelere maruz kalan işçiler için önemlidir. Kronik zehirlenme sonucu birçok meslek hastalıkları (benzolizm, silikozis, plumbizm) oluşmaktadır. Ayrıca çevre kirleticilerine (hava, su, besin maddelerindeki), DDT, klorobifeniller, kurşun, civa ve kadmiyum gibi kümülatif zehirlerle görülen kronik zehirlenmeler ise epidemiyoloji ve halk sağlığı açısından oldukça önemlidir. Kronik zehirlenmelerde başlangıçta bazen akut zehirlenme benzeri ancak daha hafif şiddette belirtiler ve uzun dönem sonunda maddeye ait kronik zehirlenme belirtileri görülmektedir.

Toksik maddelerin akut zehirlenme belirtileri ile kronik zehirlenme belirtileri birbirinden oldukça farklıdır. Örneğin akut benzen zehirlenmesinde başlıca toksik etki, santral sinir

sisteminin depresyonu iken, kronik benzen zehirlenmesinde ortaya çıkan başlıca toksik etki lösemidir (Dökmeci, 2001; Güley 1978; ve Tunçok 2003).

Doz

Toksisiteyi belirleyen temel faktördür. Uygun dozda kullanılmadığı takdirde her madde zararlı, olumsuz etkiler meydana getirebilir. Ksenobiyotiklerin geniş bir doz spektrumu vardır. Bu nedenle toksik etki oluşturma potansiyelleri birbirinden farklıdır. Genel kural olmasa da büyük ölçüde toksisiteyi doz belirler. Bir maddenin ne kadar toksik olduğunu ifade etmek için yani toksisite derecesini ifade etmek için akut toksisite letalite birimi olan LD50 ifadesi kullanılır.

LD50 (Letal Doz 50)

Solunum yolu dışında diğer tüm yollarla organizmaya girerek etki gösteren katı veya sıvı haldeki kimyasal maddelerin belirli koşullarda bir kez verildiğinde bir gruptaki deney hayvanlarının % 50' sini öldüren dozu ifade eder ve bu değer mg/kg olarak belirtilir. LD50 tayini için organizma maddeye hangi yol ile giriyorsa o yoldan deney hayvanlarına uygulanması daha stabil sonuçların elde edilmesine olanak sağlar. Veriliş yoluna göre maddenin LD50 değeri farklılık gösterebilir. LD50 değeri maddelerin toksik etki oluşturma potansiyellerini karşılaştırmayı sağlar ve bu ifade ile bir maddenin hangi dozlarda zararlı olduğunu da anlamak mümkündür (Dökmeci, 2001)

2.2.3 Organofosfat bileşikler ve akut toksikoloji

Bu grup pestisit üyeleri kolinesteraz inhibitörüdür ve kullanılan pestisitler arasında en toksik olanları olduğu belirtilmiştir (Wagner, 1989). Solunum yoluyla alındığında ilk olarak solunum sistemi etkilenir ve kanlı burun akıntısı, öksürük, göğüs ağrısı, nefes almada zorluk, bronşlarda sıvı azalması ve artmasına bağlı olarak hırıltılı solunum gözlenmektedir. Organofosfatlara deri yoluyla temas sonucu bölgesel terleme ve istemsiz kas kasılmaları meydana geldiği söylenmektedir. Göz ile temas sonucu gözde ağrı, kanama, gözyaşı, göz bebeğinde küçülme ve bulanık görme ortaya çıktığı gösterilmiştir. Bu maddelere maruziyet devam eder ise sistemik etkiler birkaç dakika ile 12 saat arasında başlamaktadır. Bu sistemik etkiler solgunluk, bulantı, kusma, diyare, abdominal kramplar, baş ağrısı, baş dönmesi, göz

ağrısı, bulanık görme, göz bebeğinde genişleme ve küçülme, terleme ve salivasyonu içermektedir.

Ciddi bir zehirlenme sonucunda merkezi sinir sistemi ve periferik sinir sistemi etkilenir (Smith ve diğerleri, 1993). Merkezi sinir sistemi omurilik ve beyinden oluşurken, periferik sinir sistemi tüm sinirler ve uzun fiberlerden oluşmaktadır. Genellikle AChE'nin normal aktivitesinin yarıya inmesi bu maddelere akut olarak maruz kalındığının göstergesidir.

Organofosfat ve karbamat maruziyetinde kan dolaşımındaki kolinesteraz seviyesinin ölçümü toksisiteyi gösteren iyi bir belirteç olduğu söylenmektedir (Smith ve diğerleri, 1993).

Organofosfatların efektif olarak asetilkolinesteraz inhibitörü olduğu bilinmektedir. Bunun yanında unintended hedefler de inhibe olabilirler. Bu beklenen inhibisyonlardan bir tanesi de serin hidrolazdır ki bu enzim OP ester bölgeleri için potansiyel hedef proteinlerdir. Henüz hala reversible (non-kovalent) inhibisyonlar konusunda organofosfat ve etkileştikleri molekül arasındaki ilişki tam olarak açıklığa kavuşturulabilmiş değildir. Organofosfatlarla reaksiyona giren, en iyi karakterize edilmiş enzim sınıflarından biri de karboksilesterazlardır. Bazı çalışmalarda karboksilesterazların, organofosfatlar için asetilkolinesterazlardan bile daha sensitif olduğu söylenmektedir (Ray ve diğerleri, 2001).

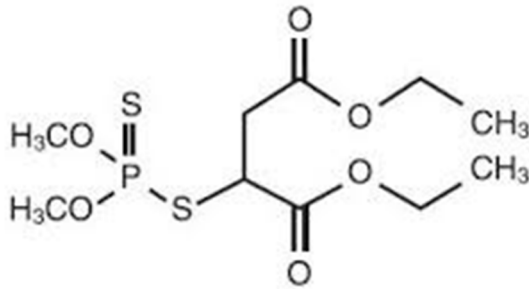
Son zamanlarda yapılan çalışmalarla birlikte asetilkolin esteraz inhibisyonunun yanı sıra, organofosfat toksisitesi için marker olabilecek başka enzimler de olduğu gösterilmiştir. Bunlardan öne çıkanlar Serin hidrolaz ve Lipaz'dır. Yapılan çalışmalar neticesinde Serum lipaz aktivitesinde inhibisyonlar gözlenmiştir (Casida, 2005).

Lipazlar molekül ağırlığı 47000 Dalton olan glikoproteinlerdir. Trigliseridleri digliseridlere ve ardından monogliseridler ve yağ asitlerinin oluşumunu katalizleyen trigliserid hidrolazları olarak tanımlanırlar. Lipaz aktivitesi tayini yüksek özgüllüğü ve hızlı yanıtı sayesinde uluslararası alanda giderek daha fazla kabul edilir olmuştur. Lipaz tayini için substrattaki azalmayı türbidimetrik ya da nefelometrik yolla belirleyen çok sayıda yöntem belirtilmiştir.

2.3. Malathion

Malathion, (2-(dimetoksitiyofosforiltiyo)suksinik asit dietil ester) non-sistemik, geniş spektrumlu organofosfat insektisittir. En erken geliştirilen organofosfat insektisitlerinden biridir. 1950 yılında Amerikan Cyanamid adlı kimya şirketi tarafından üretilmiştir. Malathion, tarım zararlılarının meyve ve sebzelere verdiği zararlı etkileri engellemek amacıyla kullanılmaktadır. Ayrıca sivrisinek, evlerde bulunan böcekler, ve ektoparazitler için de yaygın olarak kullanılmaktadır. Malathion'un genel yapısı Şekil 2.2.'de gösterilmiştir.

Malathionla birçok zehirlenme olayı pestisit ile çalışanlarda ya da kaza ile küçük çocukların Malathion'a maruz kalması sonucu meydana gelmektedir. Rapor edilen bir Malathion zehirlenmesinde %0,5 Malathion içeren aerosol bombasına maruz kalan çocukta ciddi kolinesteraz inhibisyonu görülmüştür (Gosselin ve diğerleri, 1984).



Şekil 2.2. Malathion genel yapısı

Islak toz halinde, sıvı ya da ultra düşük seviyeli (ulv) sıvı solüsyonlar halinde satışı yapılmaktadır. Malathion, hayvanlarda ve insanlarda ilaç olarak da kullanılmaktadır (Osweiler ve diğerleri, 1984; Wester ve Cashman 1989)

Malathionun kendisinden 40 kat daha toksik olan analogu Malaokson, bir safsızlık ürünü olarak Malathion ürünün içerisinde yer alabilir. Ayrıca bu durum malathionun toprak ya da havadaki oksidasyonu ile de gerçekleşebilir. Ancak oluşan yeni okside bileşiğin yarı ömrü malathiondan daha düşüktür. Diğer organofosfatlı bileşikler gibi malathion da asetilkolinesteraz inhibisyonu yaparak çeşitli böceklerde, hayvanlarda ve de insanlarda hayati tehlike oluşturabilecek şekilde hasar verebilir. Yüksek lipid içeriğine sahip bitkilerde

malathion kalıntılarında sıklıkla rastlanmaktadır. Meyve ve sebzelerin sadece su ile yıkanması bu kalıntıların uzaklaşması için yeterli değildir (Nath ve Srivastava, 1990). Sindirim, inhalasyon veya deriden absorpsiyonla kolayca insan vücuduna girebilir. Toksikitenin bağlı olduğu en önemli etmen karboksi ester grubunun varlığıdır ki bu grup memeli karaciğerinde bulunan karboksiesterazlarla hidrolize uğrar. Böceklerde bu enzim bulunmamaktadır ve biyodönüşüm ile daha toksik türev olan malaokson oluşur. Alkali aerobik koşullarda degradasyon için ana yol hidrolizdir. Sırasıyla malaokson, malathion alfa ve beta monoasit, dietil fumarate, dietil tiyomalat, O,O-dimetilfosforoditiyoik asit metabolit olarak oluşur (Singh ve diğerleri, 2009).

2.4. Organofosfat Bileşikler ve Malathionun Etkileri

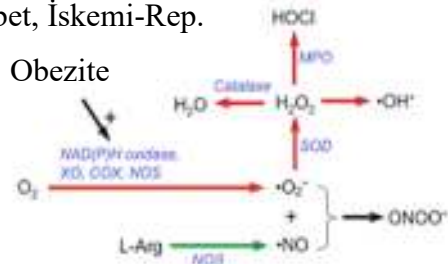
Yapılan birçok çalışmada malathion'un; oksidatif stres, organ/doku hasarı, inflamasyonla ilişkisi tartışılmaktadır.

2.4.1 Oksidatif Stres

Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve biyolojik sistemin detoksifiye edebilmesi ya da hasar oluşumunun düzeltilmesi arasındaki denge ilişkisi olarak tanımlanmaktadır. Normal redoks durumundaki hücrelerde peroksidaz ve serbest radikal oluşumu, hücrelerdeki protein, lipid ve DNA yapılarının hasar görmesine neden olur. Oksidatif hasar DNA sarmalında kırılmalara sebebiyet vererek ana hasar unsurlarından birini oluşturur. Ana unsur hasarlar, Superoksit radikali, hidroksil radikali ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca bazı reaktif oksidatif türler redoks sinyalizasyonunda hücrel mesajcı olarak da görev alırlar. Böylelikle oksidatif stres hücre sinyalizasyonunun mekanizmasında hasara neden olabilir (Kala ve arkadaşları 2015).

Inflamasyon

Diyabet, İskemi-Rep.



Şekil 2.3 Serbest radikal oluşum şeması

Reaktif oksijen türleri patojenleri yok etmek için immün sistem gibi kullanılan yüksek derecede reaktif olan türlerle aynı ailenin üyesidir. Buna rağmen, bu türler fazla bulunduğu patofizyolojik modelleri hücre hasarına neden olurken, direkt ya da çeşitli sinyal yollarında ara ürünler şeklinde çalışıp DNA hasarı, protein oksidasyonu ve lipid peroksidasyonu ile sonuçlanan membran hasarına yol açmaktadır. Reaktif nitrojen türleri de (RNT) aynı şekilde hareket etmektedir: Nitrik oksit radikali (NO) damar basıncını azaltma, hücre büyümesini engelleme gibi özelliklere sahipken, peroksinitrit anyonu (ONOO-) intraselüler ROT konsantrasyonunu artırmaktadır. (Geçkil, 2012)

Serbest radikaller meydana gelirken 3 farklı yol izleyebilirler;

-Normal bir molekülün kovalent bağının ortaklanmamış elektron kalacak şekilde homolitik parçalanması.

-Normal bir molekülün tek bir elektron kaybetmesi.

-Normal bir moleküle tek bir elektron eklenmesi.

Süperoksit Radikali

Artmış seviyede ki O_2 , hasarlayıcı etkisini $O_2^{\cdot-}$ radikalinin oluşumunu artırarak yapar ve bu mekanizma O_2 toksisitesinin süperoksit teorisi olarak adlandırılır. Her ne kadar bir serbest radikal ise de hasar oluşturucu bir tür değildir. Bunun nedeni yarı ömrünün uzun olmasına karşın bulunduğu yerden uzaklaşma yeteneğinin az olmasıdır. Asıl önemi H_2O_2 oluşturması ve geçiş metal iyonlarının redükleyicisi olmasıdır.

Tek bir elektronun transfer yoluyla O_2 'ye verilip redüklenmesi, kararsız bir yapı olan $O_2^{\cdot-}$ 'in oluşumuna neden olur (Cheeseman ve diğerleri, 1993; ve Bingöl, 1993).



Hidrojen Peroksit

Ürat oksidaz, glukoz oksidaz ve D-amino oksidaz gibi birçok enzim O_2 'ye iki elektron transfer ederek H_2O_2 üretir. Zayıf redüktan ve zayıf oksidandır. Asıl önemi geçiş metal iyonları varlığında OH^{\cdot} radikali oluşturmasıdır. İstenmeyen H_2O_2 hücrelerde katalaz ve glutatyon peroksidaz tarafından uzaklaştırılır (Guttridge ve diğerleri 1995).



Hidroksil Radikali

Hemen hemen bütün biyomoleküllerle reaksiyona girebilen diğer radikaller içinde en kuvvetli oksidan radikaldır. Çok kısa ömürlüdür ancak küçük miktarları bile aşırı hasara yol açabilir. OH[·] radikali üç tip reaksiyon yapar (Basaga, 1990; Cheeseman ve diğerleri, 1993; ve Bingöl, 1993).

- İlave reaksiyon (protein-protein, protein-lipid, lipid-lipid çapraz bağlanması)
- Hidrojen çıkarma
- Elektron transferi

DNA'da serbest radikal zincir reaksiyonları ve kimyasal baz değişiklikleri yaparak mutasyonlara ve onkojenik aktivite artışına neden olur.

H₂O₂'ye bir elektron ilave edilirse hidroksil radikali OH[·] ve hidroksil anyonu OH⁻ oluşur (Basaga 1990 ve Halliwell ve diğerleri, 1989).



Toksik OH[·] radikalinin oluşumunda demir, bakır gibi bazı metal iyonları da rol oynayabilir. Fe⁺³ iyonunun O₂⁻ radikali tarafından indirgenmesiyle oluşan Fe⁺², H₂O₂ ile reaksiyona girerek OH[·] radikalini meydana getirir. Bu reaksiyon Fenton reaksiyonu olarak bilinir. O₂⁻ radikalinin H₂O₂ ile Fe⁺² katalizli reaksiyonu da Haber-Weiss reaksiyonu olarak adlandırılmıştır ve bu reaksiyonda da OH[·] radikali oluşur (Basaga, 1990; ve Cheeseman ve diğerleri, 1993).

Fenton Reaksiyonu:



Haber Weiss Reaksiyonu:



Singlet Oksijen

Singlet oksijen serbest radikal değildir. Çünkü eşlenmemiş elektron taşımaz. H_2O_2 gibi serbest O_2 radikalleri ile birlikte tarif edilen reaktif O_2 türüdür. İki eşlenmemiş elektronun paralel spin gösterme özelliği yani spin kısıtlanması ortadan kaldırılırsa singlet O_2 oluşur (Cheeseman ve diğerleri, 1993; ve Guttridge ve diğerleri, 1995).

Perhidroksil radikali

Süperoksit radikaline direkt olarak bir proton verilerek $\text{HO}_2\cdot$ radikali oluşturulabilir. Perhidroksil radikalinin proton verme özelliği yani pKa değeri 4.8'dir ve asit ortamlarda bulunur. Bu sebepten dolayı vücut pH'sında $\text{O}_2^{\cdot-}$ radikali mevcuttur. Perhidroksil radikali süperoksit radikalinden daha kuvvetli oksidandır (Cheeseman ve diğerleri, 1996; ve Freeman ve diğerleri, 1982).



Karbon Merkezli Radikaller

Lipid, nükleik asit, karbohidrat veya protein gibi biyolojik bir moleküle oksitleyici ($\text{OH}\cdot$) bir radikalın etki etmesiyle oluşur. Bunlar çok hızlı bir şekilde O_2 ile birleşerek peroksi radikalini ($\text{ROO}\cdot$) oluşturur. Peroksi radikali lipid peroksidasyonunu başlatır. Bu peroksil radikallerinden alkoksil radikalleri ($\text{RO}\cdot$) de oluşabilir (Cheeseman ve diğerleri, 1993).



Hipokloröz Asit

HOCl vücutta aktive olmuş nötrofillerden oluşur ve güçlü oksidandır. Hem içeren MPO, fagositik hücrelerin stoplazmasında H₂O₂ ve Cl iyonlarından HOCl oluşturur. HOCl demir bağımlı ve demir bağımsız reaksiyonlarla hidroksil radikali oluşturabilir (Guttridge ve diğerleri, 1995; Moslen ve diğerleri, 1994).



Nitrojen Oksitler

Nitrik oksit (NO[•]) ve nitrojen dioksit (NO₂) tek sayıda elektron içerirler ve radikal olarak sınıflandırılırlar. NO süperoksit radikaliyle reaksiyona girerek reaktif ara basamak ürünü olan peroksinitriti (ONOO⁻) oluşturur. ONOO⁻ güçlü oksidan özelliği ile birçok biyolojik molekülde hasar meydana getirir. Metal katalizli reaksiyonlardan bağımsız asit pH'da OH[•] radikali oluşturur (Guttridge ve diğerleri, 1995).



Serbest radikaller, iki ayrı kaynaktan sınıflandırılabilir;

Endojen Kaynaklar

- Mitokondrial elektron transport sistemi
- Mikrozomal elektron transport sistemi
- Oksidan Enzimler
- Fagositik hücreler
- Nötrofiller ve immün sistemde yer alan diğer hücreler

Eksojen Kaynaklar

-İlaç ve diğer okside edici ajanlar

-İyonize radyasyon

-Güneş Işığı

-Isı şoku

Pestisitler ve diğer kimyasallar serbest radikal üretimi ve antioksidanlarda ya da serbest oksijen radikali önleyici enzim sisteminde bozulmaya yol açarak oksidatif strese sebep olmaktadır (Agrawal ve diğerleri, 1991; Almeida ve diğerleri, 1997; El-Sharkawy ve diğerleri, 1994; Koner ve diğerleri, 1997; Ray ve Banerjee, 1998).

2.4.2. Doku hasarı

Malathion toksisitesi asetilkolinesteraz inhibisyonu, oksidatif stres indüksiyonu, karaciğer hasarı ve böbrek fonksiyonun bozulmasıyla ilişkilendirilmektedir. Özellikle oral yolla vücuda giren toksik maddeler ya da ilaçların detoksifikasyonu karaciğerde gerçekleştirilir. Bu maddeler absorbe olup barsak hücre membranından geçebilmesi için az iyonize ve yağda çözünür olmalıdır. Bu maddeler karaciğerde hızla tutulurlar ve metabolize edilirler. Toksik etkiye maruz kalıp kliniğe gelen hastalarda karaciğer bozukluğu ile seyreden olgu sayısı çok yüksek olmamakla birlikte yapılan çalışmalarda, alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz, alkalin fosfataz, laktat dehidrogenaz, kreatinin kinaz gibi karaciğer enzimlerinin serum düzeylerinde belirgin artışlar olduğu ve bu artışlarla birlikte karaciğer oluşabilecek potansiyel hasar durumu incelenmiştir (Lasram ve diğerleri, 2014).

Toksik etkilerden hasar alabilecek bir diğer organ ise böbrektir. Toksik maddelerden ileri gelen akut böbrek yetmezliğine pratikte seyrek rastlanılmaktadır. Kanda üre ve kan kreatinini çalışmak ya da morfolojik olarak incelemek (mikroskopik) suretiyle oluşabilecek potansiyel hasarın izlenmesi gerekmektedir (Lasram ve diğerleri, 2014).

2.4.3 İmmün yanıt ve inflamasyon

Çevre Koruma Ajansı (EPA), Uluslararası Kimya Güvenlik Programı (IPCS) ve Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) gibi bazı önemli kuruluşlar, insektisitlerin immunsupresan gruplarına dahil etmeyi önermektedirler (Vos ve arkadaşları, 1995). Hayvanlar üzerinde insektisitlerde yapılan çalışmalarda enfeksiyonlara karşı hassasiyetin arttığı gözlenmiştir (Dean ve diğerleri, 2001). Ayrıca malathionla yapılan çalışmada alerjik reaksiyonları da arttırdığı söylenmektedir (Brenner ve diğerleri, 1992).

İnflamasyon, patojenler, hasarlı hücreler ya da iritanlar gibi zararlı uyarılara karşı vücut dokularının verdiği kompleks biyolojik yanıtın bir parçası olarak tanımlanmaktadır (Ferrero-Miliani ve diğerleri, 2007).

İnflamasyon, immün hücreler, kan damarlarını ve moleküler mediyatörleri kapsayan koruyucu bir yanıttır. İnflamasyonun amacı, hücre hasarının ilk nedenini ortadan kaldırmak, nekrotik hücreleri uzaklaştırmak ve doku onarımını başlatmak olarak söylenmektedir.

Tüm organizmalarda immunitenin temelinde, organizmanın yabancı istilacılara karşı inaktivasyonu ya da eliminasyonunu içerir. Bu eylemler patolojik mikroorganizmaları ve onların ürünlerini kapsamaktadır. Yüksek vertebralılarda daha spesifik bir immün sistem içermektedir. Bu sistem humoral ve hücreyel yanıtı içermektedir. Birincil lenfoid organlar T ve B lenfositlerin farklılaştığı timus ve kemik iliğidir ve özel fonksiyonları burada geliştirirler. Olgun lenfositler, kandaki ve dokulardaki ikincil lenflere göçerek immün surveillance ı oluştururlar.

Vücuda yabancı bir madde girdiğinde, öncelikle ve ağırlıklı olarak makrofajlar tarafından tanınır. Uyarılan B lenfosit bölünerek, farklılaşarak ve olgunlaşarak sitokinlerin salınımı ile plazma hücrelerinden antikolar, antijenleri inaktive etmek ve hasar vermek için salınırlar (Galloway ve diğerleri, 2003).

İnflamasyon akut ve kronik olmak üzere sınıflandırılmaktadır. Zararlı uyarana karşı vücudun başlangıç yanıtı akut inflamasyon olarak adlandırılmaktadır ve kandan hasarlı dokulara plazma ve lökosit (özellikle granulosit) hareketinde artışla gerçekleşmektedir. Bir dizi

biyokimyasal olaylar başlar ve inflamatuvar yanıt, lokal vasküler sistem, immun sistem ve hasarlı dokudaki birçok hücre ile birlikte olgunlaşır.

