



**DİMETHOAT’IN SIÇAN TESTİS DOKUSU ÜZERİNE TOKSİK ETKİSİ VE
FERULİK ASİTİN KORUYUCU ROLÜ**

Hilmi UZUNBAYIR

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

OCAK 2021

ETİK BEYAN

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

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Hilmi UZUNBAYIR

15/01/2021

DİMETHOAT'IN SIÇAN TESTİS DOKUSU ÜZERİNE TOKSİK ETKİSİ VE FERULİK ASİT'İN KORUYUCU ROLÜ

(Yüksek Lisans Tezi)

Hilmi UZUNBAYIR

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2021

ÖZET

Kimyasal tarım ilaçları yani pestisitler; hastalık, zararlı ve yabancı otlarla mücadelede kısa sürede yüksek etkili olmaları nedeniyle üreticilerin en çok tercih ettiği ürünlerdir. Pestisitlerin kontrolsüz ve bilinçsiz kullanımı ise gıdalardaki kalıntıları nedeniyle başta insan sağlığı olmak üzere tüm canlılar üzerinde olumsuz etkilere neden olabilmektedir. Bu çalışmada kullanılan Dimethoat organofosfatlı bir pestisittir. Ferulik asit ise antioksidan özellikte bir bileşiktir. Bu çalışmada subakut olarak dimethoat düşük (1/100LD₅₀) ve yüksek doz (1/10 LD₅₀) olarak iki ayrı dozda ratlara oral gavaj yoluyla verilmiştir. Bir antioksidan olan ferulik asit, yine oral gavaj yoluyla 30 mg/kg dozda her gün uygulanarak ratların testis dokuları üzerindeki etkileri incelenmiştir. Bu amaçla oksidatif stres etkilerini ölçmek için glutatyon peroksidaz (GPx), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon-S-transferaz (GST), katalaz (CAT), enzimleri ile lipid peroksidasyon belirteci olan malondialdehit (MDA) seviyesi araştırılmıştır. Aynı zamanda ışık mikroskobu ile histopatolojik incelemeler yapılmıştır. Bu amaçla, deney hayvanları 6 gruba ayrılmıştır: Kontrol, ferulik asit, düşük doz dimethoat, yüksek doz dimethoat, ferulik asit ve düşük doz dimethoat, ferulik asit ve yüksek doz dimethoat gruplarıdır. Bu deneysel çalışma için Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan etik kurul onayı alınmıştır (G.Ü. ET-17.004). Hayvanlara uygulama işleminin ardından her bir gruptaki sıçanlardan testis dokuları alınarak sıvı azot içinde dondurulmuş ve -80°C derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Dokulardaki antioksidan enzim ve MDA düzeylerinin ölçülmesi çeşitli metotlara göre spektrofotometrik olarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlara göre kontrol ve ferulik asit uygulanan ratların testis dokularında tüm parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir. Kontrol ve ferulik asit ile düşük/yüksek doz dimethoatın uygulandığı gruplar karşılaştırıldığında SOD, CAT, GPx, GST enzimleri ve MDA düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı artışların olduğu görülmüştür. Ferulik asit ile birlikte düşük ve yüksek doz dimethoat uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenirken düşük ve yüksek doz dimethoat uygulamalı gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı azalmalar görülmüştür. Histopatolojik incelemeler neticesinde dimethoat uygulanan gruplarda bazı toksik değişiklikler gözlenirken ferulik asit uygulanan gruplarda daha az toksisiteye rastlanmıştır. Sonuç olarak dimethoatın verdiği oksidatif hasar üzerinde ferulik asitin kısmen iyileştirici rolü olduğunu söylemek mümkündür.

Bilim Kodu : 20317
Anahtar Kelimeler : Pestisit, Dimethoat, Antioksidanlar, Oksidatif stres, Ferulik asit
Sayfa Adedi : 45
Danışman : Doç. Dr. Fatma Gökçe APAYDIN

TOXIC EFFECT OF DIMETHOATE ON RATE TESTICULAR TISSUE AND PROTECTIVE ROLE OF FERULIC ACID

(M. Sc. Thesis)

Hilmi UZUNBAYIR

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

January 2021

ABSTRACT

Chemical pesticides, pesticides, disease, pests and weeds are the most preferred products of the manufacturers because of their high impact in a short time. Uncontrolled and unconscious use of pesticides may cause negative effects on all living organisms, especially human health, due to their residues in food. Dimethoate used in this study is an organophosphate pesticide. Ferulic acid is known to have antioxidant properties. In this study, subacute dimethoate was given to rats in two different doses as low (1/100 LD₅₀) and high dose (1/10 LD₅₀) by oral gavage. Ferulic acid, an antioxidant, was also administered by oral gavage at a dose of 30 mg / kg each day to examine the effects of testicular tissues on rats. For this purpose, the levels of glutathione peroxidase (GPx), superoxide dismutase (SOD), glutathione-S-transferase (GST) catalase (CAT), and lipid peroxidation marker malondialdehyde (MDA) were investigated to measure oxidative stress effects. Histopathological examinations were performed with a light microscope. For this purpose, experimental animals were divided into 6 groups. The control groups are ferulic acid, low dose dimethoate, high dose dimethoate, ferulic acid and low dose dimethoate, ferulic acid and high dose dimethoate. Ethics committee approval was received from Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee for this experimental study (G.U. ET-17.004). Following administration to animals, testicular tissues were taken from rats in each group, frozen in liquid nitrogen and stored in a -80°C freezer. Antioxidant enzyme and MDA levels were measured spectrophotometrically according to various methods. According to the results, no statistically significant difference was observed in all parameters in testicular tissues of rats who were administered control and ferulic acid. When the control and ferulic acid and low / high dose dimethoate were compared, it was observed that there was a statistical significant increase in SOD, CAT, GPx, GST enzymes and MDA levels. There was a statistically significant increase in ferulic acid and low and high dose dimethoate groups when compared to the control group, while a statistically significant decrease was observed in low and high dose dimethoate groups. As a result of histopathological examinations, while some toxic changes were observed in dimethoate applied groups, less toxicity was observed in ferulic acid applied groups. As a result, it is possible to say that ferulic acid has a partially healing role on the oxidative damage caused by dimethoate.

Science Code : 20317

Key Words : Pesticide, Dimethoate, Antioxidants, Oxidative stress, Ferulic acid

Page Number : 45

Advisor : Assoc. Prof. Dr. Fatma Gökçe APAYDIN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitim süresince her türlü desteğini hissettiren yardımını esirgemeyen hocam, değerli danışmanım Doç. Dr. Fatma Gökçe APAYDIN ‘a teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmalarım sırasında yardımlarını eksik etmeyen değerli hocam Prof. Dr. Yusuf KALENDER’e ve yüksek lisans arkadaşlarım’a en içten saygı ve sevgilerimi sunarım. Yüksek lisans eğitimim boyunca daima yanımda olan hayattaki en değerli varlıklarım canım eşim Esra UZUNBAYIR’a ve ne zaman ihtiyacım olsa uzak yakın demeden desteklerini hissettiren annem Elmas UZUNBAYIR, babam Hüseyin UZUNBAYIR’a ve dedem Hilmi UZUNBAYIR’a çok teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	x
RESİMLERİN LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Pestisit	3
2.1.1. Pestisitlerin sınıflandırılması	5
2.1.2. Pestisitlerin insan sağlığına etkisi.....	7
2.2. Dimethoatın Yapısı	8
2.3. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar	10
2.4. Ferulik Asit (FA).....	13
2.5. Testis Dokusu.....	15
2.5.1. Testis – Antioksidan ilişkisi	15
3. MATERYAL VE YÖNTEM	17
3.1. Hayvanlar	17
3.2. Kimyasallar	17
3.3. Hayvalara Uygulama Planı	17
3.3.1. Grup: Kontrol grubu	18
3.3.2. Grup: Ferulik asit uygulanacak grup	18

	Sayfa
3.3.3. Grup: Düşük doz dimethoat uygulanacak grup	18
3.3.5. Grup: Düşük doz dimethoat ve ferulik asit uygulanacak grup	18
3.3.6. Grup: Yüksek doz dimethoat ve ferulik asit uygulanacak grup	19
3.4. Biyokimyasal İncelemeler.....	19
3.4.1. Malondihaldehit miktarının belirlenmesi	19
3.4.2. Antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi.....	19
3.5. Işık Mikroskobu İçin Dokuların Hazırlanması	21
3.6. İstatistiksel Analizler.....	21
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	23
4.1. Malondialdehit Miktarının Değerlendirilmesi	23
4.2. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Değerlendirilmesi	24
4.2.1. Katalaz enzim aktivitesi	24
4.2.2. Glutasyon peroksidaz enzim aktivitesi	25
4.2.3. Süperoksit dismutaz enzim aktivitesi	26
4.2.4. Glutasyon –S-transferaz enzim aktivitesi	27
4.3. Işık Mikroskobu Bulgularının Değerlendirilmesi	28
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	33
KAYNAKLAR	37
ÖZGEÇMİŞ	45

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Hayvanlara uygulama planı	17
Çizelge 4.1. Testis dokusundaki histopatolojik bulguların değerlendirilmesi.....	31



ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Organofosfatların genel yapısı.....	6
Şekil 2.2. Organik fosforlu bileşiklerin yapısı (Kül, 2016)	7
Şekil 2.3. Dimethoatın kimyasal yapısı	9
Şekil 2.4. Ferulik asitin kimyasal yapısı	15
Şekil 4.1. Dördüncü haftanın sonunda kontrol grubu ve muameleli grupların MDA seviyeleri.....	23
Şekil 4.2. Dördüncü haftanın sonunda kontrol grubu ve muameleli grupların Katalaz seviyeleri.....	24
Şekil 4.3. Dördüncü haftanın sonunda kontrol grubu ve muameleli grupların GPx seviyeleri.....	25
Şekil 4.4. Dördüncü haftanın sonunda kontrol grubu ve muameleli grupların SOD seviyeleri.....	26
Şekil 4.5. Dördüncü haftanın sonunda kontrol grubu ve muameleli grupların GST seviyeleri.....	27

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. Kontrol grubu ratların testislerindeki seminifer tüpçüklerinin genel görünüşü (S), X200	28
Resim 4.2. Ferulik asit uygulanan ratların testislerindeki seminifer tüpçüklerin genel görünüşü (S), X200	29
Resim 4.3. Düşük doz dimethoat uygulanan ratların seminifer tübüllerinde düzensizlik (⚡), spermatojenik hücrelerde azalma (⬅), intersitisyel dokuda ödem (♦). X200	29
Resim 4.4. Yüksek doz dimethoat uygulanan ratların seminifer tübüllerinde düzensizlik (⚡), atrofik değişiklikler (■), spermatojenik hücrelerde azalma (⬅), intersitisyel dokuda ödem (♦). X200	30
Resim 4.5. Ferulik asit ve Düşük doz dimethoat uygulanan spermatojenik hücrelerde azalma (⬅), intersitisyel dokuda ödem (♦). X200	30
Resim 4.6. Ferulik asit ve Yüksek doz dimethoat uygulanan ratların seminifer tübüllerinde düzensizlik (⚡), spermatojenik hücrelerde azalma (⬅), intersitisyel dokuda ödem (♦). X200.....	31

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler

Açıklamalar

μ

Mikron

μg

Mikrogram

mg

Miligram

μl

Mikrolitre

Kısaltmalar

Açıklamalar

CAT

Katalaz

GPx

Glutasyon peroksidaz

GST

Glutasyon-S-transferaz

MDA

Malondialdehit

RNS

Reaktif Nitrojen Türleri

ROS

Reaktif Oksijen türleri

SOD

Süperoksit dismutaz

1. GİRİŞ

Hızla gelişen dünya beraberinde nüfus artışını da getirmektedir. Artan nüfus artışı da ihtiyaç duyulan yaşam alanı ve temel ihtiyaç olan beslenme sorununu da beraberinde getirmektedir.

İnsanlar besin ihtiyaçlarını karşılamak için geniş tarım arazilerine ihtiyaç duymaktadır. Fakat artan nüfus, barınma ihtiyacını karşılamada tarım arazilerinin tahribatını hiçe sayarak bu arazileri daraltmış ve kullanıma kapatmıştır. Bunun yanı sıra sanayileşme, erozyon, ulaşımın kolaylaştırılması amacıyla yapılan yollar tarım arazilerinin tahribatında büyük yer kaplamaktadır (Zümeroğlu ve ark., 1979).

Artan dünya nüfusunun besin ihtiyacının karşılanmasında daralan tarım arazilerinde kaliteli ve maksimum ürün alınımı beraberinde zirai mücadeleyi de getirmektedir. Bu nedenle yapılan ve uygulanan tarım teknikleri beslenme ihtiyacını karşılamada zorunluluk haline gelmiştir. Ancak yapılacak uygulamalarda ve tekniklerde şu unutulmamalıdır ki gelecek nesillere sağlıklı ve yaşanılabilir bir çevre bırakılması gereklidir (Doğan, 2012).

Günümüzde yapılan zirai mücadele, zirai ilaçlama en etkili yöntemlerden biridir. Zirai mücadelede kullanılan zirai ilaçlar su kirliliği, çevre kirliliği, toprak kirliliği ve hava kirliliğine neden olmaktadır. İlaçlamayı yapan kişinin bu konuda yeterli bilgi ve beceri düzeyine sahip olması önemlidir. Bilinçsiz veya aşırı yapılan ilaçlama sonrası toprakta, besin maddelerinin üzerinde, yağmurlarla beraber yer altı sularında birikimler oluşabilmektedir. İlaçlama yapılacak alana uygun miktarda ve teknikte ilaçlama yapılmalı ve bu sayede birikim en aza indirilmelidir. Bu nedenle ilaçlamanın doğru yapılması önemlidir. Toprağa, yeraltı sularına karışan veya besinlerin üzerinde biriken kalıntılar buradan besin zinciri yoluyla diğer canlılara da geçebilmekte ve ciddi zararlara neden olmaktadır.

Pestisit, bitkilerin üzerinde veya çevresinde bulunarak bu besin kaynaklarının üretiminden başlayıp depolama ve tüketimine kadar geçen süre içerisinde besin değerini düşüren böcek, mantar ya da yabancı otlara karşı kullanılan kimyasallara genel olarak verilen addır (Bayar, 2013).

Pestisitler genel olarak besin değeri ve tarımsal değeri yüksek olan bitkilerin, besin değerini düşüren veya tarımsal alanda yetişmesine izin vermeyen tarımsal mücadelede kullanılan kimyasallardır. Bu kimyasallar verimliliğin artırılmasında, tarımda kalitenin artırılmasında önemli rolleri olan kimyasallardır (Meister, 1999).

Pestisitler yaygın olarak belirli bir hedefe karşı kullanılmaktadır. Hedef organizmanın yok edilmesinin yanı sıra bu maddeler kullanılan hedef canlı üzerinde de olumsuz etkilere neden olmaktadır. Ayrıca ekosisteme katılan bu kimyasallar buradan diğer organizmalara hatta ekosistem üzerine de ciddi hasarlar vermektedir. Parçalanma ve çözünmeye dayanıklı olmaları ekosistem üzerinde tahribata açıklık getirmektedir (Uslu ve Türkman, 1987).

Dünya çapında pestisit kullanımı önemli bir düzey ulaşmıştır. Pestisit kullanıldığı çevre ve bu çevrede yaşayan canlılar için olumsuz sonuçlar ortaya çıkaran sorunları da beraberinde getirmiştir. Yüksek dozda pestisit kullanımı, bilinçsiz pestisit kullanımı; ekosistemde, havada, suda ve toprakta yüksek derişimler de birikmelerine neden olmuştur.

Pestisitlerin metabolizmaları sonucu sadece kendilerinin değil metabolitlerinde birikmesine neden olmaktadır. Bu birikim tüm ekosisteme önemli boyutlarda zarar vermektedir (Doğan, 2012).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pestisit

Pestisit kalıntılarının ve çevreye verdiği zararın önemi 1948-1951 yılları arasında organik klorlu pestisit kalıntılarının bulunmasıyla önem kazanmış ve bu keşifle beraber pestisit kullanımında sınırlamalar getirilmesine neden olmuştur (Doğan, 2012).

