

T.C.
SİNOP ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
DİSİPLİNLERARASI ÇEVRE SAĞLIĞI ANABİLİM DALI



KLORPRİFOSUN GELİŞMEKTE OLAN SIÇAN OVARYUMUNDA
OLUŞTURDUĞU TOKSİSİTE ÜZERİNE KURKUMİNİN
KORUYUCU ETKİSİNİN HİSTOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ

GONCA GÜLSOY
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. DİLEK SAĞIR

TEZ KABUL

Gonca GÜLSOY tarafından hazırlanan “**Klorprifosun Gelişmekte Olan Sıçan Ovaryumunda Oluşturduğu Toksikite Üzerine Kurkuminin Koruyucu Etkisinin Histolojik Olarak İncelenmesi**” başlıklı bu çalışma, 28/07/2022 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak, jürimiz tarafından **YÜKSEK LİSANS tezi** olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Doç. Dr. Banu EREN
Ondokuz Mayıs Üniversitesi/Fen-Edebiyat Fakültesi

İmza

**Üye
(Danışman)**

Doç. Dr. Dilek SAĞIR
Sinop Üniversitesi / Sağlık Bilimleri Fakültesi

İmza

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Bilge BAL ÖZKAPTAN
Sinop Üniversitesi / Sağlık Bilimleri Fakültesi

İmza

Enstitü Müdürü

Prof Dr. Fadime DİRİK

.....

ETİK BEYANI

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

Gonca GÜLSOY

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KLORPRİFOSUN GELİŞMEKTE OLAN SIÇAN OVARYUMUNDA OLUŞTURDUĞU TOKSİSİTE ÜZERİNE KURKUMİNİN KORUYUCU ETKİSİNİN HİSTOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ GONCA GÜLSOY

SİNOP ÜNİVERSİTESİ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

DİSİPLİNLERARASI ÇEVRE SAĞLIĞI ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: DOÇ. DR. DİLEK SAĞIR

Klorprifos (KLP), dünya çapında tarım ve konut haşere kontrolünde yaygın olarak kullanılan geniş spektrumlu bir organofosforlu pestisittir. KLP'ye maruz kalmanın pek çok organ üzerinde oksidatif strese neden olduğu gösterilmiştir. Kurkuminin (KUR) antioksidan, anti-inflamatuar, antineoplastik ve anti-mutajenik gibi güçlü biyolojik aktivitelere sahip olduğunu gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı, prenatal dönemde klorprifos maruziyetinin gelişmekte olan sıçan ovaryumu üzerindeki muhtemel etkilerini ve bu etkilerin kurkumin ile azaltılıp azaltılmayacağını ortaya koymaktır. Bu amaç doğrultusunda 21 dişi sıçan; Klorprifos (KLP), Kurkumin (KUR), Klorprifos+Kurkumin (KLP+KUR), SHAM ve Kontrol (K) olmak üzere 5 gruba ayrıldı (n=3). Gebe dişi sıçanlara, KLP grubuna 5mg/kg klorprifos, KUR verilen tüm gruplara 100 mg/kg kurkumin, gebelikleri boyunca her gün günde bir kez olmak üzere gavaj yoluyla verildi. Deney sonunda kurban edilen sıçanlardan alınan ovaryum dokuları histopatolojik, stereolojik ve biyokimyasal yöntemlerle değerlendirildi. KLP grubunun gonadosomatik indeks (GSI) değerinin diğer tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı az olduğu belirlendi ($p<0,01$). Işık mikroskopik değerlendirme ile yapılan skorlama sonucunda ovaryumlarda en fazla dejenerasyonun KLP grubunda olduğu gözlemlendi ($p<0,01$). Yapılan stereolojik analizler sonucunda primordiyal, preantral ve antral folikül sayılarının KLP grubunda diğer tüm gruplara göre azaldığı tespit edildi ($p<0,01$). Ayrıca bu gruba ait ovaryumların

korteks hacimleri azalırken ($p<0,01$), medulla hacminde anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü. Kan serum örneklerinde yapılan biyokimyasal analizlerde KLP grubunda katalaz (CAT) ve süperoksit dizmutaz (SOD) enzim aktivite değerlerinin diğer gruplara göre azaldığı ($p<0,01$), benzer şekilde FSH değerinin de azaldığı ancak LH değerinin değişmediği tespit edildi. Kurkumin ile tedavi edilen KLP+KUR grubundaki sıçanlarda ise GSI değerinin KLP grubuna göre arttığı, ovaryumlarda meydana gelen histopatolojik değişiklerin hafiflediği, folikül sayılarının arttığı, kan serum örneklerinde ise SOD enzim aktivitesinin ve FSH düzeyinin arttığı görüldü ($p<0,01$). Sonuç olarak, kurkuminin klorprifosun ovaryumlarda neden olduğu oksidatif stresi indirgediği ve buna bağlı olarak ovaryumlarda meydana gelen dejenerasyonu hafiflettiğini söyleyebiliriz.

ANAHTAR KELİMELEER: Klorprifos, Kurkumin, Ovaryum, Oksidatif stres

Ocak 2022, 91 Sayfa

ABSTRACT

MSC THESIS

HISTOLOGICAL INVESTIGATION OF THE PROTECTIVE EFFECT OF CURCUMIN ON THE TOXICITY OF CHLORPYRIFOS ON THE DEVELOPING RAT OVARIUM

GONCA GÜLSOY

**SINOP UNIVERSITY INSTITUTE OF GRADUATE PROGRAMS
DEPARTMENT OF INTERDISCIPLINARY ENVIRONMENTAL HEALTH
SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. DİLEK SAĞIR**

Chlorpyrifos (CLP) is a broad spectrum organophosphorus pesticide widely used in agricultural and residential pest control worldwide. Exposure to CLP has been shown to cause oxidative stress on many organs. Curcumin (CUR) has been shown to have strong biological activities such as antioxidant, anti-inflammatory, antineoplastic and anti-mutagenic. The aim of this study was to reveal the possible effects of chlorpyrifos exposure in the prenatal period on the developing rat ovary and whether these effects can be reduced by curcumin. For this purpose, 21 female rats; They were divided into 5 groups as Chlorpyrifos (CLP), Curcumin (CUR), Chlorpyrifos+Curcumin (CLP+CUR), SHAM and Control (C) (n=3). Pregnant female rats were given 5mg/kg chlorpyrifos to the CLP group and 100mg/kg curcumin to all groups given CUR by gavage once a day throughout their pregnancy. Ovarian tissues taken from rats sacrificed at the end of the experiment were evaluated by histopathological, stereological and biochemical methods. It was determined that the gonadosomatic index (GSI) value of the CLP group was statistically significantly lower than all other groups ($p<0.01$). As a result of scoring with light microscopic evaluation, it was observed that the most degeneration in the ovaries was in the CLP group ($p<0.01$). As a result of the stereological analyzes, it was determined that the number of primordial, preantral and antral follicles decreased in the CLP group compared to all other groups ($p<0.01$). In addition, while the cortex volumes of the ovaries of this group decreased ($p<0.01$), there was no significant change in the medulla volume. In the biochemical analyzes of blood serum samples, it was determined that the

catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) enzyme activity values in the CLP group decreased compared to the other groups ($p<0.01$), similarly, the FSH value decreased, but the LH value did not change. In rats in the CLP+CUR group treated with curcumin, it was observed that the GSI value increased compared to the CLP group, the histopathological changes in the ovaries were alleviated, the number of follicles increased, and the SOD enzyme activity and FSH level increased in blood serum samples ($p<0.01$). As a result, we can say that curcumin reduces the oxidative stress caused by chlorpyrifos in the ovaries and accordingly alleviates the degeneration occurring in the ovaries.

KEYWORDS: Chlorpyrifos, Curcumin, Ovarium, Oxidative stress.

January 2022, 91 Page

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamı; Bilimsel temeller ışığında şekillendiren, engin bilgi ve tecrübesiyle bana ışık olan, araştırmamın tüm aşamalarını titizlikle inceleyen; her daim anlayış ve sabırla bana yol gösteren; ilgisi, güler yüzü ve samimiyeti ile bana destek olan danışman hocam Sayın Doç. Dr. Dilek SAĞIR'a en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca çalışmam sürecinde maddi-manevi hiçbir konuda benden desteğini esirgemeyen, bana güvenini her daim hissettiren hayat arkadaşım Öğr. Gör. Ahmet GÜLSOY'a ve hayatımdaki en güzel hediye olan oğlum Eymen Asaf GÜLSOY'a teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEZ KABUL	ii
ETİK BEYANI	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER	ix
TABLolar DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
2. PESTİSİTLER VE GENEL ÖZELLİKLERİ	3
2.1. Pestisitlerin Sınıflandırılması.....	5
2.1.1. Toksisitelerine göre pestisitler.....	5
2.1.2. Kimyasal yapılarına göre pestisitler	6
2.1.3. Öldürdükleri zararlılara göre pestisitler	8
2.2. Türkiye’de Pestisit Kullanımı	9
2.3. Pestisitlere Maruz Kalma Yolları	11
2.4. İnsektisitler	12
2.4.1. İnsektisitlerin sınıflandırılması.....	13
2.4.2. Organofosfatlar.....	15
2.4.3. Klorprifosun yapısı ve özellikleri.....	19
2.4.4. Klorprifosun kullanım alanları	20
2.4.5. Klorprifosun sağlık üzerine etkileri.....	21
3. Kurkumin	22
4. OVARYUMUN ANATOMİK YAPISI.....	25
4.1. Ovaryumun Embriyonik Gelişimi	25

4.2. Ovaryum Histolojisi.....	26
4.3. Ovaryum Korteksi	27
4.4. Ovaryum Medullası	27
4.5. Folikülogenez	28
5. MATERYAL VE YÖNTEM.....	30
5.1. Deney Hayvanları	30
5.2. Deney Hayvanlarına Uygulanan Maddeler	30
5.3. Deney Protokolü	30
5.4. Doku Örneklerinin Hazırlanması.....	32
5.4.1. Perfüzyon ve fiksasyon	32
5.4.2. Gonadosomatik indeksin hesaplanması.....	33
5.4.3. Işık mikroskopik doku takip işlemi	33
5.4.4. Histopatolojik değerlendirme	34
5.5. Stereolojik Analizler.....	35
5.5.1. Optik parçalama yöntemi ve uygulanışı	35
5.5.2. Cavalieri metodu ile hacim hesaplanması	35
5.6. Biyokimyasal Analizler	36
5.6.1. Deneklerden serum örneklerinin alınması.....	36
5.6.2. Katalaz enzim aktivitesi analizi.....	36
5.6.3. Süperoksit dismutaz enzim aktivitesi analizi	37
5.6.4. FSH ve LH hormon analizi	37
5.7. İstatistiksel Analiz	37
6. BULGULAR.....	39
6.1. Gonadosomatik İndekslerden Elde Edilen Bulgular.....	39
6.2. Histopatolojik Bulgular	40
6.3. Stereolojik Bulgular	45
6.3.1. Over Foliküllerinin Sayımı.....	45
6.3.2. Korteks ve Medulla hacim bulguları	46
6.4. Biyokimyasal Bulgular	47
6.4.1. Katalaz enzim aktivitesinin değerlendirilmesi	47

6.4.2. Süperoksit Dismutaz düzeylerinin değerlendirilmesi.....	48
6.4.3. Serum FSH düzeylerinin değerlendirilmesi	49
6.4.4. Serum LH düzeylerinin değerlendirilmesi	50
7. TARTIŞMA	52
8. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	58
KAYNAKLAR	60



TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1 Pestisitlerin toksisitetlerine göre sınıflandırılması	6
Tablo 2.2 Hedef zararlıya göre pestisitler.....	8
Tablo 2.3 2016-2020 yılları arasında Türkiye’de tüketilen pestisit miktarı	10
Tablo 2.4 İthalat, imalat ve kullanımı sonlandırılan yasaklı ve kısıtlı teknik madde listesi	11
Tablo 2.5 İnsektisit grupları ve örnekler.....	14
Tablo 2.6 Klorpirifos ve başlıca metabolitlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	20
Tablo 3.1 Kurkumin’in kullanıldığı bazı hastalıklar	24
Tablo 5.1 Dişi sıçanların gruplara ayrılması.....	31
Tablo 5.2 Hematoksilen & Eozin boyama metodu.....	34
Tablo 6.1 Tüm gruplardaki sıçanlara ait ortalama Gonadosomatik indeks değerleri.....	39
Tablo 6.2 Histolojik hasarın gruplara göre dağılımı.....	40
Tablo 6.3 Tüm gruplardaki sıçanların ovaryumlarındaki primordiyal, preantral, antral folikül sayısı.....	46
Tablo 6.4 Tüm gruplardaki sıçanlara ait ortalama korteks ve medulla hacimleri	46
Tablo 6.5 Tüm gruplara ait CAT enzim aktivite değerleri	48
Tablo 6.6 Tüm gruplara ait SOD enzim aktivitesi.....	49
Tablo 6.7 Tüm gruplara ait FSH değerleri.....	50
Tablo 6.8 Tüm gruplara ait LH değerleri.....	50

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1 Pestisitlerin kimyasal sınıflandırılması	7
Şekil 2.2 2016-2020 yılları arasında kullanılan zirai ilaçların gruplara göre dağılımları	10
Şekil 2.3 İnsan pestisit maruziyeti kategorileri	12
Şekil 2.4 İnsektisitlerin sınıflandırılması	13
Şekil 4.1 Uterus, over ve tuba uterina'nın iç yapıları	26
Şekil 5.1 Sıçanlara gavaj yoluyla ilaç verilmesi	31
Şekil 5.2 Sıçanlara uygulanan intrakardiyak perfüzyon işlemi	32
Şekil 6.1 Tüm gruplardaki sıçanlara ait ortalama Gonadosomatik indeks değerleri	39
Şekil 6.2 Histolojik hasarın gruplara göre dağılımı	40
Şekil 6.3 Kontrol grubuna ait ovaryum kesitinde genel görünüm. H&E, X4.....	41
Şekil 6.4 SHAM grubuna ait ovaryum kesitinde genel görünüm. H&E, X4	42
Şekil 6.5 KUR grubuna ait ovaryum kesitinde genel görünüm. H&E, X4.....	43
Şekil 6.6 KLP grubuna ait ovaryum kesitinde genel görünüm. H&E, X4	44
Şekil 6.7 KLP+KUR grubuna ait ovaryum kesitinde genel görünüm. H&E.....	45
Şekil 6.8 Tüm gruplardaki sıçanlara ait ortalama korteks ve medulla hacimleri	47
Şekil 6.9 Tüm gruplara ait CAT enzim aktivitesi	48
Şekil 6.10 Tüm gruplara ait SOD enzim aktivitesi	49
Şekil 6.11 Tüm gruplara ait FSH değerleri (IU/L)	50
Şekil 6.12 Tüm gruplara ait LH değerleri (mIU/mL)	51