2.4.4. Glukoz Metabolizması

İnflamasyon, oksidatif stres, doku hasarı gibi etkilere sahip olan malathionun karbohidrat metabolizmasına da etkileri bulunmaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda karaciğer ve iskelet kaslarındaki glukoz metabolizmasını hiperglisemik etkiyi indüklediği söylenmektedir. Ayrıca karaciğerde glikojenoliz ve glukoneojenolizi arttırdığı ve iskelet kasında glukojenoliz arttırdığı söylenmektedir (Abdollahi ve diğerleri, 2004a)

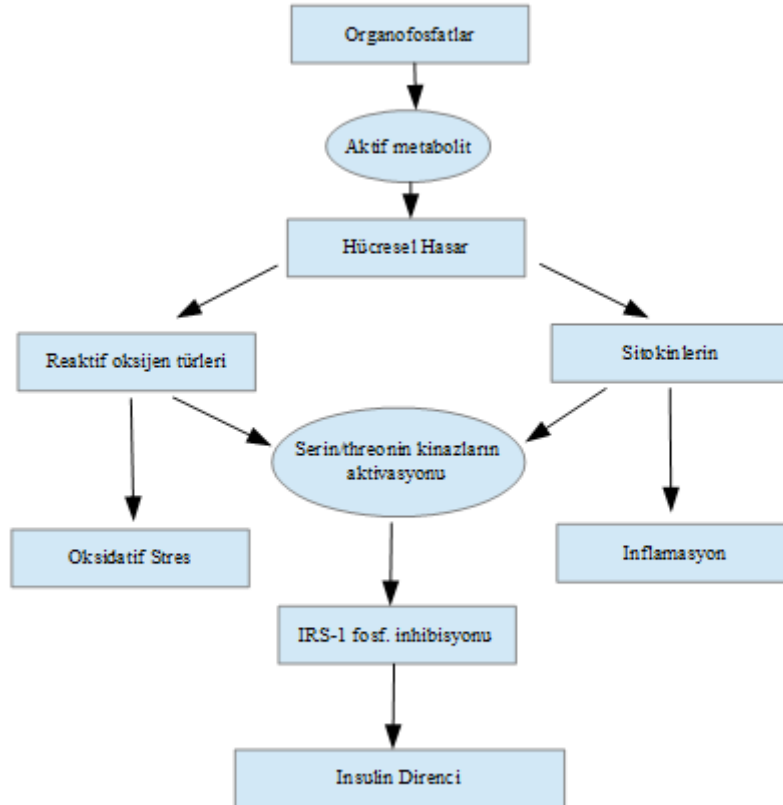
Glukotoksisite denilen patofizyolojik proseste, kronik hiperglisemi insulün salınımını etkilemekte ve insulün direncini arttırmaktadır. Yüksek hücre içi glukoz düzeyi, glukoz stimülasyonuna B-hücrelerini duyarsızlaştırır. Ayrıca glukotoksisite glukoz transport sistemini down regülasyona uğratarak insulün direnci oluşumunu da arttırmaktadır. Diğer yandan glukoz heksokinazla glukoz-6-fosfata çevrilir ve glikolize katılır. Kronik hiperglisemi sırasında heksokinaz doygun hale getirilir. Böylece glukoz periferel dokularda ve pankreatik B-hücrelerde birikir. B-hücrelerindeki yüksek glukoz düzeyleri apoptotik sinyal yolunu aktive edebilir (Burg ve diğerleri, 1995). Nitekim B-hücre apoptosisi İnterlökin-1B artışıyla ilişkilidir. Bu durum NF-KB ve PKCgama aktivasyonu ile sonuçlanır. Bunlar iNOS geninin aktivasyonundan sorumludurlar ve NO oluşumunu neden olurlar. NO oluşumu pankreatik B-hücrelerinin apoptosisi için major uyarı yapar (Carpenter ve diğerleri, 2001)

Yıllardır yapılan çalışmalarda inflamasyon ve diyabet arasında ilişki konu alınmıştır. Bu çalışmalardan, sodium salisilat uygulamasıyla diyabetik hastalarda idrar glikoz düzeyinde azalma gözlenmiştir (Shoelsen ve diğerleri, 2007). Bu tür durumlarda inflamasyon ve glukoz metabolizmasını ayrı düşünmemek gerekmektedir. Yapılan başka bir çalışmada ise obez kemirgenlerin adipoz dokularında ve kanlarında TNF alfa gibi pro-inflamatuvar ajanların yüksek olduğu görülmüştür. Bu hayvanlar TNF alfa'nın inhibisyonuna duyarlı olduğu gösterilmiştir (Hotamışlıgil ve diğerleri, 1993).

Diğer yandan oksidatif stresin de glukoz metabolizmasında önemli olduğu bilinmektedir. Adiposit kültürde yapılan çalışmalarda hidrojen peroksidin insulün metabolik etkilerini taklit

ederek; glukoz transportunun aktivasyonu, lipid ve glikojen sentezini ve lipoliz inhibisyonuna neden olduğu gösterilmiş ve bu etkilerin insulin sinyal yolunun aktivasyonu ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (May ve de Haen, 1979; ve Heffetz ve diğerleri, 1992)

Yapılan birçok çalışma neticesinde glukoz metabolizması üzerinde inflamasyon ve oksidatif stresin etkisiyle oluşan insulin direnci için bir hipotez ortaya atılmıştır. Bu hipoteze göre insulin direnci için IRS-1 fosforilasyonunun inhibe olması gerekmektedir. Bu fosforilasyonunun inhibe olması için Janus kinaz gibi serin kinazların aktivasyonu gereklidir. Diğer yandan organofosfatlar pro-inflamatuvar sitokinlerin oluşumuna neden olur ki oluşan bu sitokinler Janus kinaz ve IKKB yollarının aktivasyonundan sorumludurlar (Krebs ve Roden, 2005). Pro-inflamatuvar sitokinlere ek olarak, organofosfatlar oksidatif stresi de arttırmaktadırlar. Reaktif serbest radikal türleri Janus kinaz ve IKKB gibi serin kinaz kaskatını aktive ederler (de Luca ve Olefsky, 2008; ve Samuel ve Shulman, 2012).



Şekil 2.4 İnsulin direnç oluşum şeması (Lasram ve diğerleri, 2014)

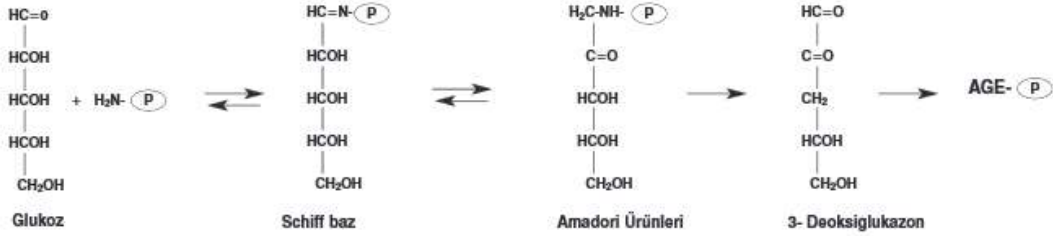
Son yıllarda birçok hastalıkta insülin direncinin tahmin edildiğinden daha sık olduğu anlaşılmaya başlanmıştır. İnsülin direncinde görülen metabolik değişiklikler şu şekilde özetlenebilir; hiperglisemi, artmış lipoliz ve protein katabolizması gibi insülin eksikliğindeki metabolik durum olmasına rağmen artmış plazma insülin düzeyi (hiperinsülinemi) bulunmaktadır. Ağır hastalıklarda hiperinsülinemiye rağmen insülin direnci olmasından dolayı hepatik glikoneogenez baskılanamamakta ve böylelikle hiperglisemi hastalık süresince devam etmektedir. Ancak hiperglisemiden stres hormonlarına ve insülin cevapsızlığına bağlı artmış glikoz oluşumu kadar, periferik dokudaki insülin direnci sonucu glikoz kullanımındaki bozukluk da sorumludur (Shulman ve diğerleri, 2000; Berg ve diğerleri, 2002 ve Haffner ve diğerleri 1999)

Periferik insülin direncinin mekanizmasının büyük oranda insülin reseptöründeki değişikliklerle ilişkili olduğu düşünülmektedir. İnsülin reseptöründeki değişiklikler ya reseptör ekspresyonunda bir bozulmayı, ya da hücre içine glikoz alımındaki (glikoz uptake) sinyal yolağında bir patolojiyi içermektedir. Ek olarak iskelet kası, kalp kası ve adipoz dokuda insüline bağımlı glikoz transportundan sorumlu glikoz transporter-4 (GLUT-4) izoformundaki defektler de insülin direncinden sorumludur. İnsülin reseptörüne bağlandıktan sonra tirozin kinaz aktivitesi ile sinyal proteinleri uyarılır. Sinyal proteinlerinden insülin reseptör substrat-1 (IRS-1) insülinin metabolik etkilerinden sorumlu molekülleri aktive eder ve ilk olarak fosfotidilinositol-3-kinaz (PI-3-kinaz) aktivasyonunu gerçekleştirir. PI-3-kinazın en önemli görevi intraselüler kompartmandan hücre zarına GLUT-4 translokasyonunu sağlamak ve bu sayede hücre içi glikoz alımını artırmaktır. Sonuçta periferik dokuda insülin GLUT-4 aracılığıyla glikozun hücre içine alınıp kullanılmasını sağlar. Epinefrinin, insülinin reseptöre bağlanmasını, GLUT-4 translokasyonunu ve IRS-1 aktivitelerini inhibe ederek periferik insülin direncine neden olduğu gösterilmiştir (Shulman ve diğerleri, 2000; Berg ve diğerleri, 2002 ve Haffner ve diğerleri 1999).

İleri Glikasyon Son Ürünleri (AGEs):

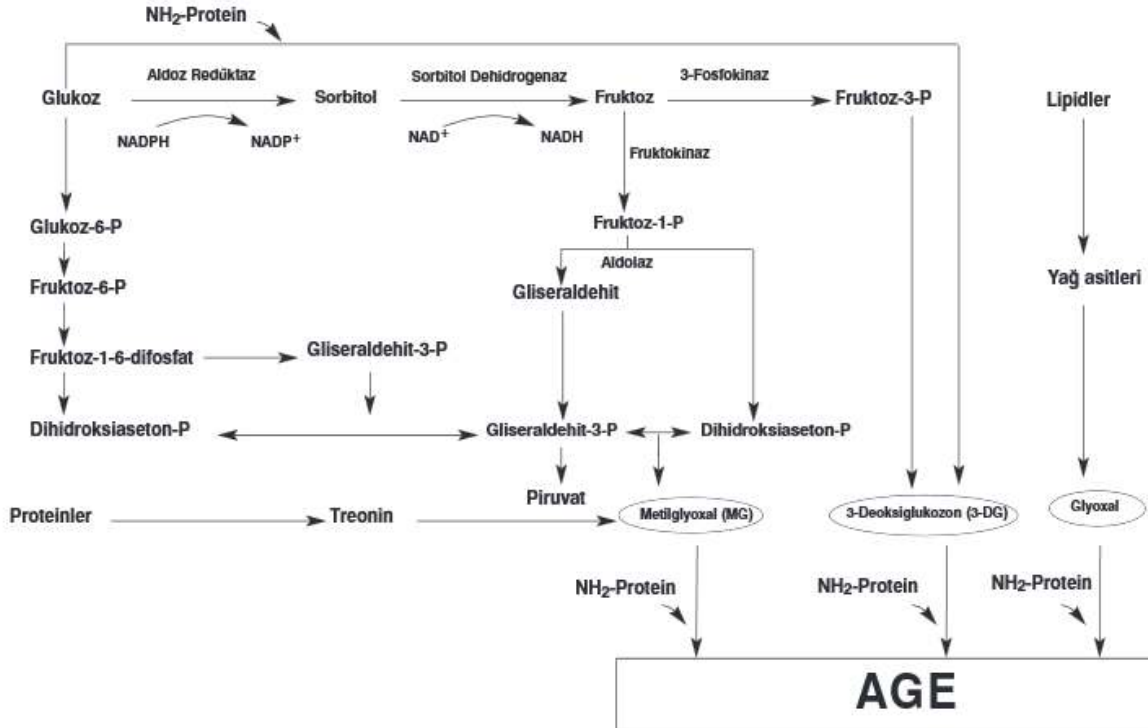
AGE'ler, proteinler, lipoproteinler ve/veya nükleik asitlerde bulunan azotlu grupların, indirgeyici şekerlerin karbonil grupları ile non-enzimatik glikasyonu sonucu oluşan heterojen bileşiklerdir. AGE ürünleri protein glikasyonu, şekerin karbonil grubu ile proteinin serbest amino grubunun Schiff bazı oluşturmasıyla başlamaktadır. Schiff bazı oluşumu

saatler içerisinde gerçekleşmekte ve sonrasında günler içerisinde Amadori ürünlerine dönüşmektedir. Amadori ürünleri ise daha sonra dikarbonil bileşiklerine ve sonrasında da haftalar içerisinde AGE'lere dönüşmektedir.



Şekil 2.5. Protein glikasyonu ve AGE oluşumu (Parmaksız, 2011)

AGE oluşumunda diğer bir mekanizma ise diyabette artmış olan oksidatif strese bağlı olarak şeker veya lipidlerin oksidasyonu sonucunda, ara ürün olarak reaktivitesi yüksek 3-deoksiglukozon, glyoxal ve metilglyoxal gibi düşük molekül ağırlıklı dikarbonil bileşiklerinin oluşumudur. Dikarbonil bileşikler genel olarak glikoliz ara ürünlerinden, glikasyona uğramış proteinlerin degradasyonundan ve lipidlerin peroksidasyonundan oluşabilmektedir (Singh ve diğerleri, 2001).



Şekil 2.6. AGE oluşum mekanizmaları (Parmaksız, 2011)

2.4.5 Antioksidan sistem

Antioksidan savunma sistemi normal hücre metabolizmasında ki ROT üretimine karşı hücrel homeostazisi korumaktadır. Antioksidan sistem metabolik enerjinin kullanıldığı antioksidan maddeler tarafından korunur. Antioksidan maddeler, alıp verdikleri elektronlar ile eşleşmemiş durumda olanları elimine ederek için serbest radikal oluşumunu azaltabilirler. Genellikle, antioksidan moleküller ROT'ları süpürme esnasında daha kararlı ya da daha az reaktif serbest radikaller haline dönüşebilirler. Birçok durumda süpürücü moleküller serbest radikallerle kombine olması için hidrojen radikali temin etmektedir. Sonuç olarak yeni radikalın ömrü eşlenik sistem sayesinde başlangıçta olandan daha fazladır (Spiteller ve diğerleri, 2003). Ömrü uzatılan bu radikalın ikinci radikal ile reaksiyona girilmesine izin vermektedir ve böylelikle bir süpürücü molekül iki radikali yok edebilmektedir.

Tüm organizmada, oksidanlar ve antioksidanlar arasında bir dengeden söz edilmektedir. Bu denge oksidatif denge olarak isimlendirilir. Hücrelerin sağlıklı bir şekilde işlevlerini yapabilmeleri bu dengeye bağlıdır. Serbest radikallerin oluşum hızı ile ortadan kaldırılmaları hızları dengede olduğu sürece organizma bu durumdan zarar görmemektedir. Buna karşın bu serbest radikallerin oluşum hızı, sistemin ortadan kaldırma gücünden fazlaysa bu denge bozulur ve oksidatif stres ortaya çıkar (Başaga, 1990)

Oksidatif stres = Prooksidan ajanlar / Koruyucu antioksidanlar

Antioksidanlar etkileri iki şekilde gösterebilirler;

Serbest radikal oluşumunun önlenmesi

- Başlıca reaktif türlerin uzaklaştırılması
- Oksijen uzaklaştırıcı veya konsantrasyonunu azaltıcı etki
- Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırıcı etki

Oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi;

- Toplayıcı etki: Reaktif oksijen türlerinin tutulması ya da daha az reaktif başka moleküle çevrilmesi
- Bastırıcı etki: Reaktif oksijen türlerine bir proton ilavesiyle aktivite kaybı oluşturulması
- Onarıcı etki

- Zincir kırıcı etki: Reaktif oksijen türleri ve zincirleme reaksiyonu başlatacak diğer maddelerle etkileşerek reaksiyonların durdurulması (Halliwell ve diğerleri, 1983).

Antioksidan molekülleri endojen olarak üretilebildiği gibi eksojen olarak diyet veya antioksidan takviyesi ile de alınmaktadır. Endojen olan başlıca antioksidan enzimleri süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px)'dir. SOD, süperoksit anyonunu hidroperoksile (H_2O_2) dönüştürmektedir, ayrıca hidroperoksil katalaz ve glutatyon peroksidaz için substrattır. Katalaz, hidroperoksili su ve oksijene metabolize eder ve glutatyon peroksidaz glutatyon (GSH) ile reaksiyona girdiğinde H_2O_2 ve organik hidroperoksidaza redükte olur (Andreoli ve diğerleri, 1991).

E ve C vitamini gibi eksojen antioksidanlar hücre membranında, hücre içinde ve hücre dışında bulunmaktadır. ROT'ları uzaklaştırmak ve inhibe etmek için reaksiyona girerler. Membranın hidrofobik lipit iç tabakası farklı spektrumlarda antioksidana ihtiyaç duymaktadır. Yağda çözünebilen E vitamini membran bütünlüğünün kaybını önlemek için bulunan en önemli antioksidanlardan biridir (Rodrigo, 2009).

3. YÖNTEM

Bu çalışma, 12.03.2014 tarihinde Gazi Üniversitesi Yerel Etik Kurulu tarafından G.Ü. ET. 14.015 kod numarası kararı ile kabul edilmiş (EK-1) ve Ocak 2015 tarihinde 01/2015-01 proje koduyla Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir.

3.1. Kullanılan Gereçler

3.1.1 Deney hayvanları

Bu çalışmada ortalama ağırlığı 230 gr olan 24 adet dişi Wistar albino rat kullanılmıştır. Çalışma grubunu oluşturan tüm ratlar, Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi (GÜDAM) bünyesinde, normal musluk suyu ve standart fare yemi ile serbest olarak beslenmiştir.

3.1.2. Kullanılan aletler ve cihazlar

- 1- Elisa Analizatör (Sunrise)
- 2- Elisa Yıkayıcı (Tecan)
- 3- Spektrofotometre (Libra)
- 4- Otoanalizör (Roche Cobas model E411 marka ve Beckman Coulter marka AU2700 model)
- 5- Hassas terazi (Radwag AS220C/2)
- 6- Vorteks (Asistant, Reamix2789)
- 7- Santrifüj cihazı (Thermo Scientific, Heraeus Megafuce 40R)
- 8- Otomatik pipetler (Transferpette, İsolab, Medispec-plus, Isotherm)

3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler

Çalışmada kullanılan kimyasalların tamamı Sigma markadır.

Folin ciocalteu's fenol, Sodyum Dodesil Sülfat (SDS), 1,1,3,3-tetraetoksipropan (TEP), Sodyum potasyum tartarat, Tiobarbitürik asit (TBA), Asetik asit (CH₃COOH), n-butanol (C₄H₉OH), piridin (C₆H₆),

3.2. Seçilen Deney Hayvanları ve Grupların Oluşturulması

Hayvanlar her grupta 6 adet olacak şekilde 4 gruba ayrıldı.

1. **Grup 1 (Kontrol Grubu):** Oral gavaj yoluyla vücut ağırlıklarıyla orantılı olarak mısır yağı verildi.
2. **Grup 2 (Malathion 100mg/kg):** Mısır yağı içinde 100mg/kg Malathion gavaj yoluyla verildi.
3. **Grup 3 (Malathion 200mg/kg):** Mısır yağı içinde 200mg/kg Malathion gavaj yoluyla verildi.
4. **Grup 4 (Malathion 400mg/kg):** Mısır yağı içinde 400mg/kg Malathion gavaj yoluyla verildi.

Hayvanlar bir günün sonunda ketamin-ksilazin anestezisi altında, intrakardiyak yolla kanları alınarak feda edildi. İleri glikasyon son ürünleri (AGEs), tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α), total oksidan durum (TOS), Malondialdehit (MDA), Alanin aminotransferaz (ALT), Aspartat aminotransferaz (AST), Laktat dehidrojenaz (LDH), Alkalen Fosfotaz (ALP), Kreatinin Kinaz (CK), İnsulin, Glukoz, Amilaz, Lipaz, Üre, (BUN), Kreatinin düzeylerini ölçmek için kanlar 3000g'de 5 dakika santrifüj edilerek serumlar elde edildi.

3.3. Serum Örneklerinin Hazırlanması

Serum örnekleri çalışılana kadar -80°C 'de saklandı. G6PD çalışması yapılan tam kan örneklerinin alındığı gün ölçümü yapıldı.

3.4. Metotların Uygulanması

3.4.1. Serum Malondialdehit (MDA) Analizi

Serum MDA seviyesi sodyum dodesil sülfat (SDS) ile bağlanmasıyla örnekte bulunan MDA'nın tiobarbitürik asit (TBA) ile ortam pH'sı 3,5 olduğu şartlarda oluşturduğu komplekse bağlı kırmızı rengin spektrofotometrik ölçümüne dayanarak belirlendi (Ohkawa ve diğerleri, 1979).

Kullanılan Reaktifler:

- % 8,1 Sodyum Dodesil Sülfat (SDS); distile su içinde hazırlandı.
- % 0,8 Tiobarbitürik asit (TBA); distile su içinde hazırlandı.
- %20 Asetik asit (CH_3COOH); distile su içinde hazırlandı (NaOH ile pH=3,5'a ayarlandı).
- n-butanol / piridin (15:1 v/v)

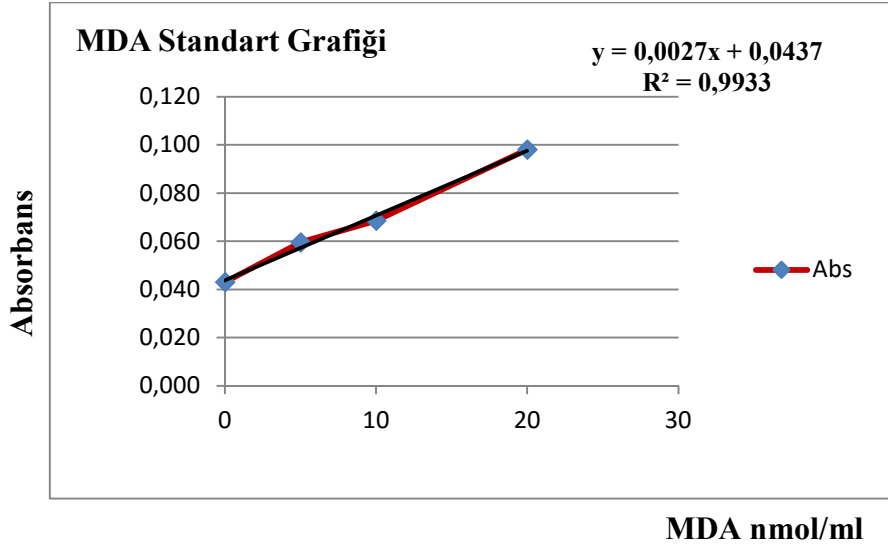
Deneyin yapılışı:

Çizelge 3.1. Serum MDA deneyi

	Numune Tüpleri	Standart Tüpler
Standartlar (5-20 nmol/L)	-	50 μl
Distile su	150 μl	150 μl
Serum	50 μl	-
SDS	50 μl	50 μl
TBA	375 μl	375 μl
Asetik asit	375 μl	375 μl

Numune ve standart tüplere Çizelge 3.1.'de gösterildiği üzere solüsyonlar ve miktarları eklendi. Elde edilen karışım 1 saat, 95 $^{\circ}\text{C}$ 'de su banyosunda kaynatıldı ve hemen soğutulularak tüplere 250 μl distile su ve 1.250 ml n-butanol / piridin (15/1 v/v) karışımı eklendi. Daha sonra 400 rpm'de 10 dakika santrifüj edilip üst faz 532 nm'de n-butanole karşı okundu.

MDA standart olarak 1,3,3,3 tetrametoksi propan kullanılarak standart grafik elde edildi (Şekil 3.1.) ve örneklerin absorbens değerlerinin nmol/lit cinsinden serum MDA seviyesi saptandı. Sonuçlar numune konsantrasyonu ile çarpılarak "nmol/ml" olarak sonuçlar belirlendi.