Pestisit kullanımına bağlı meydana gelen kalıntılar, ekosistemin kirlenmesine sürekli olarak olumsuz katkı sağlamaktadır. Yarılanma ömrü uzun olan bu pestisitler sürekli olarak ekosistemin biyotik canlıları arasında dolaşmaktadır. Bunun yanı sıra abiyotik faktörlerle de canlıların metabolizmalarına katılmaktadır. Bunun sonucunda istenmeyen ölçüde istenmeyen durumlar ortaya çıkardığı açıkça gösterilmektedir. Canlının sistemleri üzerinde meydana getirdiği tahribat bir sonraki nesillere de aktarılmakta ve canlı yaşamını olumsuz yönde etkileyebilmektedir.

Pestisitlerin kullanıldığı ortamda uzun süre kalmaları beraberinde doğaya ve ekosisteme ciddi zararlar vermektedir. Hava kirliliği, su kirliliği ve çevre kirliliğine neden olmaktadır. Püskürtülerek uygulanan pestisitler, buharlaşarak havaya karışmaları sonucu fiziksel olaylarla beraberinde tekrar yeryüzüne yağmur, kar, sis şeklinde ulaşabilmektedir. Bu şekilde toprak yüzeyinde birikerek besinlere ve dolayısıyla besin zincirine karışmakta ve canlılar üzerinde toksisiteye neden olmaktadır (trakya.edu.tr).

Sağlıklı bir yaşamın sürdürülmesi için insanın çevreden alması gerekenlerin başında mineraller ve su gelmektedir. İnsanın çevreyle etkileşimi bu kadar fazlayken çevreninde hastalıklara zemin oluşturması da kaçınılmazdır (Güler ve Çobanoğlu, 1997; Taylor,1992).

Pestisitlerin çok az dozda bile bulunmaları canlılarda birçok olumsuz sonuçlara neden olmaktadır. Bununla ilgili çalışmalar 1972 yılında Stockholm’de yapılan UNEP (United Nations Enviroment Program, Birleşmiş Milletler Çevre Programı) tarafından organize edilen konferansta tartışmaya açılmıştır (Çolak ve Cengiz, 1989).

Pestisitlerin kullanılması esnasında uygulayan kişinin belirli koruyucu önlemleri alması gerekmektedir. Pestisitlerin insanlara şu yollarla geçtiğini söyleyebiliriz:

- Dermal (deriden emilim) yolla,
- İnhalasyon (Solunum) yoluyla,
- Gastrointestinal (Sindirim) yolla girebilmektedir.

Pestisitler insanlara geçtikten sonra yağ dokuda birikir. Yağ dokuda birikmeleri sonucu yağ doku materyaline dönüşebilmektedirler. Buradan da diğer dokulara da yayılmaları görülebilir. Bu durum canlıda ciddi zararlar ve hatta ölüm meydana getirebilmektedir (Casmin, 1999; Williams and feltmate, 1992).

Pestisitlere maruz kalınması sonucu canlılarda kanser, genetik toksisite, teratojenik etkiler, beyin gelişiminde zararlı etkiler, üreme bozuklukları, gen mutasyonu gibi etkiler meydana getirebilmektedir (Gomez-Arroyo, et al,1985; Satıcı, 2019).

Pestisit maruziyetine bağlı olarak meydana gelen toksisite, birikime neden olması ve sinir sisteminde tahribata neden olduğu için olumsuz ve tehlikeli sonuçlar doğurabilmektedir (Zeren ve Yaşarbaş, 1989).

Ortaya konulan olumsuz etkiler ve riskler sonucu ülkeler pestisitlerin kullanımını yasalar ile kontrol altına almayı hedeflemişlerdir. Pestisit kullanımına bakıldığında gelişmemiş ve gelişmiş ülkelerde bu kullanım oranının genel olarak %70 -75 olduğunu görmekteyiz (Miller, 2003).

Zirai mücadelede kullanılan kimyasalların niteliği ve zararları en iyi şekilde tanımlanabilmeli ve olağan zararları en net şekilde ortaya konulmalıdır. Bu konuda 1972 yılında Amerika’da bundan on yıl sonrasında 1982 yılında da Türkiye’de kullanımına kısıtlama getirilen DDT en iyi bilinen organofosfatlı bir pestisittir. 1982 yılında DDT ile birlikte HCH, taksofenin quitozen gibi birkaç pestisit daha kullanımına kısıtlama getirilmiştir.1985 yılında endosülfan, quitozen, heptaklor dışındaki pestisitler 1989 yıllarında da “taksofen”in kullanımı tamamen yasaklanmıştır (Vural, 1996).

Pestisitlerin başında gelen gruplardan biri de organofosfatlı bileşiklerdir. Genellikle zirai mücadele de kullanılan bu bileşikler yaklaşık 200’den fazla çeşitleri tarımsal faaliyette kullanılmaya devam edilmektedir. Ülkemizde de pestisit kullanımı devam etmektedir.

Organofosfat zehirlenmeleriyle en çarpıcı olay 1995 yılında Tokyo metrosunda gerçekleşen 13 kişinin yaşamını yitirdiği terörist saldırısıdır (Sarıtış ve ark., 2007).

Organofosfat zehirlenmeleri genellikle evlerde, tarımsal faaliyette bulunan kişilerde, endüstriyel faaliyetlerde çalışanlarda daha sık görülmektedir. Kullanımın yanı sıra taşıma ve üretim esnasında da pestisit zehirlenmeleriyle karşılaşılabilir (Sarıtış ve ark., 2007).

Organofosfatlı pestisitler zirai mücadele de kullanılan pestisitlerin başında gelmektedir. Doğal zehirlenme nedenlerine bakıldığında organofosfatlar önemli bir yere sahiptir (Güler ve ark., 1997).

Organofosfat kullanımı beraberinde toksikasyonunu da getirmektedir. Bu doğal zehirlenmelerin yanı sıra intihar amacıyla kullanılmalarına rastlanmıştır. Organofosfatlı pestisitlerin insanlar üzerinde kimyasal silah olarak da kullanıldığına rastlanılmıştır. Irak askerlerinin İran askerlerine bu kimyasalları savaşta kullanması en iyi örnektir (Doğan, 2012).

2.1.1. Pestisitlerin sınıflandırılması

Pestisitler sahip olduğu birçok özelliğe bakılarak belirli başlıklar altında gruplandırılabilirler. Bu anlamda bir pestisit; kullanıldığı zararlı grubuna göre, etki şekline göre, formülasyon şekline göre, kullanım tekniğine göre, fiziksel durumuna göre, bileşimindeki etkili kimyasala göre sınıflandırılabilir (Öztürk, 1990).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) alımına bağlı olarak zararlı etkilerine göre yapmış olduğu sınıflandırma da bulunmaktadır. Bu sınıflandırmada öldürücü doz ve yoğunluk dikkate alınmıştır. LD₅₀ öldürücü doz, deney hayvanlarının %50'sini öldüren miktar LC₅₀ ise öldürücü yoğunluk olarak tanımlanmıştır. Burada esas olan kullanılacak pestisit deney hayvanının ağırlığına karşılık gelen miligramının hesaplanmasıdır (Damalas ve Eleftherohorinos, 1998).

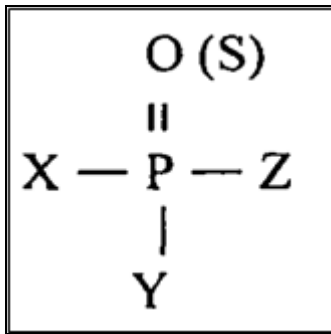
Pestisitlerin sınıflandırmasında birçok özelliğin dikkate alınmasına karşın bunların içerisinde en önemli ve bilimsel olanı etken maddesine göre yapılan sınıflandırmadır. Pestisit içerdiği etken maddenin yapısına bakıldığında ise organik pestisitler, organik

olmayan pestisitler ve yapay organik pestisitler olmak üzere üç ana başlık altında toplayabiliriz. Bu alt başlıklar içerisinde dikkatimizi çeken grup yapay organik pestisitlerin bulunduğu gruptur. Bunlar organofosfatlı pestisitler, karbamatlı pestisitler, organoklorürlü pestisitler ve organosülfürlü pestisitler olmak üzere dört alt başlıkta incelenebilir (Vural, 2005).

Organoklorlu pestisitler: Toksisitesinin organofosfatlı pestisitlere göre daha az olduğu bilinmektedir. Bunun yanı sıra kalıcılığının fazla olması, insana ve çevreye verdiği zararlardan dolayı yaygın olarak kullanılan insektisitler (toxaphene, DDT, chlordane) yasaklanmıştır (Se-A Kim ve ark., 2015; Kim ve ark., 2015).

Karbamatlı pestisitler: Çözünürlükleri yüksek olan insecta grubuna karşı kullanılan bir pestisittir. Bu pestisitlerin organizmaya absorblanma yollarının başında solunum, gastrointestinal yol ve deri yolu gelmektedir. Buradan organizmaya giren pestisitler doku ve organlara hızlı dağılır (Who, 1986).

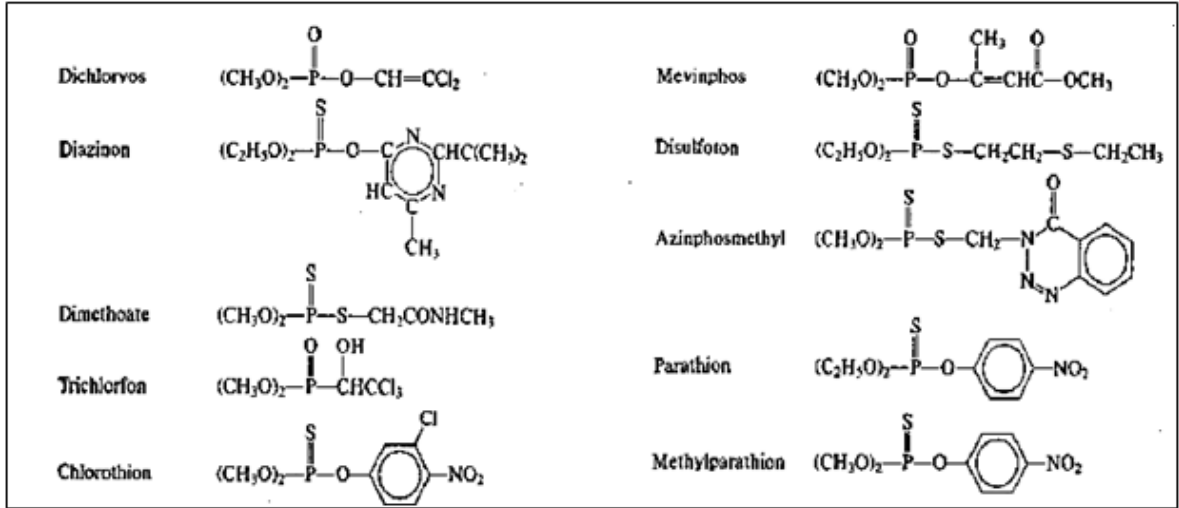
Organofosforlu pestisitler: Bu tür pestisitlerin kullanımına yönelilmesinde temel olarak organoklorluların yağ dokuda birikmesi ve kullanımının kısıtlanması ve organoklorlulara göre böcekler için toksisitesinin daha yüksek olması gelmektedir. Organofosforlu pestisitlerin sahip olduğu etken maddelerin çeşidinin çok olması aynı zamanda her türlü zararlıya karşı kullanılabilirliğini arttırmaktadır (Ünal ve Gürkan, 2001).



Şekil 2.1. Organofosfatların genel yapısı (Pakizer, 2013)

Bir organofosforlu pestisit yapısına bakıldığında fosfata çift bağla bağlanan sülfür ve oksijene göre tiyofosfatlar veya fosfatlar olarak isimlendirilirler (Pakizer, 2013).

Organofosforlu pestisitlere maruz kalmaya bağlı zehirlenmelerin yüksek oranda olduğu görülmektedir. Organofosfatların toksisitesi temelinde sinir sisteminde nöronlar arası iletişimde impuls iletimini sağlayan önemli bir nörotransmitter olan asetilkolinin yıkımını sağlayan asetilkolin esteraz enzimini inhibe ederek bu parçalanmayı engellemektir. Organofosfatlı bazı pestisitlere örnek olarak dimethoate, parathion, chlorothion gibi pestisitler verilebilir.



Şekil 2.2. Organik fosforlu bileşiklerin yapısı (Kül, 2016)

2.1.2. Pestisitlerin insan sağlığına etkisi

Organofosfatlı pestisitlerin temel etkisi kolinesteraz enziminin etkinliğini baskılayarak sinapslarda birikimin artmasını sağlamaktadır. Bunun sonucunda asetilkoline duyarlı reseptörler uyarılmış olarak kalacaktır. Asetilkolinin birikimi ise merkezi sinir sisteminde yer alan otonom sinir elemanlarının gangliyonlarında sempatik ve parasempatik sinir uçlarında ve somatik sinir uçlarında kolinerjik paraliz oluşacaktır (Robey ve ark., 2004).

Asetilkolinesteraz'a (AChE) bakıldığında kırmızı kan hücrelerinde bulunan ve esas asetilkolinesteraz olarak bilinen ve kalp, pankreas, serum ve beyinde bulunan asetilkolinesteraz olmaz üzere iki şekilde bulunur. Asetilkolin'in yapısı gözlemlendiğinde ise asetik asit ve kolin olmak üzere iki aktif olmayan komponenti vardır. Burada asetilkolinesterazın işlevi ise bu asetilkolini hidrolize uğratarak bu iki yapıyı açığa çıkarmaktır (Robey ve ark., 2004; Worek ve ark., 2004).

Organofosfatlı bu pestisitlerin ortaya koymuş olduğu etkenler göz önünde bulundurularak karşılaşılan birkaç hastalık ise şöyledir: depresyon, demans, Parkinson, Alzheimer, Amyotrofik Lateral Skleroz (ALS) gelmektedir.

Bir diğer çalışma ise İngiltere’de 2014 yılında çiftçilerde organofosfatlı pestisit kullanımına bağlı demans, nöropati, depresyon ve Parkinsonun ilişkili olduğu saptanmıştır (Povey ve ark., 2014).

Pestisit maruziyetine bağlı ortaya çıkan hastalıklar ile ilgili başka bir çalışmada Fransa da yapılan erkeklerde Alzheimer hastalığına neden olduğudur (Baldi ve ark., 2003).

Yapılan çalışmalarda OP’li bileşiklerin nöronal kolinesterazları inhibe ederek nörotoksisite gösterdiği rapor edilmiştir. Deneysel çalışmalarda AChE ve BChE gibi kolinesteraz aktivitelerinin OP’ler gibi nörotoksik kimyasalların etkilerini belirlemede kullanılan önemli biyomarkırlar olduğu belirtilmiştir (Celik ve Isik, 2009).

Organofosfatlı pestisitlerde genellikle karşılaşılan direnç duyarsız AChE ile oluşmaktadır (Fournier ve Mutero, 1994). Organofosfatlı bu pestisitler canlının kolinerjik sinaps noktalarında geri dönüşümsüz olarak AChE’yi baskılar. Bu da canlıda sinirsel iletimi baskılayarak ölüme neden olmaktadır (Fournier ve Mutero, 1994).

Organofosfatlar birçok etkene karşı kullanımı mevcut, toksisitesi yüksek olan pestisitlerdir. Bunların başında gelenlerinden biride dimethoattır. Dimethoat kullanım alanı geniş, akarlar, böceklerle, vb. karşı kullanılan tarım ilacıdır. Ayrıca kullanılan bir başka yerde karasineklerin iç mekanlardaki kontrolü içindir (Şirin, 2020).