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

!	: Ortalama kesit kalınlığı
P(a)	: Bir noktanın temsil ettiği alan
Σ!!	: Toplam yüzey alanı
ΣP_i	: Kesitle kesişen toplam nokta sayısı

Kısaltmalar

AChE	: Asetilkolinesteraz
CAT	: Katalaz
DDT	: Diklorodifeniltri-kloroetan
GSI	: Gonadosomatik indeks
KLP	: Klorprifosfat
CUR	: Kurkumin
LD50	: Ölümcül doz
OMPA	: Oktametilpirofosforamidat
OP	: Organofosfatlı Pestisit
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SRÖ	: Sistematik rastgele örnekleme
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

Katlanarak artan insan nüfusu (yaklaşık bir yüzyılda, nüfus sayıları 1900'de 1,5 milyardan 2000'de yaklaşık 6,1 milyara), gıda üretimini artırma ihtiyacını beraberinde getirmiştir. İklim değişikliğinin tarım üzerindeki olumsuz etkileriyle birlikte gıda üretimini felce uğratan ve birçok bölgede gıda kıtlığına sebep olan zararlılar, gıda üretiminde yeni çabalar ortaya koymayı kaçınılmaz kılmaktadır (Carvalho, 2007). Tarım, dünya çapında önemli bir ekonomik faaliyeti temsil etmektedir ve artan verimlilik arayışı, bu uygulamada pestisit kullanımını içermektedir (Prudente vd., 2018). Halen 6 milyar olan dünya nüfusunun 1 milyar kadarının gelişmiş ülkelerde, 5 milyardan fazlasının ise gelişmekte olan ülkelerde yaşadığı düşünüldüğünde (Çamurcu, 2005) pestisitler, tarımda ve halk sağlığı açısından gelişmekte olan ülkelerde oldukça önemlidir (Jeyaratnam, de Alwis Seneviratne and Copplestone, 1982). Halk sağlığı açısından pestisitler, evlerde, ofislerde, alışveriş merkezlerinde ve sokaklarda sivrisinek, kene, sıçan ve fare gibi zararlıları öldürmek için günlük yaşamda kullanılmaktadır. Ayrıca tarımsal üretimde pestisitler vazgeçilmezdir. Çiftçiler tarafından tarımsal ekimde yabancı otları ve böcekleri kontrol etmek için kullanılmışlar ve pestisit kullanımının bir sonucu olarak tarım ürünlerinde kayda değer artışlar rapor edilmiştir (Tudi vd., 2021). Son elli yılda pestisit kullanımının artmasıyla birlikte gıda kalitesinin arttığı bilgisine rağmen, bu toksik kimyasal maddelerin bilinçsizce ve aşırı kullanımının çevre ve insan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri de yapılan pek çok çalışmayla gösterilmiştir (Matthews, 2008).

Pestisitler görünüşlerine, fiziksel yapılarına, formülasyon şekillerine, etkiledikleri zararlı ve hastalık grubu ile bunların biyolojik dönemine, içerdikleri aktif madde cins ve grubuna, zehirlilik derecesine ve kullanım tekniğine göre çok değişik şekillerde sınıflandırılırlar. İnsektisitlerin organofosfor veya organofosfat sınıfında yer alan klorprifos (Racke, 1993), yüksek verimlilikleri ve çevrede daha düşük kalıcılıkları sayesinde (Das ve Adhya, 2015), haşere kontrolünde en yaygın kullanılan kimyasallar arasında yer almaktadır (Racke, 1993). Tarımda, böcek kontrolünde ve evlerde yaygın olarak uygulanan klorprifos, (Ekmekyapar, Tosun ve Ataçoğlu, 2014) insan ve hayvanların sıkça maruz kaldığı önemli bir insektisit konumundadır (Deveci vd., 2015). Her ne kadar diğer pestisitlere oranla çevrede daha düşük kalıcılık gösterse de klorprifos maruziyeti insan ve hayvanlar için çeşitli sağlık sorunları oluşturmaktadır. Klorprifos maruziyetinin, kalbin elektriksel ileti ve uyarı sisteminde bozulmalara, bağırsak dokusunda tahribata, sinir sisteminde zayıflığa, immünolojik anormalliklere neden

olduğu, oksidatif stresi indüklediği ve doku hasarına neden olduğu bildirilmiştir (Gupta vd., 2010). Sağır (2019) klorprifos maruziyetinin gebelik dönemindeki sıçanların karaciğerindeki zararlarını incelediği bir çalışmada, klorpirifosun etkisiyle sıçanların karaciğerlerinde; veziküler dejenerasyon, sinüzoidlerde genişleme, inflamasyon merkezleri, nekrotik hücreler, portal alanlar etrafındaki kollajen lif miktarında artış ve santral ven çevresindeki glikojen depolarındaki azalma tespit etmiştir. Benzer bir çalışmada Eronat ve Sağır (2020) prenatal dönemde klorpirifos maruziyetinin gelişen sıçan hipokampusu üzerindeki olası etkilerini incelemişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda klorprifos maruziyetinin düşük doğum ağırlığına, hipokampustaki ortalama piramidal nöron sayısında düşüşe, beyinde oksidatif hasara ve hücre dejenerasyonuna neden olduğunu tespit etmişlerdir. Li vd. (2019) yaptıkları bir çalışmada kronik klorprifos maruziyetinin serum hormon seviyeleri, proinflamatuvar sitokinler ve bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkileri değerlendirmişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda ise lüteinize edici hormon, folikül uyarıcı hormon ve testosteron konsantrasyonlarının önemli ölçüde azaldığını tespit etmişlerdir.

Zerdeçal (*Curcuma longa*), Hindistan, Çin ve Güney Doğu Asya'da baharat, gıda koruyucu ve renklendirici madde olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Geleneksel tıpta iştahsızlık, öksürük, diyabetik yaralar, karaciğer rahatsızlıkları, romatizma ve sinüzit gibi çeşitli hastalıklar için evde çare olarak kullanılmıştır. Son yıllarda zerdeçal ve özlerinin biyolojik aktivitelerini ve farmakolojik etkilerini belirlemek için kapsamlı çalışmalar yapılmış ve zerdeçalın ana sarı biyoaktif bileşeni olan “kurkumin”in (diferuloilmetan), geniş bir biyolojik etki spektrumuna sahip olduğu gösterilmiştir. Bunlar; anti-inflamatuvar, antioksidan, antikanserojenik, antimitojenik, antikoagülan, antifertilite, antidiyabetik, antibakteriyel, antifungal, antiprotozoal, antiviral, antifibrotik, antivenom, antiülser, hipotansif ve hipokolesteremik aktivitelerini içerir (Chattopadhyay vd., 2004). Bununla birlikte kurkuminin, ovaryum foliküllerinin sayısını ve çapını arttırabileceği, sıçan oositlerinde strese bağlı dejenerasyonu önleme kabiliyetine sahip olduğu bildirilmiştir. Bu özelliklerinden dolayı kurkumin, folikülogenez ve oogenez sırasında yumurtalıklarda koruyucu ekiler göstermektedir (Tiwari-Pandey ve Ram Sairam, 2009).

Bu çalışmada tarımda yaygın olarak kullanılan bir insektisit türü olan klorprifos'un gebelikteki maruziyetinin, gelişmekte olan dişi sıçanların ovaryumlarında oluşturması muhtemel hasarı ve bu hasar üzerinde kurkuminin etkinliğini histopatolojik, stereolojik ve biyokimyasal analizler kullanarak araştırmak hedeflenmiştir.

2. PESTİSİTLER VE GENEL ÖZELLİKLERİ

Pestisitler, insan tarafından zararlı organizmaları azaltmak için kullanılan kimyasallar ve biyolojik malzemelerdir. Herhangi bir ülkede pestisitlerin en büyük kullanımı tarım ve orman haşere kontrolü içindir (Matsumura, 1985). Bitkilerimizde, bahçelerimizde veya evcil hayvanlarımızda kullandığımız pestisitlerin çoğu, genellikle uygun taşıyıcı veya seyreltici materyallerle süspanse edilmiş, istenen oranlarda karıştırılmış birkaç kimyasalın bir karışımıdır. Kimyasallar haşereleri öldürmekten veya başka bir şekilde etkilemekten sorumlu olan aktif maddeler olarak adlandırılır. Aktif kimyasalların yanı sıra etken maddelerle birlikte formüle edilen ve genellikle zararlılara etkili olmayan diğer kimyasallar da bulunmaktadır. Bunlar; taşıyıcı, seyreltici, bağlayıcı, disperan gibi işlev gören, etken maddelerin raf ömrünü uzatan veya pestisit in daha güzel kokmasını sağlayan inert olarak adlandırılan maddelerdir (Zacharia, 2011). FAO (2003)'e göre pestisit, insan veya hayvan hastalık vektörleri, istenmeyen bitki veya hayvan türleri de dâhil olmak üzere herhangi bir haşereyi önlemeye, yok etmeye veya kontrol etmeye yönelik herhangi bir madde veya madde karışımı anlamına gelir. Terim, bitki büyüme düzenleyicisi, yaprak dökücü, kurutucu veya meyveyi inceltmek veya meyvenin erken düşmesini önlemek için ajan olarak kullanılması amaçlanan maddeleri ve malları depolama ve nakliye sırasında bozulmadan korumak için hasattan önce veya sonra mahsullere uygulanan maddeleri içerir. Abubakar vd. (2020) pestisitleri, zararlı olarak kabul edilen herhangi bir biyolojik organizmayı önlemek, kontrol etmek, yok etmek, kovmak veya çekmek için tasarlanmış kimyasal veya biyolojik bileşikler olarak tanımlamaktadır. Pestisit uygulaması sırasında, yalnızca az miktarda uygulanan pestisit, bitki hastalıklarına karşı savaşmak için koruyucu ve yok edici etki gösterirken, büyük miktarda pestisit toprağa ulaşarak yaygın toprak kontaminasyonuna neden olmaktadır (Qin vd., 2014). Pestisitlerin çevredeki davranışları genel olarak şu şekildedir (Tudi vd., 20021);

- ✓ Pestisit bir hedef bitkiye uygulandığında veya bertaraf edildiğinde çevreye girme potansiyeline sahiptir. Pestisitler çevreye girdiklerinde transfer (veya hareket) ve bozunma gibi işlemlerden geçebilirler. Çevredeki pestisit bozulması yeni kimyasallar üretir.
- ✓ Pestisitler, adsorpsiyon, süzme, buharlaştırma, sprey sürüklemesi ve akış dahil transfer süreçleri ile hedef bölgeden diğer çevresel ortamlara veya hedef olmayan bitkilere taşınır.

- ✓ Pestisitler hedef organizmaya uygulandıktan sonra, mikroplar, kimyasal reaksiyonlar veya ışık yoluyla parçalanırlar.
- ✓ Pestisitlerin bir kısmı yer altı suyuna sızarak su kirliliğine neden olabilir.
- ✓ Pestisit uygulaması sırasında tedavi alanından sprey damlacıkları şeklinde havaya karışarak hava kirliliğine ve gıda kontaminasyonuna yol açabilir.
- ✓ Pestisitler bir kez buharlaştıktan sonra, işlenen yüzeyden hava akımlarıyla taşınabilirler.
- ✓ Pestisitler suda çözünen veya aşınan toprağın toprak parçacıklarına bağlanan bileşikler olarak hareket edebilir.

WHO (2019) pestisitler ile ilgili olarak bilinmesi gereken bazı önemli bilgileri şu şekilde sıralamaktadır;

- ✓ İnsanlar için çok toksik olabilir. Örneğin, bir çay kaşığı karbofuran veya monokrotofos etken maddelerinin dörtte biri, yutulduğunda ölüme neden olabilir,
- ✓ Gelişmiş ülkelerde daha az tehlikeli alternatiflere izin verilmiş olsa bile, düşük ve orta gelirli birçok ülkede halen çok tehlikeli pestisitler kullanılmaktadır,
- ✓ Düşük ve orta gelirli ülkelerde güvenli kullanım yoktur. Yüksek derecede tehlikeli pestisitlere karşı koruma için Kişisel Koruyucu Ekipman (KKE) mevcut değildir veya çok pahalı olduğu veya giyilmesi çok rahatsız olduğu için kullanılmamaktadır,
- ✓ Bazı ülkelerde tarımsal üretkenliği etkilemeden tarımdan kaldırılmıştır,
- ✓ Tüm intiharların yüzde 15-20'sini oluşturan, dünya çapında en yaygın intihar yollarından biridir,
- ✓ Yerel gıda sistemlerinde ve muz, kahve ve pirinç gibi küresel gıda ürünlerinde bulunabilir, ancak en çok kirlenen ürünler meyve ve sebzelerdir.

Toksik etki gösteren bir maddenin pestisit olabilmesi için taşınması gereken özellikler aşağıda verilmiştir (Eronat, 2019).

- ✓ Biyolojik olarak aktif,
- ✓ Düşük maliyetli,
- ✓ Etkili,
- ✓ Kolayca uygulanabilen,
- ✓ Güvenilir,
- ✓ Kullanıcılar, tüketiciler ve besi hayvanları açısından güvenilir,

- ✓ Yeteri kadar kararlı (stabil),
- ✓ Hedef canlıya spesifik olarak toksik,
- ✓ Yanıcı, patlayıcı, boyayıcı etkisi, koroziv, yaban hayatına ve faydalı organizmalara zarar vermemelidir.
- ✓ Çevre için kabul edilebilir olmalıdır.
- ✓ Kolaylıkla toksik olmayan maddelere dönüşebilmelidir.

2.1. Pestisitlerin Sınıflandırılması

Pestisit, haşereleri öldürmek veya onlardan korunmak için kullanılan çeşitli böcek öldürücüler, herbisitler, mantar öldürücüler, kemirgen öldürücüler, ahşap koruyucular, bahçe kimyasalları ve ev dezenfektanlarının çeşitli sınıflarını karakterize eden yaygın bir terimdir (Yadav and Devi, 2017). Bu pestisitler fiziksel, kimyasal ve özdeş özellikleri bakımından bir sınıftan diğerine farklılık göstermektedir. Bu nedenden dolayı pestisitleri özelliklerine göre sınıflandırmak ve kendi grupları altında incelemek daha doğru olacaktır. WHO (2013)'e göre Biyokimyasal bir pestisit doğal olarak oluşmalıdır; sentezlenirse, doğal olarak oluşan bir kimyasalla yapısal olarak aynı olmalıdır, yani sentetik kimyasalın ana bileşeninin moleküler yapısı, doğal olarak oluşan analogun moleküler yapısıyla aynı olmalıdır. Doğal olarak oluşan ve sentetik bileşiğin stereokimyasal izomer oranlarındaki küçük farklılıklar, bir izomerin başka bir izomere önemli ölçüde farklı toksikolojik özelliklere sahip olduğu bulunmadıkça, genellikle bir kimyasalın biyokimyasal haşere kontrol ajanı olarak sınıflandırılmasını dışlamaz. Sentetik pestisitler insan yapımı kimyasallardır ve doğada bulunmazlar. İhtiyaçlara göre çeşitli sınıflara ayrılırlar (Yadav and Devi, 2017).