Şekil 3.1. Serum MDA standart grafiği

3.4.2. Serum TOS Analizi

Serum TOS, Rel Assay Diagnostics Kit ile ölçüldü. Bu kit, serum numunelerinde var olan oksidanların ferröz (Fe^{+2}) iyonları ferrik (Fe^{+3}) iyona dönüştürmesi sonucu Fe^{+2} 'nin asidik ortamda kromojen ile renkli bir bileşik oluşturması sonucunda spektrofotometrik olarak ölçüm esasına dayanmaktadır. Assay, H_2O_2 ile kalibre edilmektedir ve sonuçlar litre başına mikromolar hidrojen peroksit eşdeğeri cinsinden ifade edilmiştir ($\mu\text{mol } H_2O_2 \text{ Equiv./L}$).

Kit içeriği:

Kit içeriği Çizelge 3.2.' da gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. TOS Rel assay diagnostics kit içeriği

İçerik		Konsantrasyon
Reaktif 1 (Tampon çözeltisi H_2SO_4)		25 mM, pH = 1.75
Reaktif 2 (Substrat çözeltisi)	H_2SO_4	25 mM, pH = 1.75
	Ferröz iyon	5 mM
	O-dianisidine	10 mM
SSS (Stabilize Standart Solüsyonu)		20 $\mu\text{mol } H_2O_2 \text{ Equiv./L}$

Deneyin Yapılışı:

Çizelge 3.3. Serum TOS deneyi

	Doku Süpernatant Tüpü	Standart Tüpü
Standart	-	75 µl
Numune	75 µl	-
Reaktif 1	500 µl	500 µl
Solüsyonlar eklendikten 30 saniye sonra 530 nm dalga boyunda ilk absorbans değeri okundu (A1).		
Reaktif 2	25 µl	25 µl

Çizelge 3.3.'deki reaktif 2 numune ve standart tüplere eklendikten 5 dakika sonra 530 nm dalga boyunda ikinci absorbans değeri okundu (A2).

Hesaplama:

Standart Konsanstrasyonu (SK) = 20 µmol / L

$$\text{Serum TOS Sonuç (µmol / L)} = \frac{\text{Numune absorbans farkı (A2 - A1)}}{\text{Standart absorbans farkı (A2 - A1)}} \times \text{SK}$$

3.4.3. Serum AGEs Analizi

Serum AGEs, Shanghai YH Biosearch marka (Katalog No: YHB0048Ra) elisa kit ile çalışıldı. Bu kit, AGEs monoklonal antikor yaptığı kompleksin biyotin ile işaretlenmesi yıkama ve inkübasyon sonrası substratlarla rengin maviye sonrasında yeşil renge değişiminin spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanmaktadır

Kit içeriği:

- ELISA plate
- Standard solution (96 ng/ml)
- Streptomycin-HRP
- Streptavidin-HRP
- Stop solüsyonu
- Kromojenik reaktif A
- Kromojenik reaktif B
- Anti AGEs antikor (biyotinle işaretlenmiş)
- Standart dilüsyon
- Yıkama solüsyonu

Standartların hazırlanışı:

Çizelge 3.4. AGEs kit standartlarının hazırlanışı

Standart 5	48 ng/ml	120µl Standart + 120µl Standart dilüsyon
Standart 4	24 ng/ml	120µl Standart 5 + 120µl Standart dilüsyon
Standart 3	12 ng/ml	120µl Standart 4 + 120µl Standart dilüsyon
Standart 2	6 ng/ml	120µl Standart 3 + 120µl Standart dilüsyon
Standart 1	3 ng/ml	120µl Standart 2 + 120µl Standart dilüsyon

Çizelge 3.4.'da gösterildiği gibi seri dilüsyonlarla standartlar hazırlandı.

Yıkama solüsyonu hazırlanışı:

Yıkama solüsyonu distile su ile (30X) seyreltildi.

Deneyin Yapılışı:

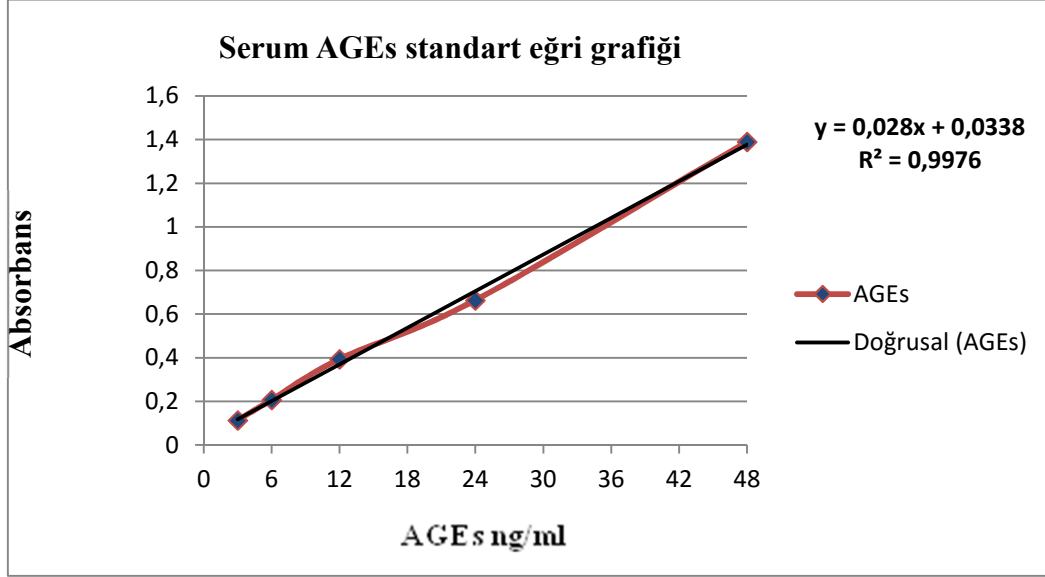
Çizelge 3.5. Serum AGEs analizi

	Numune	Standart	Blank
Standart	-	50 µl	-
Numune	40 µl	-	-
Streptomycin-HRP	-	50 µl	-
AGEs antikor	10 µl	-	-
Streptavidin-HRP	50 µl	-	-
Solüsyonlar eklendikten plate üstü membran kağıtla kapatıldı. Hafifçe karıştırıldıktan sonra 37 °C'de 1 saat inkübe edildi. Sonrasında plateki her bir kuyucuk 5 kere olmak üzere yıkanıp, kurutuldu.			
Kromojenik reaktif A	50 µl	50 µl	50 µl
Kromojenik reaktif B	50 µl	50 µl	50 µl
Solüsyonlar eklendikten sonra plate karanlıkta 10 dakika inkübe edildi.			
Stop solüsyonu	50 µl	50 µl	50 µl

Hesaplama:

Stop solüsyonu kuyucuklara eklendikten 10 dakika içinde 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümüne dayanarak belirlendi. Blank'te okunan absorbans değeri standart ve numunelerde okunan absorbans değerinden çıkarıldı. Şekil 3.2.'da gösterildiği

gibi standart eğri grafiği ve denklemini hesaplandı ve bu denklemden numunelerin konsantrasyonu “ng / ml” olarak belirlendi.



Şekil 3.2. Serum AGEs standart eğri grafiği

3.4.4. Serum TNF- α Analizi

Serum TNF- α Shanghai YH Biosearch marka (Katalog No: YHB1098Ra) elisa kit ile çalışıldı. Bu kit, TNF- α 'nın monoklonal antikor ile yaptığı kompleksin biyotin ile işaretlenmesi, yıkama ve inkübasyon sonrası substratla muamelesinin ardından oluşan rengin spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanmaktadır.

Kit içeriği:

- ELISA plate
- Standard solution (1280ng/L)
- Streptomycin-HRP
- Streptavidin-HRP
- Stop solüsyonu
- Kromojenik reaktif A
- Kromojenik reaktif B
- Anti TNF- α antikor (biyotinle işaretlenmiş)
- Standart dilüsyon
- Yıkama solüsyonu

Standartların hazırlanışı:

Çizelge 3.6. TNF- α kit standartlarının hazırlanışı

Standart 5	640 ng/L	120 μ l Standart + 120 μ l Standart dilüsyon
Standart 4	320 ng/L	120 μ l Standart 5 + 120 μ l Standart dilüsyon
Standart 3	160 ng/L	120 μ l Standart 4 + 120 μ l Standart dilüsyon
Standart 2	80 ng/L	120 μ l Standart 3 + 120 μ l Standart dilüsyon
Standart 1	40 ng/L	120 μ l Standart 2 + 120 μ l Standart dilüsyon

Çizelge 3.6.'de gösterildiği gibi seri dilüsyonlarla standartlar hazırlandı.

Yıkama solüsyonu hazırlanışı:

Yıkama solüsyonu distile su ile (30X) seyreltildi.

Deneyin Yapılışı:

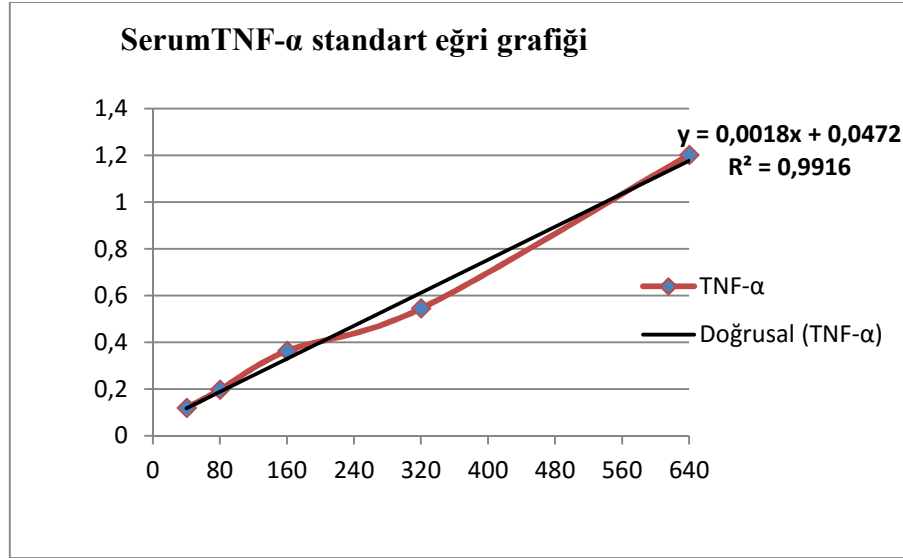
Çizelge 3.8. Serum TNF- α analizi

	Numune	Standart	Blank
Standart	-	50 μ l	-
Numune	40 μ l	-	-
Streptomycin-HRP	-	50 μ l	-
TNF-α antikor	10 μ l	-	-
Streptavidin-HRP	50 μ l	-	-
Solüsyonlar eklendikten plate üstü membran kağıtla kapatıldı. Hafifçe karıştırıldıktan sonra 37 $^{\circ}$ C'de 1 saat inkübe edildi. Sonrasında plateki her bir kuyucuk 5 kere olmak üzere yıkanıp, kurutuldu.			
Kromojenik reaktif A	50 μ l	50 μ l	50 μ l
Kromojenik reaktif B	50 μ l	50 μ l	50 μ l
Solüsyonlar eklendikten sonra plate karanlıkta 10 dakika inkübe edildi.			
Stop solüsyonu	50 μ l	50 μ l	50 μ l

Hesaplama:

Stop solüsyonu kuyucuklara eklendikten 10 dakika içinde 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümüne dayanarak belirlendi. Blank'te okunan absorbands değeri standart ve numunelerde okunan absorbands değerinden çıkarıldı. Şekil 3.3.'de gösterildiği

gibi standart eğri grafiği ve denklemini hesaplandı ve bu denklemden numunelerin konsantrasyonu “ng / L” olarak belirlendi.



Şekil 3.3. Serum TNF-α standart eğri grafiği

3.4.5. Serum İnsulin Analizi

Serum İnsulin, Shanghai YH Biosearch marka (Katalog No: YHB1098Ra) elisa kit ile çalışıldı. Bu kit, İnsulin 'nın monoklonal antikor ile yaptığı kompleksin biyotin ile işaretlenmesi, yıkama ve inkübasyon sonrası substratla muamelesinin ardından oluşan rengin spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanmaktadır.

Kit içeriği:

- ELISA plate
- Standard solution (24 mIU/L)
- Streptomycin-HRP
- Streptavidin-HRP
- Stop solüsyonu
- Kromojenik reaktif A
- Kromojenik reaktif B
- Anti İnsulin antikor (biyotinle işaretlenmiş)
- Standart dilüsyon
- Yıkama solüsyonu

Standartların hazırlanışı:

Çizelge 3.8. İnsulin kit standartlarının hazırlanışı

Standart 5	24 mIU/L	120µl Standart + 120µl Standart dilüsyon
Standart 4	12 mIU/L	120µl Standart 5 + 120µl Standart dilüsyon
Standart 3	6 mIU/L	120µl Standart 4 + 120µl Standart dilüsyon
Standart 2	3 mIU/L	120µl Standart 3 + 120µl Standart dilüsyon
Standart 1	1,5 mIU/L	120µl Standart 2 + 120µl Standart dilüsyon

Çizelge 3.7.'de gösterildiği gibi seri dilüsyonlarla standartlar hazırlandı.

Yıkama solüsyonu hazırlanışı:

Yıkama solüsyonu distile su ile (30X) seyreltildi.

Deneyin Yapılışı:

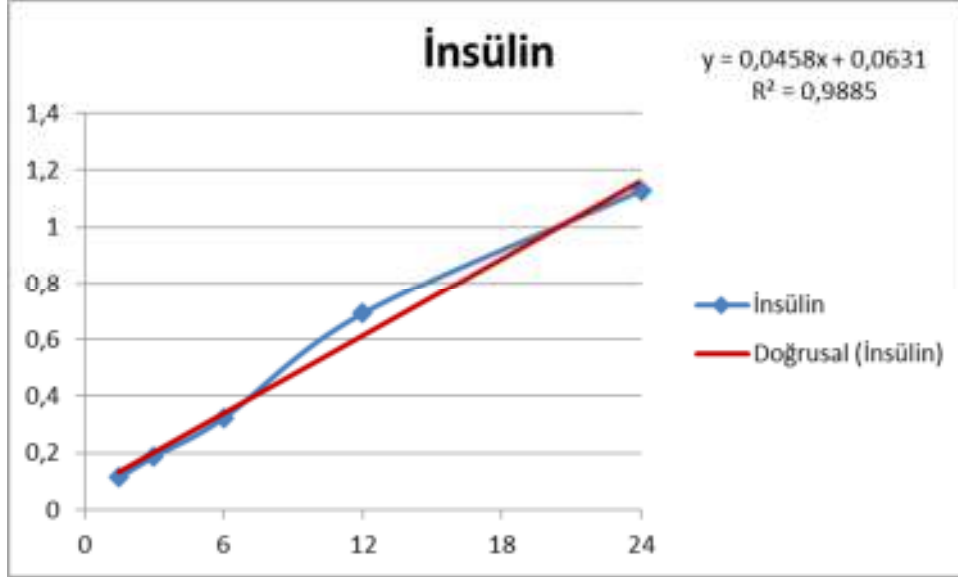
Çizelge 3.9. Serum İnsulin analizi

	Numune	Standart	Blank
Standart	-	50 µl	-
Numune	40 µl	-	-
Streptomycin-HRP	-	50 µl	-
İnsulin antikor	10 µl	-	-
Streptavidin-HRP	50 µl	-	-
Solüsyonlar eklendikten plate üstü membran kağıtla kapatıldı. Hafifçe karıştırıldıktan sonra 37 °C'de 1 saat inkübe edildi. Sonrasında plateki her bir kuyucuk 5 kere olmak üzere yıkanıp, kurutuldu.			
Kromojenik reaktif A	50 µl	50 µl	50 µl
Kromojenik reaktif B	50 µl	50 µl	50 µl
Solüsyonlar eklendikten sonra plate karanlıkta 10 dakika inkübe edildi.			
Stop solüsyonu	50 µl	50 µl	50 µl

Hesaplama:

Stop solüsyonu kuyucuklara eklendikten 10 dakika içinde 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümüne dayanarak belirlendi. Blank'te okunan absorbands değeri standart ve numunelerde okunan absorbands değerinden çıkarıldı. Şekil 3.4.'de gösterildiği

gibi standart eğri grafiği ve denklemini hesaplandı ve bu denklemden numunelerin konsantrasyonu “mIU/L” olarak belirlendi.



Şekil 3.4. İnsülin Standart eğri grafiği

3.4.6. Serum ALT Aktivitesi Tayini

Serum ALT testi Roche Diagnostics marka Cobas E411 model otoanalizör ile çalışıldı. Bu çalışmada test presibi olarak; ALT, L-alanin ile 2-oksoglutarat arasındaki reaksiyonu katalize eder. Oluşan piruvat, laktat dehidrojenazın (LDH) katalize ettiği bir reaksiyonda NADH tarafından indirgenerek L-laktat ve NAD⁺ oluşturur.



NADH oksidasyonunun hızı katalitik ALT aktivitesiyle doğru orantılıdır. Absorbanstaki azalmanın ölçülmesiyle tayin edilir.

3.4.7 Serum AST Aktivitesi Tayini

Serum AST testi Roche Diagnostics marka Cobas E411 model otoanalizör ile çalışıldı. Bu çalışmada test presibi olarak; Numunedeki AST, L-aspartat ve 2-oksoglutarat arasında bir

amino grubun taşınarak oksaloasetat ve L-glutamat oluşmasını katalize eder. Ardından oksaloasetat, malat dehidrojenazın (MDH) varlığında NADH ile reaksiyona girerek NAD⁺ oluşturur.



NADH oksidasyonunun hızı katalitik AST aktivitesiyle doğru orantılıdır. Absorbanstaki azalmanın ölçülmesiyle tayin edilir.

3.4.8 Serum LDH Aktivitesi Tayini

Serum LDH testi Roche Diagnostics marka Cobas E411 model otoanalizör ile çalışıldı. Bu çalışmada test presibi olarak; Laktat dehidrojenaz L-laktatın piruvata dönüşümünü katalize eder; işlem sırasında NAD NADH'ye indirgenir.



NADH oluşumunun başlangıç hızı katalitik LDH aktivitesiyle doğru orantılıdır. Absorbanstaki artış fotometrik olarak ölçülerek tayin edilir.

3.4.9 Serum ALP Aktivitesi Tayini

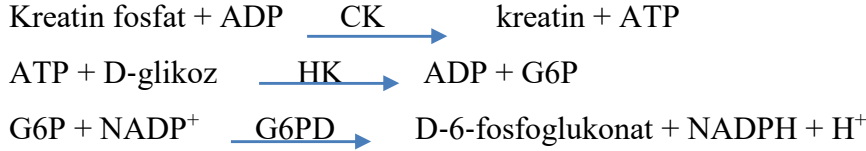
Serum ALP testi Roche Diagnostics marka Cobas E411 model otoanalizör ile çalışıldı. Bu çalışmada test presibi olarak; Magnezyum ve çinko iyonları varlığında p-nitrofenil fosfat, fosfatazlar tarafından fosfat ve p-nitrofenole bölünür.



Serbest kalan p-nitrofenol, katalitik ALP aktivitesiyle doğru orantılıdır. Absorbanstaki artış ölçülerek tayin edilir.

3.4.10 Serum CK Aktivitesi Tayini

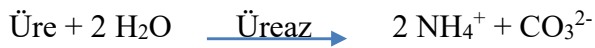
Serum CK testi Roche Diagnostics marka Cobas E411 model otoanalizör ile çalışıldı. Bu çalışmada test presibi olarak;



Fotometrik olarak ölçülen NADPH oluşumun hızı CK aktivitesi ile doğrudan orantılıdır.

3.4.11 Serum BUN Tayini

Serum Üre testi Roche Diagnostics marka Cobas E411 model otoanalizör ile çalışıldı. Bu çalışmada test presibi olarak; Üre, üreaz tarafından hidrolize edilerek amonyum ve karbonat oluşturur.



İkinci reaksiyonda, 2-oksoglutarat ortamda glutamat dehidrojenaz (GLDH) ve koenzim NADH varlığında amonyum ile reaksiyona girerek L-glutamat oluşturur. Bu reaksiyonda hidrolize edilen her mol üre için iki mol NADH, NAD⁺'ya oksitlenir.



NADH konsantrasyonundaki azalmanın hızı örnek içindek üre konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve fotometrik olarak ölçülür.

3.4.12 Serum Glukoz Tayini

Kan Glukoz testi Roche Diagnostics marka Cobas E411 model otoanalizör ile çalışıldı. Bu çalışmada test presibi olarak; Hekzokinaz glukozun ATP tarafından glukoz-6-fosfata fosforilasyonunu katalize eder.



Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz, NADP'nin varlığında glikoz-6-fosfatı glukonat-6-fosfata okside eder. Başka karbohidrat oksitlenmez. Reaksiyon sırasında NADPH oluşum hızı glikoz konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve fotometrik olarak ölçülür.



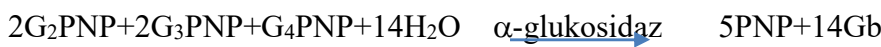
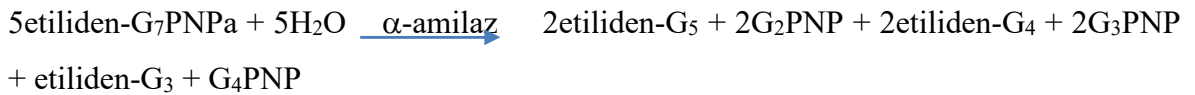
3.4.13 Serum Kreatinin Tayini

Serum Kreatinin testi Roche Diagnostics marka Cobas E411 model otoanalizör ile çalışıldı. Bu çalışmada test presibi olarak; Alkalın solüsyonunda kreatinin pikrat ile sarı-turuncu bir kompleks oluşturur. Boya oluşum hızı, örnekteki kreatinin konsantrasyonu ile orantılıdır. Bilirubin kaynaklı etkileşimi en aza indirmek için testte "hız-boş okuma" kullanılır. Proteinler ve ketonlar dahil olmak üzere, serum/plazma psödo-kreatinin kromojenleri tarafından neden olunan spesifik olmayan reaksiyonun düzeltilmesi için serum ve plazma sonuçları $-26 \mu\text{mol/L}$ (-0.3 mg/dL) ile düzeltilir.

Kreatinin + pikrik asit $\xrightarrow{\text{Alkali pH}}$ sarı-turuncu kompleks

3.4.14 Serum Amilaz Aktivite Tayini

Serum Amilaz testi Roche Diagnostics marka Cobas E411 model otoanalizör ile çalışıldı. Bu çalışmada test presibi olarak; 4,6-etiliden-(G7) p-nitrofenil-(G1)- α ,D-maltoheptaosid (etiliden-G7PNP) gibi tanımlanan oligosakkaridler α -amilazların katalitik etkisi altında bölünür. Bu şekilde oluşan G2PNP , G3PNP ve G4PNP fragmanları α -glukosidaz aracılığıyla p-nitrofenol ve glikoza tamamen hidrolize edilir.



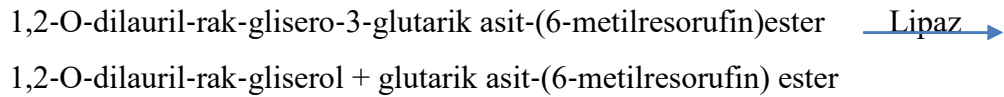
a) PNP = p-nitrofenol

b) G = Glikoz

Oluşan p-nitrofenolün renk yoğunluğu α -amilaz aktivitesi ile doğru orantılıdır. Absorbanstaki artış ölçülerek tayin edilir.

3.4.15 Serum Lipaz Aktivite Tayini

Serum Lipaz testi Roche Diagnostics marka Cobas E411 model otoanalizör ile çalışıldı. Bu çalışmada test presibi olarak; Kromojenik lipaz substratı olan 1,2-O-dilauril-rakglisero-3-glutarik asit-(6-metilresorufin) ester, alkalın lipaz solüsyonunun katalitik etkisi ile bölünerek 1,2-O-dilauril-rak-gliserolü ve stabil olmayan bir ara ürün olan glutarik asit-(6-metilresorufin) esteri oluşturur. Bu, alkalın solüsyon içinde spontan olarak bozunarak glutarik asit ile metilresorufini oluşturur. Deterjan ve kolipazın eklenmesi testin pankreatik lipaz için özgülüğünü artırır.