2.2. Dimethoatın Yapısı

Dimethoat organofosforlu bir pestisittir. Böceklerle, akarlar, afidlere karşı kullanılan bir insektisittir. Böceklerle beraber karasinekleri de öldürmek için kullanılır. İnsan vücuduna giriş yollarına bakılırsa solunum yolu, mide yolu ve diğer organofosfatlı pestisitler gibi dermal yolla girişi mümkündür (Marutirao, 2013).

Diğer organofosfatlı pestisitlerde de olduğu gibi sinir sisteminin önemli nörotransmitter maddesi olan asetilkolinin parçalanmasını sağlayan asetilkolinesteraz enzimini inhibe eder.

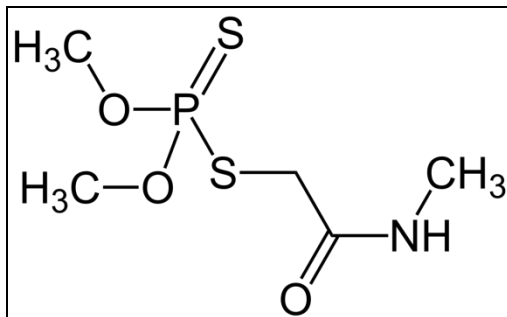
Bu geri dönüşümü olmayan ve uzun süre etkisini gösteren bir inhibisyonudur (Çoğun ve ark.,2013).

Dimethoatın vücutta yarılanma ömrü 4-16 gün olup çevrede uzun süre kalıcılığı yoktur. Dimethoatın fotoliz ve buharlaşma ile açık sulardan uzaklaşması mümkündür (Khogali, 2005).

Dimethoatın kullanım alanları arasında yer alan böcekler ve böcekler üzerinde ilaçlama uygulamasını yapan kişiler, ilacı üreten üreticiler ve ilaçlamanın yapıldığı alana sahip kişi ve kişilerde dimethoat maruziyeti açıkça görülmektedir. Bunun yanı sıra dimethoat maruziyetine bağlı sinir sistemi hastalıklarıyla karşılaşmaktadır.

Alzheimer, Parkinson ve demans gibi sinir sistemine bağlı hastalıkların ya yanı sıra dimethoat diğer doku ve organlarda da tahribata neden olmakta ve bunların başında testis, böbrek, akciğer gibi organlar gelmektedir.

Dimethoatın kimyasal yapısı $C_5H_{12}NO_3PS_2$ 'dir. Oda sıcaklığında karakteristik görüntüsü saf beyaz-gri renkte ve kristal haldedir. Erime noktası $50-52^{\circ}C$ dir. Dimethoat 229,25 gr/mol moleküler ağırlığa sahiptir. Saf bir kokuya sahiptir. Isıtıldığında açığa çıkan zehirli buharlar azot oksit, fosfor oksit ve kükürt oksit olup toksisite göstermektedir. Dimethoat dermal yolla, gastrointestinal yolla ve inhalasyon yoluyla alındıktan sonra toksisite görülmektedir. Dimethoatın bitkiler üzerinde ise toksisitesi neredeyse hiç yoktur (Kidd ve ark., 1991).



Şekil 2.3. Dimethoatın kimyasal yapısı

Dimethoatın gönüllü sağlıklı insanlarla yapılan çalışmalarda yaklaşık % 75-100 vücuttan dışkılama, idrar ve hava yoluyla uzaklaştırıldığı ve bu oranın sıçanlarda % 50-60 kadarı 24 saatte atıldığı görülmektedir (Gallo, 1991).

Dimethoatın toprakta kalıcılığı yüksek olmayıp 16 güne kadar yarılanma süresi olduğu bilinmektedir. Toprakta bulunan mikroorganizmalar dimethoatı hızla parçalamaktadır. Alkali sularda ise dimethoatın çözünürlüğü hayli yüksektir (Kidd ve ark., 1991).

2.3. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar

Canlıda hücrelerde meydana gelen biyokimyasal reaksiyonlarda oluşan ara ürünlere serbest radikaller adı verilir. Bu ara ürün radikalleri burada bulunan enzimlerin aktif bölgelerine yerleşerek serbest oksijen radikallerini (ROS) oluşturur.

Serbest radikaller bulunduğu hücrelerde oksidatif strese ve hücrenin yapısında ve işleyişinde hasara yol açarlar. Son elektron yörüngesinde bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron bulunduran molekül veya atomlara verilen isimdir. Bu yüzden kararlı bir bileşik yapıları yoktur. Kararlı yapıyı oluşturabilmek için başka maddelerle reaksiyona girerler. Bu radikaller oksijen ve nitrojen kaynaklıdır (Karabulut ve Günay, 2016)

Oksijen kaynaklı serbest radikaller hidroksil, peroksil, alkoksil, lipit peroksil ve süperoksit örnek verilebilir. Nitrojen kaynaklı serbest radikallere ise nitrojen dioksit ve nitrik oksit örnek verilebilir (Fang ve ark., 2002; Halliwell ve Gutteridge, 1999; Pham-Huy ve ark., 2008; Valko ve ark., 2007).

Serbest oksijen radikalleri (ROS) hedef yapıda var olan antioksidanları yok saydığından lipit, protein gibi kompleks organik moleküllerin hasar almasına ve hücrede yapısal ve fizyolojik değişikliklere neden olmakta ve hatta hücrenin ölümüne neden olmaktadır (EL-Gendy, Aly, Mahmoud, Kenway, El-Sebae, 2010).

Hücrede meydana gelen adrenalin oksidasyonu, aerobik metabolizma gibi biyokimyasal reaksiyonlar sonucu serbet oksijen radikalleri oluşmaktadır. Bu bileşikler protein, lipit gibi organik hücre bileşenlerini okside ederler. Hücre membranında bulunan doymamış yağ asitleri oldukça bu duruma duyarlıdır. Oksidasyonları sonucu peroksidasyon zincir reaksiyonları başlamış olur. Bu reaksiyonlar sonu hücre zarında görülen ve zarın işleyişini

değiştiren ara ürün oluşumları görülmektedir. Bunlardan en belirgin görüleni malondialdehittir (MDA) (Erişir, Kandemir, Benzer, 2010).

Hücre zarında bulunan ara ürün bileşikler zarin akışkanlığını bozarak zara hasar verir. Ara ürün oluşumu zarda lipid peroksidasyonu ile başlar ve devam eder.

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

Serbest radikaller ateroskleroz oluşumunda anahtar faktör olarak bilinen LDL'nin oksidatif değişimine yol açarlar (Motoyama ve ark., 2009). Yapılan çalışmalarda ROS ve oksidatif stresin direk karaciğer hücre hasarına yol açmalarının yanı sıra hepatositlerde apoptozisi tetikleyici etkiye de sahip oldukları gösterilmiştir (Liu ve ark., 2010).

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

Vücudun antioksidan savunması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik oksidatif stres olarak adlandırılır (Mercan, 2004). Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbohidrat ve DNA gibi okside

olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar ve bu olaya “antioksidan savunma” denir. Antioksidan savunma elemanları hücre içi ve hücre dışı ortamda farklıdır. Belirli bir düzeye kadar olabilen oksidan molekül artışı yine vücutta daima belirli bir düzeyde bulunan doğal antioksidan moleküller tarafından etkisiz hale getirilmektedir. Böylece sağlıklı bir organizmada oksidan düzeyi ve antioksidanların bunları etkisizleştirme gücü bir denge içindedir. Oksidanlar belirli düzeyin üstünde oluşur veya antioksidanlar yetersiz olursa yani denge bozulursa söz konusu oksidan moleküller organizmanın yapı elemanları olan protein, lipid, karbohidrat, nükleik asitler ve yararlı enzimleri bozarak zararlı etkilere yol açarlar (Çavdar ve ark., 1997).

Serbest radikallerin ortaya koyduğu hasarı yok etmek için vücutta bulunan savunma sistemlerinin başında antioksidanlar gelmektedir. Antioksidanlar zarda başlayan peroksidasyon zincir reaksiyonlarını ya da serbest radikal oluşumunu baskılayarak lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını sınırlandırmıştır (Mironczuk-Chodakowska, Witkowska, Zujko, 2018).

Antioksidanlar enzim yapılı olanlar ve enzim yapılı olmayanlar şeklinde gruplandırılabilirler. Enzim yapılı antioksidanların başında süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPX) gelir. Bu antioksidanlar hücrede ve membranda meydana gelen oksidatif stresi engellemeye çalışırlar. Enzimatik yapıda olmayan antioksidanlara örnek verecek olursak Vitamin E ve Vitamin C oksidatif strese karşı koyanların başında gelir (Kalender, Dirican, 2012).

Enzim yapılı antioksidanlardan biri olan Süperoksit dismutazın (SOD) hücredeki süperoksit miktarını moleküler oksijen ve hidrojen peroksit'e dönüştürerek dengede tutma görevi vardır. Hidrojen peroksiti ise glutatyon peroksidaz (GPX) ve karaciğerde bulunan katalaz (CAT) enzimi aracılığıyla su (H_2O) ve oksijene (O_2) parçalar.

Süperoksit dismutazın (SOD) insanlarda iki formu bulunmaktadır: Bu iki formdan biri mitokondride yer alan tetramerik yapıda Mn bulunduran izomer (Mn SOD) kofaktörü mangandır. Diğer formu ise sitoplazmanın sitozol kısmında yer alan yapısında Zn ve Cu bulunduran (Cu-Zn SOD) izomer yapısıdır. Kofaktörleri bakır ve çinkodur. Genel olarak bakıldığında Cu-Zn ihtiva eden mitokondride yer alan izomerik yapılı SOD daha fazla bulunmaktadır (Karabulut, Günay, 2016).

Süperoksit dismutazın enzimatik aktivitesi ilk olarak Fridovich ve McCord tarafından tanımlanabilmiştir (McCord, Fridovich, 1969).

Katalaz (CAT) yapısında dört hem grubu bulunduran bir hemoproteindir. Hücrede endoplazmik retikulum, sitozolde ve esas olarak peroksizomda yoğundur. CAT karaciğerde hidrojen peroksiti, (H_2O_2) su ve oksijene parçalar.

Bu enzimatik tepkime ilk olarak 1818'de Thenard tarafından hayvan dokularında saptanmıştır. Bu etkinin özel bir enzim aktivitesi olduğu 1901 de Loew tarafından belirlenmiştir (Percy, 1984).

Glutasyon peroksidazı (GPx) keşfeden bilim insanı Mills'dir (Luna, 1968; Mills, 1957). Glutasyon peroksidaz antioksidanının dört alt protein birimi vardır. H_2O_2 'i glutasyonu okside ederek suya dönüştürmektedir. Bu dönüşüm her bir alt birim proteinin selenyum (Se) ve demir (Fe) minerallerinin kofaktörlüğünde gerçekleşmektedir (Karabulut ve Gülay, 2016; Garewal, 1997).

Glutamik asit, glisin ve sistein aminoasitlerini yapısında bulunduran Glutasyon; molekül ağırlığı düşük bir bileşiktir. Hayvan hücrelerinde ve bitki hücrelerinin tamamında glutasyon vardır. Hayvanların hepatosit hücrelerinde hidrojen peroksiti parçaladığı için bol miktarda bulunur (Mironczuk-Chodakowska, Witkowska, Zujko, 2018).

Glutasyon peroksidaz yapılan çalışmalarda ratların dokularında çok geniş bir dağılım göstermektedir. Karaciğer dokusunda ise diğer dokulara göre daha zengin bulunduğu kaynaklardan biridir (Stadtman, 1977).

GST, çeşitli elektrofilik maddelerin GSH'ın tiyol grubuna konjugasyonundan sorumlu olan enzimdir (Mansour ve Mossa, 2010). Bu sayede daha az toksik formlar meydana gelmektedir (El-Gendy ve ark., 2010; Mansour ve Mossa, 2010).

2.4. Ferülik Asit (FA)

Ferülik asit adını ilk kez izole edildiği bitki olan *Ferula foetida*'dan almıştır. Ferülik asitin kimyasal isimlendirilmesi ise 4-hidroksi-3-metoksisinnamik asit'tir (Kumar ve Pruthi, 2014).

Ferülik asitin birçok etkiye sahip olduğu yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur. Ferülik asitin antioksidan özeliğinin yanı sıra antienflamatuar, antidiyabetik, antikanser, antiapoptotik, antiviral, antimikrobiyal, antitrombotik, vazodilatör etki ve spermilerin canlılığını arttırıcı biyomedikal etki gibi birçok önemli fonksiyonel etkiye sahip olduğu yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur (Kumar ve Pruthi, 2014).

Antioksidan bileşikleri içerisinde yer alan fenoloik bileşikler olarak isimlendirilen fenolik antioksidanlar suda çözünebilme özelliğine sahip önemli antioksidanlardır. Bitkisel kaynaklı olup sebze ve meyvelerde bol miktarda mevcuttur. Büyüme ve üremede canlıya antioksidan özellik etkisi sayesinde patojenlenlere karşı koruyuculuk sağlar (Bravo, 1998).

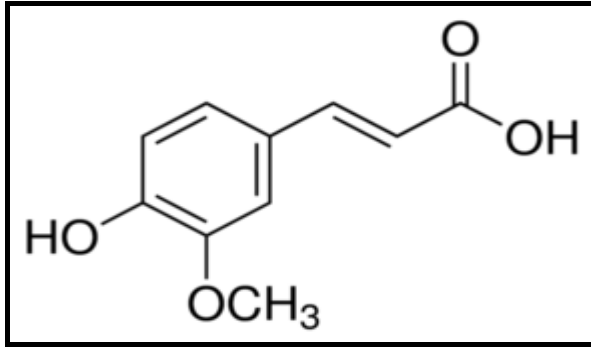
Fenolik bileşikler bitkilerde doğal olarak bol miktarda bulunan sekonder yapıda, antioksidan özelliğe sahip metabolitlerdir. Bir veya birden fazla hidroksil grubu bulunduran ve bu gruplar aromatik zincir halkasına eklidir. Polimerize olmuş çok sayıda fenoloik maddeler içerir, fenoloik bileşikler (Balasundram ve ark., 2006).

Ferülik asitin kimyasal yapısı kurkumine benzer. Ferülik asit DNA 'ya zarar veren hidroksil radikallerini, süperoksiti ve nitrikoksit gibi serbest radikalleri etkisiz hale getiren güçlü bir fenoloik bileşiktir (Mancuso, Santangelo, 2014; wePhil-Ok, 2013).

Ferülik asit bitki tohumlarında ve yapraklarında bulunmaktadır. Yapraklarda serbest formda, lignin ve diğer polimer bileşiklere bağlı olarak bulunur (Andeson ve ark.,1980).

Önemli ve güçlü bir fenoloik bileşik olan ferülik asit bazı ülkelerde gıda katkısı olarak kullanılmaktadır. Bunun nedeni ise lipid peroksidasyonunu engellemesidir. Bunun yanı sıra ferülik asit önemli, güçlü bir antioksidan olup etkili serbest radikal süpürücüsüdür (Adam ve ark., 2002).

Ferulik asitin kimyasal yapısı şöyledir.



Şekil 2.4. Ferulik asitin kimyasal yapısı

Ferulik asit, peroksil ve hidroksil radikallerini güçlü antioksidan aktivite etkisiyle bu radikallerin etkilerini temizleyicisidir. (Bouayed ve ark., 2009).

2.5. Testis Dokusu

Erkek genital sistemi eşey hücreleri olan spermilerin üretildiği yer testisler, spermilerin iletilmesini sağlayan kanallar, kanal sistemine yardımcı bezler ve dış genital organ olan penisten oluşmaktadır (Tanyolaç, 1999).

Testisler skrotum adı verilen bir torba içerisinde yer alır. Testisler dıştan içe doğru tunica vaginalis testis, tunica albuginea ve tunica vasculosa'dır (Fawcett, 1986).