2.1.1. Toksisitelerine göre pestisitler

Dünya Sağlık Örgütü pestisitleri toksisitelerine göre sınıflandırmayı önermektedir. Sınıflandırma, teknik bileşiğin toksisitesine ve formülasyonlarına dayandığından, her bir pestisit daha az tehlikeli formları arasında ayrım yapar. Bu belirlemeler toksikolojide standart prosedürler olduğundan, sınıflandırma esas olarak sıçana yönelik akut oral ve dermal toksisiteye dayanmaktadır. Uygulamada, sınıflandırmaların çoğu akut oral LD50 değeri üzerinden yapılacaktır. Bununla birlikte, dermal toksisite her zaman göz önünde bulundurulmalıdır, çünkü pestisitlerin kullanıldığı çoğu koşulda toplam maruziyetin yüksek bir bölümünün dermal olduğu bulunmuştur

(WHO, 2020). WHO (2020)'nin toksisitelerine göre pestisit sınıflandırması Tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.1 Pestisitlerin toksisitelerine göre sınıflandırılması

SINIF		Sıçan için LD50 değeri (mg/kg vücut ağırlığı)	
		Ağız Yolu	Deri Yolu
Ia	Son Derece Tehlikeli	<5	<50
Ib	Çok Tehlikeli	5-50	50-200
II	Orta Derece Tehlikeli	50-2000	200-2000
III	Hafif Derece Tehlikeli	2000-5000	2000-5000
U	Akut Tehlike Geliştirme Olasılığı Düşük	5000 ve daha fazla	

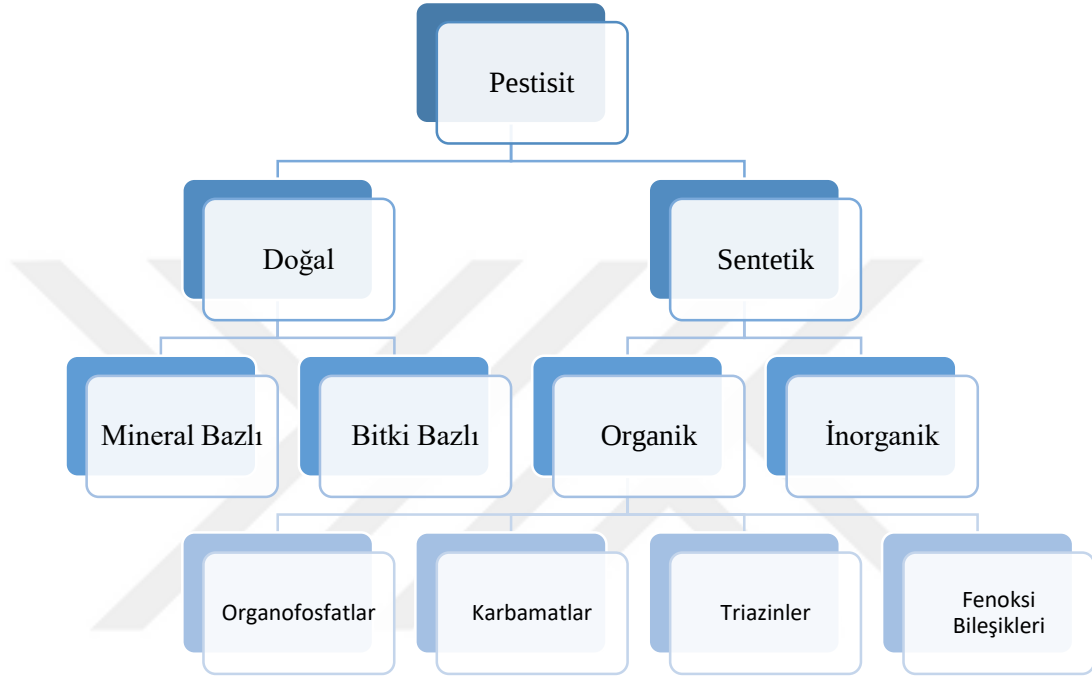
Kaynak: WHO (2020)'den uyarlanmıştır.

2.1.2. Kimyasal yapılarına göre pestisitler

Pestisitleri sınıflandırmanın en yaygın ve kullanışlı yöntemi, kimyasal bileşimlerine ve aktif bileşenlerin doğasına dayanmaktadır. İlgili pestisitlerin etkinliği, fiziksel ve kimyasal özellikleri hakkında ipucu veren bu tür bir sınıflandırmadır. Pestisitlerin kimyasal ve fiziksel özelliklerine ilişkin bilgiler, uygulama şeklinin, uygulama sırasında alınması gereken önlemlerin ve uygulama oranlarının belirlenmesinde oldukça faydalıdır (Kaur vd., 2019). Kimyasal pestisitler, kaynaklarına göre dört tipte sınıflandırılır: karbamat, organofosfat, organoklor ve piretroid pestisitler. Öte yandan, özellikle bitkiler, mantarlar, bakteriler vb. gibi canlı organizmalardan doğal olarak oluşan veya doğal olarak türetilen maddeler olan biyopestisitler olarak adlandırılan başka bir pestisit sınıfı daha vardır. Biyopestisitler üç ana gruba ayrılır: biyokimyasal pestisitler, mikrobiyal pestisitler ve bitki katkılı koruyucular (Hassaan ve El Nemr, 2020).

Organoklorlu pestisitler (klorlu hidrokarbonlar olarak da bilinir), beş veya daha fazla klor atomu ile bağlanmış organik bileşiklerdir. Organoklorinler, çevrede çok kalıcı olan ve yağ dokusunda birikme potansiyeline sahip kararlı kimyasallardır (Hassaan ve El Nemr, 2020). Tarımda ve halk sağlığında şimdiye kadar sentezlenen ve kullanılan ilk pestisit gruplarından birini temsil ederler. Bunların çoğu, çok çeşitli böceklerin kontrolü için yaygın olarak insektisit olarak kullanılmıştır ve çevrede uzun süreli kalıcı bir etkiye sahiptirler. Bu böcek öldürücüler, böceklerin sinir sistemini bozarak kasılmalara ve

felçlere ve ardından ölüme neden olabilir. Bu pestisitlerin en yaygın örnekleri şunları içerir: DDT, lindan, endosulfan, aldrin, dieldrin ve klordan. DDT'nin üretimi ve uygulaması yıllar önce Amerika Birleşik Devletleri de dâhil olmak üzere çoğu gelişmiş ülkede yasaklanmış olsa da, çoğu tropikal gelişmekte olan ülkede vektör kontrolü için (özellikle sıtmanın meydana geldiği yerlerde) hala kullanılmaktadır (Yadav and Devi, 2017).



Şekil 2.1 Pestisitlerin kimyasal sınıflandırılması

Kaynak: Jatoi vd., (2021)'den uyarlanmıştır.

Karbamatlar organofosfatlara (Organofosfatlar için bkz. Bölüm 2.4.2.) benzer. Ancak kökenlerinde farklılık gösterirler. Organofosfatlar fosforik asit türevleridir, karbamatlar ise karbamik asitten türetilmiştir (Yadav and Devi, 2017). Dimetil N- metil karbamik asitten türetilen bazı organik ester bileşikler, herbisitler, insektisitler, nematisitler ve fungusitler olarak kullanılır ve karbamatlar olarak adlandırılır (Hassaan ve El Nemr, 2020). Karbamatlı pestisitlerin çalışma prensibi, sinir sinyallerinin iletimini etkileyerek, haşerenin zehirlenerek ölmesiyle sonuçlanan organofosfatlı pestisitlere benzer. Bazen mide ve kontak zehirlerinin yanı sıra fumigant olarak da kullanılırlar. Minimum çevre kirliliği ile doğal ortamda kolayca bozunabilirler. Bu grup altında yaygın olarak kullanılan insektisitlerden bazıları carbaryl, carbofuran, propoxur'dur (Yadav and Devi, 2017).

Piretroidler, Kenya'da bulunan piretrin olarak bilinen krizantem çiçeklerinin piretrum özlerinden elde edilen doğal böcek öldürücülerdir (Hassaan ve El Nemr, 2020). Sentetik piretroid pestisitler, doğal piretrinlerin yapısını kopyalayarak sentezlenebilen organik pestisit grubudur. Nispeten, doğal piretrinlerden daha uzun kalıntı etkileri ile daha kararlıdır. Sentetik piretroid pestisitler, böcekler ve balıklar için oldukça zehirlidir, ancak memeliler ve kuşlar için biraz zehirlidir. Sentetik insektisitlerin çoğu kalıcı değildir ve ışığa maruz kaldığında kolayca kırılır. Gıdalarda kullanım için en güvenli insektisitler arasında kabul edilirler. Cypermethrin ve Permethrin en çok kullanılan sentetik piretroid pestisitlerdir (Yadav and Devi, 2017).

2.1.3. Öldürdükleri zararlılara göre pestisitler

Pestisitler, hedef zararlı nesneye göre sınıflandırıldıklarında faaliyetlerini yansıtmak için özel isimler alırlar. Bu pestisitlerin kategori isimlerinde hedef zararlının adından sonra kullanılan Latince ‘öldürücü’ anlamına gelen ‘cide’ kelimesi gelir (Hassaan ve El Nemr, 2020). Hedef zararlılara göre pestisit kategorileri Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2.2 Hedef zararlıya göre pestisitler

Zararlıların Türü	Pestisit Örneği	Hedef Zararlılar/İşlev
Avicides	Avitrol (Aminopiridin)	Kuşları öldürür
Acaricides	Bifenazat	Bitkiler ve hayvanlarla beslenen akarları öldürür
Attractant	Feromonlar	Çok çeşitli zararlıları çeker
Algaecides	Bakır Sülfat	Alglerin büyümesini kontrol eder veya öldürür
Bactericides	Bakır Kompleksleri	Bakterileri öldürmek veya bakterilere karşı hareket etmek
Biopesticide	Bacillus Thuringiensis	Geniş organizma yelpazesi
Bait	Antikoagülanlar	Geniş organizma yelpazesi
Desiccants	Borik Asit	Bitkiler üzerinde dokularını kurutarak etki eder
Defoliant	Tribüfolar	Bitki yapraklarını kaldırır
Fungicides	Azoksistrobin, Klorotalonil	Mantarları öldürür (yanıklık, küf, küf ve pas dâhil)
Zararlıların Türü	Pestisit Örneği	Hedef Zararlılar/İşlev
Fumigant	Alüminyum Fosfit	Geniş organizma yelpazesi
Herbicides	Atrazin, Glifosat, 2,4-D	İstenmedikleri yerde büyüyen yabancı otları ve diğer bitkileri öldürür

Tablo 2.2'nin devamı

Insecticides	Aldikarb, Karbaril, İmidakloprid	Böcekleri ve diğer eklembacaklıları öldürür
Insect growth regulator	Diflubenzuron	Haşarat
Lampricides	Triflorometil	Nehirlerdeki omurgalı balıkları kenetleyen çenesiz balıklar olan lampreys larvalarını hedefler.
Larvicides	Metopren	Larva büyümesini engeller
Molluscicides	Metaldehit	Yumuşakçaları engeller veya öldürür
Moth balls	Diklorobenzen	Güve larvaları veya küflerin kumaşlara verdiği zararı durdurur
Nematicides	Aldikarb, Etoprop	Bitkilerin parazitleri gibi davranan nematodları öldürür
Ovicides	Benzoksazin	Böcek ve akarların yumurtalarının büyümesini engeller
Piscicides	Rotenon	Balıklara karşı
Plant growth regulator	Giberellik Asit, 2,4-D	Bitki büyümesini düzenler
Predacide	Striknin	Memeli yırtıcılar
Repellents	Metiyokarb	Tadı veya kokusu ile zararlıları, omurgalıları ve omurgasızları uzaklaştırır
Rodenticides	Varfarin	Fareleri ve diğer kemirgenleri kontrol eder
Silvicides	Tebuthiuron	Odunsu bitki örtüsüne karşı hareket eder
Termiticides	Fipronil	Termitleri öldürür
Virucides	Sitovirin	Virüslere karşı önlem alır

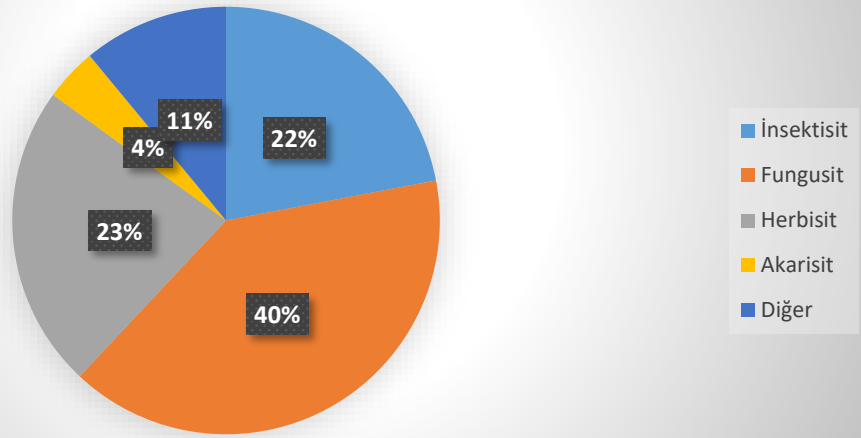
Kaynak: Hassaan ve El Nemr, (2020)'den uyarlanmıştır.

2.2. Türkiye'de Pestisit Kullanımı

Dünya nüfusunun artışı nedeniyle yeterli gıda üretimini sağlayabilmek için modern tarımsal tekniklerin ve girdilerin kullanılması kaçınılmazdır. Bu girdilerden birisi de pestisitlerdir (Tiryaki, Canhilal ve Horuz, 2010). Pestisitler tüm dünyada özellikle gelişmekte olan ülkelere tarımsal ürünlerin verim ve kalitesinin artırılması amacıyla yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Kılıç, Eryılmaz ve Çakır, 2021). Tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de pestisit kullanımı oldukça yaygındır.

Tarım ve Orman Bakanlığı verileri incelendiğinde son 5 yılda (2016-2020) zirai mücadele uygulamalarında kullanılan bitki koruma ürünleri yıllık ortalama 53,828,331 Kg-Lt'dir. Bitki koruma amaçlı kullanılan zirai ilaçlar içerisinde en çok kullanılan pestisit yaklaşık %40 oranla fungusitlerdir. Son 5 yıl içinde kullanılan zirai ilaçların yaklaşık dörtte birini herbisitler oluştururken yaklaşık beşte birini ise insektisitler oluşturmaktadır.

2016-2020 Yılları arasında Kullanılan Zirai İlaçların Gruplara Göre Dağılımları



Şekil 2.2 2016-2020 Yılları arasında kullanılan zirai ilaçların gruplara göre dağılımları
Kaynak: Tarım ve Orman Bakanlığı verilerinden derlenmiştir.