Oluşan kırmızı boyanın renk yoğunluğu lipaz aktivitesi ile doğru orantılıdır ve fotometrik olarak ölçülebilir.

3.4.16 G6PD Aktivite Tayini

Serum G6PD testi Cobas Mira model cihaz ile çalışıldı. Bu çalışmada test presibi olarak; G6PD, glukoz-6-fosfat'tan 6-fosfoglukonatın oluşumunu katalizleyen, pentoz fosfat yolunun ilk adımının enzimidir.



NADPH oluşum hızı ile G6PD aktivitesi doğru orantılıdır. Spektrofotometrik olarak absorbanstaki artışla ölçüm yapılır.

3.5 Verilerin Analizi

Çalışmadan elde edilen verilerin değerlendirilmesi ve tabloların oluşturulması amacıyla SPSS (Statistical Package for Social Sciences) version 20 kullanıldı. Elde edilen verilerin sunumu için ortalama, median, standart hata, maximum, minimum değerler kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen için gruplar arasında farkın anlamlılık düzeyini belirlemek için Kruskal Wallis Testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ altında olan değerler için 2 grup arasındaki farkın anlamlılık belirlemek için Mann-Whitney U testi kullanılmış ve bonferroni düzeltmesi yapıldı. 2 grup arasındaki $p < 0.013$ altındaki değerler için anlamlı kabul edildi. Parametreler arasındaki korelasyonu incelemek amacıyla normal dağılım göstermeyen gruplar arasında Spearman Korelasyon Analizi yapıldı.

4. BULGULAR

Bu çalışmada bulguların değerlendirilmesi yapılırken, çalışma grubu dört grup olarak sınıflandırılmıştır.

Grup 1: Kontrol grubu

Grup 2: Düşük doz grubu (Malathion 100mg/kg)

Grup 3: Orta doz grubu (Malathion 200mg/kg)

Grup 4: Yüksek doz grubu (Malathion 400mg/kg)

Tüm gruplar için bütün parametrelerin ortalama \pm standart hata değerleri Çizelge 4.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Kontrol ve doz gruplarının bütün parametrelerinin ortalama ve standart hata değerleri

	Grup 1 (n=6)	Grup 2 (n=6)	Grup 3 (n=6)	Grup 4 (n=6)
	Ort. \pm Sta.H	Ort. \pm Sta.H	Ort. \pm Sta.H	Ort. \pm Sta.H
AST (U/L)	83,6 \pm 9,9	80,1 \pm 19,0	181,6 \pm 72,3	135,6 \pm 71,0
ALT (U/L)	32,6 \pm 3,7	37,8 \pm 8,3	43,6 \pm 5,0	32,6 \pm 7,5
ALP (U/L)	101,5 \pm 45,4	131,6 \pm 56,9	82 \pm 29,0	81 \pm 29,2
CK (U/L)	403,5 \pm 139,5	276,3 \pm 180,4	1745,4 \pm 819,1	906,1 \pm 685,6
Lipaz (U/L)	5,5 \pm 1,6	<3	<3	<3
Amilaz (U/L)	1416,5 \pm 206,8	1883,6 \pm 212,3	1920,0 \pm 282,6	1889,1 \pm 296,0
LDH (U/L)	598,6 \pm 150,0	383,8 \pm 272,2	719,6 \pm 202,5	572,1 \pm 303,1
MDA nmol/ml	9,15 \pm 0,99	7,82 \pm 2,78	8,92 \pm 2,08	8,22 \pm 1,59
TOS μ mol/L	62,32 \pm 20,38	49,42 \pm 9,67	110,14 \pm 91,69	198,55 \pm 110,67
AGEs ng/ml	5,71 \pm 1,44	8,98 \pm 1,60	8,35 \pm 2,63	11,42 \pm 4,79
G6PD U/g Hg	23,2 \pm 1,0	19,8 \pm 0,8	21,7 \pm 0,6	27,2 \pm 2,4
Glukoz mg/dL	249,0 \pm 30,0	203,8 \pm 3,6	223,6 \pm 1,9	256,3 \pm 25,0
İnsulin	4,71 \pm 1,9	6,42 \pm 1,1	6,40 \pm 0,9	10,4 \pm 2,4
Tnf alfa ng/L	70,5 \pm 14,5	89,2 \pm 12,1	97,9 \pm 4,8	167,7 \pm 81,3
BUN mg/dL	18,1 \pm 2,2	19,2 \pm 3,0	23,6 \pm 3,2	17,5 \pm 2,4
Kreatinin mg/dL	0,365 \pm 0,05	0,313 \pm 0,02	0,382 \pm 0,08	0,383 \pm 0,01

4.1 Malathion-AST İlişkisi

Serum AST düzeylerinde kontrol grubu ve Grup 2 ile Grup 3 ve Grup 4 karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.2 Serum AST düzeyleri

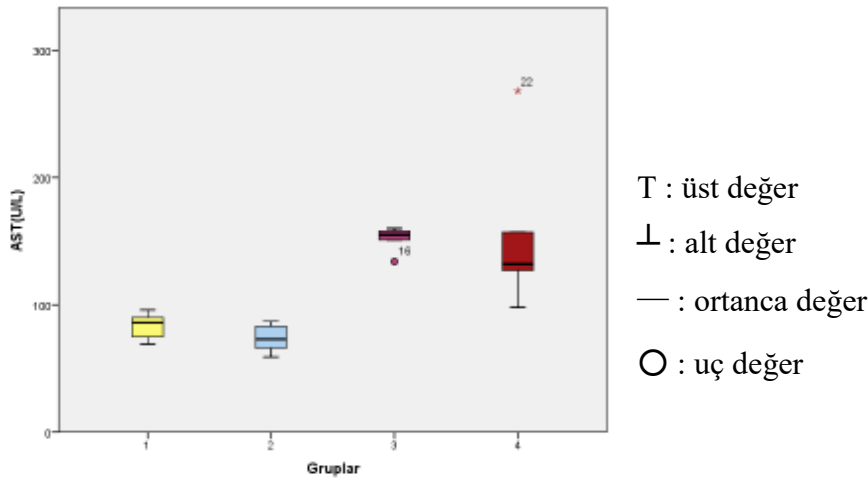
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
AST (U/L)	83,6±9,9	80,1±19,0	181,6±72,3 ^{a,b}	135,6±71,0 ^{c,d}

a: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki karşılaştırma (p=0,004)

b: Grup 2 ile Grup 3 arasındaki karşılaştırma (p=0,004)

c: Grup 1 ile Grup 4 arasındaki karşılaştırma (p=0,013)

d: Grup 2 ile Grup 4 arasındaki karşılaştırma (p=0,012)



Şekil 4.1 Serum AST düzeyleri

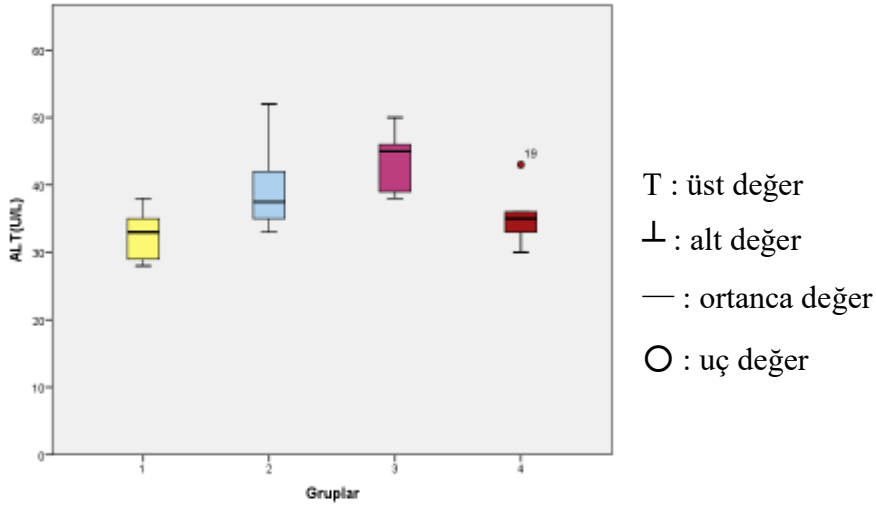
4.2 Malathion-ALT İlişkisi

Serum ALT düzeylerinde kontrol grubuyla karşılaştırıldığında Grup 2 için bir artış söz konusudur. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. Grup 3 de ise, kontrol grubuyla mukayese edildiğinde anlamlı bir değişim olduğu gözlenmiştir (p = 0,004; p < 0,013).

Çizelge 4.3 Serum ALT düzeyleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
ALT (U/L)	32,6±3,7	37,8±8,3	43,6±5,0 ^a	32,6±7,5

a: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki karşılaştırma (p=0,004)



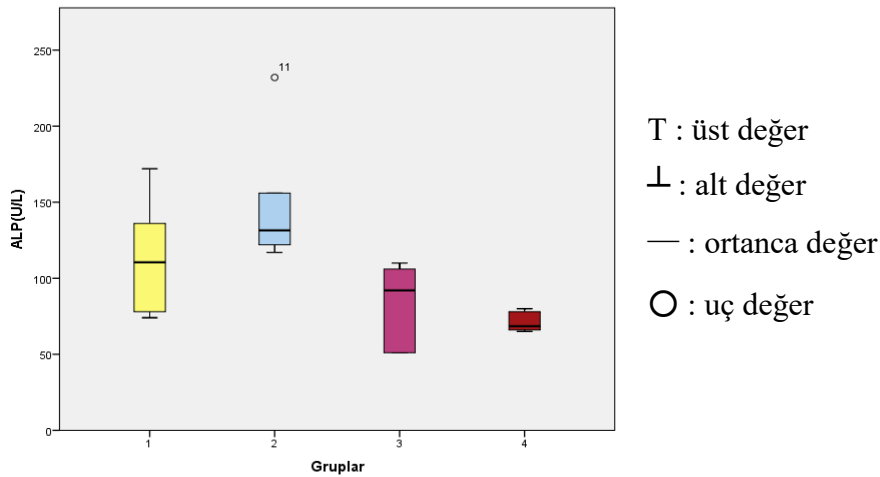
Şekil 4.2 Serum ALT düzeyleri

4.3 Malathion-ALP İlişkisi

Serum ALP düzeyinde Kontrol grubuyla Grup 2 karşılaştırıldığında bir artış gözlemlenmiştir. Grup 3 ve Grup 4 de ise bir azalış olduğu saptanmıştır. Bu değişimler istatistiksel olarak anlam taşımamaktadır. ($p = 0,015$; $p > 0,013$)

Çizelge 4.4 Serum ALP düzeyleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
ALP (U/L)	101,5±45,4	131,6±56,9	82±29,0	81±29,2



Şekil 4.3 Serum ALP düzeyleri

4.4 Malathion-CK İlişkisi

Serum CK değerleri göz önüne alındığında Grup 3 ve Grup4 ile Kontrol grubu ve Grup 2 karşılaştırıldığında anlamlı artış olduğu gözlenmiştir. ($p = 0,004$; $p < 0,013$)

Çizelge 4.5 Serum CK düzeyler

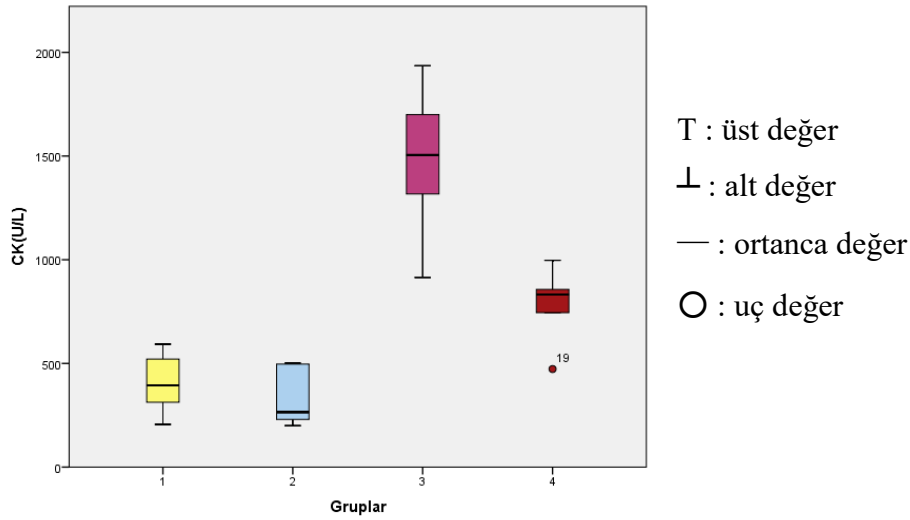
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
CK (U/L)	403,5±139,5	276,3±180,4	1745,4±819,1 ^{a,b}	906,1±685,6 ^{c,d}

a: Grup 1 ile Grup 3 arasındaki karşılaştırma ($p=0,004$)

b: Grup 2 ile Grup 3 arasındaki karşılaştırma ($p=0,004$)

c: Grup 1 ile Grup 4 arasındaki karşılaştırma ($p=0,013$)

d: Grup 2 ile Grup 4 arasındaki karşılaştırma ($p=0,012$)



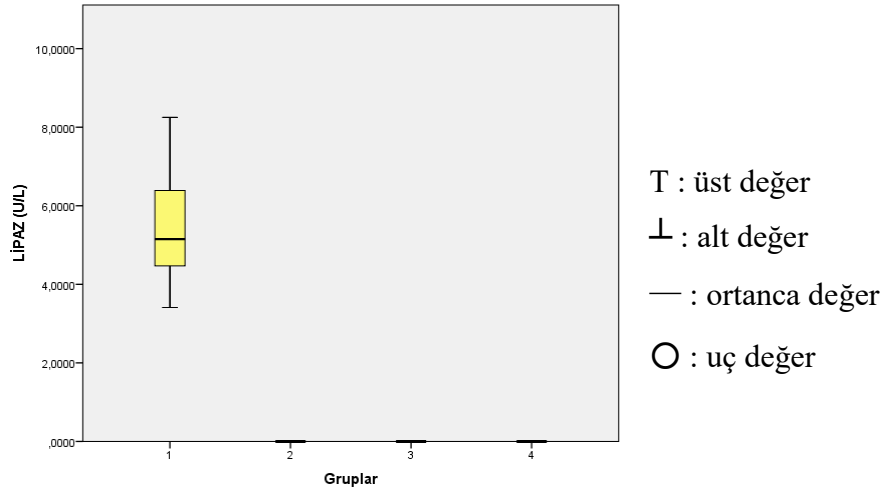
Şekil 4.4 Serum CK düzeyleri

4.5 Malathion-Lipaz İlişkisi

Kontrol grubu dışındaki tüm gruplarda Lipaz enziminin inhibe olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.6 Serum Lipaz düzeyleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
Lipaz (U/L)	5,5±1,6	<3	<3	<3



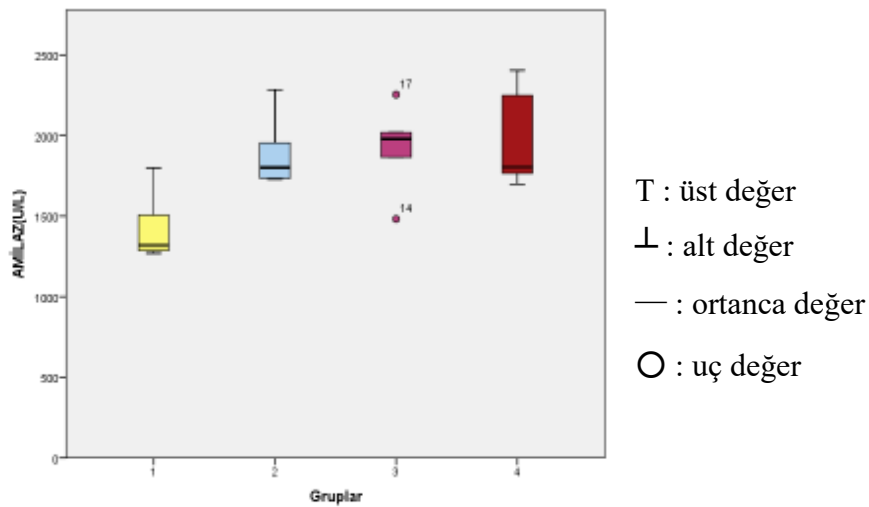
Şekil 4.5 Serum Lipaz düzeyleri

4.6 Malathion-Amilaz İlişkisi

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında her 3 grupta da artışlar gözlenmektedir ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. ($p = 0,017$; $p > 0,013$)

Çizelge 4.7 Serum Amilaz düzeyleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
Amilaz (U/L)	1416,5 ± 206,8	1883,6 ± 212,3	1920,0 ± 282,6	1889,1 ± 296,0



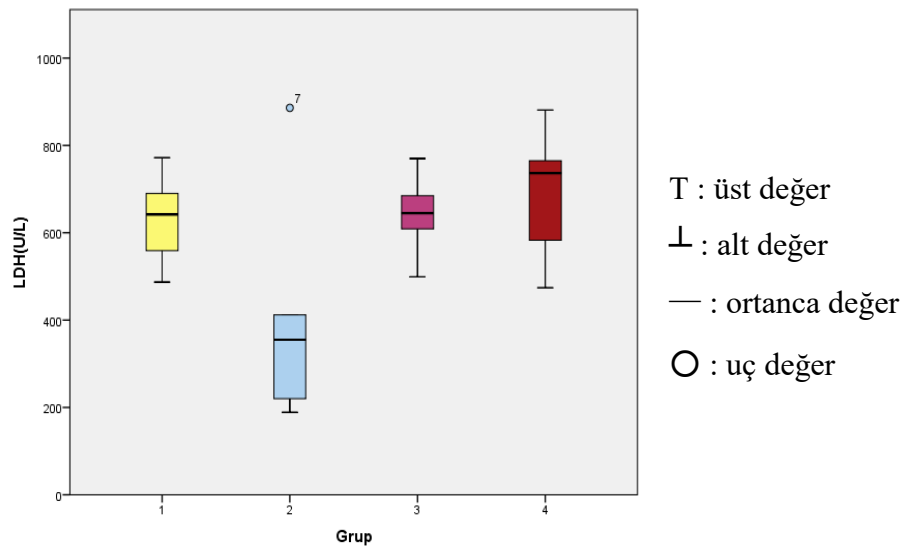
Şekil 4.6 Serum Amilaz düzeyleri

4.7 Malathion-LDH İlişkisi

Gruplar arasında istatistiksel olarak bir anlamlılık görülmemiştir.

Çizelge 4.8 Serum LDH düzeyleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
LDH (U/L)	632,0±100,1	402,8 ±252,2	651,0± 113,5	683,5 ±136,7



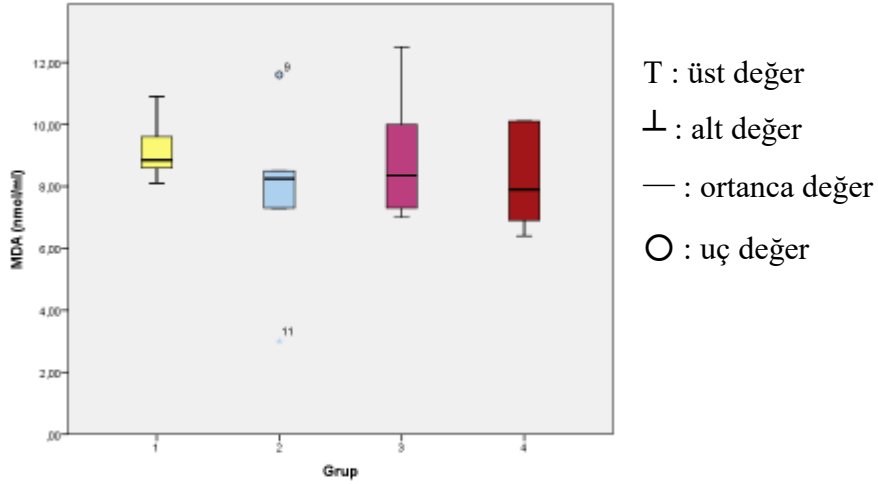
Şekil 4.7 Serum LDH düzeyleri

4.8 Malathion-MDA İlişkisi

Gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir değişim bulunmamaktadır.

Çizelge 4.9 Serum MDA düzeyleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
MDA nmol/ml	9,15 ± 0,99	7,82 ± 2,78	8,92 ± 2,08	8,22 ± 1,59



Şekil 4.8 Serum MDA düzeyleri

4.9 Malathion-TOS İlişkisi

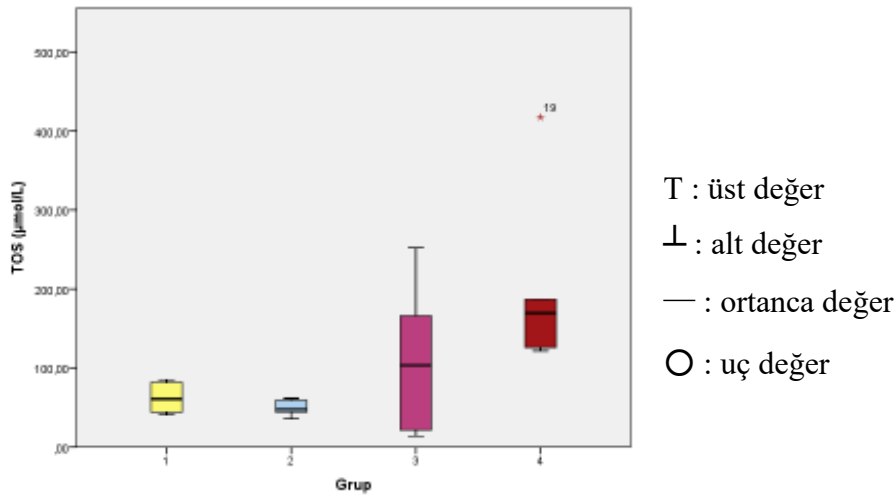
Serum TOS seviyesinde kontrol grubu ile Grup 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklanma bulunmuştur. Grup 2 ile Grup 4 mukayese edildiğinde burada da anlamlı bir değişim olduğu gözlenmektedir.