Sperm ana hücrelerinden sperm hücrelerinin üretilmesine spermatogenez adı verilir. Spermatogenez ile yaklaşık olarak saniyede bin sperm üretilmektedir. Bu işlem sürekli ve aktif olarak yinelenen bir işlemdir. Bu süreçte görülen hücre bölünmesi için gerekli enerji mitokondriyel oksijen tüketimine bağlı olarak gerçekleşmektedir. Bu tüketim oksijen miktarında azalmaya dolayısıyla oksijen bakımından rekabete yol açmaktadır (Tekcan, 2009).

2.5.1. Testis – Antioksidan ilişkisi

Testislerde gerçekleşen sperm üretiminin gerçekleşmesi için antioksidan açısından korunması gerekmektedir. Buna rağmen ekzojen ve endojen faktörler bu güçlü savunmayı sökmekte ve oksidatif strese neden olmaktadır. Bunun neticesinde vazrikosel, testiküler

torsiyon, hipertiroidizm, diyabet enfeksiyonu ve reproduktif hormon dengesizliğine neden olmaktadır (Ikeda ve ark., 1999).

Bu görülen hasarların neticesinde erkek germ hücresinde DNA hasarı, testis antioksidan enzim aktivitesinde hasar, reaktif oksijen türleri, oksidatif stres oluşumu, testis SOD ve katalaz aktivitesinde baskılanma görülmektedir. Testisler bu hasarlardan korunmak için çeşitli serbest radikal süpürücüler ve antioksidan enzimler içermektedir (Tekcan, 2009).

Bu tezin amacı; pestisit olarak yaygın bir şekilde kullanılan dimethoat'ın düşük ve yüksek olmak üzere seçilen iki farklı dozunun ratların testis dokusundaki etkisi ve bu etki üzerine, antioksidan özelliğe sahip ferulik asitin koruyucu rolünün karşılaştırmalı olarak araştırılmasıdır. Bu amaçla, dimethoatın ratların testis dokusunda oluşturduğu histopatolojik etkiler ışık mikroskopunda incelenmiştir. Ayrıca dokudaki antioksidan enzim aktivitelerinde glutatyon-S-transferaz (GST), superoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve lipid preroksidasyonu son ürünü olan malondialdehit (MDA) seviyesinde dimethoat'ın neden olacağı değişiklikler ve bu değişikliklerin üzerine ferulik asitin koruyucu etkisi araştırılmıştır. İstenilen bilgilere ulaşmak için 28 gün süren deneyler yapılmıştır. Ayrıca deneyde kullanılan ratlar için Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezinden alınan etik kurul onayı çerçevesinde deney gerçekleştirilmiştir.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Hayvanlar

Deney hayvanlarına uygulama aşamaları, Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi (GÜDAM) gerçekleştirilmiş olup etik kurul onayı (G.Ü. ET-17.004) alınmıştır. Bu tez çalışmasında yaklaşık olarak 250- 330 gr ağırlığında erkek Wistar ratlar kullanılmıştır. Her kafeste eşit sayıda rat bulunup deney süresi boyunca özel kafesler içerisinde yaşamlarını sürdürmüşlerdir. Beslenmeleri sınırsız su ve standart laboratuvar diyeti şeklinde yapılmıştır. Ratlar 12 saat karanlık ve 12 saat aydınlık fotoperiyodu ve %45 nem ortamında barındırıldı. Ortamın oda sıcaklığı ortalama 18-22 °C dir.

3.2. Kimyasallar

Deney hayvanlarına kimyasal uygulaması olarak Dimethoat ve Ferulik asit kullanılmıştır. Tüm kimyasallar ratlara 28 gün günde 1 kez sabah saatlerinde oral gavaj yoluyla verilmiştir.

3.3. Hayvalara Uygulama Planı

Bu tez çalışmasında erkek Wistar ratlar deney hayvanı olarak kullanılmıştır. Deney hayvanları 6 gruba ayrılmış ve her grup 6 rattan oluşmuştur. Ratlar, kontrol grubu (n=6) ve uygulama grubu (n=30) olarak ikiye ayrılmıştır. Toplam da 36 adet rat kullanılmıştır. Tüm deney grupları ve uygulama planı çizelge halinde verilmiştir.

Çizelge 3.1. Hayvanlara uygulama planı

Grup No	Gruplar	Hayvan sayısı	Uygulanan madde miktarı
1	Kontrol	6	1 ml/kg distile su
2	Ferulik asit	6	30 mg/kg
3	Düşük doz dimethoat (dDMT)	6	3 mg/kg (1/50 LD50)
4	Yüksek doz dimethoat (yDMT)	6	30 mg/kg (1/100 LD50)
5	Ferulik asit ve düşük doz dimethoat	6	Ferulik asit: 30 mg/kg; dDMT: 3 mg/kg
6	Ferulik asit ve yüksek doz dimethoat	6	Ferulik asit: 30 mg/kg, yDMT: 30mg/kg

Uygulamalar sabah 09.00 – 11.00 saatlerinde aç olmayan ratlara yapılmıştır. Kimyasalların uygulanacağı ilk gün deneyin 0. günü olarak kabul edilmiştir.

28 gün yani 4 hafta süren uygulamadan sonra tüm ratlar, ketamin ve ksilazin kombinasyonu ile intramuskular (i.m) yolla bayıltılarak disekte edildi. Ratlar disekte edildikten sonra histopatolojik incelemeler, antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, CAT, GPx ve GST) ve MDA seviyelerinin belirlenmesi için testis dokuları alındı.

3.3.1. Grup: Kontrol grubu

Kontrol grubu ratlara herhangi bir işlem uygulanmamıştır. Ratlar serbest su (ad libitum) ve normal besin ile beslenmişlerdir.

3.3.2. Grup: Ferulik asit uygulanacak grup

Her bir rata günlük 30 mg/kg vücut ağırlığı (v.a) ferulik asit distile su içinde (1ml/kg v.a.) çözülerek oral gavaj yoluyla uygulanmıştır.

3.3.3. Grup: Düşük doz dimethoat uygulanacak grup

Her bir rata günlük 3 mg/kg v.a dimethoat (1/100 LD₅₀) distile su içinde (1ml/kg v.a.) çözülerek oral gavaj yoluyla uygulanmıştır.

3.3.4. Grup: Yüksek doz dimethoat uygulanacak grup

Her bir rata günlük 30 mg/kg v.a dimethoat (1/10 LD₅₀) distile su içinde (1ml/kg v.a.) çözülerek oral gavaj yoluyla uygulanmıştır.

3.3.5. Grup: Düşük doz dimethoat ve ferulik asit uygulanacak grup

Her bir rata günlük 30 mg/kg vücut ağırlığı (v.a) ferulik asit distile su içinde (1 ml/kg v.a.) çözülerek oral gavaj yoluyla uygulanmıştır. Ferulik asit muamelesinden sonra, ratlara 3 mg/kg v.a dimethoat distile su içinde (1 ml/kg v.a.) çözülerek oral gavaj yoluyla uygulanmıştır.

3.3.6. Grup: Yüksek doz dimethoat ve ferulik asit uygulanacak grup

Her bir rata günlük 30 mg/kg (v.a) ferulik asit distile su içinde (1ml/kg v.a.) çözülerek oral gavaj yoluyla uygulanmıştır. Uygulamadan yarım saat sonra ratlara 30 mg/kg v.a dimethoat distile su içinde (1ml/kg v.a.) çözülerek oral gavaj yoluyla uygulanmıştır.

3.4. Biyokimyasal İncelemeler

Ratlardan disekte edilerek alınan testis dokuları sodyum fosfat tamponu (pH 7.2) kullanılarak yıkandı. Sıvı azotla dondurulduktan sonra yıkanan dokular -80 °C’de analiz işlemi yapılana kadar saklandı. Homojenizasyon tamponu (pH 7.4) içinde teflon homojenizatör (Heidolph Silent Crusher M) kullanılarak dokular homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar santrifüj edilerek SOD, CAT, GPx ve GST enzim aktiviteleri ve MDA miktarının tayini için hazırlandı. Spektrofotometrede (Shimadzu UV 1700, Kyoto, Japan) örneklerin antioksidan enzim aktiviteleri ve MDA miktarı ölçülerek absorbensları tespit edildi. Standart olarak protein konsantrasyonu 1951’ de Lowry ve diğerleri tarafından tanımlanan bovin serum albümin kullanılan metod ile belirlendi.

3.4.1. Malondihaldehit miktarının belirlenmesi

Okhawa ve arkadaşlarının (1979) kullandığı metot temel alınarak ratlardan alınan testis dokularında, 532 nm’de tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona giren lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit miktarı ölçülerek belirlendi (nmol/mg protein).

3.4.2. Antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi

Her gruptaki ratlardan alınan testis dokuları ile antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi için enzim deneyleri yapıldı.

Süperoksit Dismutaz (SOD) enzimi

Marklund ve Marklund (1974) metodu kullanılarak testis dokularındaki toplam SOD miktarının tayini için belirlendi. Spektrofotometrede 440 nm’de Pyrogallol’un 3 dakikada alkali ortamda otooksidasyonu ile yükselen absorbens ve pyrogallol’un otooksidasyonunun

%50 inhibisyonuna neden olan protein miktarı bir ünite toplam SOD miktarı olarak hesaplandı. Homojenattaki 1 mg protein başına toplam SOD aktivitesi U/mg protein olarak verildi.

Katalaz (CAT) enzimi

CAT enziminin tayini Aebi (1984) tarafından belirlenen yöntemle yapıldı. %1'lik Triton X-100 eklenerek dokudaki katalazı açığa çıkarmak amaçlandı. Enzimatik reaksiyonun başlatılması için hidrojen peroksit eklendi. 240 nm'de özel Quartz küvetlerde H_2O_2 'in parçalanmasını gösterip 1 dakika boyunca absorbans ölçümleri yapıldı. Enzim aktivitesi mmol/mg protein birimiyle verildi.

Glutatyon Peroksidaz (GPx) enzimi

Paglia ve Valentine (1987) tarafından belirtilen yöntem ile GPx enzimi tayininde okside (GS-SG) ve Nikotinamid-adenin-dinükleotid hidrojen fosfatı (NADPH) substrat olarak kullanan glutatyon redüktazın 340 nm'de NADPH'ı okside etmesi ile açığa çıkan absorbansın ölçülmesi esasına dayanan yöntem kullanıldı. Okside glutatyon, glutatyon peroksidaz tarafından NADPH oluşturuldu. GPx aktivitesi ile NADPH'ın azalması doğru orantılıdır. NADPH'ın Nikotinamid-adenin-dinükleotid fosfata (NADP) yükseltgenmesi 340 nm'de absorbansın azalmasına sebep olur. Böylece dolaylı olarak GPx'in aktivitesinin tespitinde kullanılmaktadır. Enzimatik reaksiyonun başlatılması için cam küvetlerdeki karışımın üzerine hidrojen peroksit eklenir. Eklendikten sonra 3 dakika boyunca 340 nm'de azalan absorbanslar okundu. GPx aktivitesi için 1 mg protein tarafından, 1 dakikada harcanan NADPH miktarı ile bu enzim aktivitesi hesaplanmış olur. GPx enzimin spesifik aktivitesi nmol/mg protein olarak verildi.

Glutatyon-S-Transferaz (GST) enzimi

Glutatyon S-transferaz'ın bütün izozimleri için 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) substrat olarak kullanılmaktadır. GST enzimi tarafından CDNB, indirgenmiş glutatyon (GSH) ile konjuge edilerek glutatyonun oksidasyonuna bağlı olarak 340 nm'de yükselen absorbanslar okundu. Enzim aktivitesi 340 nm'de 2 dakikada süpernatantta bulunan 1 mg toplam

protein başına oluşturulan miktar olarak hesaplandı ve enzimin aktivitesi nmol/mg protein olarak verildi.

3.5. Işık Mikroskobu İçin Dokuların Hazırlanması

Testis dokuları Formaldehit fiksatifi içerisinde 24 saat tespit edilerek, ışık mikroskobu incelemeleri için bekletilmiştir. Dokular yıkama ve dehidrasyon işlemleri yapılarak parafin blokların içerisine gömülmüştür. Bloklardan 6-7 µ kalınlığında Mikrotom (Microm marka) cihazı aracılığıyla kesitler alındı. Alınan kesitlerin mikroskopta incelenmesi için hemotoksilen-eozin boyası ile boyandı. Her bir hayvandan alınan testis dokusu örneklerinden en az 15 preparat arasında incelemeye alındı. Fotoğraf makinesi ilaveli (Olympus E-330, Tokyo, Japan) mikroskopta kesitler incelenmiş olup fotoğrafları çekilmiştir. Tüm gruptaki preparatlar patolojik bulguların derecesine göre (-) yok, (+) az, (++) orta ve (+++) çok şeklinde çizelgede gösterilmiştir (Çizelge 3.1.).

3.6. İstatistiksel Analizler

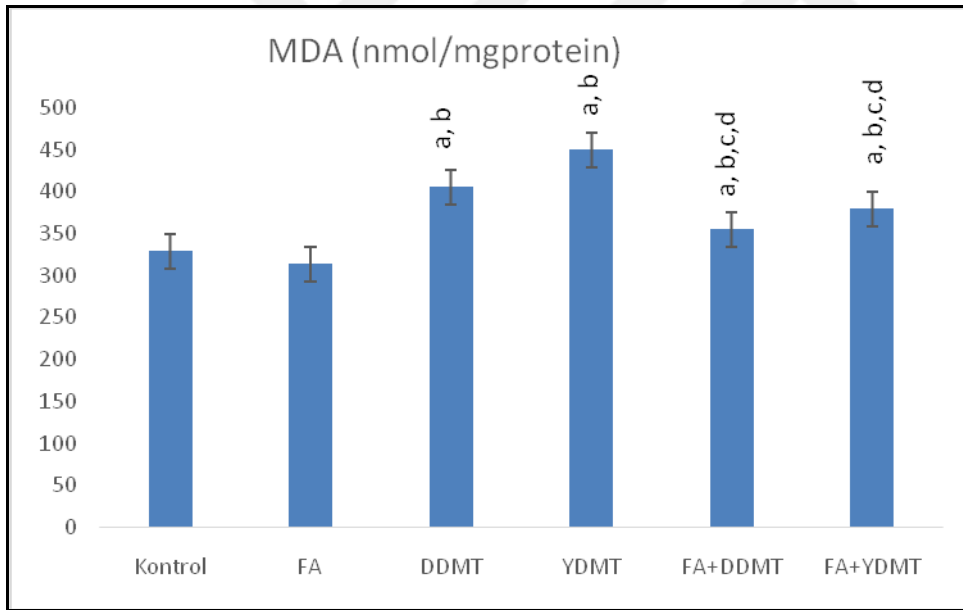
Windows SPSS 23 bilgisayar programında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey testi kullanılarak tezde kullanılan istatistiksel veriler yorumlanmıştır. İstatistiksel olarak $P < 0.05$ değeri anlamlı kabul edilmiş ve sonuçlara göre yorumlar yapılmıştır.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Malondialdehit Miktarının Değerlendirilmesi

Dört hafta süren deneyin sonunda tüm grupların testis dokularındaki Malondialdehit miktarları ölçüldü. Kontrol grubu ve Ferulik asit grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmedi. Düşük doz dimethoat ve yüksek doz dimethoat grupları kontrol grubuyla karşılaştırılınca bu grupların Malondialdehit miktarında artış olduğu gözlenmiştir ($P<0,05$). Ferulik asit ve düşük doz dimethoatın birlikte kullanıldığı grupla, düşük doz ve yüksek doz dimethoat grubu karşılaştırıldığında anlamlı bir azalma olduğu gözlenmiştir. Ferulik asit ve yüksek doz dimethoatın birlikte uygulandığı grup ile yine düşük ve yüksek doz dimethoat grubu karşılaştırıldığında anlamlı bir düşüş olduğu gözlemiştir ($P<0,05$) (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Dördüncü haftanın sonunda kontrol grubu ve muameleli grupların MDA seviyeleri

a: Kontrol grubu ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması

b: Ferulik asit muameleli grup ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması

c: Düşük doz dimethoat muameleli grup ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması

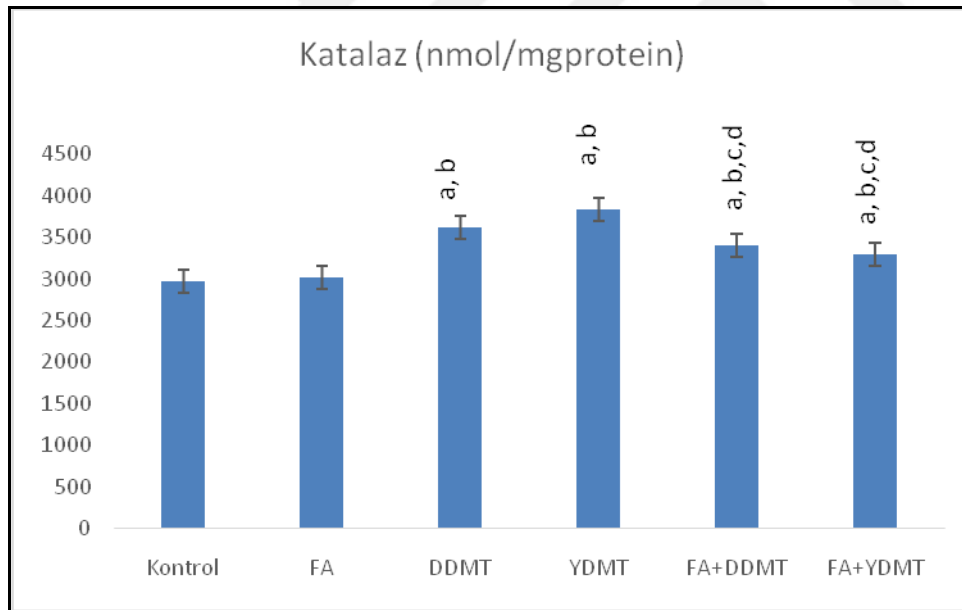
d: Yüksek doz dimethoat muameleli grup ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması

n=6, Ortalama $\pm$ Standart Sapma ($P<0,05$).