Türkiye’de kullanılan pestisitlerin illere göre dağılımı incelendiğinde en çok pestisit kullanılan ilk üç il sırasıyla Antalya, Adana ve Manisa’dır. Antalya’da son 5 yıl içinde toplam 25 milyon kg veya L’den daha fazla pestisit kullanılmıştır. Bu üç ilde 2020 yılında kullanılan zirai ilaç miktarı ise 12 milyon kg veya L’den fazladır. Bu rakam tüm Türkiye’de 2020 yılında kullanılan zirai ilaçların yaklaşık dörtte birine denk gelmektedir.

Tablo 2.3 incelendiğinde tarımda kullanılan pestisit miktarı yıllara göre değişkenlik göstermekle birlikte 2016 yılına göre 2020 yılında yaklaşık %7 oranında arttığı görülmektedir. Çarpıcı diğer bir konu ise tarım ve orman bakanlığı verilerine göre 2020 yılında ekili tarım alanı 2001 yılına göre %7,84 azalmıştır. Ekili tarım alanı azalmasına karşın tüketilen pestisit miktarının arttığı görülmektedir.

Tablo 2.3 2016-2020 yılları arasında Türkiye’de tüketilen pestisit miktarı (kg veya L)

Yıl	İsektisit	Fungusit	Herbisit	Akarisit	Diğerleri	Toplam
2016	10 425 000	20 485 000	10 025 000	2 025 000	7 094 001	50 054 000
2017	11 436 004	22 006 032	11 759 033	2 452 075	6 445 056	54 098 200
2018	13 583 284	23 047 226	14 794 326	2 485 799	6 109 822	60 020 457
2019	11 609 000	19 698 000	12 644 000	2 124 000	5 222 000	51 297 000
2020	12 347 000	20 600 000	13 250 000	2 200 000	5 275 000	53 672 000

Kaynak: Tarım ve Orman Bakanlığı’nın verilerinden derlenmiştir.

Pestisitlerin gerek çevre, gerek sağlık ve gerekse ekonomik açıdan getirebilecekleri olumsuzluklar gelişmiş ülkelerde gayet iyi bilinmektedir. Bunun için, başta AB olmak üzere, tüm gelişmiş ülkelerde tüketilecek tarım ürünleri çevre ve sağlık açısından sürekli denetlenmektedir (Delen vd., 2005). Türkiye’de de bu denetleme ve incelemeler neticesinde bazı pestisitler kullanımı yasaklanmıştır (Tarım ve Orman Bakanlığı,2021. www.tarimorman.gov.tr, Erişim: 09.06.2021). Yasaklanan bazı pestisitler ve yasaklanma tarihi aşağıda tablo halinde verilmiştir.

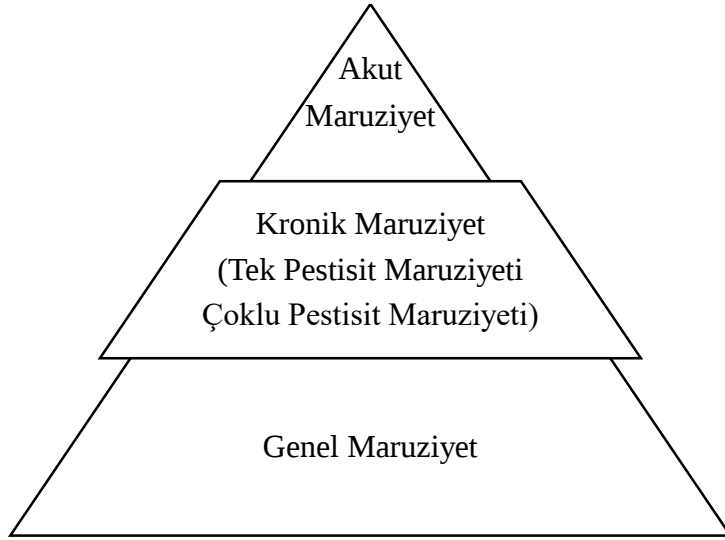
Tablo 2.4 İthalat, imalat ve kullanımı sonlandırılan yasaklı ve kısıtlı teknik madde listesi

Sıra No	Aktif Madde Adı	Kullanımının Sonlandırılma Tarihi
1	1,3-Dıchloropropene	31.12.2010
2	Bıfenthırın	30.09.2021
3	Bromophos	31.12.2010
4	Bromophos-Ethyl	31.12.2010
5	Chlorfenvınphos	31.12.2010
6	Chlorothalonıl	31.12.2021
7	Chlorpyrıfos Ethyl	21.05.2020
8	Chlorpyrıfos Methyl	31.12.2021 (01.01.2020 Bağda Kullanımının Sonlandırılma Tarihi)
9	Dıchlorvos (Ddvp)	31.08.2011
10	Hıdrogen Peroxıde	31.12.2017

Kaynak: Tarım ve Orman Bakanlığı (2021)

2.3. Pestisitlere Maruz Kalma Yolları

İnsanların pestisitlere maruz kalmasının farklı yolları vardır; bu maruziyetler aynı zamanda yoğunlukları bakımından da farklılık gösterir ve bu da farklı etkilerine katkıda bulunur (Sabarwal, Kumar ve Singh, 2018). Davies vd. (1980)’e göre pestisitlere maruz kalma, üç farklı şekilde oluşmaktadır; genel, kronik (mesleki) ve akut. Epidemiyolojik olarak insanların pestisit maruziyeti Şekil 2.3’te kategorize edilmiştir.



Şekil 2.3 İnsan pestisit maruziyeti kategorileri

Kaynak: Davies vd. (1980)'den uyarlanmıştır (Fig. 2. Categories of human pesticide exposure, s:11).

2.4. İnsektisitler

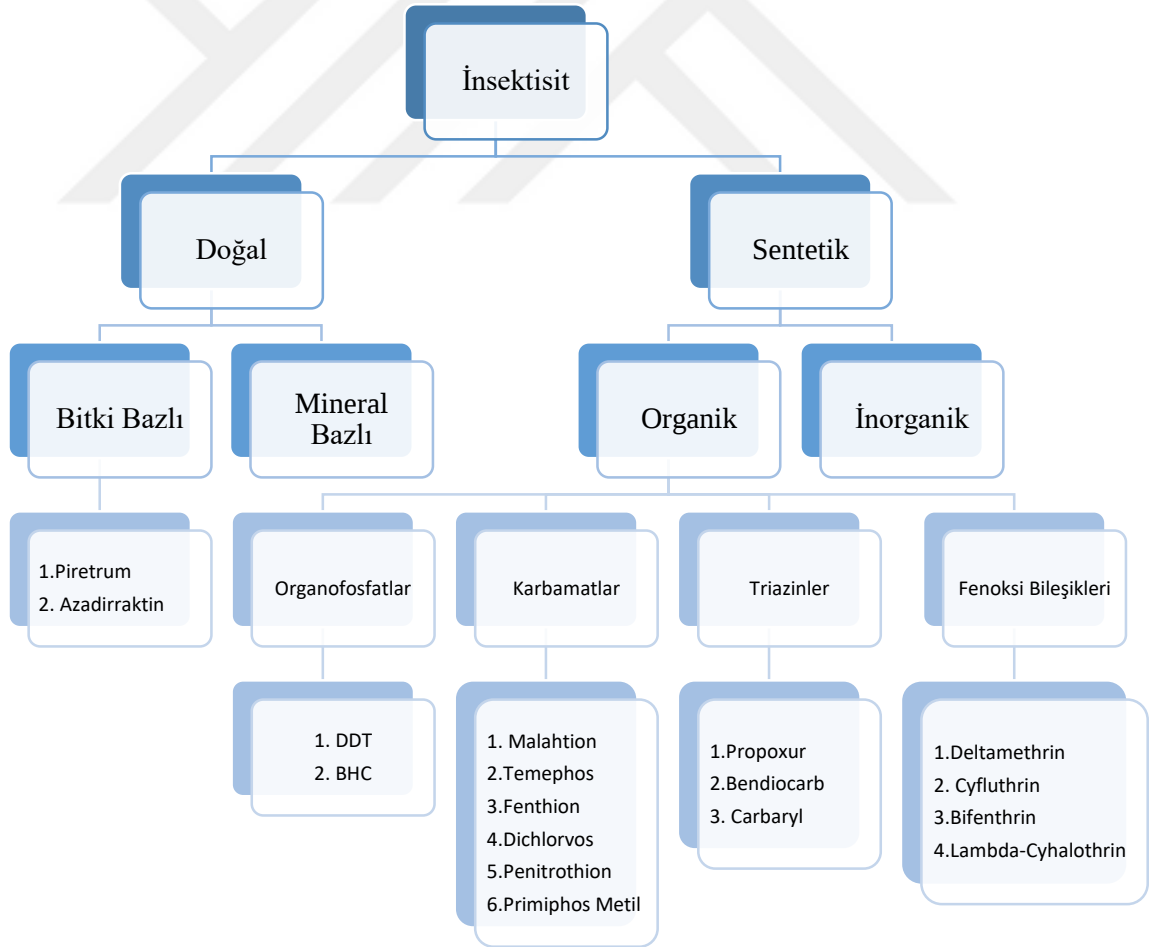
İnsanın çevresini kontrol etme arzusu, birçok faydalı kimyasalı yaratmıştır (Matsumura, 1985). Böcek öldürücüler muhtemelen her yıl dünya çapında tahmini 1 milyondan fazla ölümle sonuçlanan sıtma gibi ölümcül hastalıkları yayan ve son 60 yılda 300 milyondan fazla vakaya neden olan sıtma vektör sivrisineklerini kontrol etmenin en pratik yoludur (Ross, 2005). Kimyasal böcek öldürücülerin evrimi, esasen arsenikler, petrol yağları ve botanik böcek öldürücüler (örn., nikotin, piretrin, rotenon) gibi kolayca bulunabilen malzemelerle başlamıştır. Kamu kullanımı için ortaya çıkan ilk sentetik organik insektisitler, dinitro bileşikler ve tiyosiyanatlardır. Sentetik insektisitlerin çoğalmasına yol açan en önemli keşif ise diklorodifeniltrikloroetan (DDT)'dir. (Matsumura, 1985). Muhtemelen dünyadaki en iyi bilinen (Unsworth, 2010) ve en faydalı insektisit olan DDT, onlarca yıldır kontrolsüz kullanımı nedeniyle yaban hayatına zarar vermiştir. Çoğu ülkede, özellikle yaban hayatı üzerindeki olumsuz etkisi nedeniyle ekolojik nedenlerle kullanımı yasaklanmış olsa da, bazı gelişmekte olan ülkelerde temel halk sağlığı amaçları için hala kullanılmaktadır (Turusov, Rakitsky and Tomatis, 2002).

Herhangi bir kimyasalın ve herhangi bir biyolojik sistemin toksik etkileşimleri doza bağlıdır. Aşırı yüksek konsantrasyonlarda, çoğu kimyasalın biyolojik sistemler üzerinde toksik etkileri vardır. Zehirli kimyasalların toksikolojisi "doz bilimi" olarak adlandırılabilir. Böcek öldürücülerin (veya bu konuda herhangi bir toksik maddenin)

belirli bir organizma üzerindeki toksisitesi genellikle LD50 ("ölümcül doz" için) cinsinden ifade edilir (Matsumura, 1985).

2.4.1. İnsektisitlerin sınıflandırılması

İnsektisitlerin sınıflandırılması kimyasal yapılarına göre yapılabilir. Her bir insektisit genelde üç ayrı ismi bulunur; Ortak isim, ticari isim ve kimyasal isim. Ortak ad, profesyonel bilim topluluğu tarafından atanan aktif bileşenin genel adıdır. Ticari ad, üretici veya formüle eden tarafından belirli bir pestisit formülasyonuna verilen ürün adıdır. Bir ticari isim büyük harfle kullanılmalı ve ardından üst simge gelmelidir. Bir pestisit kimyasal adı, Uluslararası Saf ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC) kurallarına göre atanan aktif pestisit bileşeninin kimyasal bileşimini ve yapısını tanımlar (Simon, 2014). Böcek öldürücüler, birkaç alt sınıfa ayrılabilen önemli pestisitlerdir (Yadav and Devi, 2017). insektisitlerin sınıflandırılmış hali Şekil 2.4'te, insektisit grupları ile örnekler ise Tablo 2.5'te verilmiştir.



Şekil 2.4 İnsektisitlerin sınıflandırılması

Kaynak: Yadav and Devi (2017)'den uyarlanmıştır.

Tablo 2. 5 İnsektisit grupları ve örnekler

Grup	Örnek
Organoklorinler	DDT grubu; DDT, DDD, Metoksiklor gibi HCH; Taksofen; Aldrin, klordan, dieldrin, isodrin, heptaklor gibi siklodinler.
Organofosfatlar	Fosfatlar; diklorvos, monokrotofos, naled, tetraklorvinfos gibi. Fosforotiyonatlar: paration, metil parathion, diazinon, Chlorpyrifos gibi. Fosforotiyolatlar: malathion, dimethoate prothiophos gibi Fosfonatlar, Fosfonotiyonatlar ve Fosfonotiyolotiyonatlar: triklorfon, EPN, fonofos gibi Fosforomidatlar: örneğin asefat
Carbamatlar	Aril karbamatlar: propoksür, karbosulfan, aminokarb gibi. Oksim karbamatlar: aldikarb, metomil gibi. N, N-dimetil karbamatlar: pirimikarb gibi
Piretroidler	Doğal piretrinler Sentetik piretroidler: alletrin, tetrametrin, resmetrin, fenotrin, deltametrin gibi
Azotlu	Nikotin Neonikotinoidler; imidacloprid, nitenpyram gibi Kartap, Bensultap, Tiyosiklam, Amitraz
Botanik	Nikotin; piretrinler; roenon; neem
Mikrobiyal Toksinler	BT toksinleri; avermektinler Milbemisiner; Polinaktinler
İnorganikler	Sodyum Florür, Arsenik
GABA erjikler	Avermektinler, milbemisiner
Solunum İnhibitörleri	Elektron taşıma inhibitörleri: rotenon, fenazaquin, hidrojen siyanür gibi
Böcek büyüme düzenleyicileri	Jüvenil hormon taklitleri (juvenoidler): metopren, piriproksifen gibi. Ecdsone regülatörü: tebufenozid gibi Benzoilfenil üreler: dimilin, klorfluazurun gibi

Tablo 2.5' in devamı

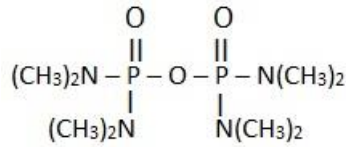
Kemorterilantlar	Alkilleyici ajanlar: örneğin afolat, tiotepa, metepa gibi Antibiyotikler: mitomisin, sikloheksimid gibi
Çekiciler	Cue-lure, siglure, metil eugenol, grandlure
Antifeedantlar	Organotin bileşikler, neem, pymetrozin
Sinerjistler	Piperonil butoksit
Fumiganlar	Hidrojen siyanür, metil bromür, etilen bromür
Nematisitler	Metil bromür, tionazin, etilen bromür
Mitisitler	Diarilkarbinoller: dikofol gibi Organik bileşikler: örneğin klorfenson, tetradifon Fenolikler: binapakril gibi Organotin bileşikler: örneğin siheksatin, fenbutatin oksit Antibiyotikler: avermektinler, milbemisiner, tetranaktin gibi Mitisidal piretroidler: halfenprox
Yumuşakça öldürücüler	Metaldehit, klonitralid, tifeniltin asetat
Avisitler	4-Aminopiridin, 3-kloro-p-toluidin
Rodentisitler	Kırmızı squill, striknin, nirbormide, fosfor, arsenik trioksit Antikoagülanlar: varfarin, klorofasinon, pirimidinil

Kaynak: Perry vd., (2013) ten uyarlanmıştır.