Çizelge 4.10 Serum TOS düzeyleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
TOS $\mu\text{mol/L}$	$62,32 \pm 20,38$	$49,42 \pm 9,67$	$110,14 \pm 91,69$	$198,55 \pm 110,67^{a,b}$

a: Grup 1 ile Grup 4 arasındaki karşılaştırma ($p=0,004$)

b: Grup 2 ile Grup 4 arasındaki karşılaştırma ($p=0,002$)



Şekil 4.9 Serum TOS düzeyleri

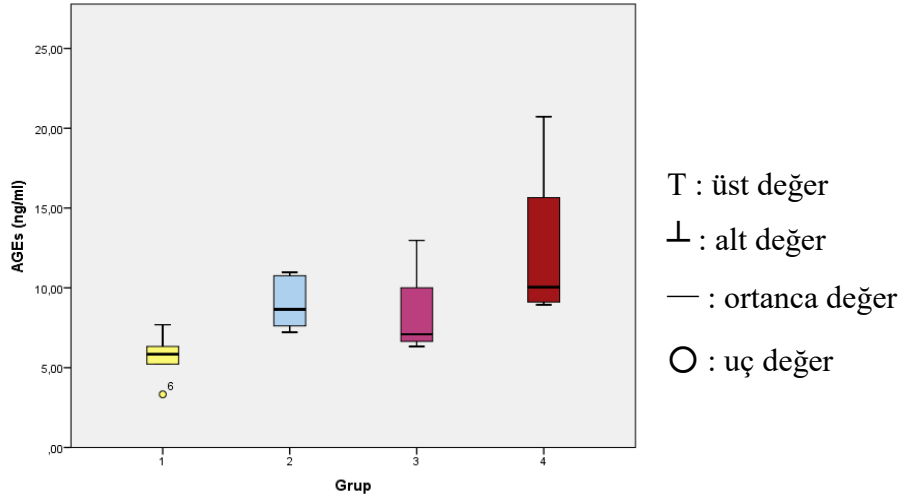
4.10 Malathion-AGEs İlişkisi

Serum AGEs düzeyleri incelendiğinde kontrol grubu ile doz grupları arasında artış gözlenirse de istatistiksel olarak anlamlı bir değişim kontrol grubu ile Grup 4 arasında gerçekleşmiştir. ($p < 0,002$; $p < 0,013$)

Çizelge 4.11 Serum AGEs düzeyleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
AGEs ng/ml	$5,71 \pm 1,44$	$8,98 \pm 1,60$	$8,35 \pm 2,63$	$11,42 \pm 4,79^a$

a: Grup 1 ile Grup 4 arasındaki karşılaştırma ($p=0,002$)



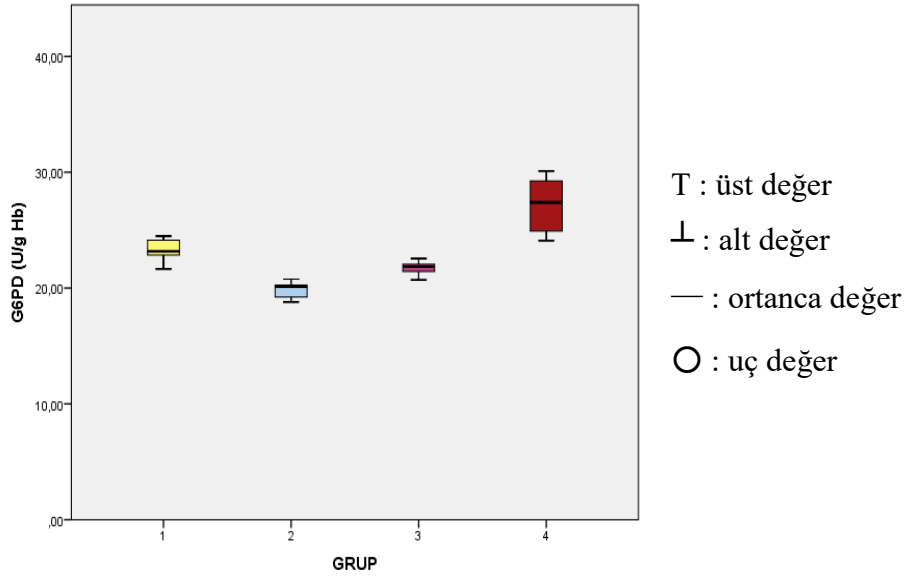
Şekil 4.10 Serum AGEs düzeyleri

4.11 Malathion G6PD İlişkisi

Gruplar arasında Grup 4'te diğer gruplara göre bir artış gözlenmişse de bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Çizelge 4.12 Serum G6PD düzeyleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
G6PD U/g Hg	$23,2 \pm 1,0$	$19,8 \pm 0,8$	$21,7 \pm 0,6$	$27,2 \pm 2,4$



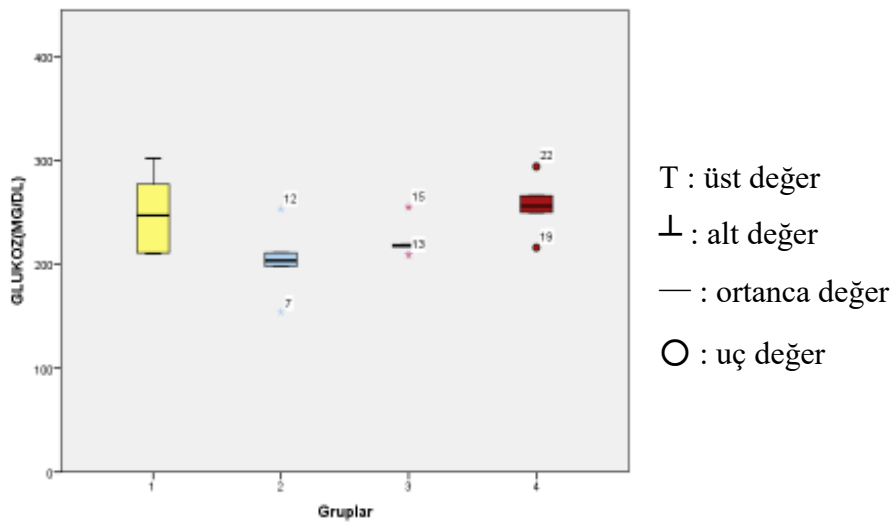
Şekil 4.11 Serum G6PD düzeyleri

4.12 Malathion-Glukoz İlişkisi

Glukoz değerlerinde, kontrol grubuyla diğer doz grupları mukayese edildiğinde anlamlı bir değişim olmadığı tespit edilmiştir. ($p=0,329$; $p>0,013$)

Çizelge 4.13 Serum Glukoz düzeyleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
Glukoz mg/dL	249,0±30,0	203,8±3,6	223,6±1,9	256,3±25,0



Şekil 4.12 Serum Glukoz düzeyleri

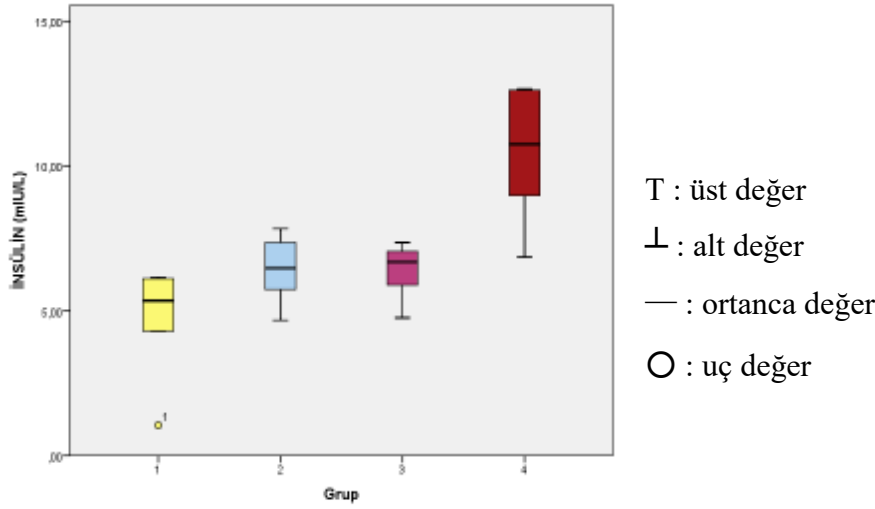
4.13 Malathion-İnsulin

Serum İnsulin düzeyinde Kontrol grubu ve diğer gruplar arasında bir artış olduğu gözlenmiştir. Anlamlı değişim kontrol grubu ile Grup 4 arasında olduğu gözlenmiştir. ($p<0,002$; $p<0,013$)

Çizelge 4.14 Serum İnsulin düzeyleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
İnsulin mIU/L	4,71 ±1,9	6,42 ±1,1	6,40 ±0,9	10,4 ± 2,4 ^a

a: Grup 1 ile Grup 4 arasındaki karşılaştırma ($p=0,002$)



Şekil 4.13 Serum İnsulin düzeyleri

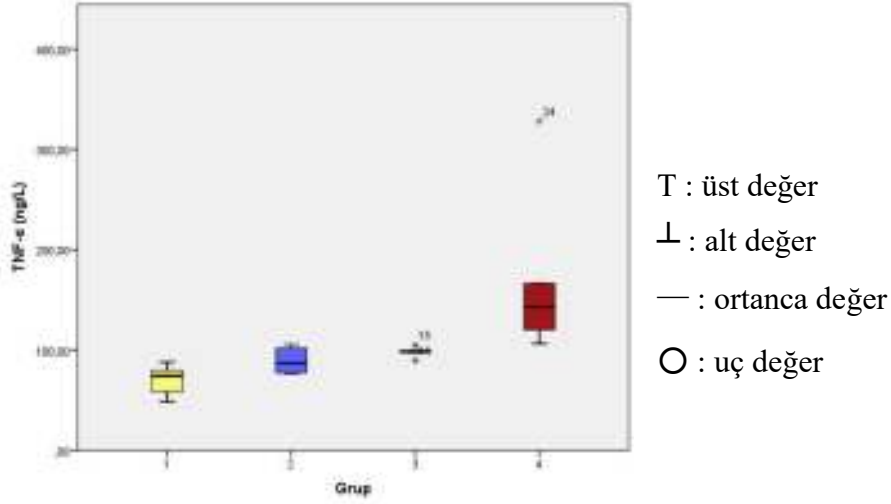
4.14 Malathion-TNF- α İlişkisi

Kontrol grubu ile Grup 4 karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür. Diğer gruplarda bir artış gözlenmiş olsa da istatistiksel olarak anlamlı değildir. ($p<0,002$; $p<0,013$)

Çizelge 4.15 Serum TNF- α düzeyleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
Tnf- α ng/L	70,5 ±14,5	89,2 ±12,1	97,9 ±4,8	167,7±81,3 ^a

a: Grup 1 ile Grup 4 arasındaki karşılaştırma ($p=0,002$)

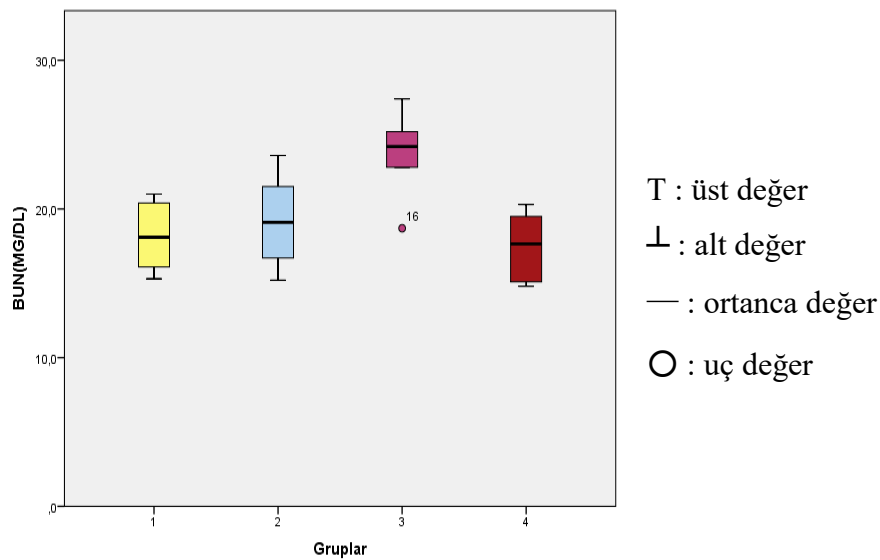
Şekil 4.14 Serum TNF- α düzeyleri

4.15 Malathion-BUN İlişkisi

Kontrol grubu ile diğer doz grupları karşılaştırıldığında anlamlı bir değişim olmadığı saptanmıştır. ($p < 0,485$; $p > 0,013$)

Çizelge 4.16 Serum BUN düzeyleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
BUN mg/dL	18,1 \pm 2,2	19,2 \pm 3,0	23,6 \pm 3,2	17,5 \pm 2,4



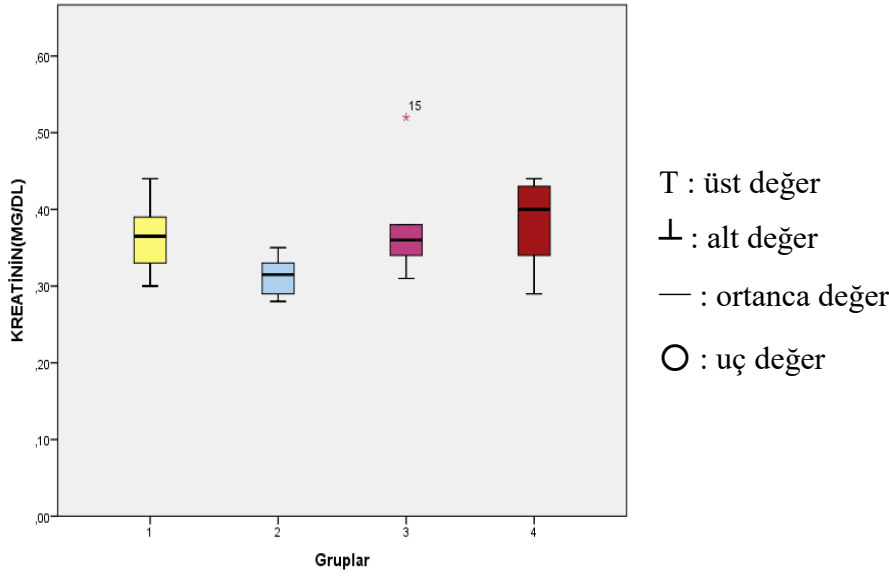
Şekil 4.15 Serum BUN düzeyleri

4.16 Malathion-Kreatinin İlişkisi

Serum Kreatinin düzeyi incelendiğinde Kontrol grubu ve diğer gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir değişim olmadığı görülmüştür.

Çizelge 4.17 Serum Kreatinin düzeyleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
Kreatinin mg/dL	0,365±0,05	0,313±0,02	0,382±0,08	0,383±0,01



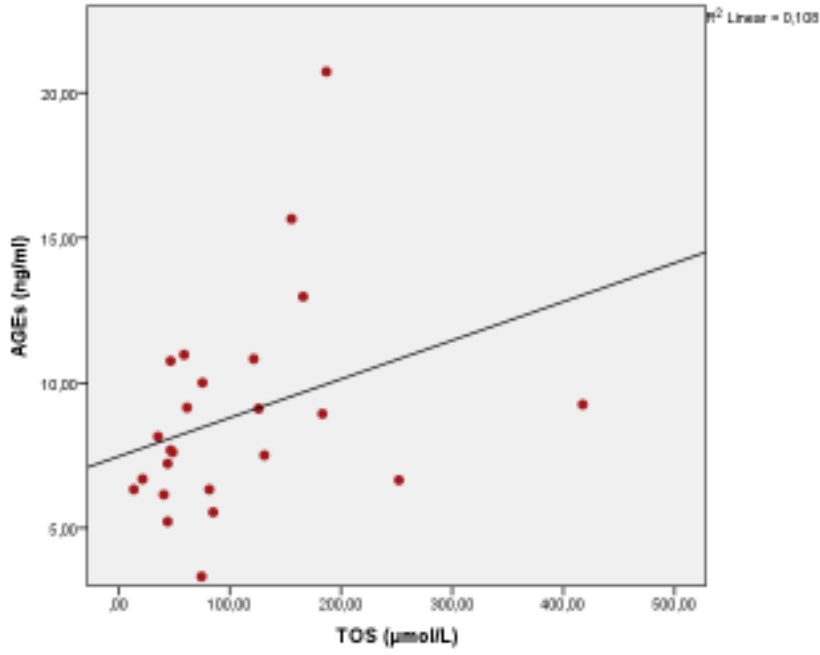
Şekil 4.16 Serum Kreatinin düzeyleri

4.17 Korelasyon Analizi

Parametreler arasındaki korelasyon analizini incelemek için Spearman Korelasyon analizi yapılmıştır.

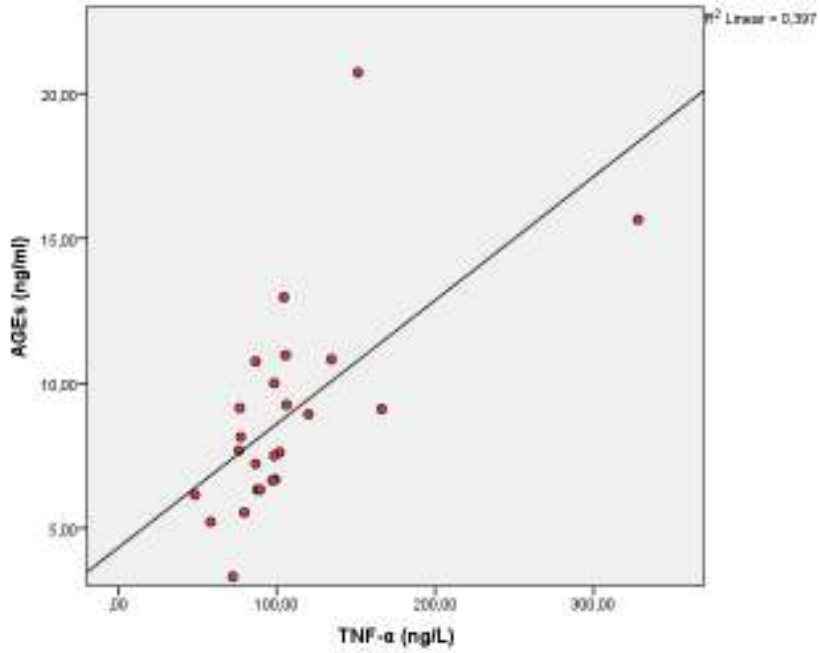
Spearman Korelasyon analizine göre;

Serum AGEs ve Serum TOS düzeyleri arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. (Spearman Korelasyon Coefficient değeri = 0,437). Serum AGEs düzeyi ile Serum TOS düzeyinin birlikte artış gösterdiği saptanmıştır.



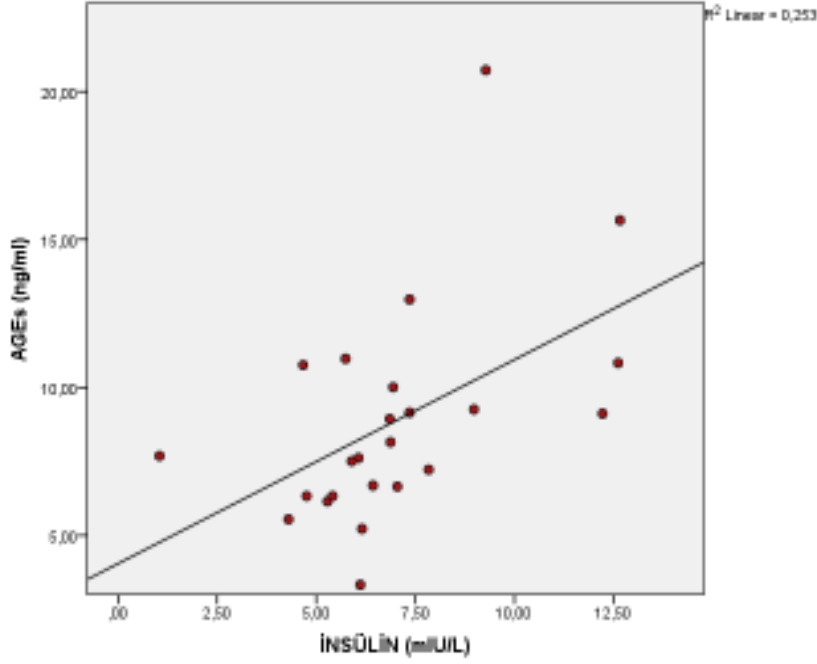
Şekil 4.17 AGEs-TOS korelasyon eğrisi

Serum AGEs ve Serum TNF- α düzeyleri arasında kuvvetli pozitif korelasyon gözlenmiştir. (Korelasyon katsayısı = 0,695) Serum AGEs seviyeleri ile Serum TNF- α düzeyleri birlikte artış gösterdikleri tespit edilmiştir.



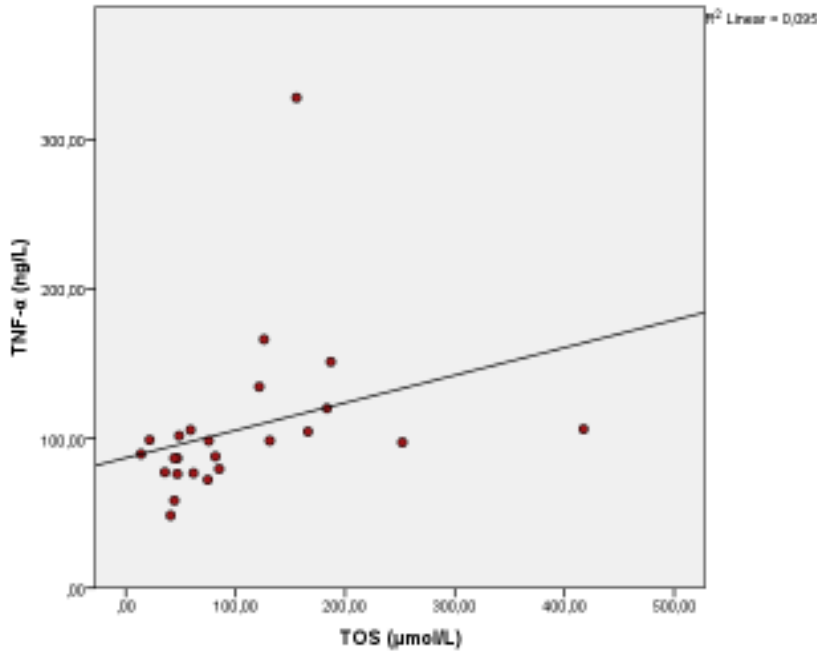
Şekil 4.18 AGEs-TNF- α korelasyon eğrisi

Serum AGEs düzeyi ve Serum İnsulin düzeyleri arasında kuvvetli pozitif bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir. (Korelasyon değeri 0,542)



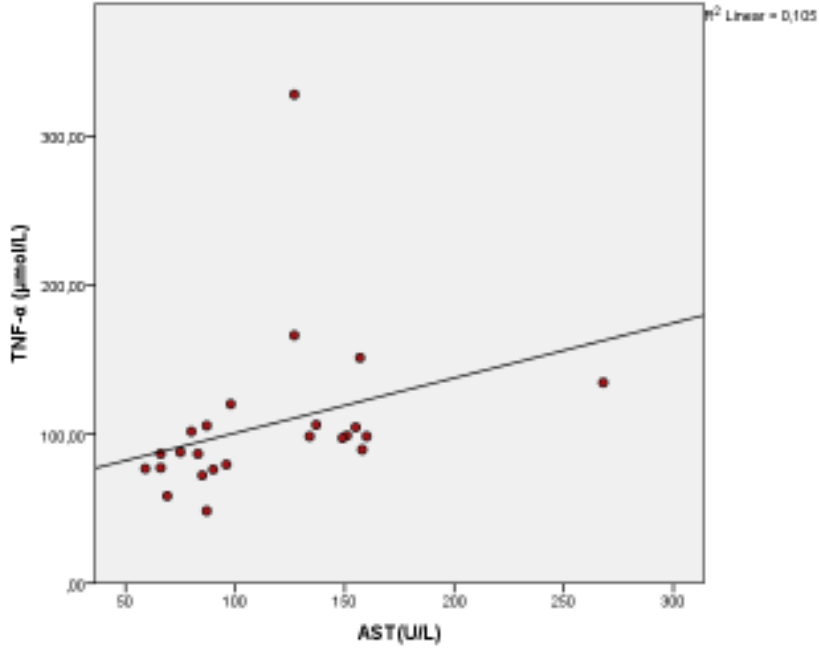
Şekil 4.19 AGEs-İnsulin korelasyon eğrisi

Serum TNF- α ve Serum TOS düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon gözlenmiştir. Korelasyon değeri 0,611 olarak hesaplanmıştır



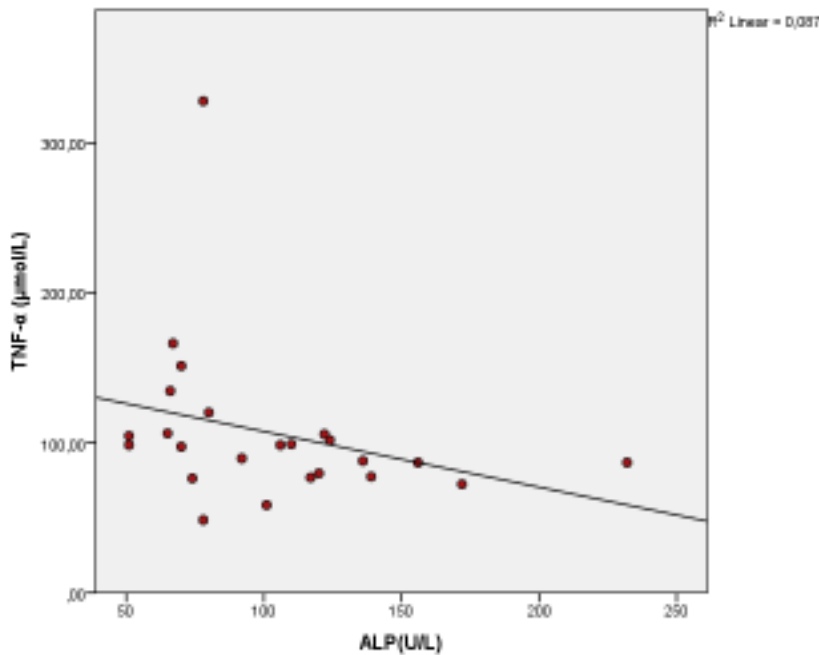
Şekil 4.20 TNF- α - TOS korelasyon eğrisi

Serum TNF- α ve Serum AST düzeyleri arasında kuvvetli pozitif bir korelasyon izlenmiştir. Korelasyon değeri 0,590 olarak tespit edilmiştir.