4.2. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

4.2.1. Katalaz enzim aktivitesi

Deney sonunda testis dokularını içeren tüm grupların Katalaz enzim aktivitelerine bakılmış olup kontrol ve ferulik asit grupları arasında istatistiksel bir anlamlı değişiklik olmadığı gözlenmiştir. Düşük doz dimethoat ve yüksek doz dimethoat gruplar kontrol ve ferulik asit gruplarıyla karşılaştırılınca kontrol grubuna göre anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir ($P<0,05$). İkili uygulanan gruplardan ferulik asit ile düşük doz dimethoat grubu, düşük doz dimethoat ve yüksek doz dimethoat grubuyla karşılaştırılınca ferulik asit ile düşük doz dimethoat uygulanan gruptaki ratların katalaz seviyesinde anlamlı bir düşüş olduğu gözlenmiştir ($P<0,05$). Yüksek doz dimethoat ve ferulik asitin uygulandığı grup ile sadece düşük ve yüksek doz dimethoatın uygulandığı gruplar karşılaştırılınca bu grupta da anlamlı bir azalma olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Dördüncü haftanın sonunda kontrol grubu ve muameleli grupların Katalaz seviyeleri

a: Kontrol grubu ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması

b: Ferulik asit muameleli grup ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması

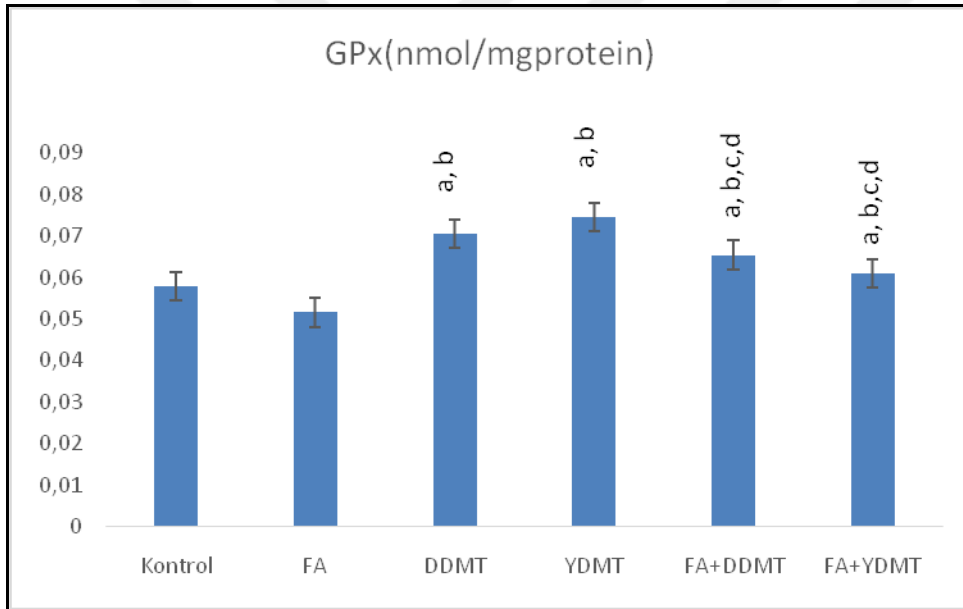
c: Düşük doz dimethoat muameleli grup ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması

d: Yüksek doz dimethoat muameleli grup ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması

n=6, Ortalama $\pm$ Standart Sapma ($P<0,05$).

4.2.2. Glutasyon peroksidaz enzim aktivitesi

Testis dokusunda glutasyon peroksidaz enzim aktiviteleri bakımından kontrol ve ferulik asit grupları arasında anlamlı bir değişiklik gözlenmedi. Dimethoat grubunun düşük doz uygulandığı grup ile yüksek doz uygulanan grup, kontrol grubuyla karşılaştırılınca bu gruplarda GPx aktivitesi bakımından anlamlı bir artış olduğu gözlemlendi ($P<0,05$). Ferulik asit ile verilen düşük dimethoat grubu düşük doz ve yüksek doz dimethoat grubuyla karşılaştırılınca, GPx enzim aktivitesinde anlamlı bir düşüş olduğu gözlemlendi. Ferulik asitin yüksek ve düşük doz dimethoat ile birlikte uygulandığı grupla, düşük ve yüksek doz dimethoat uygulanan grupları karşılaştırılınca, GPx enzim aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Dördüncü haftanın sonunda kontrol grubu ve muameleli grupların GPx seviyeleri

a: Kontrol grubu ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması

b: Ferulik asit muameleli grup ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması

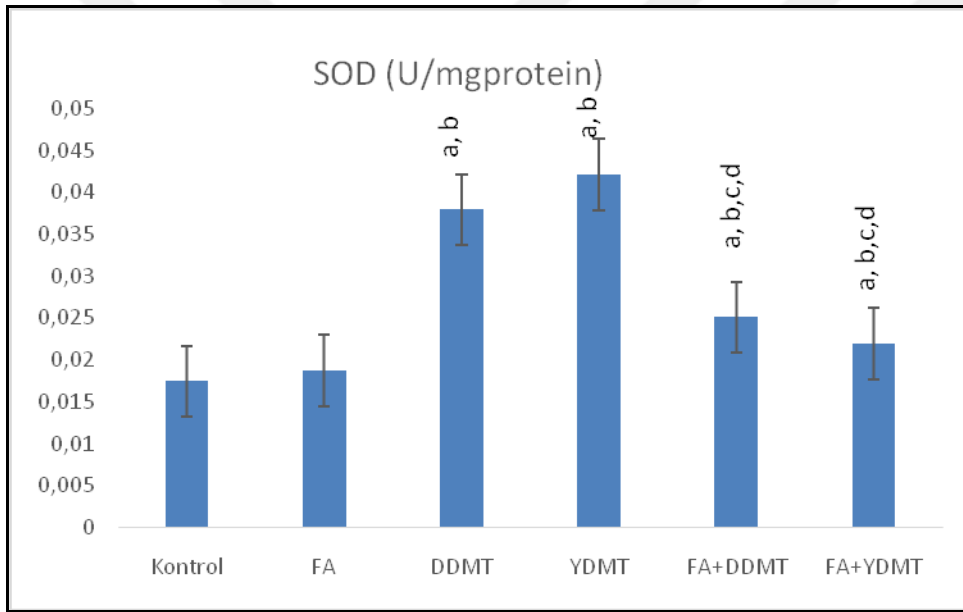
c: Düşük doz dimethoat muameleli grup ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması

d: Yüksek doz dimethoat muameleli grup ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması

n=6, Ortalama $\pm$ Standart Sapma ($P<0,05$).

4.2.3. Süperoksit dismutaz enzim aktivitesi

Testis dokularında SOD aktiviteleri bakımından kontrol, ferulik asit grupları arasında anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Düşük doz dimethoat ve yüksek doz dimethoat grupları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, bu gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür ($P<0,05$). Ferulik asit ile verilen düşük doz dimethoat grubu, yalnızca düşük ve yüksek doz dimethoat grubuyla karşılaştırılınca, SOD enzim aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olduğu gözlemlendi. Yine Ferulik asitin yüksek doz dimethoat ile uygulandığı grup ile düşük ve yüksek doz dimethoat karşılaştırılınca, SOD enzim aktivitesinde istatistiksel açıdan anlamlı azalma olduğu gözlenmiştir. ($P<0,05$) (Şekil 4.4)



Şekil 4.4. Dördüncü haftanın sonunda kontrol grubu ve muameleli grupların SOD seviyeleri

a: Kontrol grubu ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması

b: Ferulik asit muameleli grup ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması

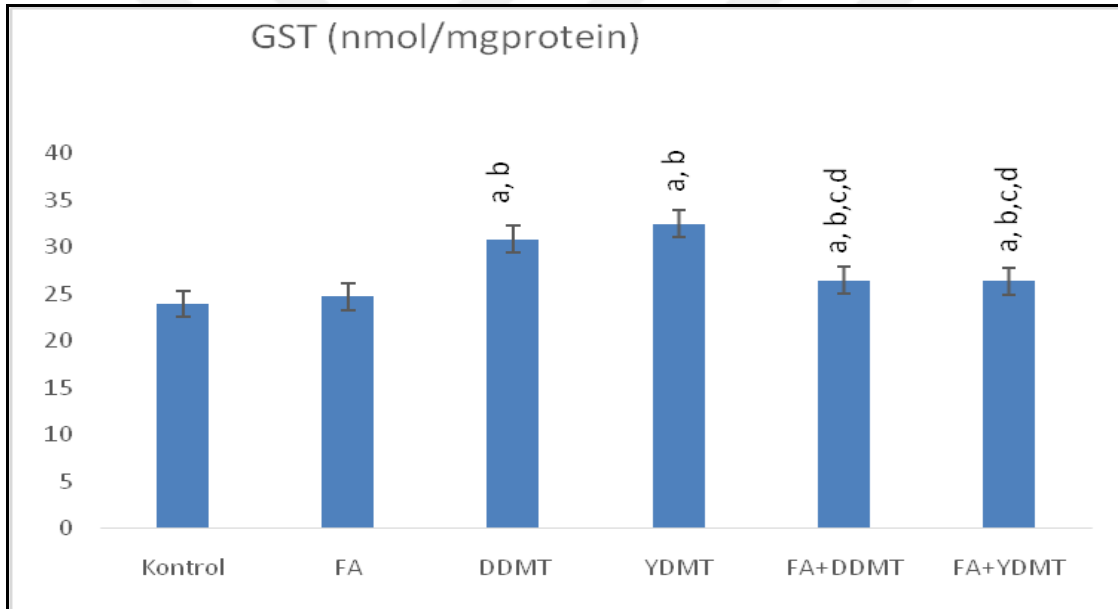
c: Düşük doz dimethoat muameleli grup ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması

d: Yüksek doz dimethoat muameleli grup ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması

n=6, Ortalama $\pm$ Standart Sapma ($P<0,05$).

4.2.4. Glutasyon –S-transferaz enzim aktivitesi

Dört hafta süren deneyin sonunda tüm grupların testis dokularındaki GST miktarları ölçüldü. Kontrol grubu ve ferulik asit grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmedi. Düşük doz dimethoat ve yüksek doz dimethoat grupları kontrol grubuyla karşılaştırılınca bu grupların GST miktarında istatistiksel olarak artış olduğu gözlenmemiştir ($P<0,05$). Ferulik asit ve düşük doz dimethoatın birlikte kullanıldığı grupta, düşük ve yüksek doz dimethoat grubu karşılaştırıldığında anlamlı bir azalma olduğu gözlenmektedir. Yüksek doz dimethoat grubu ile ferulik asit grubuyla, düşük ve yüksek doz yüksek dimethoatın birlikte uygulandığı grup karşılaştırıldığında ferulik asitin yer aldığı grupta anlamlı bir düşüş olduğu gözlenmiştir ($P<0,05$) (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Dördüncü haftanın sonunda kontrol grubu ve muameleli grupların GST seviyeleri

a: Kontrol grubu ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması

b: Ferulik asit muameleli grup ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması

c: Düşük doz dimethoat muameleli grup ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması

d: Yüksek doz dimethoat muameleli grup ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması

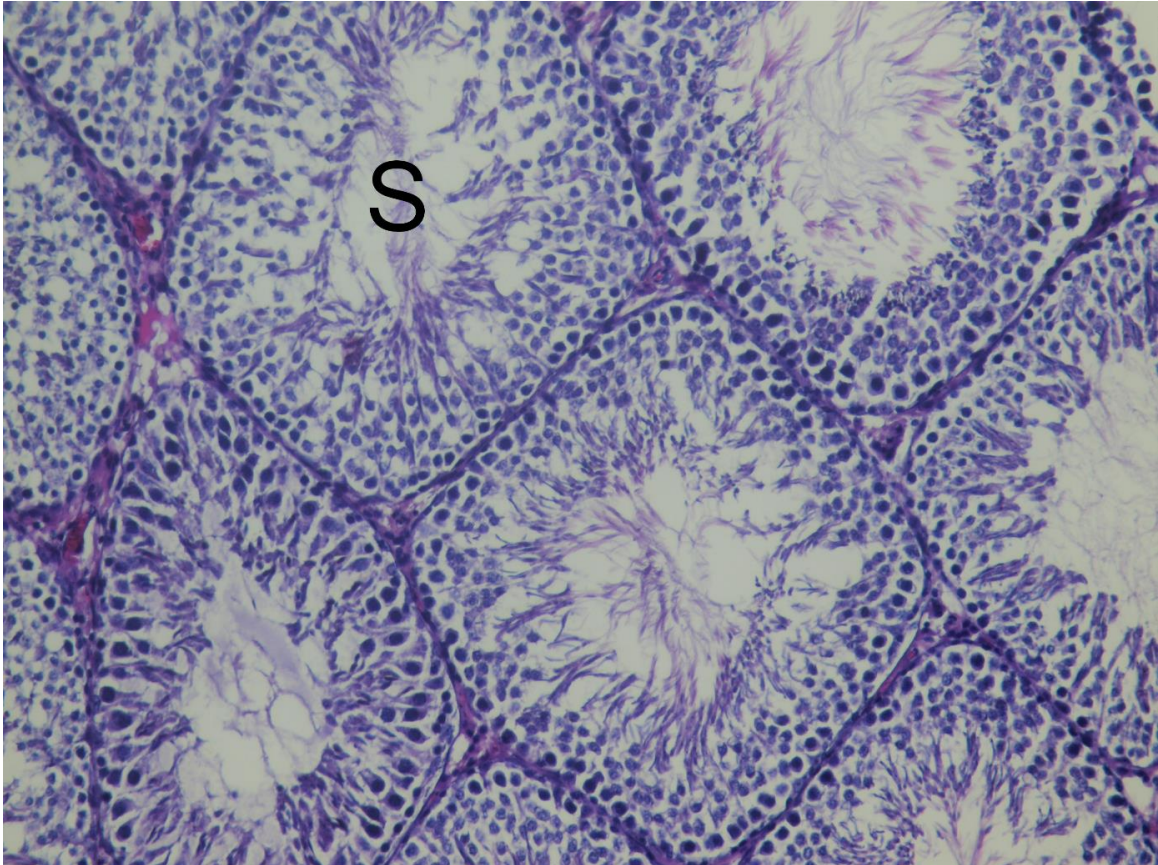
n=6, Ortalama $\pm$ Standart Sapma ($P<0,05$).