2.4.2. Organofosfatlar

Organofosfatlı pestisitler (OP'ler), sebze ve meyvelerin yetiştirilmesinde yaygın olarak ve kontrolsüz olarak kullanılmaktadır. OP'lerin düşük seviyelerde bile yüksek toksisiteleri nedeniyle insan ve çevre sinir sisteminde etkilendiği iyi bilinmektedir (Köksoy vd., 2021). Organofosforlu insektisitlerin yapısında bir tür fosfat bulunduğu için Genellikle organofosfatlar olarak adlandırılırlar (Matsumura, 1985). Organofosfatlı pestisitler, çoklu işlevleri nedeniyle çok çeşitli zararlıları kontrol eden geniş spektrumlu pestisitlerden biri olarak kabul edilir. Sinir zehirlerine yol açan mide zehri, kontakt zehri ve fumigant zehri ile karakterize edilirler. Bu pestisitler aynı zamanda biyolojik olarak parçalanabilir, minimum çevre kirliliğine neden olur ve haşere direnci yavaşır (Yadav and Devi, 2017). OP insektisitler fosforik asit türevleri olarak kabul edilebilir. Birçok OP'de, bir veya daha fazla oksijen atomunun yerini kükürt ve/veya nitrojen alır (Chambers, Meek ve Chambers, 2010a). OP'ler Fosforik asidin H atomlarının, metil, etil

veya fenil gibi organik radikallerle değiştirilmesi ile meydana gelirler (Simon, 2014). Organofosfatlar üzerindeki öncü çalışmalar 1934 civarında Almanya'da Gerhard Schrader tarafından başlatıldı. Binlerce OP bileşiği böcek öldürücü özellikler için test edilmiştir ve bu bileşikler üzerinde yapılan çalışmalar, hem omurgalıların hem de omurgasızların sinir sisteminin biyokimyası hakkında birçok keşfe yol açmıştır. Gerçek fosfatlar veya diğer organofosfor bileşikler türleri olsun, bu kimyasalların ortak özelliği, mükemmel kolinesteraz inhibitörleri olmaları veya olabilmeleridir. Bir pirofosfat olan Tepp veya TEPP, yaygın olarak pazarlanan ilk organofosfat insektisittir (1944'te). Sistemik bir insektisit olarak kullanılabilecek kadar güvenli bir pirofosfat, oktametilpirofosforamidat (OMPA)'dır. Sıçanlarda 5-55 mg/kg'lık bir akut oral LD50'ye sahiptir. OMPA sistemik bir insektisit olarak incelenen ilk OP bileşiğidir. Petrol hidrokarbonları dışında su ve çoğu organik çözücü ile karışabilen renksiz, kokusuz bir sıvı olan OMPA'nın kimyasal formülü şu şekildedir (Matsumura, 1985);



OMPA Kimyasal Formülü

2.4.2.1. Organofosfatların etki mekanizması

Organofosfatların çoğu yüksek oranda yağda çözünen ajanlardır ve deriden, ağız mukozasından, konjonktivadan ve gastrointestinal ve solunum yollarından iyi emilirler. Zehirlenmenin başlangıcı, şiddeti ve süresi, organofosfatın dozu, maruz kalma yolu, fizikokimyasal özellikleri (örneğin lipid çözünürlüğü), metabolizma hızı (bileşik toksik hale gelmeden önce karaciğerde dönüşümün gerekli olup olmadığı) ve organofosforile olup olmadığına göre belirlenir. Organofosforlu insektisitler veya bunların metabolitleri, faz 1 reaksiyonlarına (oksidasyonlar, indirgemeler, hidrolizler) ve faz 2 reaksiyonlara (konjugasyonlar) tabidir. Metabolik ve kimyasal kararsızlıkları nedeniyle, ne çevrede ne de organizmada kolayca bozulmazlar (Chambers, Meek ve Chambers, 2010b). Organofosfatlı insektisitlerin temel özelliği, esas olarak asetilkolinesterazın (AChE) inhibisyonu olan karboksil ester hidrolazların inhibisyonudur. Bu enzim, hem periferik hem de merkezi sinir sistemlerinde bulunan nörotransmitter asetilkolinin parçalanmasında hayati bir rol oynar. Organofosfat insektisit, enzim üzerindeki serin hidroksil grubunu fosforile ederek AChE'yi inaktive eder. Bunu, nikotinik ve muskarinik reseptörleri aşırı uyaran asetilkolin birikimi takip eder. Organofosfat molekülleri deri,

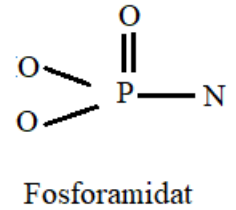
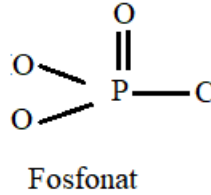
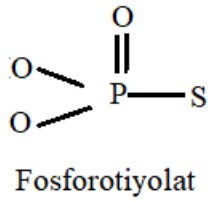
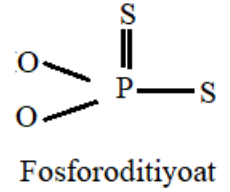
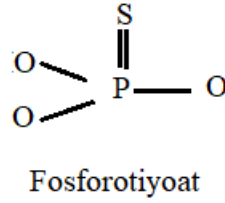
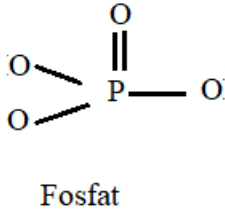
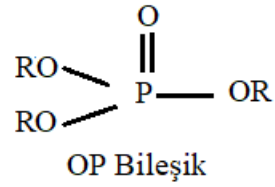
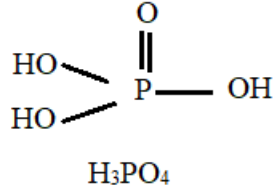
inhalasyon veya gastrointestinal sistem yoluyla emilebilir. Molekül emildikten sonra kırmızı kan hücrelerinde bir asetilkolinesteraz molekülüne bağlanır ve böylece enzimi etkisiz hale getirir. Bu, sinapslarda ve nöromusküler kavşaklarda fazla miktarda asetilkolin bulunmasına yol açar. Nöromusküler kavşaklarda bulunan nikotinik reseptörlerin aşırı uyarılması, fasikülasyonlara ve miyoklonik sıçramalara yol açabilir. Bu, sonunda depolarize edici blok nedeniyle sarkık felce yol açar. Adrenal bezlerde de nikotinik reseptörler bulunur ve bunlar hipertansiyon, terleme, taşikardi ve sola kayma ile lökositoya neden olabilir. Organofosfat zehirlenmesi ayrıca muskarinik reseptörlerdeki etkisine bağlı olarak semptomlar üretir. Bu etkiler genellikle nikotinik reseptörlerden daha yavaştır çünkü etkiler G-protein-bağlı reseptör mekanizması yoluyla meydana gelir. Muskarinik reseptörler parasempatik ve sempatik sinir sistemlerinde bulunur. Sempatik sinir sistemindeki ter bezleri aşırı uyarılır ve büyük miktarda terlemeye neden olur. Organofosfat zehirlenmesinin parasempatik etkileri, kalp, ekzokrin bezler ve düz kaslar dâhil olmak üzere birçok sistemde görülebilir. Her spesifik bileşik için farklı olan bir noktada, asetilkolinesteraz-organofosfat bileşiği yaşlanma adı verilen bir sürece girer. Bu, enzimi reaktivasyona dirençli hale getiren ve bazı tedavi seçeneklerini işe yaramaz hale getiren konformasyonel bir değişikliktir (Robb and Baker, 2021).

2.4.2.2. Organofosfatların sınıflandırılması

Organofosfat insektisitler, insektisit grubunda yüksek toksik etkiye sahip bir kimyasaldır. 2. Dünya savaşı sırasında kimyasal savaş ajanlarının (sarin, somon ve Tabun gibi sinir gazları) araştırılmasının bir yan ürünüdürler. Bu bileşiklerin tümü altı alt sınıftan oluşan fosforik türevlerdir. Fosforik asidin H atomları, metil, etil veya fenil gibi organik radikallerle değiştirildiğinde, bileşiklere organofosfatlar olarak değinilir. Ayrıca oksijen, farklı türevler verecek şekilde sülfür, karbon veya nitrojen ile değiştirilebilir (Simon, 2014). Söz konusu OP bileşiklerine ait örnekler aşağıda verilmiştir.

Fosfatlar; Bu alt sınıfta az sayıda böcek bulunmaktadır. Bu grupta yer alan insektisitlerde bir Fosfor atomu bir oksijen atomuna çift bağlıdır. Örneğin; sıçanlarda LD50 dozu 56-80 mg/kg olan Chlorvos bu grupta yer almaktadır. Bu grupta yer alan insektisitler öncelikle tarım, bahçecilik ve süs bitkilerinde yaprak bitlerinin kontrolü için kullanılmaktadır. Ayrıca sivrisinek ve karasinek popülasyonunun kontrol altına alınmasında bu grup insektisitler yaygın olarak kullanılmaktadır (Simon, 2014).

Fosforotiyoatlar; OP'ların bu grubunda bir kükürt atomu fosfor atomuna çift bağlıdır. Örneğin temas ve mide zehiri aktivitesi olan bir insektisit ve akarisit olarak kullanılan parathion bu grupta yer alır. Parathion'nun LD50 dozu 3,6-10 mg/kg'dır (Simon, 2014). Fosforotiyoatlar, yararlılıklarını, oligonükleotid terapötik uygulamalarının genel alanında bulmuşlardır. Bu grupta en çok kullanılan bir diğer insektisit ise klorprifos'tur.



Kaynak: Simon, 2014'ten uyarlanmıştır.

2.4.2.3. Klorprifos

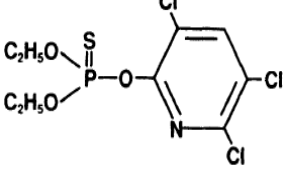
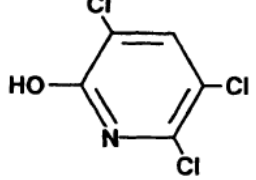
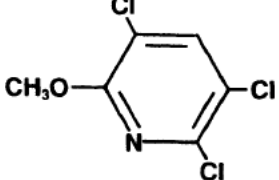
Klorprifos, insektisitlerin organofosfor veya organofosfat sınıfının bir üyesidir. Bu sınıf, haşere kontrol kimyasallarının en yaygın kullanılan gruplarından biri haline gelmiştir (Racke, 1993). Klorprifos, tarımda böcek kontrolünde yaygın olarak uygulanan organofosfat grubu bir ilaçtır (Ekmekyapar, Tosun ve Ataçoğlu, 2014). Tarım alanında ve evlerde yaygın kullanılan bir insektisit olması nedeniyle insan ve hayvanların sıkça maruz kaldığı önemli bir insektisittir (Deveci vd., 2015). Organofosfatların Fosforotiyoat grubunda yer alan Kloropirifos kimyasal adı [0,0-dietil-0-(3,5,6-trikloro-2-piridil)]'tır (Sultatos and Murphy, 1983).

2.4.3. Klorprifosun yapısı ve özellikleri

Chlorpyrifos, çok çeşitli böcek ve eklembacaklı haşerelere karşı insektisidal aktivite gösteren geniş spektrumlu bir pestisittir. Klorpirifosun işlenmiş toprak yoluyla maruz kalan böceklerle karşı aktivitesi ilk olarak 1967 yılında rapor edilmiştir. Klorpirifos'a doğrudan sulu maruziyetin de bazı suda yaşayan böcek ve kabuklu zararlıları kontrol etmenin etkili bir yolu olduğu 1965 yılında gösterilmiştir. Birçok eklembacaklı kontrol senaryosu için, klorpirifos'un etkili olduğu kanıtlanmıştır ve ticari olarak kullanılmaktadır. Yeni veya değiştirilmiş haşere yönetimi ihtiyaçları ortaya çıkmasına rağmen klorpirifosun diğer kullanım alanlarında yararlanılmaya devam edilmektedir. Klorpirifos sentezi ilk olarak 1966'da tanımlanmıştır. Nihai sentetik adım, 3,5,6-trikloro-2-piridinolün, dimetilformamid içinde bazik koşullar altında 0,0-dietil fosforokloridotioat ile reaksiyonunu içerir. Bu yöntemle 1966 yılında %93'lük bir klorpirifos verimi bildirmiştir. Alternatif bir sentez yolu, 3,5,6-trikloro-2-piridinolün dietil hidrojen tiyofosfit ile geri akıtılmasını içerir. En yaygın olarak bulunan formülasyonlar, emülsifiye edilebilir konsantreleri, granülleri ve ıslatılabilir tozları içerir. Mevcut çeşitli formülasyonlar genellikle belirli bir kullanım modeline göre uyarlanır. Örneğin, granül formülasyonlar, klorpirifos'un uzun süreli salınımı nedeniyle toprak böcek kontrolü için yaygın olarak kullanılır, bu da daha fazla kalıcılığa neden olur. Klorpirifos ve başlıca metabolitlerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri aşağıda tablo halinde verilmiştir (Racke, 1993).

Büyük ölçüde, bir bileşiğin fiziksel ve kimyasal özellikleri onun ortamdaki davranışını belirler. Çevresel değişkenler dönüşüm ve taşıma süreçlerini modüle etmede önemli olsa da, kalıcılığın ve bölünmenin temel modeli temel olarak bileşiğin kimyasal karakterinden türetilir. Hem klorpirifos hem de 3,5,6-trikloro-2-piridinol (TCP), ortam sıcaklığının üzerinde erime noktalarına sahiptir ve bu nedenle saf halde katıdır. Klorpirifos için deneysel olarak belirlenen erime noktaları 41.5 ila 44°C arasında değişmektedir. Klorpirifos'un 25°C'de $1,8 \times 10^{-5}$ ve $2,0 \times 10^{-5}$ mm Hg arasında ölçülen buhar basıncıyla orta derecede uçucu olduğu belirlenmiştir. Çözücü çözünürlüğü, bir pestisit doğal polaritesine bağlı olan önemli ikincil özelliktir. Klorprifos birçok organik çözücüde kolayca çözünmektedir. Sıcaklığın klorpirifos çözünürlüğü üzerindeki etkisine bakıldığında sıcaklık arttıkça klorpirifos çözünürlüğü de artmaktadır (Racke, 1993).