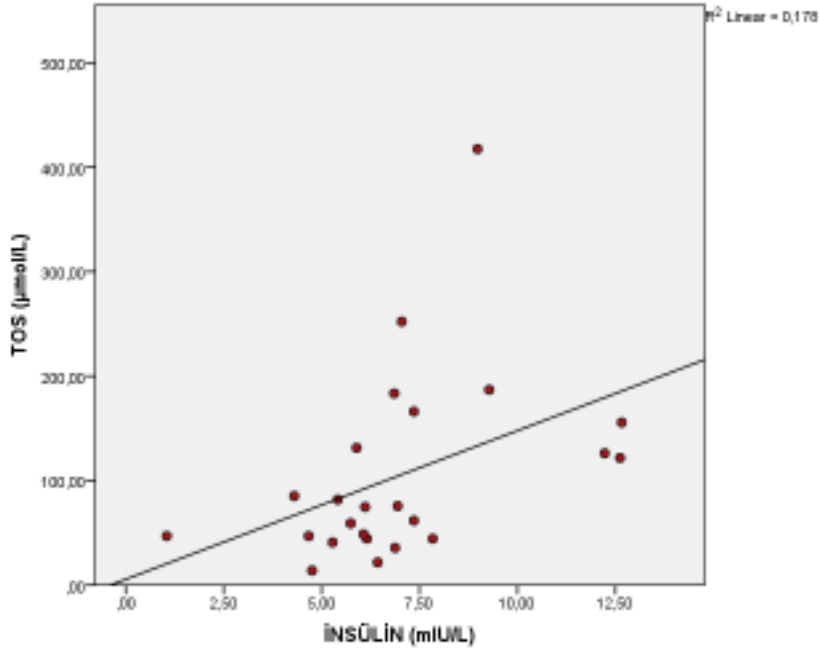
Şekil 4.21 TNF- α – AST korelasyon eğrisi

Serum TNF- α ve ALP düzeyleri arasında kuvvetli negatif bir korelasyon tespit edilmiştir. Korelasyon değeri -0,481. TNF- α miktarı arttıkça ALP düzeyinde azalma dikkat çekmektedir.



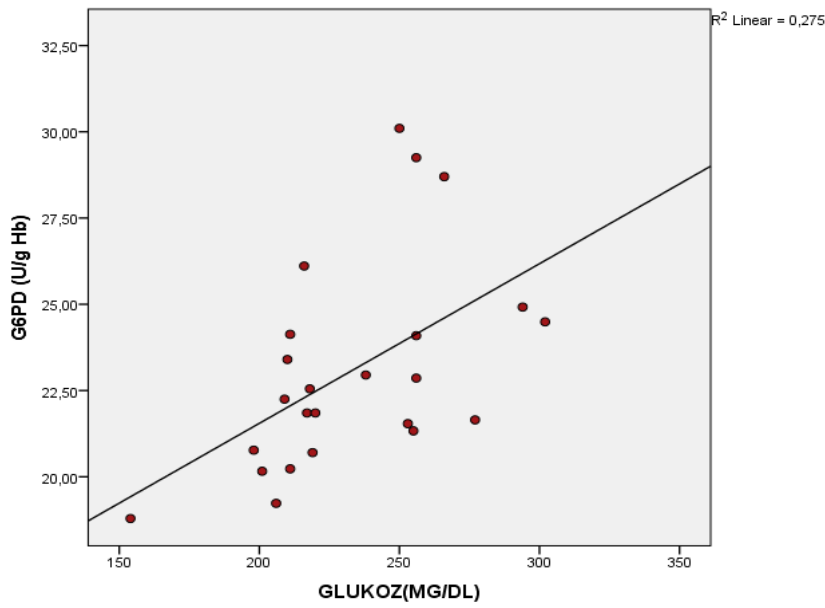
Şekil 4.22 TNF- α -ALP korelasyon eğrisi

Serum TOS ve Insulin düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon görülmüştür. Korelasyon değeri 0,507 olarak hesaplanmıştır. İnsulin düzeyi ile TOS seviyeleri beraber değişmektedir.



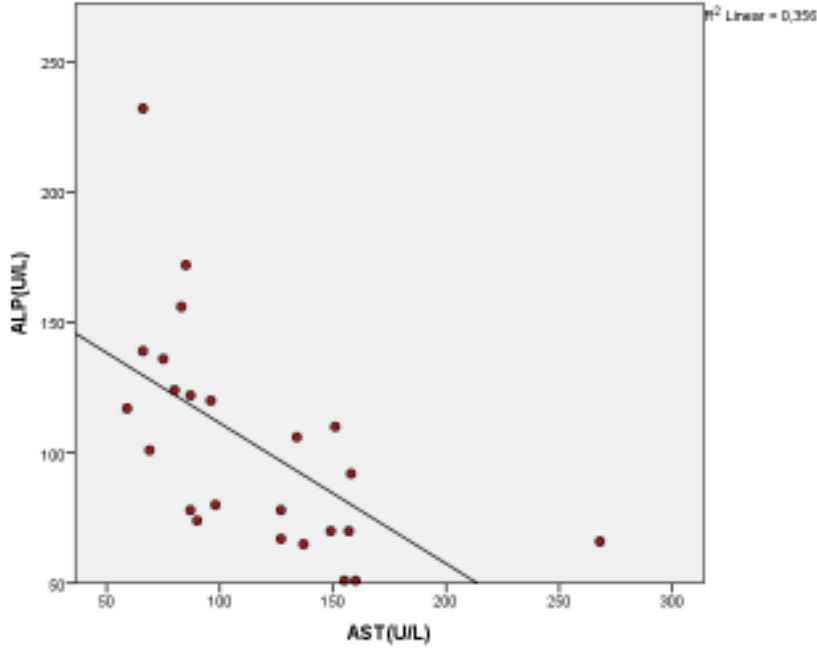
Şekil 4.23 TOS-İnsulin korelasyon eğrisi

Serum Glukoz düzeyi ve Kan G6PD enzim aktivitesi arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Korelasyon değeri 0,569 olarak hesaplanmıştır



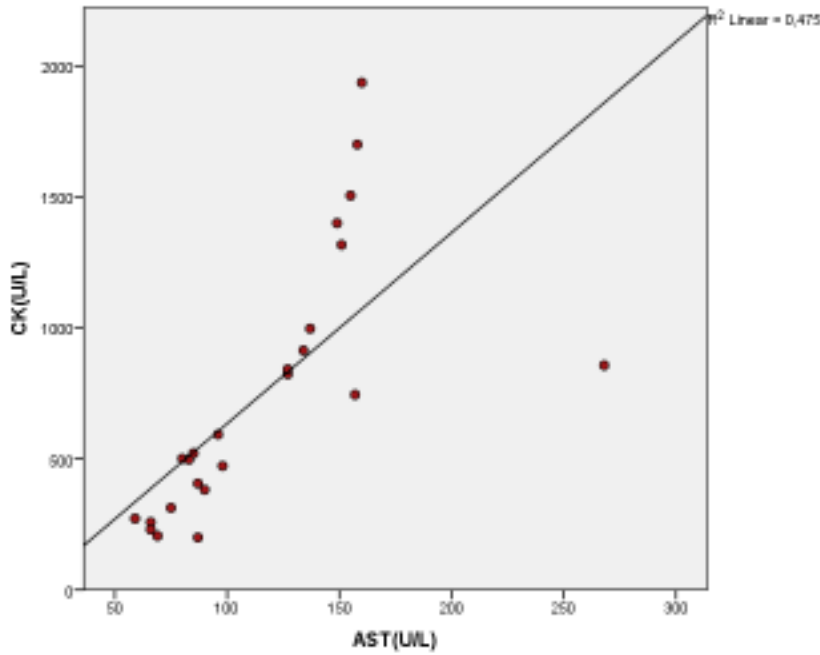
Şekil 4.24 Glukoz-G6PD korelasyon eğrisi

Serum ALP ve Serum AST düzeyleri arasında kuvvetli negatif korelasyon gözlenmiştir. Korelasyon değeri -0,760 olarak tespit edilmiştir.



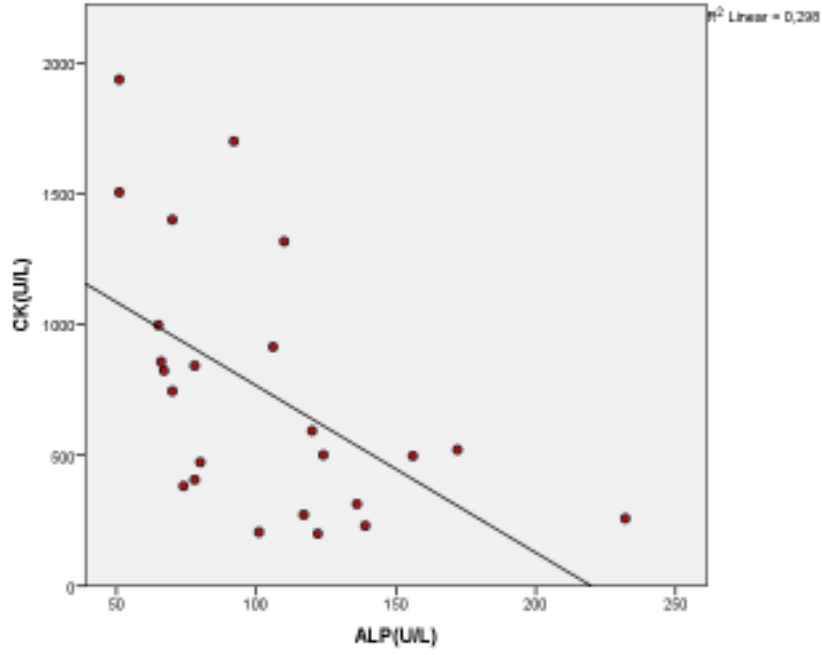
Şekil 4.25 ALP-AST korelasyon eğrisi

Serum CK ve Serum AST düzeyleri arasında kuvvetli pozitif korelasyon gözlenmiştir. Korelasyon değeri 0,867 olarak hesaplanmıştır. Artışların beraber artışı dikkat çekmektedir.



Şekil 4.26 CK-AST korelasyon eğrisi

Serum CK ve Serum ALP düzeyleri arasında negatif bir korelasyon izlenmiştir. Korelasyon değeri -0,621 olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.27 CK-ALP korelasyon eğrisi

5.TARTIŞMA

Pestisitler tarımda çok yaygın olarak kullanılan kimyasal maddelerdir. Doğal hayat ve insanlar üzerine potansiyel yan etkilerinin olduğu bilinmektedir. Pestisitler olarak adlandırılan bu kimyasal grubu içerisinde en yoğun şekilde kullanılan organofosfat bileşiklerdir. Organofosfat bileşiklerin, organoklor bileşiklerin yerini alma sebebi, çevreye ve canlılara verdiği zararın daha az olması sebebiyledir. Son yirmi yıldır yapılan çalışmalar göstermiştir ki organofosfatlar immun sisteme etki ederek burada toksik etkilerini, hem kolinerjik hem de kolinerjik olmayan yollarla oluşturmaktadırlar (Wong ve diğerleri, 1992; ve Vial ve diğerleri, 1996). Bu etkiler sadece immunolojik değişimlerle sınırlı kalmamaktadır, Oksidatif stres ve buna bağlı olarak oluşabilecek potansiyel inflamasyonlarda da organofosfat bileşikler ve organofosfor bileşikler içerisinde en yoğun olarak kullanılanlardan biri olan Malathionun da etkilerinin olabileceği ortadadır.

Bu çalışmamızda 3 farklı doz grubu oluşturarak Malathionun etkilerini araştırmak istedik ve bu doğrultuda 100 mg/kg, 200 mg/kg ve 400 mg/kg'lık gruplar oluşturduk. Bu çalışmayla doku hasarı, oksidatif stress, inflamasyon gibi durumların doza bağlı olarak değişimini araştırdık.

Serum ALP düzeyinde Kontrol grubuyla Grup 2 karşılaştırıldığında bir artış, Grup 3 ve Grup 4 de ise bir azalış olduğu saptanmıştır. Bu değişimler istatistiksel olarak anlam taşımamaktadır. ($p = 0,015$; $p < 0,013$). Karaciğer, thio-organofosfatların ve diğer toksik maddelerin biodönüşüme uğradığı major organdır. Malathion toksisitesi için de bu durum geçerlidir (Yang ve diğerleri, 2000). 28 gün süreyle kronik malathion maruziyetine bırakılan hayvanlarda karaciğer hasar belirteci olan AST, ALT, ALP, LDH ve Bilirubin seviyelerinde artışlar gözlenmiştir (Lasram ve diğerleri, 2014). Bu çalışmada ratlara 200mg/kg olacak şekilde doz uygulamıştır. ALP dışındaki parametreler bizim bulduğumuz sonuçlarla uyumlu gözümektedir. Yapılan bir diğer çalışmada 30 gün süren kronik doz uygulamasında 100 mg/kg, 300 mg/kg ve 500 mg/kg dozlar uygulanmış, her doz grubu için de AST VE ALT düzeylerinde artış gözlemlenirken, ALP düzeyinde azalış tespit edilmiştir. Araştırmacılar bu azalışın nedeni olarak kemiklerdeki osteblastik aktivitedeki azalış olabileceği öne sürülmüştür (Jain ve diğerleri, 2009). Yaptığımız çalışmada da bu yönde benzer sonuçlar elde edildi. Ayrıca çalışmaların bir çoğunda kronik maruziyet ile ilgili bulguların çoğunlukta olduğunu gözlemledik. Bizim çalışmamızdan elde edilen bulguların 24 saatlik akut bir

çalışmanın neticesinde olduğu için literatüre de bu anlamda katkı sunacağını düşünmekteyiz. Ayrıca azalan ALP seviyeleriyle AST, TNF- α , ve CK düzeyleri arasında kuvvetli negatif bir korelasyon olduğunu tespit ettik.

Serum CK değerleri göz önüne alındığında Grup 3 ve Grup 4 ile Kontrol grubu ve Grup 2 karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir ($p = 0,004$; $p < 0,013$). Yapılan çalışmalarda CK değerinde artışlar olduğu gözlenmiş ve bunun sebebinin karaciğer harabiyeti ile ilişkili olduğu söylenmiştir (Lasram 2009, El-Demerdash 2003). Yine benzer şekilde doku harabiyetinin belirteci olarak, ALT, AST ve LDH ile de çalışmalar yapılmıştır. Hem ALT hem de AST düzeyleri incelendiğinde Grup 1 ve Grup 3 grupları arasında istatistiksel anlamlı bir yükselme olduğu gözlenmiştir ($p = 0,004$, $p < 0,013$). Grup 4 için ise AST düzeyinde bir artış olurken ALT düzeyinde anlamlı bir değişim olmadığı saptanmıştır ($p > 0,05$). Bunun yanında LDH düzeylerinde kontrol grubuyla Grup 3 ve Grup 4 arasında anlamlı bir fark bulunmazken, Grup 2'nin düzeyinde bir azalış söz konudur. Ancak bu değişimler istatistiksel olarak anlam taşımamaktadır ($p > 0,013$). Yapılan çalışmalarda, malathion uygulamalarında da AST, ALT ve LDH düzeylerinde artışlar olduğunu ve bunun nedenin karaciğer harabiyeti kaynaklı olabileceği bildirilmiştir (Lasram 2009, 2014, Kalender 2010). Yapılan bu çalışmalar da kronik doz uygulamalarıyla elde edilmiş sonuçlardır. 250 mg/kg'lık tek doz uygulamasıyla yapılan çalışmalarda da yine benzer artış olduğu söylenmektedir (Franco, 2009). Yapılan bir diğer çalışmada 100mg/kg oral yolla verilen malathionun 3 saatlik akut uygulamasıyla AST ve ALT düzeylerinde belirgin artış olduğu bildirilmiştir. (Al-Attar, 2010). Bizim bulduğumuz ALT ve AST sonuçları bu bulguları desteklemektedir. 3 farklı dozda akut maruziyetle yapılan çalışmamızın bulgularının literatüre katkı açısından önem taşıdığını düşünmekteyiz. Ayrıca korelasyon açısından değerlendirildiğinde, AST-CK arasında kuvvetli pozitif bir korelasyon bulundu. AST-ALP ve CK-ALP arasında ise kuvvetli negatif korelasyon olduğu tespit edildi.

Kontrol grubu dışındaki tüm gruplarda Lipaz enziminin inhibe olduğu gözlenmiştir. Lipaz hemen hemen tüm hücreler ve organizma için önemli bir role sahiptir. Lipazlar, hücresel yapının korunması için önemli olan lipid substratların hidrolizinde görev alırlar. Lipid homeostazının zarar görmesi nörodejeneratif hastalıklar (Quistad ve diğerleri, 2003), kanser (Chiang ve diğerleri, 2006), obezite (Shi ve diğerleri, 2004) ve ateroskleroza (Macphee ve diğerleri, 2006) sebep olduğu söylenmektedir. Organofosfat pestisitler antikolinerjik aktiviteleriyle tanınmış olsalar da lipazlar ve diğer başka hedefler için de seçicidirler (Casida,

2008). Lipazlarla yapılan bir diğer çalışmada serin hidrolaz ailesine ait olan yağ asidi amid hidrolaz ve monoaçil gliserol lipazın bir organofosfat pestisit olan fenitrothionla olan ilişkisi çalışılmıştır. Her iki enzim aktivitelerinde büyük düşüşler olduğu gözlenmiştir (Suzuki, 2014). Elde ettiğimiz bulgular serin hidrolaz ailesine ait olan lipaz enziminin malathionun etkisiyle her doz grubunda inhibe olduğu yönünde olup verilen dozların bu açıdan metabolizmayı kuvvetli bir biçimde etki ettiğini düşündürmektedir. Literatür araştırılması yapıldığında malathion ve organofosfat zehirlenmelerin tanısında asetilkolinesteraz çalışmalarının yoğunlukta olduğu görülmektedir. Öte yandan az sayıda olsa da lipaz ile ilgili yayınlarla mevcuttur. Ancak hem akut bir çalışma olması hem de doz uygulanan miktarlar göz önüne alındığında bu çalışmadan elde edilen bilgilerin önemli olduğunu düşündürmektedir.

Amilaz aktivitesinde, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında her 3 grupta da artışlar gözlenmektedir, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p = 0,017$). Organofosfat zehirlenmelerde, akut pankreatit rahatsızlığının rapor edildiğinden çok daha fazla olduğunda bahsedilmektedir. Bu maruziyetle karşılaşılacak hastalarda amilaz seviyelerinin yükseldiği bildirilmektedir (Hsiao ve diğerleri, 1996). Bu çalışmada akut olarak çok yüksek doz organofosfat bir bileşik olan mevinfos (200ml) alarak intihar teşebbüsü ile hastaneye kaldırılan bir vaka üzerinde yapılan araştırma sonucunda amilaz seviyesiyle birlikte birçok parametrenin de değiştiği söylenmektedir. Bizim yaptığımız çalışmada da kontrol grubuyla mukayese edildiğinde her grupta bu artışların olduğu gözlenmektedir. Ancak malathion maruziyet veya uygulama süresi artırıldığı takdirde bu artışlarının istatistiksel olarak anlam kazanabileceğini düşünmekteyiz.

Serum TOS seviyesinde kontrol grubu ile Grup 3 ve Grup 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklanma bulunmuştur ($p= 0,004$). Grup 2 ile Grup 3 ve Grup 4 mukayese edildiğinde burada da anlamlı bir değişim olduğu gözlenmektedir. Malathionun malaoksona transformasyonu sırasında birçok reaktif oksijen türünün ortaya çıktığı belirtilmiştir. Bu oksidatif stres durumu malathionun glutatyon ile konjugasyonu neticesinde sonlandırılabilirliği söylenmektedir (Ranjbar ve diğerleri, 2010). Organofosfatlarla indüklenen oksidatif stres in vivo çalışmalarda sıkça gösterilmiştir. Organofosfat maruziyetlerinde antioksidan savunma mekanizması değişmekte ve lipid peroksidasyonu arttığı söylenmektedir. Superoksit dismutaz, Katalaz, Glutatyon redüktaz gibi enzimatik antioksidanlar ve Vitamin E ve C gibi enzimatik olmayan antioksidanların etkileri

araştırılmıştır. Akut, subkronik ve kronik maruziyetlerde lipid peroksidasyonunda artış olduğu çalışmalarla gösterilmiştir (Teimouri ve diğerleri 2006; Oral ve diğerleri, 2006). Literatürler araştırıldığında, akut malathion uygulamalarıyla ilgili olarak TOS seviyelerinin çokça çalışılmamış olduğu anlaşılmaktadır. Bu çalışmada akut doz malathion uygulamasında TOS seviyelerindeki değişim gözlemlenmiş ve literatür için önemli veri sunduğunu düşünmekteyiz.

Serum MDA seviyeleri incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir değişim olmadığı gözlenmiştir ($p > 0,05$). Yapılan çalışmalarda MDA düzeylerinde, oksidatif stresin bir parametresi olarak artışlar olduğu söylenmektedir. Uygulama, farelerde yapılmış olup 500mg/kg ve 3 gün süreyle gerçekleştirilmiş (Slimen ve diğerleri, 2014). Ancak yapılan doz uygulamaları veriliş süreleri olarak farklılıklar bulunmaktadır. Uygulama süresindeki artışın bir oksidatif stres parametresi olan MDA düzeyinde değişikliğe neden olabileceğini düşünüyoruz.

Serum AGEs düzeyleri incelendiğinde kontrol grubu ile doz grupları arasında artış gözlenirse de istatistiksel olarak anlamlı bir değişim kontrol grubu ile Grup 4 arasında gerçekleşmiştir. ($p < 0,002$). Son yıllarda yapılan çalışmalarda AGEs diyabet komplikasyonlarında, karaciğer rahatsızlıklarında nörodejeneratif hastalıklarda hatta bazı kanser türlerinde de bile rol aldığı söylenmektedir (Palimeri ve diğerleri, 2015). Malathion ve diğer organofosfat pestisitlerin bir çoğunun hiperglisemiye yol açtığı ve artan glukoz düzeyi nedeniyle de AGEs seviyelerinin de artacağı bildirilmektedir. Oluşan AGEs insülin direnci veya Tip 2 Diyabet yol açabileceği, bu etkiyi oksidatif stres, inflamasyon ya da doğrudan etkisini IRS-1 'i etkileyerek yapabileceği düşünülmektedir (Henriksen ve diğerleri, 2011).