4.3. Işık Mikroskobu Bulgularının Değerlendirilmesi

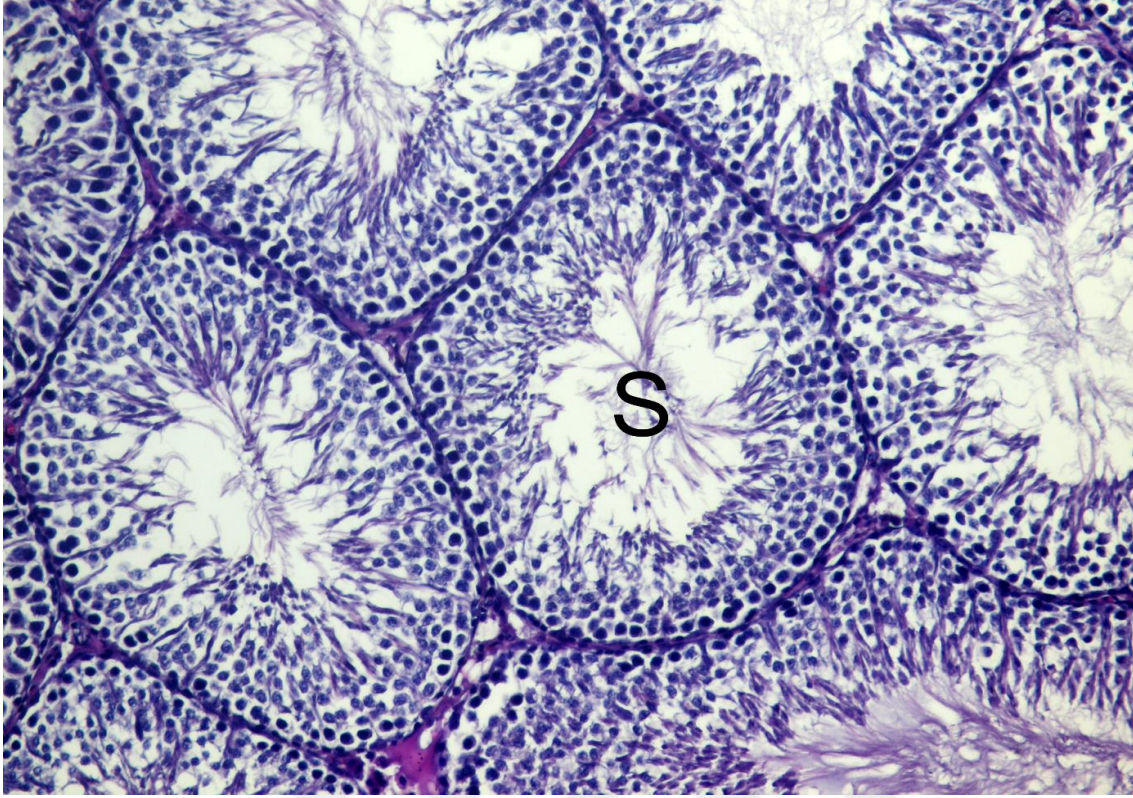
Kontrol grubu ve ferulik asit muameleli ratların seminifer tübüllerinde spermatojenik hücreler normal yapıda izlendi (Resim 4.1).

Deney sonunda düşük doz dimethoat ve yüksek doz dimethoat uygulanan ratların testislerinde seminifer tübüllerin epitel dokusunda düzensizlikler ve spermatojenik hücrelerde azalma, intersitisyel dokuda ödem gözlenirken bazı seminifer tübüllerde de atrofik yapılar tespit edildi (Resim 4.3 –Resim 4.4).

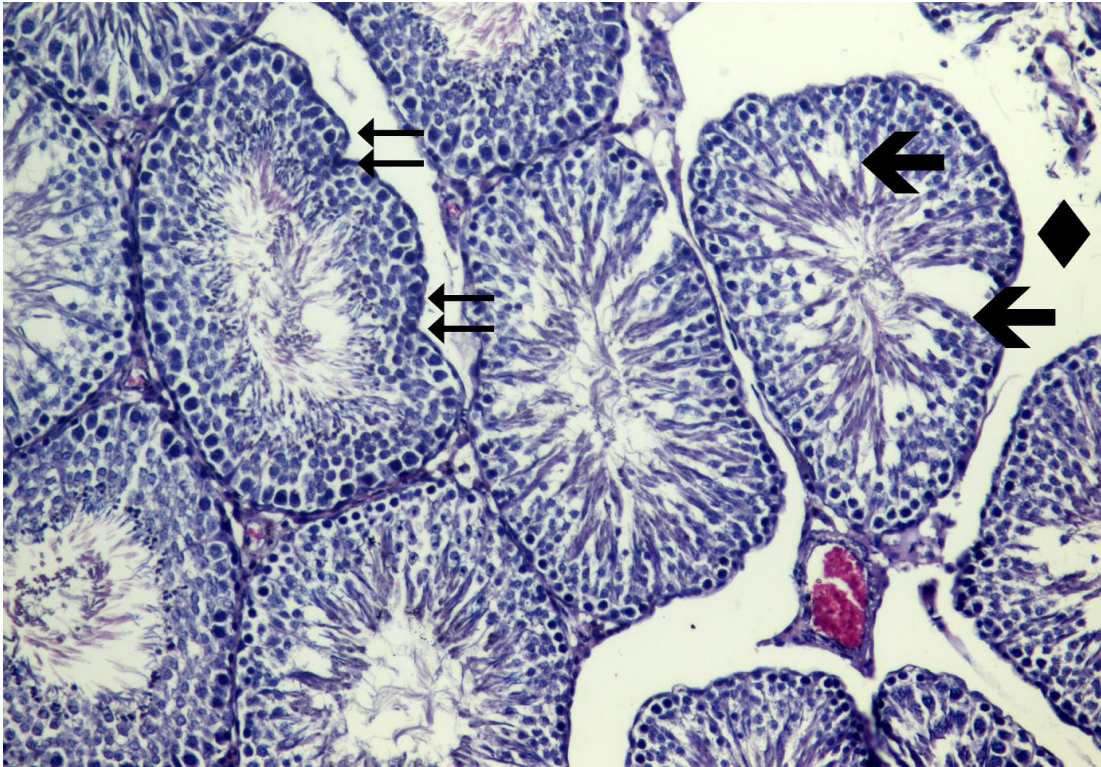
Ferulik asit ile birlikte düşük doz ve yüksek doz dimethoat uygulanan ratların seminifer tübüllerinde ve spermatojenik epitelde düzensizlikler, spermatojenik hücre sayısında azalmalar, intersitisyel dokuda ödem oluşumu gözlemlendi (Resim 4.5 – Resim 4.6).



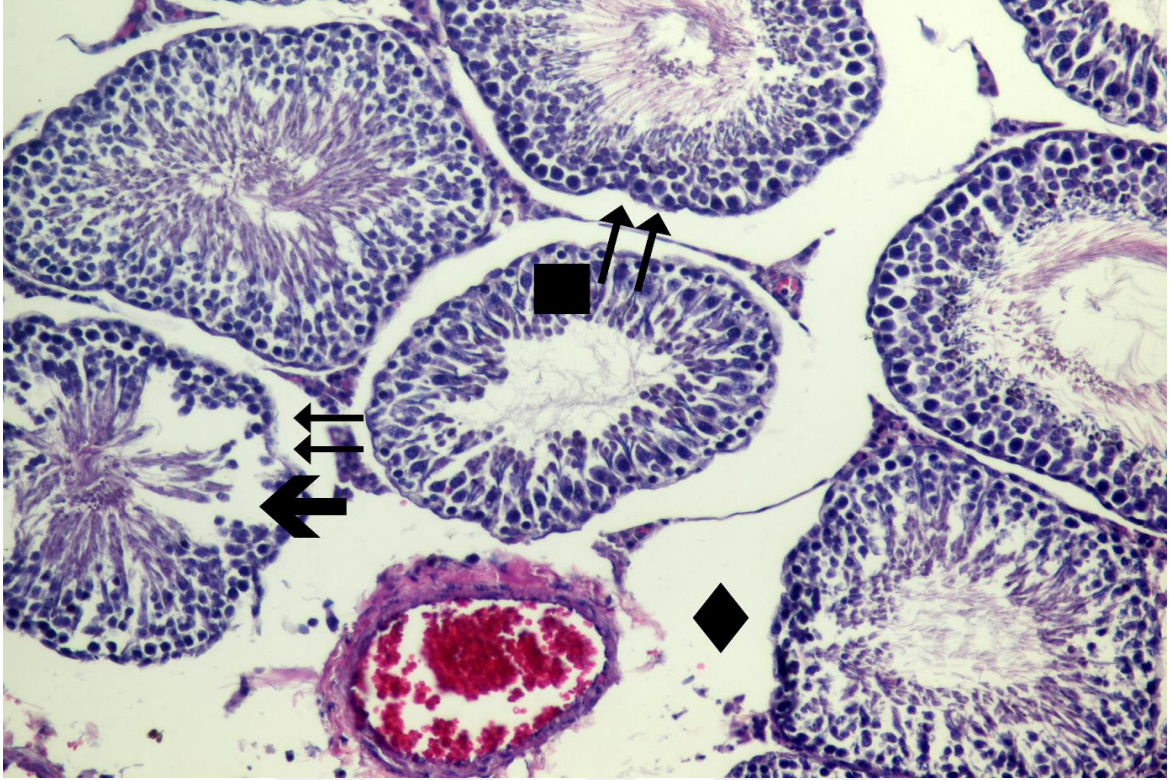
Resim 4.1. Kontrol grubu ratların testislerindeki seminifer tüpçüklerinin genel görünüşü (S), X200



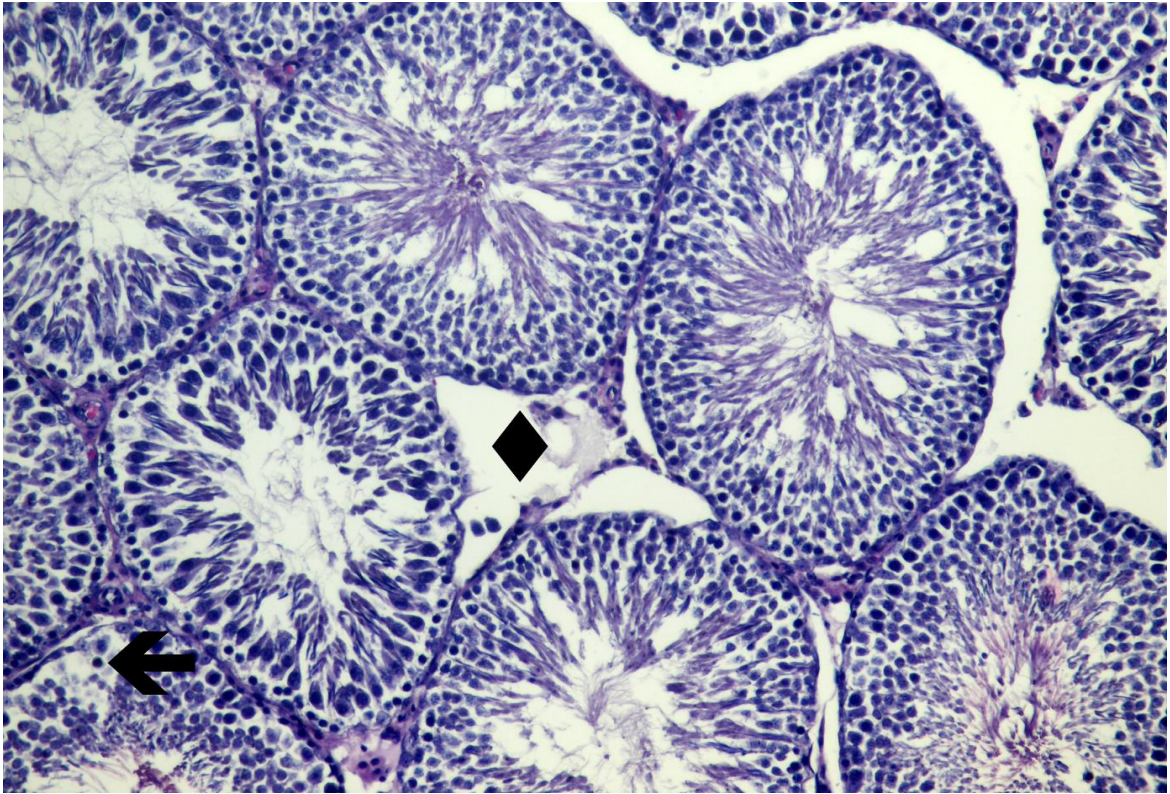
Resim 4.2. Ferulik asit uygulanan ratların testislerindeki seminifer tüpçüklerin genel görünüşü (S), X200



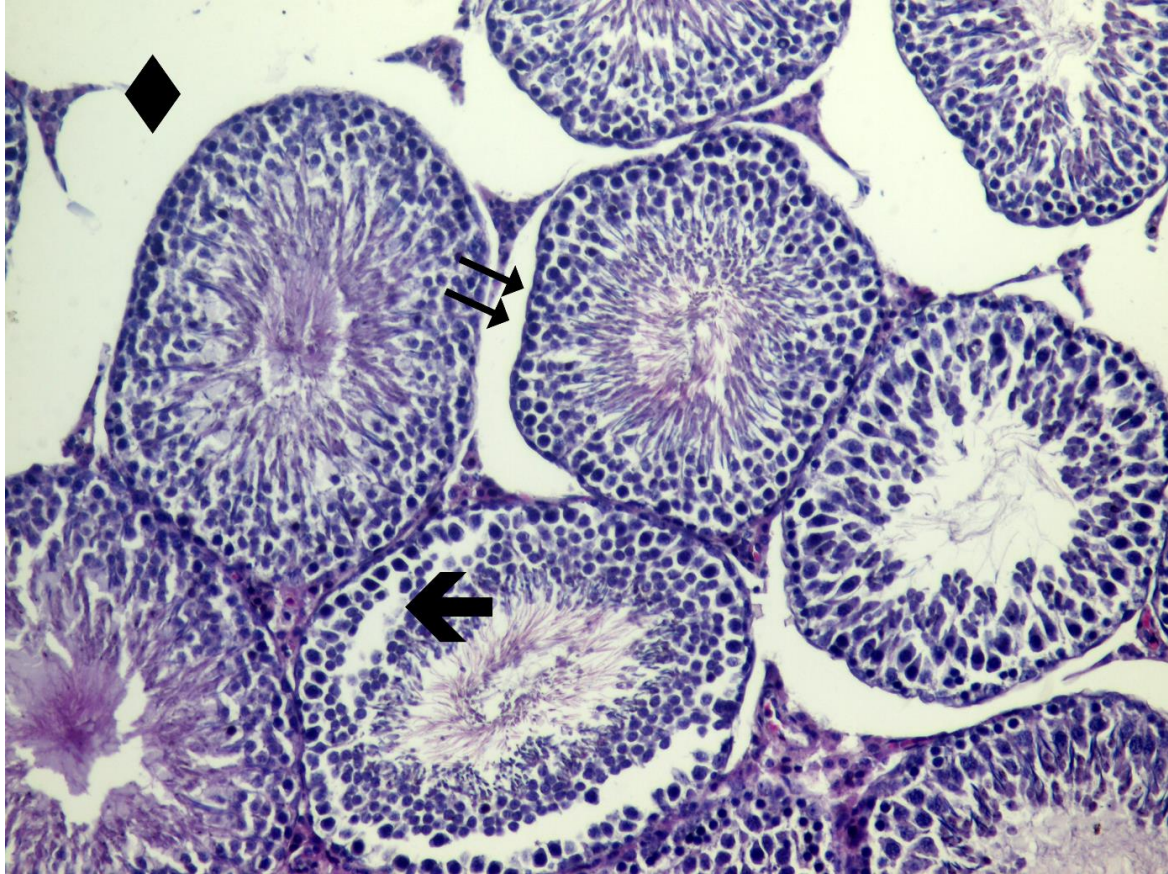
Resim 4.3. Düşük doz dimethoat uygulanan ratların seminifer tübüllerinde düzensizlik (⇐), spermatojenik hücrelerde azalma (↔), interstitiyel dokuda ödem (◆). X200