Tablo 2.6 Klorpirifos ve başlıca metabolitlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri

	Klorprifos	TCP	TMP
Kimyasal Adı	0,0-diethylo-(3,5,6-trichloro-2-pyridyl)-phosphorothioate	3,5,6-trichloro-2-pyridinol	3,5,6-trichloro-2-methoxypyridine
Kimyasal Yapısı			
Moleküler Ağırlığı	350.6	198.4	212.4
Fiziksel Durumu (25 °C)	Katı	Katı	Sıvı
Erime Sıcaklığı (°C)	41,5-43	174-175	
Suda çözünürlük (mg/L)(°C)	Su (23)- 2 Su (25)- 1,2		
Organik çözücülerde çözünürlük (gr/100gr)	Etanol; 63 Metanol; 45 Etil Asetat; >200		

Kaynak: Racke (1993)'ten uyarlanmıştır.

2.4.4. Klorprifosun kullanım alanları

Organofosforlu insektisitler, yüksek verimlilikleri ve çevrede daha düşük kalıcılıkları nedeniyle organoklorlu ve karbamatlı insektisitlerin yerine tarımda giderek daha fazla kullanılmaktadır. Klorprifos dünya çapında, pirinç de dâhil olmak üzere ekonomik açıdan önemli mahsullerin geniş bir yelpazedeki böcek zararlılarına karşı tarımsal bir insektisit ve kontrol için toprak uygulaması olarak kullanılmaktadır (Das ve Adhya, 2015).

2.4.5. Klorprifosun sağlık üzerine etkileri

Zararlılarla m¼cadelede bir dizi insektisit yaygın olarak kullanıldığından, özellikle tarım ve halk sağlığı çalışanları arasında birden fazla OP bileşiğine aynı anda maruz kalma şansı y¼ksektir (Karanth vd., 2004). Klorprifos asıl toksik etkisini metaboliti olan klorprifos-okson (CPO) aracılığı ile g¼stermektedir. Klorprifos, sitokrom p-450 tarafından bir metaboliti olan klorprifos-oksona d¼n¼řt¼r¼lmektedir. Bu metabolit asetilkolinesteraza y¼ksek affinite ile bağlanmakta ve asetilkolinesterazı inhibe ederek toksik etki g¼stermektedir (Deveci vd., 2015). Geniş spektrumlu bir insektisit olan klorpirifosun (O, O -dietil- O - (3,5,6-trikloro-2-piridil) fosforotioat) akut ve uzun vadeli toksisitesi bulunmaktadır. Klorprifosun LD50 değeri için çeşitli testlerde belirlenen değerler 118 - 245 mg / kg arasında değişmektedir (McCollister vd, 1974). OP insektisiler insektisitler, periferik ve merkezi kolinerjik sinir sisteminde AChE'nin geri d¼n¼ř¼ms¼z inhibisyonu yoluyla toksisitelerini g¼sterirler (Amitai vd., 1998).

Meço vd. (2015) 56 yaşında erkek hastada klorprifos oral alımından sonra gelişen Intermediate sendrom (İMS) (proksimal ekstremite ve solunum kaslarında, boyun fleksorlarında ve kranial sinirlerde zayıflıkla karakterize) tespit etmişlerdir. etin vd. (2005) tavşanlar ¼zerinde yapmış oldukları bir çalışmada klorprifos alımının kalbin elektriksel ileti sisteminde bozulmalara (Sin¼s duraklaması, R ve T dalgalarının amplit¼d¼nde artış) neden olduğunu tespit etmişlerdir. (¼zmen vd. (2010) yapmış oldukları bir çalışmada klorprifosun ince bağırsak dokusunda bozulmalara (villuslarda atrofi, nekroz ve muskular mukozada ¼dem) neden olduğunu tespit etmişlerdir. Yapılan çeşitli çalışmalar subtoksik klorpirifos dozlarının mitoz b¼l¼nmeyi engelleyerek, apoptozu ind¼kleyerek ve n¼ronal aktiviteyi ve reaktiviteyi değiştirerek beyin gelişimini etkileyebildiğini g¼stermiřtir. Klorpirifos, g¼l¼ bir gelişimsel n¼rotoksin ve endokrin bozucudur. Ayrıca klorprifos maruziyetinin genotoksisite, mutajenite, kanserojenite ve imm¼n toksisite gibi zararlarının arařtırıldığđı laboratuvar çalışmalarında, hem akut hem de kronik maruziyetlerin insanlarda ve sıçanlarda genotoksisite ve mutajenite ile sonulandıđđı tespit edilmiştir (Nazir vd., 2001; John and Shaike, 2015).

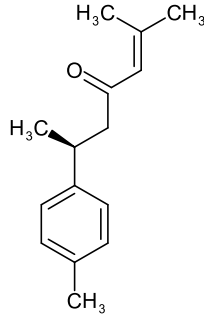
İnsanlarda klorpirifos maruziyeti, doğum ağırlığı ve uzunluğu sorunları, spermde DNA hasarı ve azalmış sperm sıvısı, sperm konsantrasyonu, sperm hareketliliği, servikal sıvı, kordon kanı, mekonyum ve anne s¼t¼ gibi ¼reme sorunları ile ilişkilidir

Hodgson and Rose (2008) klorpirifos'u testosteron metabolizmasının en güçlü inhibitörü, estradiolün insan metabolizmasının güçlü inhibitörü olarak tanımlamaktadır. Klorpirifos, üreme eksenini düzenleyen gonadotropin salgılatıcı hormon nöronlarının gen transkripsiyonu üzerinde önemli etkilere sahiptir. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda klorprifos maruziyetinin üreme sistemi üzerinde; cenin ağırlığının ve canlılığın azalmasını; artan fetal ölüm ve erken rezorpsiyon; azalmış sperm motilitesi ve sayısı; oositlerin canlılığında ve gelişimsel yeterliliğinde azalma, küçük arka ve ön uzuvlar, omurga gelişimi eksikliği, maternal toksisite ve üreme toksisitesi gibi etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalar gebelik dönemindeki klorprifos maruziyetinin fetotoksik ve teratojenik olabileceğini göstermektedir. İnsanlarda klorpirifos maruziyeti ise azalmış doğum ağırlığı ve doğum uzunluğu ile ilişkili olup sperimde DNA hasarı, azalmış sperm konsantrasyonu ve sperm motilitesi gibi etkilere sahiptir (Watts, 2012)

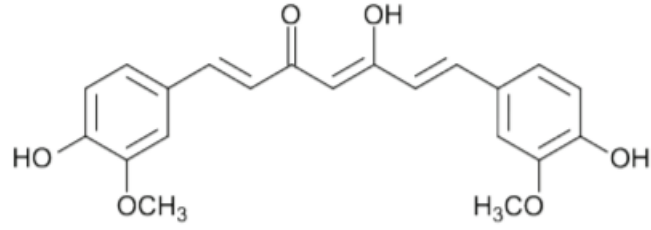
3. Kurkumin

Kurkumin, zerdeçal (*Curcuma longa*) bitkisinden izole edilen sarı renkli bir bileşik olup Asya ülkelerinde yaygın olarak kullanılan bir baharatın bileşiminde bulunmaktadır. Karakteri hidrofobik olan kurkumin tautomerik bir bileşiktir. Özellikle anti-inflamatuar ve anti-kanser etkileri nedeniyle geleneksel tıpta yaygın olarak kullanılmaktadır. Anti-kanserojenik kullanımda kurkumin, kemoterapiye alternatif olarak ilgi çekmektedir (Yalçın vd., 2017).

Kurkuminin metastaz, anjiyogenez ve invazyon gibi karsinogenezin hemen hemen her aşamasını ve karsinogenezde rol alan spesifik sinyal ileti yollarını etkili bir şekilde inhibe etmektedir. Ayrıca çeşitli kanser hücrelerinde antioksidan, anti-inflamatuar, anti-proliferatif, antianjiyogenik, antimikrobiyal özelliklere de sahiptir. Kanser hücrelerinin kontrolsüz çoğalmasını engelleyici bir rol oynamaktadır. Kurkuminin sudaki çözünürlüğü oldukça düşüktür ($< \% 0.005$). Hidrofobik yapıda olmasından kaynaklı biyoyararlanımı da oldukça düşüktür. Yapılan çalışmalar kurkuminin yüksek dozlarda kullanımının bile güvenli olduğunu ortaya koymuştur (Becit, 2017).



Curcuma longa yapısı.



Kurkumin Yapısı (keto-enol şekli).

Sak vd. (2013), sıçan yumurtalığında kurkuminin antioksidan özelliklerini incelediği bir çalışmada yumurtalık torsiyonu sonucu oluşan iskemi-reperfüzyon yaralanmaları nedeniyle yumurtalık dokularında meydana gelen hasarın önlenmesine; vasküler konjesyon, kanama, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve foliküler hücre dejenerasyonu için faydalı olduğunu tespit etmişlerdir. Yan vd. (2018) kurkuminin farelerde erken yumurtalık yetmezliğine karşı koruyucu etkisini araştırmak için yapmış oldukları bir çalışmada elde etmiş oldukları verilere dayanarak kurkuminin erken yumurtalık yetmezliğine karşı potansiyel bir koruyucu ajan olduğunu ileri sürmüşlerdir. Kurkumin, kemo/radyo duyarlılaştırıcı olarak mükemmel bir aday olup rahim ağzı kanseri için in vitro kemo-duyarlılaştırma etkilerine ve prostat kanseri için radyo-duyarlılaştırma etkilerine sahip olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte kurkumin ön tedavisi, sisplatinle dirençli yumurtalık kanseri hücrelerinin büyümesini engellemek için gereken sisplatin dozunu ve radyasyonu önemli ölçüde azaltmaktadır (Yallapu vd., 2010). Chien vd. (2021) kurkuminin polikistik over sendromu ve metabolik anormalliği olan hastalarda önemli yan etkiler olmaksızın glisemik kontrolü ve lipid metabolizmasını iyileştirebileceğini iddia etmektedir. Melekoğlu vd. (2018), sıçanların siklofosamid ile indüklenen erken yumurtalık yetmezliğinin tedavisinde kurkumin ve kapsaisinin kullanmışlardır. Yapılan araştırma sonucunda germinatif epitel altında hemoraji ve belirgin mononükleer hücre infiltrasyonu, over stromasında vasküler konjesyon, korpus luteum çevresinde hemoraji ve over foliküllerinde atrezi gibi histopatolojik hasarın kurkumin ve kapsaisinin tedavisi ile önemli ölçüde iyileştiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca kurkumin ve kapsaisinin ile tedavi edilen sıçanlarda serum folikül uyarıcı hormon ve lüteinize edici hormon seviyelerinde önemli bir azalma olduğunu bulmuşlardır.

Tablo 3.1 Kurkumin'in kullanıldığı bazı hastalıklar

Kronik Hastalıklar	Enfeksiyon	İnflamasyon	Diğer
Gastrik Ülser	Cinsel Yolla Bulaşan Hastalıklar	İnflamatuvar Barsak Hastalıkları	Ateş
AİDS	Layşmanyaz	Alerji	Katarakt
Alzheimer Hastalığı	Sıtma	Ateş	Safra Taşı
Skleroderma		Pankreatit	Anti-Spazmodik
Diyabet			Antidepresan
Parkinson Hastalığı			Antihelmintik
Epilepsi			Hipolipidemi
Karaciğer Hastalıkları			Yara
Artrit			
Myocard İnfarktüsü			
Ateroskleroz			
Kanser			
Akciğer Hastalıkları			

4. OVARYUMUN ANATOMİK YAPISI

Yumurtalıklar, uterusun her iki tarafında, lateral pelvik duvara yakın, geniş ligamanın arkasında ve rektumun önünde yer alan eşleştirilmiş pelvik organlardır. Her yumurtalık aynı zamanda medial kutbundan ovaryan (veya utero-yumurtalık) bağ tarafından ipsilateral uterin cornu'ya ve lateral kutbunun üst tarafından lateral pelvik duvara infundibulopelvik (veya asıcı) ligaman tarafından bağlanır. Yenidoğanda yumurtalık, gerçek pelvisin üzerinde uzanan bronz renkli uzun ve düzleştirilmiş bir yapıdır. Bazen düzensiz kenarları olan lobüle bir görünüme sahiptir. Yaklaşık 1,3cm*0,5cm*0,3cm boyutlarında ve 0,3 gramdan daha az bir ağırlığa sahiptir. Bebeklik ve çocukluk boyunca, yumurtalık büyür, ağırlığı 30 kat artar ve şekli değişir, böylece ergenlik döneminde yetişkin yumurtalığının boyutuna, ağırlığına ve şekline ulaşır ve gerçek pelvis içinde bulunur. Yetişkin yumurtalıklar, yaklaşık 3-5cm*1,5-3cm*0.6-1.5 cm boyutlarında ve 5-8 gr ağırlığında oval bir şekle sahip olmakla birlikte boyutları ve ağırlıkları foliküler türevlerin içeriğine bağlı olarak önemli ölçüde değişir.

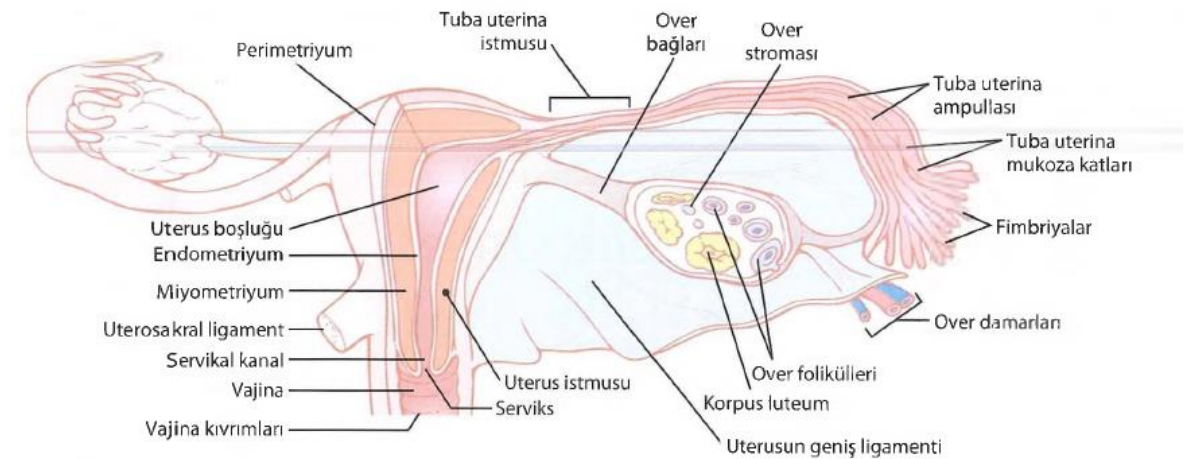
Ovarium'un alt ucundan, tuba uterinanın uterus ile birleştiği köşeye uzanan yapı ise ligamentum ovarii proprium olarak adlandırılır. Bu ligamentin içerisinde arteria uterine'nin bir dalı olan ramus ovaricus geçer ve ovariuma gelir. Aditus pelvisten başlayıp ovarium üzerine yapışan periton parçası ise ligamentum suspensorium ovarii adını alır. Bu plicanın içerisinde a. Ovarica, plexus ovaricus bulunur. Mesovarium adı verilen periton plakası da ligamentum latum uterinin ovarium'a yakın olan parçasıdır. Ovariumlar da dıştan tunica albuginea ile sarılıdır (Süzen, 2011).