Glukoz değerlerinde, kontrol grubuyla diğer doz grupları mukayese edildiğinde anlamlı bir değişim olmadığı tespit edilmiştir. ($p=0,329$; $p < 0,013$) Birçok çalışma organofosfat pestisitlerin glukoz homeostazında etkilerinin olduğunu söylemektedir. Yapılan çalışmalarda karaciğer glukoz üretim düzeyinde değişimlere sebep olduğu söylenmektedir, bu değişimin malathionun toksisite durumunda özellikle glukoneojenez yoluyla düzenlemeye çalışıldığı düşünülmektedir (Mostofalou ve diğerleri, 2012). Yaptığımız çalışmada gruplar arası değişimin istatistiksel olarak anlamlı olmasa da insülin sonuçlarıyla beraber değerlendirildiğinde anlam kazandığını düşünmekteyiz. Bu sonuçlara göre Grup 1, Grup 2 ve Grup 3 'e göre Grup 4'te artmış bir glukoz seviyesiyle karşılaşmaktayız. Aynı

grupları değerlendirdiğimiz de, insülindeki bu değişim istatistiksel olarak anlamlı bir artış olarak gözlemlenmektedir. Diğer çalışmalarda, malathion uygulamalarında hipergliseminin oluşabileceği belirtilmektedir. Bu bağlamda artan insülin miktarına karşın glukoz seviyesinin azalması beklenirken kan glukoz seviyesinde Grup 2 ve Grup 3 'de önemli bir değişim görülmemesi, Grup 4'te hafif artış görülmesi yükselmiş insülinin artmış glukozu düşürmesine bağlı olabilir. Yapılan bir başka çalışmada, 650 mg/kg malathion ratlara akut olarak uygulandığında hipergliseminin oluştuğu bildirilmiştir (Rodrigues ve diğerleri, 1986). Uygulanan doz miktarının artırılması ya da daha uzun süreli maruziyet durumunda hiperglisemi ile karşılaşılmasının ihtimaller dahilinde olduğunu düşünmekteyiz.

Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz değerlerinde gruplar arasında Grup 4'te diğer gruplara göre bir artış gözlenmişse de bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. Yapılan bir çalışmada parathion, malathion ve chlorpyrifos tek başına ya da kombine halde kullanılmış ve her iki durumda da glutatyon redüktaz ve glukoz-6-fosfat dehidrojenaz enzim aktivitelerinde artış olduğu gözlemlenmiştir. Bu bulgular organopestisitlerin tek başına ya da kombine kullanımda oksidatif strese yol açabildiğini göstermektedir (Ojha ve diğerleri, 2009). Ayrıca glukoz ve G6PD düzeyleri arasında çok kuvvetli bir pozitif korelasyon tespit edilmiştir.

İnsulin direnci ve tip 2 diyabet riski, organofosfat pestisitlerine maruziyette karşılaşılan önemli komplikasyonlardandır. Malathion, subkronik modeliyle yapılan çalışmalarda oksidatif hasar ve inflamasyon ile ilgili parametreler incelenmiştir. Artmış insülin miktarı, glisemi ve sitokin miktarlarında artış tespit edilmiştir (Lasram ve diğerleri, 2014). Yapılan diğer birçok çalışmada da malathion intoksikasyonunun kan glukoz seviyesindeki artışla paralel olarak insülin salınımını arttırdığı vurgulanmıştır (Pournourmohammadi ve diğerleri, 2007; Vosough-Ghanbari ve diğerleri, 2007; Nili-Ahmadabadi ve diğerleri, 2013).

Serum insülin düzeyinde kontrol grubu ve diğer gruplar arasında anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir. Yapılan birçok çalışmada organofosfatla maruziyetlerde karşılaşılan klinik durumlardan en başta geleni insülin direncidir. Akut maruziyette glukoz homeostazının bozulmasıyla birlikte hiperinsulinemiyle karşılaşıldığı rapor edilmiştir (Ghafour-Rashidi ve diğerleri, 2007). İnsülin direncinin patofizyolojisinde reaktif oksijen türlerin önemli rolü olduğu vurgulanmaktadır. Bu rolün treonin fosfataz aktivitesini inhibe ederek gerçekleştirdiği belirtilmektedir (Mahadev ve diğerleri, 2004). Yaptığımız analizler neticesinde TOS seviyeleri ve insülin arasında kuvvetli bir korelasyon olduğu tespit

edilmiştir. Ayrıca yine AGEs ve İnsulin arasında da kuvvetli bir korelasyon olduğu görülmüştür. Bu elde edilen sonuçların ileride yapılacak çalışmalar için önemli olduğu kanısındayız.

Yıllardır yapılan çalışmalarda inflamasyon ve diyabet arasındaki ilişkilerden söz edilmektedir. İlk çalışmalar sodyum salisilatın yüksek dozlarının diyabet hastalarında glikozürde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir. TNF- α , IL-6 ve CRP gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin tip 2 diyabetli hastalarda yüksek olduğu belirtilmektedir. (Shoelson ve diğerleri, 2007). Ayrıca yapılan birçok çalışmada organofosfat bileşikler inflamasyonda büyük rollere sahip TNF- α ve IL-6 düzeylerinde artışa neden olduğu belirtilmiştir. Organofosfat bileşikler olan diazinon, fenthion ve malathionla yapılan çalışmalarda bu sitokinlerin arttığı tespit edilmiştir. (Ayub ve diğerleri, 2003; Hariri ve diğerleri, 2010; ve Yürümez ve diğerleri, 2007). Ayrıca rat ve fare hipokampus, korteks ve talamuslarında yapılan çalışmalarda akut olarak soman 'a maruziyetinde TNF- α , IL-1B ve IL-6 'nın transkripsiyon ve protein düzeylerinin arttığı görülmüştür (Dhote ve diğerleri, 2007; ve Dillman ve diğerleri, 2009). Yaptığımız çalışmada TNF- α düzeylerinde, kontrol grubu ile Grup 4 karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür ($p < 0,002$). Diğer gruplarda bir artış gözlenmiş olsa da istatistiki olarak anlamlı değildir. Korelasyon analizlerine bakıldığında TNF- α 'nın TOS, AST ve insülin düzeyleriyle pozitif bir korelasyona sahip olduğu gözlenmiştir. ALP düzeyleriyle ise negatif korelasyona sahip olduğu bulunmuştur. Yapılan çalışmaların çoğu kronik doz uygulamaları olup, akut uygulamadan elde edilen bulguların, şu ana kadar yapılmış diğer akut çalışmalarla birlikte katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

BUN değerlerinde kontrol grubu ile diğer doz grupları karşılaştırıldığında anlamlı bir değişim olmadığı saptanmıştır. Organofosfat toksisitesinde böbrekler de etki altında kalabilecek hedef organlardan biridir. Yapılan çalışmalarda akut, subakut ve kronik toksisiteye maruz kaldığında üre düzeyinde artışlar tespit edilmiştir (Sivapiriya ve diğerleri, 2006). Üre oluşumu protein yıkımıyla ilişkilidir. Bu durumun protein katabolizmasındaki artış sebebiyle olduğu da yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Lasram, 2014). Bulduğumuz sonuçlar akut malathion uygulamasında düzeylerde değişim olmadığını göstermiştir. Bu durum doz miktarının artırılması ya da maruziyetler uzun sürelerinin

uzatılması doğrultusunda değişim gösterebileceğini ve literatürlerde de belirtildiği üzere bir artış olabileceğini düşünmektedir.

Serum Kreatinin düzeyi incelendiğinde Kontrol grubu ve diğer gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir değişim olmadığı görülmüştür. Yapılan çalışmalarda da serum kreatinin düzeyinin anlamlı değişim göstermediği söylenmektedir (Lasram ve diğerleri, 2014). Yapılan bir diğer çalışmada ise rat oral yolla 100 mg/kg malathion verildikten 3 saat sonra serum kreatinin düzeylerinde bir artış olduğu bildirilmiştir (Al-Attar ve diğerleri, 2010). Malathiona kronik maruz kalan tarım işçileri ile yapılan bir çalışmada idrar kreatinin düzeylerinin normalin çok üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Yine bu çalışmada malathion gibi pestisitlerin gerekli önlemler alınmadığı takdirde hem işçiler hem de aileleri için tehlike oluşturabileceği belirtilmektedir. (Bradman ve diğerleri, 2009). Üre düzeyine benzer şekilde, maruziyet süresinin farklılaşp artması durumunda bu parametre için de kan düzeylerinde bir artış olabileceğini düşünmekteyiz.

Yapılacak daha ayrıntılı çalışmalarla bu mekanizmaların aydınlatılması için daha fazla yol katedilmesi gerektiğini düşünmekteyiz. Aynı zamanda Malathion'un akut uygulamasında tüm glikojenik enzim aktivelerini, sitokinler ve diğer biyomoleküllerin düzeylerinin analiz edilerek farklı araştırmalarla insülin direnci ve inflamasyonun ve oksidatif stres arasındaki ilişkilerin açığa çıkmasının önemli olabileceğini düşünmekteyiz.

6. SONUÇ

Malathion'un 24 saat sonra (akut) kontrol grubu (Grup1), 100 mg/kg (Grup 2), 200 mg/kg (Grup 3) ve 400 mg/kg (Grup 4) doz grupları oluşturularak serum üzerinde yaptığımız çalışmamızda;

Malathionun, her 3 doz grubunda da serum lipaz aktivitesi üzerinde ciddi etki ettiği gözlenmiştir. Kontrol grubunda serum lipaz düzeyi ölçülebilirken, diğer tüm gruplarda inhibisyon olduğu tespit edilmiştir.

Oksidatif stres parametreleri incelendiğinde serum MDA düzeyi gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında MDA düzeyleri açısından anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. AGEs düzeylerine bakıldığında ise Kontrol grubu ile Grup 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişime rastlanmıştır. Grup 2 ve Grup 3'de de bu düzeylerde bir artış gözlemlenmiş olsa da istatistiksel olarak anlamlı değildir. TOS düzeyinin ise Grup 4'ün, Grup 1 ve Grup 2'ye göre anlamlı olarak arttığı bulunmuştur. Doz artışı ile birlikte serum AGEs ve TOS düzeylerinde kuvvetli pozitif bir korelasyon bulunmaktadır.

Doku hasarlarının incelenmesi açısından AST, ALT, CK enzimleri incelendiğinde, Özellikle Grup 1 ve Grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artışın olduğu gözlemlenmektedir. Bu enzimler arasında da pozitif bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir. ALP aktivitesinde ise bu 3 enzimin aksine Grup 1 ile Grup 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış olduğu gözlenmiştir. ALP ile AST, CK ile kuvvetli negatif bir korelasyon olduğu saptanmıştır. LDH düzeylerinde de gruplar arasında artış gözlemlenmiş olsa da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Glukoz düzeylerinde gruplar arasında anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. İnsulin düzeylerinde ise Grup 1 ile Grup 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir. G6PD düzeylerinde de anlamlı olarak bir değişim gözlenmemiş olsa da, bu değişimler glukoz düzeyleri ile kuvvetli korelasyona sahiptir. İnflamatuvar belirteçlerden olan TNF-alfa düzeylerinde ise Grup 1 ile Grup 4 arasında anlamlı bir artış görülmüştür. Bu artış, hem AGEs hem de TOS düzeyleriyle kuvvetli pozitif bir korelasyona sahiptir. Ayrıca AST düzeyi ile de pozitif bir korelasyon bulunmaktadır.

Elde ettiğimiz sonuçların, Malathion'un doz değişimi ile akut toksik etkisinin serum oksidan ve antioksidan sistem, inflamatuvar belirteçler, bazı enzim ve moleküller ile seçilen parametrelerin birbirleri ile olan ilişkisinin kapsamlı veri sağlayacağını düşünmekteyiz.

Bu perspektif ile Malathion'un serum parametrelerinde neden olacağı değişimin akut dozlarda insan sağlığı –özellikle tarım işçileri ve pestisit üretiminde çalışanlar- ve çevre üzerine meydana getirdiğı olumsuz etkilerinin belirlenip bunun önüne geçilmesi, dış pazarda ve iç tüketimde tarım ürünleri için kullanılan dozu hakkında düzenleme yapılabilmesi için yeni fikirler vereceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Abbas, A.B. Lichtman, A.H. (2009). "Ch.2 Innate Immunity". In Saunders (Elsevier). *Basic Immunology*. Functions and disorders of the immune system (3rd ed.). ISBN 978-1-4160-4688-2.)
- Abdollahi, M., Jafari, A., Jalali, N., (1995) Chronic toxicity in organophosphate exposed workers. *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran*, 9: 221–25
- Abdollahi, M., Balali, M., Akhgari, M., (1996) A survey of cholinesterase activity in healthy and organophosphate-exposed populations. *Iranian Journal of Medical Science*, 21: 63–66
- Abdollahi, M., Jafari, A., Jalali, N., (1995) A new approach to the efficacy of oximes in the management of acute organophosphate poisoning. *Iranian Journal of Medical Science*, 1995; 20: 105–9
- Abdollahi, M., Jalali, N., Sabzevari, O., (1999) Pesticide poisoning during an 18-month period (1995–1997) in Tehran, Iran. *Iranian Journal of Medical Science*, 24:77–81
- Abdollahi, M., Donyavi, M., Pournourmohammadi, S., and Saadat, M. (2004a). Hyperglycemia associated with increased hepatic glycogen phosphorylase and phosphoenolpyruvate carboxykinase activities in rats following subchronic exposure to malathion. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C Toxicology Pharmacology* 137:343–347.
- Al-Attar, AM., (2010) Physiological and Histopathological Investigations on the Effects of α -Lipoic Acid in Rats Exposed to Malathion. *Journal of Biomedical Biotechnology* 203503.
- Ayud, S., Verma, J., Das, N. (2003) Effect of endosulfan and malathion on lipid peroxidation, nitrite and TNF- α release by rat peritoneal macrophages. *International Immunopharmacology*;3:1819–28.
- Basağa, H.S. (1990). Biochemical aspects of free radicals *Biochemistry and Cell Biology*. 68,989-998
- Bassil, K.L., Vakil, C., Sanborn, M., Cole, D.C., Kaur, J.S., Kerr, K.J. (2007). Cancer health effects of pesticides: systematic review. *Canadian Family Physicians* ;53:1704–11.
- Berg, A.H., Coombs, T.P., Scherer, P.E. (2002) ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. *Trends Endocrinology and Metabolism*; 13:84-9.
- Bingöl, F., Aydın, S., Açoğöz, Ş. (1993). Serbest radikaller. *Ankara Hastanesi Tıp Dergisi*, 28 (supl. 1), 2.

- Bond, R.G., Straup, C.P. (1974) *Handbook of Environmental Control IV* p436 CRC Press Ohio.
- Bradman, A., Salvatore, A.L., Boeniger, M., Castorina, R., Snyder, J., Barr, D.B., Jewell, N.P., Kavanagh-Baird, G., Striley, C., and Eskenazi, B. (2009) Community-Based Intervention to Reduce Pesticide Exposure to Farmworkers and Potential Take-Home Exposure to their Families. *Journal of Exposure Science Environmental Epidemiology*. 2009 January ; 19(1): 79–89. doi:10.1038/jes.2008.18
- Brenner, L. (1992) Malathion. *Journal of Pesticide Reform* 12:29–37.
- Burg, M.B., (1995). Molecular basis of osmotic regulation. *American Journal of Physiology* 268, 983–996.
- Carpenter, L., Cordery, D., Biden, T.J., (2001). Protein kinase cd activation by interleukin-1 γ stabilizes inducible nitric-oxide synthase mRNA in pancreatic β -cells. *Journal of Biology and Chemistry*. 276, 5368–5374.
- Casida, J.E., Quistad, G.B., (2004). Organophosphate toxicology: safety aspects of nonacetylcholinesterase secondary targets. *Chemical Research in Toxicology* 17,983–998.
- Casida, J.E., Quistad, G.B., (2005). Serine hydrolase targets of organophosphorus toxicants. *Chemico-Biological Interactions* 157–158, 277–283.
- Casida, J.E., Nomura, D.K, Vose S.J., Fujioka K. (2008). Organophosphate-Sensitive Lipases Modulate Brain Lysophospholipids, Ether Lipids and Endocannabinoids. *Chemical Biology Interaction* September 25; 175(1-3): 355–364
- Chandra, K., Salman, A.S., Mohd, A., Sweety, R., Ali, K.N. (2015) Protection Against FCA Induced Oxidative Stress Induced DNA Damage as a Model of Arthritis and In vitro Anti-arthritis Potential of *Costus speciosus* Rhizome Extract. www.ijppr.com *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* 7(2); 383-389. ISSN: 0975-4873)
- Cheeseman, K.H., Slater, T.F. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin*, 49, 481-493.
- Chiang, K.P., Niessen, S., Saghatelian, A., Cravatt, B.F. (2006) An enzyme that regulates ether lipid signaling pathways in cancer annotated by multidimensional profiling. *Chemical Biology*;13:1041–1050.
- Dean, J.H., House Luster, M.I. (2001) *Immunotoxicology: effect of and response to, drugs and chemicals*. In: Hayes WA, editor. Principles and methods of toxicology. Philadelphia: Taylor and Francis; 2001. p. 1415– 47.

- de Luca, C., Olefsky, J.M., (2008). Inflammation and insulin resistance. *FEBS Lett.* 582(1), 97–105.
- Dhote, F., Peinnequin, A., Carpentier, P., Baille, V., Delacour, C., Foquin, A., Lallement, G., Dorandeu, F., (2007). Prolonged inflammatory gene response following soman-induced seizures in mice. *Toxicology* 238, 166–176.
- Dillman 3rd, J.F., Phillips, C.S., Kniffin, D.M., Tompkins, C.P., Hamilton, T.A., Kan, R.K., (2009). Gene expression profiling of rat hippocampus following exposure to the acetylcholinesterase inhibitor soman. *Chemical Research of Toxicology.* 22, 633–638.
- Dökmeci, İ (2001) *Toksikoloji, Zehirlenme Tanı ve Tedavileri*, Nobel Tıp Kitabevi, (S. 215–228, 646–652)
- El-Demerdash, F.M., Yousef, M.I., Al-Salhen, K.S. (2003). Protective effects of isoflavone on some biochemical parameters affected by cypermethrin in male rabbits. *Journal of Environmental Science Health* 38:365–78.
- Ellenhorn, M.J., Schonwald, S., Ordog, G., Wasserberger, J. (1997): *Ellenhorn's Medical Toxicology: Diagnosis and Treatment of Human Poisoning*. Williams & Wilkins, Maryland, 1614–634
- Ferrero-Miliani, L., Nielsen, O.H., Andersen, P.S., Girardin, S.E. (2007). "Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1beta generation". *Clinical and Experimental Immunology.* 147 (2): 061127015327006—doi:10.1111/j.1365-2249.2006.03261.x. PMC 1810472
- Fortunato, J.J., Agostiho, F.R., Reus, G.S., Petronilho, F.C., Dal-Pizzol, F. and Quvedo, J. (2006) *Lipid Peroxidative Damage on Malathion Exposure in Rats Neurotoxicity Research*, VOL. 9(1). pp. 23-28.
- Franco, J.L., Posser, T., Mattos, J.J. (2009) Zinc reverses malathion-induced impairment in antioxidant levels. *Toxicology Letter* 187: 137-43
- Freeman, B.A., Crapo, J.D., (1982). Free radicals and tissue injury, *Laboratory Investigation*, 47, 412-426.
- Galloway, T., Handy, R. (2003) Immunotoxicity of Organophosphorous Pesticides. *Ecotoxicology*, 12, 345-363,
- Geçkil, H. (2012) Oksidatif stress ve antioksidan sistemler. *Biyokimya I; s131-135.*
- Ghafour-Rashidi, Z., Dermenaki-Farahani, E., Aliahmadi, A., Esmaily, H., Mohammadirad, A., Ostad, S.N., Abdollahi, M., (2007). Protection by cAMP and cGMP phosphodiesterase inhibitors of diazinon-induced hyperglycemia and oxidative/nitrosative stress in rat Langerhans islets cells: molecular evidence for

- involvement of non-cholinergic mechanisms. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 87,261–270.
- Guttridge, J.M.C. (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*, 41/12, 1819-1828.
- Güley, M., Vural, N. (1978) *Toksikoloji*. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C (1983) *Free radicals in biology and medicine*. Second ed; p39-234, Clarendon Press Oxford.
- Halliwell, B. (1989). Free radicals, reactive oxygen species and human disease: A critical evaluation with special reference to atherosclerosis, *British Journal of Experimental Pathology*, 70, 737-757.
- Haffner, S.M., D'Agostino, Jr.R., Mykkanen, L. (1999). Insulin sensitivity in subjects with type 2 diabetes. Relationship to cardiovascular risk factors: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes Care*; 22:562-8.
- Hariri, A.T., Moallem, S.A., Mahmoudi, M., Memar, B., Hosseinzadeh, H. (2010). Sub-acute effects of diazinon on biochemical indices and specific biomarkers in rats: protective effects of crocin and safranal. *Food Chemistry Toxicology*;48(10):2803–8.
- Heffetz D., Rutter W.J., Zick Y., (1992) The insulinomimetic agents H₂O₂ and vanadate stimulate tyrosine phosphorylation of potential target proteins for the insulin receptor kinase in intact cells. *Biochemistry Journal*. 288, 631–635.
- Henriksen, E.J., Diamond-Stanic, M.K., Marchionne, E.M., (2011) Oxidative stress and the etiology of insulin resistance and type 2 diabetes. *Free Radical of Biology Medical*.51,993–999.
- Hotamisligil, G.S., Shargill, N.S., Spiegelman, B.M., (1993). Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 259 (5091), 87–91.
- Hsiou C.T., Yang C.C., Deng J.F., Bullard M.J., Liaw S.J (1996). Acute pancreatitis following organophosphate intoxication. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 34:3, 343-347.
- Jain N., Sharma P., Sharma N., Joshi S.C., (2009). Haemato-Biochemical Profile Following Sub Acute Toxicity Of Malathion in Male Albino Rats. *Pharmacologyonline* 2: 500-506
- John, S., Kale, M., Rathore, N., Bhatnagar, D. (2001) Protective effect of vitamin E in dimethoate and malathion induced oxidative stress in rat erythrocytes. *Journal of Nutrition and Biochemistry*, 12: 500–4

- Johnson, E.A., Kan, R.K. (2010) The acute phase response and soman-induced status epilepticus: temporal, regional and cellular changes in rat brain cytokine concentrations. *Journal of Neuroinflammation*;7:40.
- Kalender, S., Uzun, F.G., Durak, D., Demir, F., Kalender, Y. (2010) Malathion-induced hepatotoxicity in rats: The effects of vitamins C and E. *Food and Chemical Toxicology* 48 633–638
- Karami-Mohajeri, S., Abdollahi, M. (2011) Toxic influence of organophosphate, carbamate, and organochlorine pesticides on cellular metabolism of lipids, proteins, and carbohydrates: A systematic review. *Human Experimental Toxicology* 30(9), 1119-1140,.
- Kesavachandran, C.N., Fareed, M., Pathak, M.K., Bihari, V., Mathur, N., Srivastava, A.K. (2009) Adverse health effects of pesticides in agrarian populations of developing countries. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* ;200:33–52
- Koutroumani, N., Partsalaki, I., Lamari, F., Dettoraki, A., Gil, A.P., Karvela, A. (2013). Protective mechanisms against oxidative stress and angiopathy in young patients with diabetes type 1 (DM1). *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*. 26, 309-17,
- Krebs, M., Roden, M., (2005). Molecular mechanisms of lipid-induced insulin resistance in muscle, liver and vasculature. *Diabetes Obesity and Metabolism* 7, 621–632.
- Lasram, M.M., Bini Douib, I., Bouzid, K., Annabi, A., El Elj, N., Dhouib, H., El Fazaa, S., Abdelmoula, J., Gharbi, N. (2014) A review on the molecular mechanisms involved in insulin resistance induced by organophosphorus pesticides *Toxicology* 322 1–13.
- Lasram, M.M., Dhouib, I.B., Bouzid, K., Lamine, A.J., Annabi, A., Belhadjhmida, N., Ahmed, M.B., Fazaa, S.E., Abdelmoula, J., 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., Ahmed, M.B., El Fazaa, S., Abdelmoula, J., Gharbi, N. (2014) Antioxidant and anti-inflammatory effects of N-acetylcystein against malathion-induced liver damages and immunotoxicity in rats. *Life Science* Jun 27;107(1-2):50-8.
- Luévano-Contreras, C., Garay-Sevilla, M.E., Wrobel, K., Malacara, J.M., Wrobel, K. (2013). Dietary advanced glycation end products restriction diminishes inflammation markers and oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition* 52, 22-26,
- Macphee, C.H., Nelson, J., Zalewski, A. (2006) Role of lipoprotein-associated phospholipase A2 in atherosclerosis and its potential as a therapeutic target. *Current Opinion. Pharmacology*;7:154–161

- Mahadev, K., Motoshima, H., Wu, X., Ruddy, J.M., Arnold, R.S., Cheng, G., Lam-beth, J.D., Goldstein, B.J., (2004). The NAD(P)H oxidase homolog Nox4 modulates insulin-stimulated generation of H₂O₂ and plays an integral role in insulin signal transduction. *Molecular and Cell Biology*. 24, 1844–1854
- May, J.M., de Haen, C., (1979). The insulin-like effect of hydrogen peroxide on pathways of lipid synthesis in rat adipocytes. *Journal of Biology and Chemistry* 254, 9017–9021.
- Moses, V., Peter, J.V. (2010) Acute intentional toxicity: endosulfan and other organochlorines. *Clinical Toxicology (Phila)* ;48:539–44.
- Moslen, M.T. (1994). Reactive oxygen species in normal physiology, cell injury and phagocytosis, *Advance in Experimental Medicine and Biology*, 366, 17-27.
- Mostafalou, S., Eghbal, M.A., Nili-Ahmadabadi, A., Baeri, M., Abdollahi, M. (2012) Biochemical evidence on the potential role of organophosphates in hepatic glucose metabolism toward insulin resistance through inflammatory signaling and free radical pathways. *Toxicology and Industrial Health*. 2012 Oct;28(9):840-51
- Nili-Ahmadabadi, A., Pourkhalili, N., Fouladdel, S., Pakzad, M., Mostafalou, S., Hassani, S., Baeri, M., Azizi, E., Ostad, S.N., Hosseini, R., Sharifzadeh, M., Abdollahi, M., (2013). On the biochemical and molecular mechanisms by which malathion induces dysfunction in pancreatic islets in vivo and in vitro. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 106, 51–60.
- Quistad, G.B., Barlow, C., Winrow, C.J., Sparks, S.E., Casida, J.E. (2003) Evidence that mouse brain neuropathy target esterase is a lysophospholipase. *Proceeding of the National Academy of Sciences*. U.S.A;100:7983–7987.
- Ojha, A., Srivastava, N. (2012) Redox imbalance in rat tissues exposed with organophosphate pesticides and therapeutic potential of antioxidant vitamins. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Jan;75(1):230-41.
- Oral, B., Guney, M., Demirin, H. (2006). Endometrial damage and apoptosis in rats induced by dichlorvos and ameliorating effect of antioxidant vitamins E and C. *Reproduction of Toxicology*; 22(4): 783–90
- Palimeri, S., Palioura E., Kandarakis E.D., (2015) Current perspectives on the health risks associated with the consumption of advanced glycation end products: recommendations for dietary management. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*.
- Panahi, P., Vosough-Ghanbari, S., Pournourmohammadi, S., Ostad, S.N., Nikfar, S., Minaie, B. (2006). Stimulatory effects of malathion on the key enzymes activities of insulin secretion in langerhans islets, glutamate dehydrogenase and glucokinase. *Toxicology Mechanism and Methods* 16, 161–167.