Resim 4.4. Yüksek doz dimethoat uygulanan ratların seminifer tübüllerinde düzensizlik ($\rightleftharpoons$), atrofik değişiklikler (■), spermatojenik hücrelerde azalma ($\blackleftarrow$), intersitisyel dokuda ödem (◆). X200



Resim 4.5. Ferulik asit ve Düşük doz dimethoat uygulanan spermatojenik hücrelerde azalma ($\blackleftarrow$), intersitisyel dokuda ödem (◆). X200



Resim 4.6. Ferulik asit ve Yüksek doz dimethoat uygulanan ratların seminifer tübüllerinde düzensizlik (⇔), spermatojenik hücrelerde azalma (↔), interstisyel dokuda ödem (♦). X200

Çizelge 4.1. Testis dokusundaki histopatolojik bulguların değerlendirilmesi

Patoloji Gruplar	Atrofi	Spermatojenik Hücrelerde Azalma	Seminifer tübüllerde düzensizlik	İnterstitiyel dokuda ödem
Kontrol	-	-	-	-
Ferulik Asit	-	-	-	-
dDMT	-	++	++	++
yDMT	+	+++	++	+++
Ferulik asit+dDMT	-	+	+	+
Ferulik Asit+yDMT	-	+	+	+

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



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sürekli artan insan popülasyonunun besin ihtiyacını karşılamada pestisitlerin önemli rolü olmasına rağmen, kimyasal teknolojinin çok fazla kullanımı insan sağlığı ve çevre için önemli olumsuz etkileri de beraberinde getirmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar, gelişmekte olan ülkelerde, her yıl tarım işçilerinin en az %3'ünün pestisit zehirlenmesi ile karşı karşıya kaldığını göstermektedir (Chrisman ve ark., 2009). Bu tez çalışmasında kullanılan dimethoatın erkek sıçanlar için LD₅₀ dozunun 300 mg / kg vücut ağırlığı olduğu bildirilmiştir (Sharm ve ark., 2001). Deneyler esnasında LD₅₀ dozuna göre 1/10 ve 1/100 LD₅₀ oranı uygulanmış ve 28 gün süren subakut süreç boyunca hiçbir grupta ölüm gözlenmemiştir.

Pestisitlerin çeşitli organ sistemleri üzerindeki en önemli belirteçlerinden biri histopatolojik değişikliklerdir. Bu tez çalışmasında deney hayvanlarına düşük ve yüksek doz dimethoat uyguladığımızda testis dokularında patolojik değerlendirme açısından önemli bulgular olduğu gözlenmiştir. Yapılan çalışmalarda, hücresel oksidatif hasarın biyokimyasal, enzimatik sonuçlarla doğru orantılı olarak histopatolojik doku hasarına neden olduğu düşünülmektedir (Uzun ve ark., 2013).

Dimethoatın serum testosteron seviyelerini, testiküler ağırlığı ve sperm motilitesini azalttığı, interstisyel boşlukları aşırı derecede genişlettiği ve de anormal ve ölü spermilerin oranını arttırdığı daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Farang ve ark., 2007). Farang ve ark. yaptıkları bir çalışmada organofosfatlı bir pestisit olan klorprifos uygulamasının testis ağırlığını azalttığını ve ayrıca interstisyel alanda ödem ve seminifer tübüllerde genişlemeye neden olduğunu bildirmişlerdir (Farang ve ark., 2010).

Yine organofosfatlı bir pestisit olan metil paration uygulanmış kuşların testis ağırlıklarında doza ve süreye bağlı olarak azalma meydana geldiği gösterilmiştir. Bununla birlikte testiste ve seminifer epitelde belirgin dejeneratif değişiklikler belirlenmiştir (Maitra ve Mitra, 2008).

Organofosfatlı bir insektisit olan metil paration ile yapılan başka bir çalışmada dört haftalık metil paration uygulamasının ardından vücut ağırlığında ve testis ağırlığında dikkate değer bir azalma gözlenmiştir. Ayrıca uygulama sonrası seminifer tübüllerde

spermatojenik hücre kaybı ve nekroz, interstisyel alanda ise ödem gözlenmiştir (Uzunhisarcıklı ve ark., 2007).

Uzun ve ark. organofosfatlı bir insektisit olan malation ile yaptıkları bir çalışmada, dört haftalık uygulama sonrasında seminifer tübüllerdeki spermatojenik hücrelerde azalma ve nekroz, interstisyel alanda ise ödem tespit etmişlerdir (Uzun ve ark., 2009).

Bu tez çalışmasında dimethoat, özellikle de yüksek doz dimethoat uygulaması yapılan gruplarda hücre yapısında önemli ölçüde tübüler dejenerasyona neden olmuştur. Düşük doz uyguladığımız ratların tübüllerinde daha az dejenerasyona rastlanmıştır. Seminifer tübüllerin yapısında düzensizlik, spermatojenik hücre kaybı, atrofik yapılar ve interstisyel alanlarda ödem dikkat çekmiştir. Ferulik asit ile muamele edilen gruplarda ise ışık mikroskobu incelemelerinde hücrelerdeki ciddi hasarların bir miktar azaldığı gözlenmiştir. Ferulik asitin bu etkisi hücre ve dokuda genel olarak koruyucu bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Testis dokusundaki bu patolojik değişiklikler, hücrelerde ROS oluşumunun artmasına ve LPO düzeyine bağlı olabilir. Işık mikroskobu bulguları, oksidatif stres belirteci olan parametrelerle paraleldir. Özellikle lipid peroksidasyonu son ürünlerinden biri olan MDA'nın pestisit uygulanan gruplarda önemli ölçüde artış göstermesi bunun bir kanıtıdır. Ksenobiyotiklere maruziyet sonucu hücrelerde reaktif oksijen türleri artmaktadır ve hücrelerdeki antioksidan mekanizmanın baskılanması sebebiyle prooksidan/antioksidan denge bozulmaktadır. Bu dengesizlik ile hücre için önemli moleküllerin hasara uğraması sonucunda doku ve organ sistemlerinde hasar, dokularda zedelenme meydana geldiği bilinmektedir (Dewanjee ve ark., 2013). Antioksidan olarak kullandığımız ferulik asit oksidatif hasara karşı araştırılan parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı koruyucu etkilere yol açmıştır.

Memelilerde en çok bilinen ve çalışılan antioksidanlar SOD, katalaz, GPX ve glutatyondur (Turner ve Lysiak, 2008). Bu antioksidanların hücre içindeki rolüne baktığımızda; GSH, serbest radikallerin temizlenmesi, toksik maddelerin detoksifikasyonu ve GST ve GPx'in kofaktörü için ilk savunma hattında rol alır. GST, daha az toksik formları dönüştürmek için GSH elektrofilik substratın konjugasyonunu katalize etmekten sorumludur ve böylece LPO azalır. GPx, hücreleri LPO'nun oksidatif hasarından korur ve H₂O₂'yi suya dönüştürür. SOD, H₂O₂'yi süperoksit radikallerine dönüştürürken, CAT süperoksit radikallerini suya ve oksijene dönüştürür (Milosevic ve ark., 2017). Bu enzimler doku hasarının belirlenmesinde

önemlidir (Galal ve ark., 2019; Hussain ve ark., 2017; Bas ve ark., 2015; Kalender ve ark., 2019). Ve pek çok çalışmada oksidatif stres belirteci olarak bu parametreler araştırılmaktadır (Apaydın ve ark., 2019).

Hücrede koruyucu rollerde bulunan bu enzimlerin miktarlarındaki değişimler, hücreye verilen hasarın bir göstergesi olarak yorumlanır. Öte yandan, MDA düzeyindeki artış ve organofosfatların oksidatif stres oluşturmaları iki mekanizma ile gerçekleşebilir. Bunlardan birincisi redoks siklusu aktivasyonudur, ikincisi ise ROS üretimine neden olmalarıdır (Possamai ve ark., 2007). Araştırmacılar çeşitli OP'li insektisitlerin deney hayvanlarının çeşitli doku ve sistemleri üzerinde oksidatif hasara yol açtığını göstermişlerdir (Abdollahi ve ark., 2004; Possamai ve ark., 2007; Rezg ve ark., 2008).

SOD, GPx, CAT, GST gibi enzimatik antioksidanlardaki değişiklikler, hücre hasarının ROS üretimi ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Apaydın ve ark., 2019). Pestisitler MDA seviyesinde artışa neden olmaktadır (Apaydın ve ark., 2018).

Bizim deney sonucunda elde ettiğimiz sonuçlardan olan LPO son ürünü olan MDA seviyesindeki artış dimethoatın reaktif oksijen türlerinde üretimine neden olduğunu kanıtlamaktadır. Bu çalışmada, MDA düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla uygulama gruplarında artmış olması hücre zarındaki hasarı göstermektedir.

İnsan vücudu reaktif oksijen türleri (ROS) ve diğer reaktif türler gibi serbest radikallerin oluşturduğu hasardan hücresel maddeleri koruyan kuvvetli bir antioksidan savunma sistemine sahiptir. Antioksidanlar okside olabilen maddeye göre daha az konsantrasyonlarda bulunduğu zaman, bu maddenin oksidasyonunu inhibe eden ya da önemli ölçüde geciktiren maddeler olarak tanımlanırlar (Boots ve ark., 2008; Denisov ve Afanas'ev, 2005).

Flavonoidlerin in vivo antioksidan olarak hareket ettiği belirtilmektedir ve böylece sebze ve meyveden zengin beslenme ile bağlantılı olarak flavonoidlerin patoloji önleyici aktiviteye kısmen katkısı vardır (Bestwick ve Milne, 2001; Andersen ve Markham, 2006). C vitamini, E vitamini, kuersetin, kateşin, hesperidin, morin, ferulik asit vs.'nin oksidatif hasarın önlenmesinde rol oynayan başlıca eksojen radikal temizleyici ajanlar olduğu iyi bilinmektedir (Apaydın ve ark., 2018; Jo ve ark., 2019). Birçok çalışma, ferulik asidin

toksik maddelere antioksidan özellik göstererek koruyucu etkileri olduğunu göstermiştir. Elde edilen veriler, ferulik asidin bazı parametrelerde dimethoatın neden olduğu testikular toksisiteye karşı potansiyel koruyucu etkileri olduğunu göstermiştir. Bu tez çalışmasında ferulik asitin kısmen de olsa dimethoatın yapmış olduğu hasarı azaltması hücre ve dokularda iyileştirici özelliğe sahip olduğunu göstermektedir. Tamamen iyileştirici olmaması ise kullanılan dozun miktarına bağlı olabilir.



KAYNAKLAR

- Abdollahi M., Mostafalou, S., Pournourmohammadi, S., Shadnia S. (2004). Oxidative stress and cholinesterase inhibition in saliva and plasma of rats following subchronic exposure to malathion, *Comparative Biochemistry and Physiology*, 137: 29-34.
- Adam A., Crespy V., Levrat-vermy M. A. (2002). The bioavailability of ferulic acid isB governed primarily by the food matrix rather than its metabolism in intestine and liver in rats. *American Society for Nutrition Science*, 132: 1962-1968
- Anderson, M., Markham, K. R. (2006). Flavonoids, Chemistry, Biochemistry and Applications, *CRC Press Taylor and Francis Group*, Boca Raton, 219-470
- Andersons, B., Gravitis, J., Erins, P., (1980). Study of macromolecular models of lignin obtained from ferulic acid. *Khim. Prir. Soedin*, 2: 239–245.
- Apaydın F. G., Aslanturk A., Uzunhisarcıklı M., Bas H., Kalender S., Kalender Y. (2019). Histopathological and biochemical studies on the effect of curcumin and taurine against bisphenol A toxicity in male rats. *Environ Science Poll Res*. 26: 12302-12310.
- Apaydın F. G., Kaltalıoglu K., Balabanlı B., Coşkun-Cevher Ş. (2018). Morin and Hesperidin Ameliorate Cisplatin-Induced Hepatotoxicity and Nephrotoxicity in Rats: A Histopathological Study. *Gazi University Journal Science*. 31(2), 399-406.
- Apaydın, F. G., Pandır D., Kalender, S., Baş H., Kalender Y. (2018). Hematoprotective effect of vitamins C and E against subchronic toxicity of bendiocarb: Biochemical evidences, *Journal of Food Biochemistry*, 42: 12659
- Balasundram N., Sundram K., Samman S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products. Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), 191-203.
- Baldi, I., Lebailly, P., Mohammed-Brahim, B., Letenneur, L., Dartigues, J. F., and Brochard, P. (2003). Neurodegenerative Diseases and Exposure to Pesticides in the Elderly *American Journal of Epidemiolog*. 157:409–414
- Bas, H., Kalender S., Karaboduk, H., Apaydın F. G. (2015). The Effects on Antioxidant Enzyme Systems in Rat Brain Tissues of Lead Nitrate and Mercury Chloride. *Gazi University Journal Science*, 28, 169-174.
- Başpınar Satıcı, G. (2019). *Ratlarda Bendiocarb'ın Sebep Olduğu Testikular Toksisite Üzerine Vitamin C ve E'nin Koruyucu Rolü*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara
- Bayar, A. S. (2013). *Tatlı Su Balığı "Oreochromis niloticus"un Gonad Histolojisi Üzerindeki Piretroid Pestisit Deltamethrinin Etkileri ve E Vitaminin Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır.