Ovariumu besleyen arterler aorta abdominalis'in dalı olan a. Ovarica ve a. Uterinin dalı olan r. Ovaricus'dur. V. Ovarica'lar sağda vena cava inferior'a solda vena renalis'e dökülürler. Ovariumun parasempatik lifler n. Vagus'dan, sempatik lifler torakal segmentlerden gelir (Süzen, 2011).

4.1. Ovaryumun Embriyonik Gelişimi

Yaklaşık 42 ila 46 günlük bir embriyoda, gonadların cinsel olarak farklılaşmadığı kabul edilir. Tüm organ boyunca gözlenen ışık hücrelerinin yüzeysel epiteli oluşturan hücrelerden önemli ölçüde farklı olmadığı vurgulanmaktadır. 8. haftada gonad iç yapısını değiştirir ve yumurtalık olarak tanımlanabilir. Gelişim süreci, üst, kraniyal kutuptan organın alt kısmına doğru ilerler. 32 mm uzunluğunda bir embriyonun bir yumurtalığında üst kutup, daha önce 21 mm embriyoda görülen farklılaşmamış aşamaya benzer. Organın

geri kalan kısmı, korteksin ve merkezi olarak yerleştirilmiş dokuların kademeli olarak farklılaşan adımlarının bir dizisini gösterir. Üst kutuptan başlayarak, yoğun merkezi çekirdek önemli bir yer kaplar ve geniş mezovaryan bağlantı yoluyla mezonefrik organa uzanır. Yoğun blastema, yüzeysel epitel ile kaplanmış daha hafif bir periferik blastemaya dönüşür. Fizyolojik gelişim süreci sonunda yüzey düzensiz kalınlığa sahip ve genç yumurtalığın pürüzlü tırtıklı yüzeyine yol açan yüzeysel blastemal tabaka ile kaplanır. Yumurtalığın üst kısmında mezovaryum, mezonefrik bölge ile yumurtalığın orta kısmı arasında geniş bir bağlantı oluşturur. Korteks ve medüller alan arasındaki sınır düzensiz ve belirsizdir. 10. ila 12. Hafta arasında yumurtalık korteksi büyür ve lobüle hale gelir. Karanlık destek hücrelerinin istilasına başlar ve korteksin iç sınırından periferik bir yönde büyür. Çok kompakt korteksin iç kısmını düzensiz globüllere bölerler. Bağ dokusu elemanları (hücreler ve lifler) koyu renkli hücrelerle iç içedir ve iplikçiklere birkaç kılcal damar eşlik eder. Kortekste, 12. haftada çok sayıda oogonia ortaya çıkar (Wartenberg, 1982).



Şekil 4.1: Uterus, over ve tuba uterina'nın iç yapıları

Kaynak: Guyton, A. C., Hall, J. E., Yeğen, B. Ç., Alican, İ. Ve Solakoğlu Z. (2013). *Tıbbi fizyoloji*.

Nobel Tıp Kitabevleri.

4.2. Ovaryum Histolojisi

Fonksiyonel yumurtalık hücreleri, insan doğurganlığı için gereklidir. Erişkin yumurtalıkta farklı hücre tipleri, yumurtalık homeostazını sağlar, hormonal üretimi sağlar ve oosit olgunlaşmasını destekler. Bu nedenle, yumurtalık, çoğu hala karakterize edilmemiş, çok çeşitli hücre tiplerinden oluşan karmaşık ve oldukça dinamik bir organdır (Fan and de Sousa Lopes, 2021). Erken üreme yaşamında genellikle pürüzsüz olan, ancak zamanla artan sayıda geri çekilmiş yara izi ve kıvrım sergileyen pembe-beyaz bir

dış cepheye sahiptirler. İnce duvarlı, sıvı dolu kistik foliküller ve kısmen görülebilir parlak sarı korpora lutea, kesi yüzeyinde – bir dış korteks, bir iç medulla ve hilus – ayırt edilebilir. Foliküler yapılar tipik olarak korteks ve medullada görülür. Menopozdan sonra, yumurtalıklar tipik olarak üreme yıllarında görülenin yaklaşık yarısı kadar küçülür. Menopoz sonrası kadınlarda, medüller kan damarları özellikle çok sayıda ve sıkı bir şekilde paketlenmiş görünebilir ve histolojik incelemede bir hemanjiyom ile karıştırılmamalıdır. Ovarium'un temel dokusunu yapan stroma ovarii iki cevherden yapılmıştır. Dışta cortex ovarii, içte medulla ovarii bulunur (Süzen, 2011). Yumurtalık stromasında bulunan birçok hücre tipi, vücuttaki diğer organların stromasında da bulunabilir. Bunlara çeşitli bağışıklık hücreleri, lenf ve kan damarlarının endotelial hücreleri, düz kas hücrelerine fibroblast benzeri hücreler dâhildir (Fan and de Sousa Lopes, 2021).

4.3. Ovaryum Korteksi

İnsan yumurtalığı, seks hormonu üretimini düzenler ve olgun oositleri serbest bırakmak için aylık yapısal değişikliklere uğrar. Yumurtalığın dış tabakası (korteks), yumurtalık rezervini barındırdığı için kadınlarda doğurganlığın tanımlanmasında kilit bir role sahiptir. Yetişkinlik boyunca sürekli olarak üretilen spermilerin aksine, oositler zaten fetal yaşamda oluşur. Dişi fetüste, ilkel germ hücreleri (aynı zamanda fetal germ hücreleri, FGC'ler olarak da adlandırılır) çoğalır ve oogonia 1 haline geldikleri fetal gonadlara göç eder. Oogonia çoğalır ve somatik hücrelerin mayoz bölünmenin başladığı ilkel foliküllerle kesişmesiyle parçalanarak kistler oluşturur. Primordial foliküllerdeki oositler, postnatal yumurtalıkta foliküllerin yeniden aktivasyonuna kadar ilk mayotik bölünmede uykuda kalır ve tutuklanır. ~1 mm kalınlığındaki yumurtalık korteksinde bulunan doğum sonrası yumurtalıkta uyuyan primordial folikül stoğu, kadının doğurgan ömrünü belirler. Aktivasyon üzerine, yumurtalığın iç kısmına, medullaya doğru göç ederken folikülogenez adı verilen süreçte olgunlaşırlar. Folikül rezervi tüketildiğinde menopoz başlar ve kadın artık doğal olarak gebe kalamaz (Wagner vd., 2020).

4.4. Ovaryum Medullası

Bir kadının doğurganlık potansiyeli, yumurtalıklarında depolanan foliküler rezerv ile bağlantılıdır. Yumurtalığın anatomik yapısı nedeniyle toplam foliküler rezervin >%90'ı, özellikle dinlenme halindeki primordial foliküller, herhangi bir zamanda overin en dış kısmının (yani korteks) zayıf damarlanmış ince tabakası içinde yer alır. Buna

karşılık, büyüyen foliküller neredeyse sadece kortiko-medüller sınırda ve iyi vaskülarize olan uygun medullada bulunur. Korteksten medulla bölgesine doğru kademeli bir foliküler yoğunluk düşüşü vardır. Erişkin bir kadının yumurtalığında (20-39 yaş), doğurganlığın korunması için korteksin kriyoprezervasyonu ile bağlantılı olarak elde edilen medulla ağırlığı, kızlarınkinden (3-9 yaş) yaklaşık 6 kat daha yüksektir. Bununla birlikte, genç kızlarda (3-9 yaş) medulla gram başına ortalama folikül sayısı, 10-19 yaş arası kızlarda medulladaki folikül yoğunluğundan 17 kat, bir kadındaki (20-35 yaş) medullada bulunan folikül yoğunluğundan 29-55 kat daha yüksektir (Kristensen vd., 2011).

4.5. Folikülogenez

Yumurtalık folikülleri adet döngüsü sırasında dinamik morfolojik değişikliklere uğrar. Çoğu durumda, her döngünün orta foliküler fazında tek bir baskın folikül seçilir ve döngünün ortasında yumurtlar; ancak, ovulasyon dalgasından önce gelen anovulatuvar dalgalarda sırasında da baskın foliküller seçilebilir (Pierson, 2019). Yumurtalık folikülü çeşitli evrelerden geçerek yumurtlama için uygun ve olgun bir folikül haline gelir (Kütükoğlu, 2019). Folikülogenez, erken yaşamda oluşan sessiz bir primordial folikül rezervinden başlayan ve atrezi nedeniyle yumurtlama veya foliküler ölümle biten yumurtalık foliküllerinin gelişim sürecidir. Primordial foliküllerin rezervi insanlarda doğumdan önce kurulur. Oogeneze olarak da tasarlanan bir süreç olan oosit oluşumu, folikül oluşumundan önce gelir. Bir kez oluştuktan sonra, primordial foliküller hemen büyümeye başlayabilir veya hareketsiz hale gelebilir. Hareketsiz bir primordial folikül büyümek için aktive edildiğinde, granüloza hücrelerinin sayısı artar ve şekil değiştirir; oosit büyümeye başlarken (birincil folikül aşaması) küboidal hale gelirler. Daha sonra, oosit daha da büyürken, oosit çevresinde çok sayıda çoğalan granüloza hücresi tabakası gelişir. Sekonder (veya preantral) folikülün bu aşamasında, vaskülarize bir teka, yumurtalık korteksinde bulunan progenitör hücrelerin toplanmasıyla farklılaşır ve granüloza dokusunu çevreler. Yaklaşık 250 µm çapındaki foliküllerde, tekadan kaynaklanan sıvının hareketi nedeniyle foliküler sıvı ile dolu küçük boşluklar ortaya çıkar. Daha sonra, bu boşluklar, granüloza duvarı tarafından kaplanmış merkezi bir boşluğa (antrum adı verilir) birleşir. Gelen antral foliküllerden yakından oosit ile ilgili olanlar granüloza hücre cumulus-oosit bir kompleks oluşturur. Foliküler büyümenin başlangıcından ovulasyona kadar olan folikülogenez süresinin insanlarda histolojik gözlemlerle yaklaşık 200 gün olduğu tahmin edilmektedir.

Bu sürenin %80'inden fazlası, folikülogenezin, bazal folikülogenez adı verilen ve granüloza hücrelerinin sayısının yaklaşık 16 kat artarak 5 mm çapında bir antral folikül oluşturduğu ilk kısmına karşılık gelir. Terminal folikülogenez ise gonadotropine (önce FSH, sonra LH) bağımlı olan gelişim evresi olarak tanımlanır. Folikül terminal folikülogeneze girdiğinde, oosit maksimum boyutuna ulaşmıştır (Monniaux vd., 2019).



5. MATERYAL VE YÖNTEM

5.1. Deney Hayvanları

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun E-68489742-604.02.03-209057 sayılı izni ile yapılmıştır. Çalışmada deneysel içerikli uygulamalar ve uygulama işlem basamaklarının tamamı Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi (DEHAM), Sinop Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Araştırma Laboratuvarı ve Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim dalında gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmada 21 adet Wistar albino cinsi dişi sıçan (210-250 gr) kullanıldı. Çiftleşmeye bırakılan sıçanların gebeliklerinden elde edilen yavrulardan ise toplam 40 adet dişi sıçan çalışmaya dâhil edilmiştir. Tüm hayvanlar, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık steril deney hayvanları ünitesi ortamında, 55-60 °C nem ve 19-22 °C oda sıcaklığında bakım ve beslenmeye tabii tutuldu. Tüm gruplardaki hayvanlara sınırsız yem ve musluk suyu tüketme imkânı sağlandı.

5.2. Deney Hayvanlarına Uygulanan Maddeler

Çalışmada kullanılan Klorprifos ve Kurkumin, Sigma firmasından temin edildi. Gebe sıçanlara gebeliğin birinci gününden itibaren doğum olana kadar gavaj yolu ile Klorprifos 5 mg/kg ve Kurkumin 100 mg/kg her gün günde bir kez uygulanmıştır.

5.3. Deney Protokolü

Çalışma genel olarak üç aşamada gerçekleştirildi;

1. Aşama: Dişi sıçanların deneysel gruplara uygun olarak ayrılması ve deney grubundaki dişi sıçanlara ilaç uygulaması,
2. Aşama: Gebe kalan sıçanlardan elde edilen yavruların deney planına uygun olarak ayrılması ve 4 haftalık olana kadar kafeslerde bakılması,
3. Aşama: 4 haftalık kurban edilecek olan sıçanların etik kurallara uygun olarak dike edilerek ovaryumlarına gerekli histolojik işlemlerin uygulanması.

1. Aşama: Dişi sıçanların deneysel gruplara uygun olarak ayrılması ve deney grubundaki dişi sıçanlara ilaç verilmesi; Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden alınan 21 adet dişi Wistar albino cinsi sıçan (210-

250 gr) Tablo 5.1’de gösterildiği gibi 5 gruba ayrıldı. Çiftleşme için bir kafese iki dişi iki erkek sıçan koyuldu. Gebelik tayininde vajinal plak oluşumu ölçüt kabul edildi. Bu doğrultuda, çiftleşmeye bırakıldıkları günden itibaren her gün dişi sıçanlarda maternal tıkaç oluşup oluşmadığı kontrol edildi ve vajinal plak oluşumu gözlenen sıçanların gebeliğin birinci gününde oldukları kabul edildi. İlaç uygulanacak gruplardaki hayvanlara gebeliğin birinci gününden itibaren gebeliğin son gününe kadar günde bir kez olmak üzere her gün belirlenen dozlarda ilaç gavaj yoluyla verildi (Şekil 5.1). Kontrol grubundaki gebe sıçanlara hiçbir işlem uygulanmadı.

Tablo 5.1 Dişi sıçaların gruplara ayrılması

Çalışma Grupları (n)	Dişi sıçan sayısı
1. grup: Sağlıklı kontrol grubu	3 adet
2. grup: Klorprifos uygulanan grup	3 adet
3. grup: Klorprifos + Kurkumin uygulanan grup	3 adet
4. grup: Sadece Kurkumin uygulanan grup	3 adet
5. grup: SHAM grubu	3 adet



Şekil 5.1 Sıçanlara gavaj yoluyla ilaç verilmesi.