- Parmaksız, İ. (2011). Diyabet Komplikasyonlarında İleri Glikasyon Son Ürünleri. *Marmara Medical Journal*;24:141-8
- Petroianu, G.A. (2008) The history of cholinesterase inhibitors: who was Moschnin(e)? *Pharmazie* ;63:325–7.
- Pournourmohammadi, S., Ostad, S.N., Azizi, E., Ghahremani, M.H., Farzami, B., Bagher Larijani, M.B., Abdollahi, M., (2007). Induction of insulin resistance by malathion: evidence for disrupted islets cells metabolism and mitochondrial dysfunction. *Pesticide of Biochemistry and Physiology*. 88, 346–352.
- Rahimi, R., Nikfar, S., Abdollahi, M. (2006) Increased morbidity and mortality in acute human organophosphate-poisoned patients treated by oximes: a meta-analysis of clinical trials. *Human Experimental Toxicology*, 25: 157–62
- Rahimi, R., Abdollahi, M., (2007). A review on the mechanisms involved in hyperglycemia induced by organophosphorus pesticides. *Pesticide of Biochemistry and Physiology* 88, 115–121.
- Ranjbar, A., Ghahremani, M.H., Sharifzadeh, M., Golestani, A., Ghazi-Khansari, M., Baeri, M. (2010) Protection by pentoxifylline of malathion-induced toxic stress and mitochondrial damage in rat brain. *Human Experimental Toxicology* 2010;29(10):851–64.
- Ray, D.E., Richards, P.G. (2001) The potential for toxic effects of chronic, low-dose exposure to organophosphates *Toxicology Letters* 120 343–351
- Rodrigues, M.A., Puga, F.R., Chenker, E. and Mazanti, M.T. (1986) Short-term effect of malathion on rats' blood glucose and on glucose utilization by mammalian cells in vitro. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 12, 110–113,
- Samuel, V.T., Shulman, G.I., (2012). Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. *Cell* 148, 852–871.
- Shadnia, S., Esmaily, H., Sasanian, G. (2007) Pattern of acute poisoning in Tehran-Iran in 2003. *Human Experimental Toxicology*, 26(9): 753–56
- Shi, Y., Burn, P. (2004) Lipid metabolic enzymes: emerging drug targets for the treatment of obesity. *Nature Reviews Drug Discovery*;3:695–710.
- Shoelson, S.E., Lee, J., Yuan, M., (2003). Inflammation and the IKK /I /NF- B axis in obesity- and diet-induced insulin resistance. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders* 27 (3), 49–52.
- Shulman, G.I. (2000). Cellular mechanisms of insulin resistance. *Journal of Clinical Investigation*; 106:171-6.

- Singh, R., Barden, A., Mori, T. (2001) Advanced glycation end-products: A review. *Diabetologia*;44:129-46. doi:10.1007/s001250051591.
- Singh B, Kaur R, Singh K (2009) Degradation of Organophosphate Pesticide, Malathion, by *Bacillus Spp.* Isolated from Soil. *11 th International Conference on Environmental Science and Technology* Chania, Crete, Greece 2009
- Sivapiriya, V., Jayanthisakthisekaran, J., Venkatraman, S. (2006). Effects of dimethoate (O,O-dimethyl S-methyl carbamoyl methyl phosphorodithioate) and ethanol in antioxidant status of liver and kidney of experimental mice. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 85:115–21.
- Slimen, S., Saloua, E.F., Najoua, G. (2014) Oxidative stress and cytotoxic potential of anticholinesterase insecticide, malathion in reproductive toxicology of male adolescent mice after acute exposure. *Iran Journal of Basic Medical Sciences*. 2014 Jul; 17(7): 522–530.
- Solberg, Y., Nachtomi-Shick, O., Shemer, Y., Alcalay, M. (1998) Terror in Japan: mass intoxication with the nerve-agent sarin. *Harefuah* 135:268–71.
- Soltaninejad, K., Abdollah, M. (2009) Current opinion on the science of organophosphate pesticides and toxic stress: A systematic review.
- Sparling, D.W., Fellers, G. (2007) Comparative toxicity of chlorpyrifos, diazinon, malathion and their oxon derivatives to larval *Rana boylei*. *Environmental Pollution* 147, 535–539 .
- Suzuki, H., Ito, Y., Noro, Y., Koketsu, M., Kanijima, M., Tomizawa, M. (2014). Organophosphate agents induce plasma hypertriglyceridemia in mouse via single or dual inhibition of the endocannabinoid hydrolyzing enzyme(s). *Toxicology Letters* 225 153– 157.
- Teimouri, F., Amirkabirian, N., Esmaily, H. (2006) Alteration of hepatic cells glucose metabolism as a non-cholinergic detoxication mechanism in counteracting diazinon-induced oxidative stress. *Human Experimental Toxicology*; 25(12): 697–703
- Tunçok, Y. (2003) *Toksikoloji Tanımı ve Tarihçesi, Toksikoloji Özel Sayısı*, Ksenobiyotiklerin Emilim, Dağılım ve Eliminasyonları.
- Ulrich, P., Cerami, A. (2001) Protein glycation, diabetes, and aging. *Recent Prog Horm Res.*;56:1–21.
- Uribarri, J., Woodruff, S., Goodman, S., Cai, W., Chen, X., Pyzik, R., Yong, A., Striker, G.E., Vlassara, H. (2010). Advanced glycation end products in foods and a practical guide to their reduction in the diet. *Journal of the American Dietetic Association*, 110(6), 911-916.

- Vial T., Nikolas B., Descotes J. (1996). Clinical Immunotoxicity of pesticide *Journal of Toxicology and Environment Health* 48, 215-229.
- Vos, J.G., Loveren, H.V. (1995) Markers for immunotoxic effects in rodents and man. *Toxicology Letters* ;82/83:304– 85.
- Vosough-Ghanbari, S., Sayyar, P., Pournourmohammadi, S., Aliahmadi, S., Ostad, N.S., Abdollahi, M., 2007. Stimulation of insulin and glucagon synthesis in rat Langerhans islets by malathion in vitro Evidence for mitochondrial interaction and involvement of subcellular noncholinergic mechanisms. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 89, 130–136.
- Vural, N. (2005) *A.Ü. Eczacılık Fakültesi Yayınları*, (sayfa 57, 58, 129-132)
- WHO, UNEP. (1990) *Public health impact of pesticides used in agriculture*. Geneva: World Health Organization;
- William, N. (1992) *Environmental and occupational medicine*. Second edition. Little, Brown and Company. USA.
- Wong S., Fournier M., Coddere D., Banska W., and Kryzstyniak K., (1992) *Environmental Immunotoxicology*. In D. Peakal ed. *Animal Biomarkers as Pollution Indicators* pp 167-189 London. Chapman-Hall
- Yang, M.C., McLean, A.J., Rivory, L.P., Le Couteur, D.G., (2000). Hepatic disposition of neurotoxins and pesticides. *Pharmacology and Toxicology*. 87, 286–291.
- Yurumez, Y., Cemek, M., Yavuz, Y., Birdane, Y., Buyukokuroglu, M.E. (2007) Beneficial effect of N-acetylcysteine against organophosphate toxicity in mice. *Biologic and Pharmaceutical Bulletin*;30 490–4.

EKLER

EK-1. Yerel Etik Kurul Onayı


T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : 66332047-604.01.02-7352
Konu : Değerlendirme ve Onay

17/03/2014

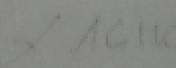
Sayın Prof.Dr.Hatice PAŞAOĞLU
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Hatice PAŞAOĞLU, Murat EKREMOĞLU, Çınar SEVERCAN, Özge Tuğçe PAŞAOĞLU ve Nalan AKYÜREK'ten oluşan, G.Ü.ET-14.015 kod numaralı ve "Malathionun, Rat Serum ve Dokularında Oksidan ve Antioksidan Sistem, İnflamatuar Belirteçler ve Bazı Metabolik Biyomoleküller Üzerine Etkilerinin İncelenmesi" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.


Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-14.015 and entitled "The investigation effects of malathion on oxidant and antioxidant systems, Inflammatory markers and some metabolic biomolecules in rat serum and tissues" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards


Prof. Dr. Leyla AÇIK
Kurul Başkanı

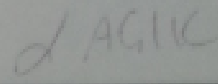
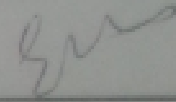
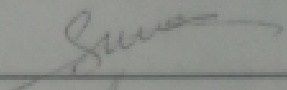

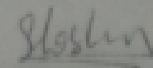
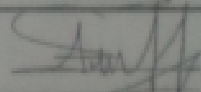
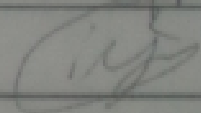

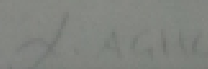
EK :
1 Liste


ASLI GİBİDİR

Gazi Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
Başkanı

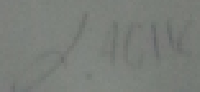
No: 41241

Gaziosmanpaşa
Tel: 0312 262 26 27 - Faks: 0312 262 26 44
E-Posta: hayvan@gaziosmanpaşa.tr Web: http://hayvan.gaziosmanpaşa.tr

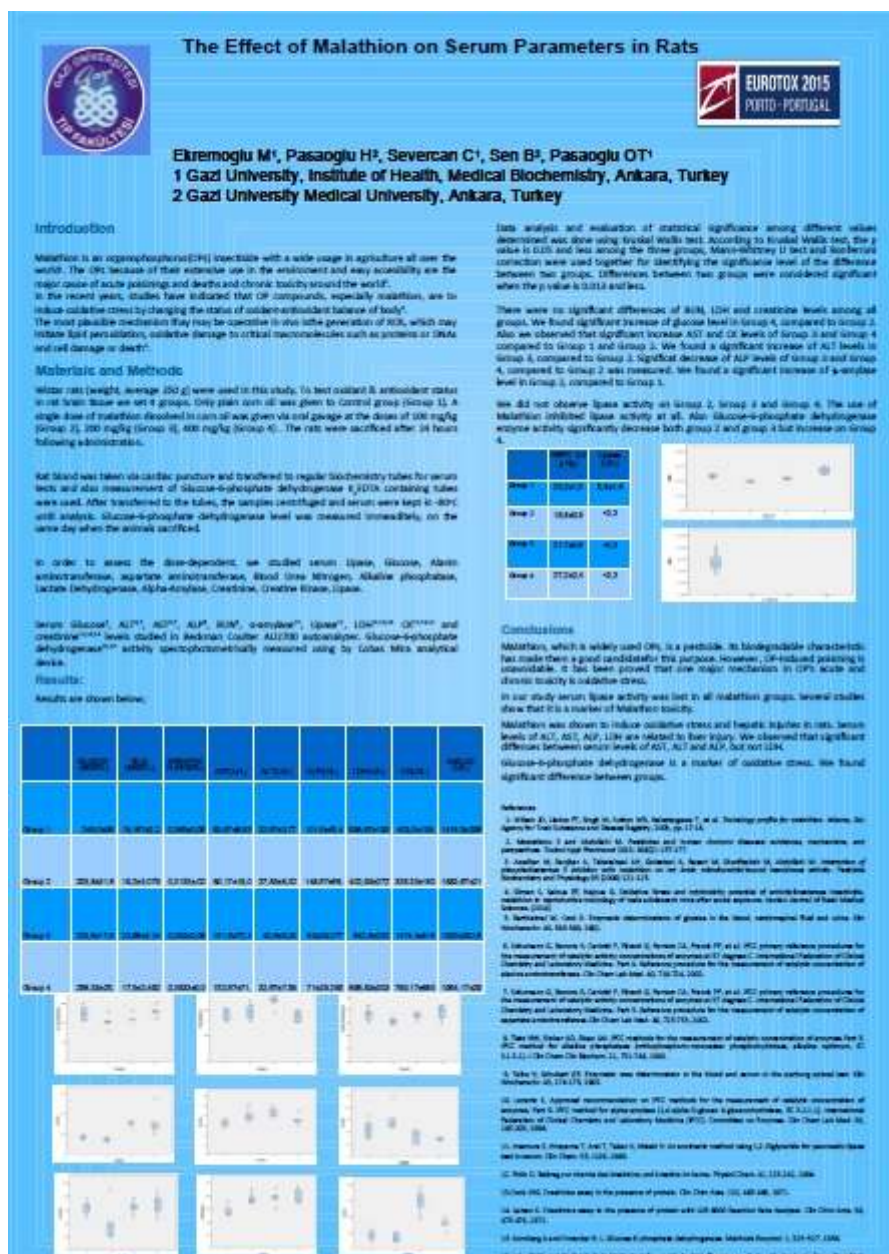
EK-1. Yerel Etik Kurul Onayı (Devam)

GAZİ ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KARARLARI KATILIM LİSTESİ	
TOPLANTI TARİHİ : 12.03.2014	TOPLANTI SAYISI : 03
ADI-SOYADI	
Prof.Dr.Leyla AÇIK (Başkan)	KATILDI 
Uzm.Dr.Şeyda DİKER (Başkan Yrd.)	KATILDI 
Prof.Dr.Suna ÖMEROĞLU	KATILDI 
Prof.Dr.Tuncay PEKER	KATILDI 
Prof.Dr.Şule COŞKUN CEVHER	KATILDI 
Prof.Dr.Esra AKKOL	KATILDI 
Yrd.Doç.Dr.İhsan YIKILGAN	KATILDI 
Yrd.Doç.Dr.Süleyman YEŞİL	KATILAMADI
Dr.Kadir BAŞAR 	KATILDI 
Sevim ÖNCÜ ERSANLI	KATILAMADI

ASLI GİBİDİR


Prof.Dr.Leyla AÇIK
Gazi Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı


EK-2. Eylül, 2015 European Toxicology (Eurotox) Kongresi'nde (Porto/Portekiz), "The Effect of Malathion on Serum Parameters in Rats" adlı çalışmamızın poster sunumu



1. Ekremoglu, Pasaoglu, H., M., Severcan, C., Şen, B., Pasaoglu, Ö. T., Malathion-induced oxidative stress in rat liver. *Toxicology Letters* 238S (2015) S56–S383 Porto/Portugal

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : EKREMOĞLU Murat
 Doğum tarihi ve yeri : 07/12/1980, Ankara
 Medeni Durumu : Bekâr
 Telefon : 0542 226 8930
 e-posta : muratekremoglu@yahoo.com.tr



Eğitim derecesi	Okul Program	Mezuniyet Yılı
Doktora	Gazi Üniversitesi/Tıbbi Biyokimya	Devam ediyor
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi/Tıbbi Biyokimya	2006
Lisans	Ege Üniversitesi/Biyokimya	2003

Yabancı Dili

İngilizce

Yayınlar

1. Ekremoglu M, Türközkan N, Erdamar H, Kurt Y, Yaman H., Protective effect of taurine on respiratory burst activity of polymorphonuclear leukocytes in endotoxemia, *Amino Acids*, 32(3):413-7, April 2007
2. Erdamar H, Türközkan N, Ekremoglu M, Kurt Y, Yaman H., The effect of taurine on polymorphonuclear leukocyte functions in endotoxemia, *Amino Acids*, 33(4):581-5, November 2006

Kongre ve Sempozyum

1. Ekremoglu, M., Pasaoglu, H., Severcan, C., Sen, B. and Pasaoglu, O.T. (2015). The effect of malathion on serum parameters in rat, 51.Congress of European Societies of Toxicology. EUROTOX 13-16 September 2015 Toxicology Letters 238S (2015) S56–S383 Porto/Portugal
2. Ekremoglu, M., Paşaoğlu, H., Severcan, Ç., Şen, B. ve Paşaoğlu, Ö.T. (2015). Malathionun Farkli Dozlarda Rat Serumunun Oksidan ve Antioksidan Durum Üzerine Etkisi. (2015). 27. Ulusal Biyokimya Kongresi, 3-6 Kasım 2015, Antalya/Türkiye.

3. Ekremoğlu M., Demirtaş C, Ofluoğlu E, Hussein A, Başoğlu H, The Effect of Caffeine on AOPP and MDA Levels, Superoxide Dismutase and Glutathione S Transferase Activities of Rat Kidney Tissue, 'Poster Presentation, 22nd IUBMB & 37th FEBS Congress, 4-9 September 2012, Seville, Spain
4. Ekremoğlu M., Kurdoğlu E.E., Oktem M. Development and Validation of a Liquid Chromatography- Tandem Mass Spectrometry Assay for Serum Busulfan Levels, 'Poster Presentation 38th FEBS Congress 6-11 July 2013, St Petersburg, Russia.
5. Severcan, C., Pasaoglu, H., Ekremoglu, M., Pasaoglu, O. T., Sen, B. and Akyurek, N. (2015). Malathion-induced oxidative stress in rat liver. 40. FEBS Congress The Biochemical Basis Of Life July 4-9 2015 FEBS Journal 282 (Suppl. 1) (2015) 56–408 Berlin/ Germany.
6. Paşaoğlu, H., Şen, B., Paşaoğlu, Ö. T., Severcan, Ç. and Ekremoğlu, M. (2015). Malatyonun rat beyin dokularında paraoksonase 1 aktivitesi ve total oksidan durum üzerine etkisi. 27. Ulusal Biyokimya Kongresi, 3-6 Kasım 2015, Antalya/Türkiye.
7. Pasaoglu, O.T., Pasaoglu, H., Sen, B., Ekremoglu, M. and Severcan, C. (2015). The effects of acute malathion exposure on renal oxidant & antioxidant balance in rats , 40. FEBS Congress The Biochemical Basis Of Life July 4-9 2015 FEBS Journal 282 (Suppl. 1) (2015) 56–408 Berlin/ Germany.
8. Pasaoglu, H., Sen, B., Pasaoglu, O. T., Severcan, C. and Ekremoglu, M. (2015). The effect of malathion on oxidant & antioxidant status in rat brain tissue, 40. FEBS Congress The Biochemical Basis Of Life July 4-9 2015 FEBS Journal 282 (Suppl. 1) (2015) 56–408 Berlin/ Germany.
9. Severcan, Ç., Paşaoğlu, H., Ekremoğlu, M., Paşaoğlu, Ö. T. ve Şen, B. (2015). Malathionun Farklı Dozlarda, Karaciğer Dokuları Üzerinde Toksik Etkisi. 27. Ulusal Biyokimya Kongresi (Sözel sunum), 3-6 Kasım 2015, Antalya/Türkiye.

İş Deneyimi

2013-.... Matriks Biyoteknoloji San. ve Tic. Ltd. Şti.

Ar-Ge Sorumlusu

ELISA Kitlerinin Araştırma-Geliştirme Çalışmalar

Kalite Kontrol Testlerinin Yapılması

Araştırma Projelerinde Asistanlık

2011-2013 Biyolojik Araştırma, Geliştirme ve Üretim A.Ş.

Birim Operatörü

LC-MS/MS, GC-MS ve HPLC ile çalışmalar

VLCFA (çok uzun zincirli yağ asitleri)

Karnitin

Adrenal Steroidler

İmmun supresan ilaç düzey ölçümü

2009-2010 Gordion Diagnostik Ltd Şti

HPLC Departman Şefi

HPLC Test kitlerinin geliştirilmesi

Hemoglobin varyantları

Vitamin Profilleri (A, E, B1, B2, B6, D3, C)

Neopterin

Homosistein

ADMA

Glutasyon

VMA, 5-HIAA, HVA

2007-2008 Başkent Üniversite Hastanesi Merkez Laboratuvarı

Biyokimyager

HPLC Laboratuvarı

Hematoloji Laboratuvarı

RIA-ELISA Laboratuvarı

Hormon Laboratuvarı

Çalıştay ve Kurslar

51. Eurotox Kongresi, Eylül 2015, Porto, Portekiz

4. Uludağ Üniversitesi Enlightenment and R&D Days, Kasım 2014, Bursa

38. FEBS Congress 6-11 Temmuz 2013, St. Petersburg, Russia

Waters Xevo TQ-S User Certificate, Mart 2013, Ankara

Waters Acquity Quattro Premier LC-MS/MS User Certificate, Şubat 2013, Ankara

12. Laboratuvar Hayvan Pratiği and Etik Kursu, Aralık 2012, Ankara

22. IUBMB & 37. FEBS Congress, 4-9 Eylül 2012, Sevilya, Spain
19. National Biochemistry Congress, 22-25 Nisan 2005, Antalya
2. National HPLC and the Other Separation Techniques 9-11 Ekim 2004, Ankara
- Vitamine A and Clinical Applications, Ekim 2004, Gazi University, Ankara
- Leukocyte Isolation and DNA fragmentation 2004, Gazi University, Ankara
- Huntington Disease, 2002, Ege University, İzmir



GAZİ GELECEKTİR..