- Bestwick, C. S., Milne, L. (2001). Quercetin modifies reactive oxygen levels but exerts only partial protection against oxidative stress within HL-60 cells, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1528: 49-59.
- Boots, A. W., Haenen, G. R. M. M., Bast, A. (2008). Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical, *European Journal of Pharmacology*, 585: 325-337.
- Bouayed, J., Rammal, H., Soulimani, R. (2009). Oxidative stress and anxiety: Relationship and cellular pathways. *Oxid Med Cell Longev*, 2 (2), 63-67.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56: 317- 333.
- Casmin, J. (1999). Tocsicological effects of pesticides, *Journal of Food Assoc.* 21(2).
- Celik, I., Isik, I., (2009). Neurotoxic effects of subacute exposure of diklorvos and methyl parathion at sublethal dosages in rats, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 94: 1–4
- Chrisman, J. D. R., Koifman, S., Sarcinelli, P. D. N., Moreira, J. C., Koifman, R. J., Meyer, A. (2009). Pesticide sales and adult male cancer mortality in Brazil, *International Journal Hygiene Environmental Health*, 212: 310-321.
- Costa C., Teixeira J. P., Silva S., Roma-Torres J., Coelho P., Gaspar J., Alves M., Laffon B., Rueff J., Mayan O. (2006). Cytogenetic and molecular biomonitoring of a Portuguese population exposed to pesticides. *Mutagenesis*, 21(5):343-350.
- Çavdar, C., Sifil, A., Çamsarı, T., (1997). Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma, *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 3-4: 92-95.
- Çoğun, H.Y., ve ark. (2013). *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) ‘da Dimethoat’ın Bazı Enzim Sistemlerine Toksik Etkileri . *Anadolu Doğa Bilimleri Dergisi*, 4(2). 33-36.
- Çolak, A. ve Cengiz, S., (1989). Sivas yöresinde 2,4-D Adlı Herbisitinin Balıklara Biyolojik Etkisinin incelenmesi. *Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu Veterinerlik ve Hayvancılık Araştırma Grubu*, Proje No:698.
- Damalas, C. A. and Eleftherohorinos Ahmed, M. T., Saad, M. M. and Mabrouk, S. S. (1998). Residues of some chlorinated hydrocarbon pesticides in rain water, soil and ground water, and their influence on some soil microorganisms. *Environment international*, 24, 665-670.
- Denisov, E. T., Afanas’ev, I. B. (2005). Oxidation and Antioxidants in Organic Chemistry and Biology. *CRC Press Taylor and Francis Group*, Boca Raton, 835-950.
- Dewanjee, S., Sahu, R., Karmakar, S., Gangopadhyay, M., (2013). Toxic effects of lead exposure in Wistar rats: Involvement of oxidative stress and the beneficial role of edible jute (*Corchorus olitorius*) leaves. *Food and Chemical Toxicology* 55 : (78–91)
- Doğan A. (2012). *Toksikoloji*. Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi, Kars,

- EL-Gendy, K.S., Aly, N.M., Mahmoud, F.H., El-Sebae, A.K. (2010). The role of vitamin C as antioxidant in protection of oxidative stress induced by imidacloprid. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 215–221.
- Eraslan, G., Kanbur, M., Silici, S., (2009). Effect of carbaryl on some biochemical changes in rats: the ameliorative effect of bee pollen, *Food and Chemical Toxicology*, 47: 86-91.
- Erişir, F., Kandemir, F.M., Benzer, F. (2010). Koç Katımının Kandaki Malondialdehit ve Bazı Antioksidanlar Üzerine Etkileri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 5(2): 49-54.
- Fang YZ, Yang S, Wu G. (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*. 18(10), 872-879.
- Farag, A. T., El-Aswad, A. F., Shaaban, N. A. (2007). Assessment of reproductive toxicity of orally administered technical dimethoate in male mice. *Reproductive Toxicology*, 23: 232-238.
- Farag, A. T., Radwan, A. H., Sorour, F., Okazy, A. E., El-Agamy, E., El-Sebae, A. E. (2010). Chlorpyrifos induced reproductive toxicity in male mice. *Reproductive Toxicology*. 29: 80-85.
- Fawcett, D.W. (1986). *A textbook of histology*. W.B. Saunders Co. Philadelphia.
- Fournier, D., Mutero, A., (1994). Modification of acetylcholinesterase as a mechanism of resistance to insecticides. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 108(1), 19-31
- Galal A. A. A., Ramadan R. A., Metwally M. M. M., El-Sheikh S. M. A., (2019). Protective effect of N-acetylcysteine on fenithrothion-induced toxicity: The antioxidant status and metabolizing enzymes expression in rats. *Ecotoxicol Environ Safe*. 171: 502-510.
- Gallo MA, Lawryk NJ. (1991). Organic phosphorus pesticides. *Handbook of pesticide toxicology: Classes of pesticides*, (2). 917–1123.
- Garewal, HS. (1997). *Antioxidants and disease prevention*. CRC Press LLC. pp 3-19. Florida.
- Gomez-Arroyo S, Baiza AM and Lopez G. (1985). Villalobos- Pietrini R. A comparative study of the cytogenetic effects of the insecticides heptachlor, malathion and methylparathion in *Vicia faba*. *Contam Ambient*; 1, 7–16
- Güler Ç, Çobanoğlu Z. (1997). *Pestisitler. Çevresel Etkenlere Bağlı Olarak Ortaya Çıkan Hastalıklar*. Ankara. T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Sağlık Projesi Genel Koordinatörlüğü, Çevre Sağlığı Kaynak Dizisi, No:52. 6.
- Güler Ç, Çobanoğlu Z. (1997). *Pestisitler. Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi*. Ankara. 1. Basım. T.C. Sağlık Bakanlığı Yayınları, 8-37.

- Güler, Ç., Çobanoğlu, Z. (1997). *Pestisitler*. Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi, Ankara, No:52. 9, ISBN 975-8088-69-6.
- Halliwell B., Gutteridge J. M. C., (1999). *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rd ed. p.10-121. Oxford University Press, New York, USA.
- Hussain F, Malik A, Ayyaz U, Shafique H, Rana Z, Hussain Z.(2017). Efficient hepatoprotective activity of cranberry extract against CCl₄-induced hepatotoxicity in Wistar albino rat model: Down-regulation of liver enzymes and strong antioxidant activity. *Asian Pac J Trop Med*. 10(11): 1054–1058.
- Ikeda, M., Kodama, H., Fukuda, J., Shimizu, Y., Murata, M., Kumagai, J., Tanaka, T. (1999). Role of radical oxygen species in rat testicular germ cell apoptosis induced by heat stress. *Biol. Reprod*. 61(2): 393-399.
- İnternet: Trakya Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Toksikoloji Ders Notları. URL: <http://bys.trakya.edu.tr/file/open/47906710> Son Erişim Tarihi: 13.05.2019.
- Jo E, Youn CK, Jun Y, Cho S. (2019).The protective role of ferulic acid against cisplatin-induced ototoxicity. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 120: 30-35.
- John S., Kale M., Rathore N., Bhatnagar D. (2001). Protective effect of vitamin E in dimethoate and malathion induced oxidative stress in rat erythrocytes. *J Nutr Biochem*. 12: 500–504.
- Kalender S., Apaydın F. G., Kalender Y. (2019). Testicular toxicity of orally administrated bisphenol A in rats and protective role of taurine and curcumin. *Pak J Pharm Science*. 32: 1043-1047.
- Kalender, Y., Dirican, E. (2012). Dichlorvos-induced testicular toxicity in male rats and the protective role of vitamins C and E. *Experimental and Toxicologic Pathology* 64. 821–830.
- Karabulut, H., Gülay, M.Ş. (2016). Antioksidanlar. *MAE Vet Fak Derg*.1 (1).
- Khogali, F.A. (2005). *et al.*, “ Histopathological and Hematological Effects of Dimethoate 40EC on Some Organs of Albino Mice ”. *J. King Saud Univ.*, Vol. 18, *Science* (2), pp. 73-87, Riyadh.
- Kılçksız, S., Demirel, C., (2008). Oksidatif stress, radyasyona bağlı hasar ve radyokoruyucu olarak N-asetil-sistein’in potansiyel rolü, *Türk Onkoloji Dergisi*, 23 (4): 200-207.
- Kidd H., James D. R. (1991). Organophosphates. Eds. *The Agrochemicals Handbook*. Royal Society of Chemistry Information Services, Cambridge, UK, (3)5-14.
- Kim, S. A., Lee, Y. M., Lee, H. W., Jacobs, D. R., Jr. and Lee, D. H. (2015).Greater cognitive decline with aging among elders with high serum concentrations of organochlorine pesticides. *PLoS One* 10.
- Kumar, N. ve Pruthi, V. (2014). Potential applications of ferulic acid from natural sources. *Biotechnology Rep*, 4, 86-93.

- Kül, M. (2016). *İzmir Körfezi Kara Midye (Mytilus galloprovincialis) ve Bazı Balık Türlerindeki Pestisit Kalıntı Değerleri ile Bazı Doğal Radyonüklid Konsantrasyonları Arasındaki İlişkinin İncelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 19-24.
- Liu, C. M., Zheng, Y. L., Lu, J., Zhang, Z. F., Fan, S. H., (2010). Quercetin protects rat liver against lead-induced oxidative stress and apoptosis, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 29: 158-166.
- Luna, L. G. (1968). *Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. Third Ed. Mc Graw-Hill Book Comp. London.
- Maitra, S. K., Mitra, A. (2008). "Testicular functions and serum titers of LH and testosterone in methyl parathion-fed roseringed parakeets", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71: 236-244.
- Mancuso C., Santangelo R. (2014). Ferulic acid. Pharmacological and toxicological aspects. *Food Chem Toxicol*, 65:185-195.
- Mansour, S. A., Mossa, A. H. (2010). "Adverse effects of lactational exposure to chlorpyrifos in suckling rats", *Human and Experimental Toxicology*, 29: 77-92.
- Marutirao, G. R., (2013). "Histopathological Changes in The Ovary of Fresh Water Fish *Puntius ticto* Under Dimethoate Toxicity ". *The Bioscan* 8 (3): 989-992.
- Mccord, J. M., Fridovich, I. (1969). Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J. Biol. Chem.* 244(22): 6049-6055.
- Mccord, J. M., Fridovich, I. (1969). Superoxide dismutase. An enzymic function Meister, R.T. (1999). *Farm chemicals handbook '99*, Willoughby, OH, USA. Meister Publishing Company. for erythrocyte (hemocuprein). *J. Biol. Chem.* 244(22): 6049-6055.
- Meister, R.T., (1999). *Farm chemicals handbook '99*, Willoughby, OH, USA. Meister Publishing Company.
- Mercan, U., (2004). Toksikolojide serbest radikallerin önemi, *Yüzüncü yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 15: 91-96.
- Miller, G. T. (2007). *Sustaining the Earth*. 6th Edition edn, Vol. 6th Edition, 2003, 211-216. What is a pesticide?
- Milosevic M. D., Paunovic M. G., Matic M. M., Ognjanovic B. I.(2017). The ameliorating effects of selenium and vitamin C against fenitrothion-induced blood toxicity in Wistar rats. *Environ Toxicol Pharmacol.* 56: 204-209.
- Mironczuk-Chodakowska, I., Witkowska, A. M., Zujko, M. E. (2018). Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Advances in Medical Sciences.* 63, 68–78.

- Motoyama, K., Koyama, H., Moriwaki, M., Emura, K., Okuyama, S., Sato, E., Inoue, M., Shioi, A., Nishizawa, Y., (2009). Atheroprotective and plaque-stabilizing effects of enzymatically modified isoquercitrin in atherogenic apoE-deficient mice, *Nutrition*, 25: 421-427.
- Öztürk, S. (1990). Tarım İlaçları, Hasat Yayıncılık ve Reklamcılık-İstanbul, 523s. Taylor J, Ennever FK. Cadmium, Atsdr Toxicological Profiles, Atlanta, Ga, Life Systems, Inc., Cleveland, April (1993)
- Pakizer, H. (2013). *Pestisitlerin Vücut Savunma Sistemi Enzimleri Üzerine Etkilerinin in vitro İncelemesi*, Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne, 30.
- Percy, M. E. (1984).; Catalase: An old enzyme with a new role? *Can. J. Biochem. Cell. Biol.* 62(10): 1006-1014,
- Pham-Huy L. A., He H., Pham-Huyc C. (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Science.* 4(2), 89-96.
- Phil-Ok Koh.(2013). Ferulic acid attenuates focal cerebral ischemia-induced decreases in p70S6 kinase and S6 phosphorylation; *Neuroscience Letters.* 555:7– 11.
- Possamai, F. P., Fortunato, J. J., Feier, G., Agostinho, F. R., Quevedo, J., Wilhelm Filho, D., Dal-Pizzol, F. (2007). Oxidative stress after acute and sub-chronic malathion intoxication in Wistar rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 23:198-204.
- Povey, A. C., McNamee, R., Alhamwi, H., Stocks, S. J., Watkins, G., Burns, A., & Agius, R. (2014). Pesticide exposure and screen-positive neuropsychiatric disease in British sheep farmers. *Environmental research*, 135, 262-270
- Rezg, R., Mornagui, B., El-Fazaa, S., Gharbi, N. (2008). “Biochemical evaluation of hepatic damage in subchronic exposure to malathion in rats: Effect on superoxide dismutase and catalase activities using native PAGE”, *Comptes Rendus Biologies*, 331: 655-662.
- Robey W. C., Meggs W. J. (2004). Insecticides, Herbicides and Rodenticides. In: Tintinalli JE, Kelen GD, Stapczynski JS, eds. *Emergency Medicine: a Comprehensive Study Guide*. 6th Edn. McGraw-Hill Co, New York, 1134–43.
- Saritas, A., Çakır, Z., Aslan, Ş., (2007) Organophosphate and Carbamate Toxicity. *The Eurasian Journal of Medicine.* 67: (55-59)
- Se-A Kim, Y.-M. L., Ho-Won Lee, David R. Jacobs, Jr., Duk-Hee Lee. (2015). Can Inconsistent Association between Hypertension and Cognition in Elders be Explained by Levels of Organochlorine Pesticides? *PLoS ONE* December 2.
- Sharma Y., Bashir S., Irshad M., Gupta S. D., Dogra T. D. (2005). Effects of acute dimethoate administration on antioxidant status of liver and brain of experimental rats. *Toxicology.* 206: 49–57.

- Stadtman, E. R., ve Takoza, P. B., (1977). Superiority of interconvertible enzyme cascades in metabolic regulation: analysis of monocyclic systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*.74(4), 2761-2765
- Şirin, B., (2020). *Dimethoatın Rat Akciğer dokusu üzerine Toksik etkisi ve Ferulik asit in koruyucu rolü*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara
- Tanyolaç, A. (1999). Özel histoloji. 3. Baskı, Yorum basın yayın, s: 132-143, Ankara.
- Tekcan, M. (2009). Oksidatif stres-antioksidan sistemler ve testis. *Infertilite, Androloji bulteni*. 37: 131-136.
- Turner T.T., Lysiak J. J. (2008). Oxidative Stress: A Common Review Factor in Testicular Dysfunction. *J Androl*. 29: 488–498.
- Uslu, O. ve Türkman A. (1987). Su Kirliliği ve Kontrolü, T.C. Başbakanlık Çevre Genel Müdürlüğü Yayınları Eğitim Dizisi I, Ankara.
- Uzun F. G., Kalender Y. (2013).Chloropyrifos-induced hepatotoxicity and hematological changes in rats: the role of quercetin and catechin. *Food Chem Toxicol*. 55: 549–556.
- Uzun, F. G., Kalender, S., Durak, D., Demir, F., Kalender, Y. (2009). "Malathion-induced testicular toxicity in male rats and the protective effect of vitamins C and E", *Food and Chemical Toxicology*, 47: 1903-1908.
- Uzunhisarcikli, M., Kalender, Y., Dirican, K., Kalender, S., Ogutcu, A., Buyukkomurcu, F. (2007). "Acute, subacute and subchronic administration of methyl parathion-induced testicular damage in male rats and protective role of vitamins C and E", *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 87: 115-122
- Ünal, G. ve Gürkan, M., O. (2001). İnsektisitler, Ethemoglu Ofset matbaacılık, ISBN 975-97269- 0- 4, Ankara, 154s.
- Valko M., Leibfritz D., Moncola J., ve ark. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 39, 44-84.
- Vural, N. (2005). “Toksikoloji”, *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları*, Ankara, 504-512, 541-552, 555-560.
- Vural, N. Toksikoloji. 2 edn, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 1996, 344-379. Cuma Aktaş, Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Mersin Üniversitesi, 2017 68.
- Williams, D. D. and B. W. Feltmate. (1992). *Aquatic Insects*, C.A.B. International, R Redwood Press, Melksham, 358 p
- World Health Organization. (WHO) (1986). Environmental Health Criteria 64. Carbamate Pesticides: A General Introduction. WHO, Geneva.

- Worek F., Kirchner T., Backer M., Szinicz L.(1996). Reactivation by various oximes of human erythrocyte acetylcholinesterase inhibited by different organophosphorus compounds. Arch Toxicol. 70: 497–503.
- Zeren, O. M. ve Yaşarbaş, M. (1989). Tarım ilaçlarının insan Sağlığı üzerindeki Etkisi, *II. Ulusal Ergonomi Kongresi, Mpm Yayınları*, 379, 268-277.
- Zümeroğlu, S., Sezgin, E., Esentepe, M. (1979). Ülkemizde tarımsal ilaç kullanımı ve bundan doğan sorunlar. 1. Ulusal Zirai Mücadele İlaçları Sempozyumu, Adana.





GAZİ GELECEKTİR..