2. Aşama: Gebe kalan sıçanlardan elde edilen yavruların deney planına uygun olarak ayrılması ve sakrifiye edilecekleri güne kadar kafeslerde bakılması: Tüm dişi sıçanların gebelik dönemleri 21-24 gün sürdü. Her bir dişi sıçandan en az 5 en fazla 13 yavru elde edildi. Bunlardan sadece dişi sıçanlar çalışmaya dâhil edildi. Her grup için 8

adet dişi yavru sıçanın doğum tarihleri not alınarak 4 haftalık olana kadar aynı koşullarda muhafaza edilerek bakımları yapıldı.

3. Aşama: Etik kurallara uygun olarak diseke edilen ovaryumlara gerekli histolojik işlemlerin uygulanması ve hazırlanan preparatların değerlendirilmesi.

5.4. Doku Örneklerinin Hazırlanması

5.4.1. Perfüzyon ve fiksasyon

Sıçanlar, ketamin HCl ile derin anestezi altına alınarak sırt kısmı ızgaraya gelecek şekilde tespit edildi. Makas yardımıyla diyaframın altından, yukarı-sağa ve sola doğru ilerleyerek göğüs kafesi açıldı ve kalp ortaya çıkarıldı. Kalp çalışır durumdayken, sol ventriküle 0,5 cc heparin enjeksiyonu yapıldı. Daha sonra kalbin sol ventrikülüne cam bir kanül ile girildi. Perfüzyon sırasında kanın dışarı akması için kalbin sağ atriumu kesildi. Sağ atriumdan çıkan kanın rengi berraklaşınca kadar (yaklaşık 1–2 dakika) kanül aracılığı ile intrakardiyak yoldan önce %0,9'luk serum fizyolojik sonra tamponlanmış %10'luk nötral formalin verilerek tespit sağlandı (Şekil 5.2).



Şekil 5.2 Sıçanlara uygulanan intrakardiyak perfüzyon işlemi

Perfüzyon işlemi tamamlandıktan sonra bilateral ovaryum dokuları çıkartılarak çevresindeki yağ ve bağ dokulardan temizlendi. Diseke edilen sağ ovaryumlar %4'lük formaldehit içeren şişelere konuldu. Alınan bütün dokular 7-10 gün fiksatifte bekletildikten sonra sıçanların ovaryumları rutin histolojik doku takip işlemlerinden geçirilerek bloklandı.

5.4.2. Gonadosomatik indeksin hesaplanması

Bir yumurtalık içinde Graafian folikülün üretim ve olgunlaşma durumunu gösteren Gonadosomatik indeks (GSI) değeri, aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı. Gonadosomatik indeks, hayvanların cinsel olgunluğunu ölçen bir indekstir. (Walker vd., 2013):

$$GSI = GA/TA \times 100$$

GA; sağ ve sol ovaryum ağırlığı toplamı,

TA; vücut ağırlığı

5.4.3. Işık mikroskopik doku takip işlemi

Doku kasetlerine alınan dokular, temiz ve akar haldeki çeşme suyu altında gece boyunca yıkamaya alındı. (Bu süre 16-18 saat kadardır ve dokunun fiksatifte kalış süresine göre değişir).

Dehidratasyon; bu işlem için dokular alkol serilerinden geçirildi. Bunun için ise şu işlem basamakları takip edildi;

1. %70'lik etil alkolde 1 gece,
2. %80'lik etil alkolde 1 saat,
3. %96'lık etil alkol'de 1 saat,
4. %96'lık etil alkolde 1 saat,
5. %100'lük etil alkolde 1 saat,
6. %100'lük etil alkol de 1 saat bekletildi.

Şeffaflaştırma; Bu işlemler için;

1. Ksilende ½ saat,
2. Yeni bir ksilende ½ saat bekletildi,

Parafinizasyon; bu işlemler için;

1. Boncuk parafinde oda sıcaklığında (19-22 °C) 1 gece yani yaklaşık 12 saat bekletildi,
2. Boncuk parafinde 58-60 °C'lik etüvde 1 saat,
3. 58-60 °C'lik etüvde yeni hazırlanmış boncuk parafinde 2 saat bekletildi.

Bloklama; Son işlem olarak ovaryum dokuları etiketlenerek L demirlerine gömüldü.

Kesit Alma ve Boyama: Rutin doku takibi yapılan ovaryum doku bloklarından stereolojik analizler için rotary mikrotom (Leica RM 2235, Vienna, Austria) yardımıyla sistematik rastgele örnekleme yöntemiyle, 1/2 örnekleme oranında, 25 µm’luk kesitler alındı. Örnekleme aralığının uygunluğu pilot çalışma yapılarak belirlendi. Elde edilen kesitler hematoksislen ve eozin (H&E) boyama metodu ile boyanarak analizlerin yapılması için hazır hale getirildi (Tablo 5.2).

Tablo 5.2 Hematoksislen & Eozin boyama metodu

Kimyasallar	Süre
Ksilen	20 dakika X 2 kez
%96’lık alkol	10 dakika
%80’lik alkol	10 dakika
%70’lik alkol	10 dakika
Akarsuda yıkama	10 dakika
Hematoksilen	4 dakika
Asit-alkol	Daldırıp çıkarma
Eozin	30 saniye
%80’lik alkol	10 dakika
%96’lık alkol	10 dakika
Ksilen	20 dakika
Entellan	Kapama

5.4.4. Histopatolojik değerlendirme

Hazırlanan kesitlerde doku hasarı varlığının ve şiddetinin belirlenmesi için kesitler ışık mikroskopisi ile taranarak histopatolojik değişiklikler incelendi. Mikroskopik alanlarda hemoraji, ödem, konjesyon, lökosit infiltrasyonu ve folikül dejenerasyonu tanımlanarak skorlama yapıldı. Hasarın şiddetine göre 0 – 3 arasında skorlama yapıldı. Taranan alanlarda hasarın olmaması 0, %33 den az hasar 1, %33- %66 arasındaki hasar 2 ve % 66’dan fazla hasar 3 olarak skorlandı.

5.5. Stereolojik Analizler

Stereolojik yöntemler, diğer kantitatif yöntemlerin aksine, istatistiki ilkelere ve stokastik geometrik teoriye dayanan tasarım temelli ve tarafsız yöntemlerdir. Bu nedenle çalışmamızda ovaryumdaki folikül sayısı için stereolojik metotlardan “optik parçalama yöntemi”, hacim parametresi için ise “Cavalieri metodu” kullanılmıştır.

5.5.1. Optik parçalama yöntemi ve uygulaması

Ovaryumdaki toplam folikül sayısını hesaplamak için stereolojik metotların “etkinlik” ilkesi gereğince ovaryumdan elde edilecek tüm kesitleri değerlendirmek yerine, kesitlerde 1/2 oranında Sistematik Rastgele Örnekleme (SRÖ) yapılmıştır. Tüm bloklardan SRÖ kuralına uygun olarak 1/2 örnekleme ile 25 µm kalınlığında örnek kesitler alınmıştır. Kesitlerdeki folikül sayıları, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı’nda bulunan bilgisayar destekli ve özel bir yazılıma sahip stereoloji analiz sisteminde (Stereoinvestigator 9.0, MicroBrightField; Colchester; USA) hesaplanmıştır. Çalışmada kullanılacak parametreler bir pilot çalışma ile belirlenmiştir. Foliküllerin morfolojik sınıflandırmasında; granuloza hücre şekli ve hücre katman sayısı göz önüne alındı (Myers vd., 2004) (Tablo 5). Buna göre; oositi çevreleyen yassı tek sıralı granuloza hücreleri içeren folikül *primordiyal folikül*, iki ya da daha fazla sıralı kübik granuloza hücreli ve granuloza hücreleri arasında boşluk (antrum) bulunan sekillenmemiş foliküller *preantral folikül*, oositi çok katlı kübik granuloza hücreleriyle çevrili, antrumu olan ve etrafında belirgin teka tabakası bulunan yapı *antral folikül* olarak tanımlanmıştır. Optik parçalama yöntemiyle folikül sayımı yapılırken, oosit hücresinin çekirdekçisinin olup olmaması esas alındı. Çekirdekçiğe sahip olan oosit sayıma dâhil edildi, olmayan sayım dışı bırakıldı.

5.5.2. Cavalieri metodu ile hacim hesaplanması

Tüm gruplardan elde edilen ovaryum kesitlerinde korteks ve medulla hacimleri tarafsız stereolojik sayım metodlarından Cavalieri hacim hesaplama yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır. Bu yöntem ile referans hacmin hesaplanması, kesitlerdeki ilgilenilen bölgenin toplam yüzey alanının ($\sum a_i$) kesit kalınlığı (t) ile çarpılması esasına dayanır. Kesitte hacmi hesaplanmak istenen bölgenin yüzey alanını bulmak için “noktalı” alan ölçüm cetveli kullanılmıştır. Noktalı alan ölçüm cetveli, birbirinden eşit uzaklıkta ayrılmış artı şeklinde sistematik noktalardan oluşmaktadır. Her bir artının orta noktası cetveldeki bir noktayı temsil etmektedir. Bu noktalardan her biri ise dört noktanın

arasında kalan bir birim cetvel alanını temsil etmektedir. Kesitler üzerine düşen noktalar arasındaki sabit mesafe bilindiğinden ($P(a)$), noktalı alan ölçüm cetveli bir kesit görüntüsü üzerine yerleştirilirse, ilgili yapının temsil ettiği alan kadar nokta ile kesişecektir (ΣP_i). Kesitle kesişen toplam nokta sayısı (ΣP_i), ($P(a)$) ile çarpıldığında o kesitteki toplam alan hesaplanır (Gundersen, 1986; Gundersen and Jensen, 1987).

$$V_{ref} = \sum p_i \cdot t$$

$$P_i = P(a)$$

Formülde, V_{ref} ilgilenilen yapının toplam hacmini, ΣP_i kesit izdüşümlerine isabet eden toplam nokta sayısını, t ortalama kesit kalınlığını, $P(a)$ ise bir noktanın temsil ettiği alanı ifade etmektedir. Buna göre, 1/2 oranında yapılan SRÖ ile seçilen ovaryum kesitlerinde hacim hesaplamaları yapıldı. Daha sonra korteks ve medulla hacminin hesaplanması için seçilen örnek kesitlerde 4X objektifte (Olympus BX43, Center Valley, PA), 1/2 örnekleme ile alan görüntüleri alındı. Pilot çalışma yapılarak noktalı alan ölçüm cetvelinde bir noktanın temsil ettiği alan $10000 \mu m^2$ olarak belirlenip ve sonrasında Image J (Image Processing and Analysis in Java, NIH, USA) programında kesit görüntüleri üzerine noktalı alan ölçüm cetveli yerleştirildi. Korteks ve medulla ile kesişen nokta sayısı kesit örnekleme oranı, alan örnekleme oranı ve bir noktanın temsil ettiği alan ile çarpılarak korteks ve medulla hacimleri hesaplandı.

5.6. Biyokimyasal Analizler

5.6.1. Deneklerden serum örneklerinin alınması

Biyokimyasal analizlerin yapılabilmesi için perfüzyon işlemi esnasında anestezi altındaki sıçanların kalplerinden 1 ml'lik kan örnekleri alınarak biyokimya tüplerine konuldu. Alınan kan örnekleri, 4 °C'de 2000 devirde 15 dk santrifüj (Hettich, Tuttlingen, Almanya) edilerek serumları ayrıştırıldı. Serum örnekleri -80 °C'de saklandı. Serum örneklerinde CAT ve SOD enzim aktiviteleri absorbans değerleri ölçülerek analiz edildi.

5.6.2. Katalaz enzim aktivitesi analizi

Aerobik solunum sırasında hücreler tarafından inorganik bir haberci olan H_2O_2 üretilir. Düşük seviyede, strese bağlı proteinlerin ve antioksidan enzimlerin ekspresyonunu uyararak oksidanlara karşı yanıt oluşmasını sağlar. H_2O_2 molekülünün oksijen ve suya indirgenmesi reaksiyonu CAT enzimi tarafından indüklenir. CAT enzimi peroksidatik aktiviteye sahiptir ve düşük molekül ağırlıklı alkollerin elektron vericisi olarak kullanılmasını sağlar (Madeo vd., 1999; Martins and English, 2014). Bu çalışmada

oksidatif etkiyi saptamak için CAT assay kit (Cayman Chemical Company, ABD) kullanılarak CAT aktivitesi ölçüldü. Kullanılan yöntemdeki ana prensip CAT enziminin metanol ile reaksiyona girmesi esasına dayanmaktadır. Bu reaksiyonda formaldehit kromojen görevi görmekte olup reaksiyon sonucu pembe bir renk çıkmasına neden olur. İlgili reaksiyonlar sonrasında örneklerin absorbansları UV-Vis spektrofotometre (Shimadzu UV-MINI 1240; Shimadzu; İstanbul, Türkiye) cihazı kullanılarak 540 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

5.6.3. Süperoksit dismutaz enzim aktivitesi analizi

Ksantin oksidaz ve mitokondriyal elektron zinciri gibi enzimler tarafından üretilen yüksek reaktif radikaller süperoksit anyonların (O_2^-) hücre ve dokularda birikimi ile farklı patolojilerde ortaya çıkar (Viggiano vd., 2003). Aerobik canlılarda oksijenin toksik etkilerine karşı koyulabilmesi için bu molekülün ve diğer oksidan radikallerin birikimi önlenmelidir. Canlı dokularda oksijen toksisitesi meydana geldiğinde oksijen dismutasyonunu katalizleyen ve bir metalloenzim olan SOD tarafından başlatılan enzimatik bir savunma mekanizması devreye girer (Assady vd., 2011). Bu çalışmada oksidatif stresin 39 değerlendirilmesi için SOD assay kiti (Cayman Chemical Company, ABD) kullanılarak SOD enzim aktivitesi ölçüldü. Kullanılan SOD analiz kitinin çalışma prensibi ksantin-ksantinoksidaz tepkimesi sonucunda süperoksit radikalleri açığa çıkarılarak tetrazolium bileşiği ile tepkimeye girmesi ve mor renkli reaksiyonun oluşması esasına dayanır. Örnek içerisinde bulunan SOD, süperoksit radikallerini ortamdan uzaklaştırarak tetrazolium bileşiğinin oksijen ile reaksiyonunu inhibe eder. Deney sonrası elde edilen mor renkli solüsyonların, 450 nm dalga boyunda, UV-Vis spektrofotometre (Shimadzu UV-MINI 1240; Shimadzu; İstanbul, Türkiye) kullanılarak absorbans değerleri ölçüldü (Ukeda vd., 1999).

5.6.4. FSH ve LH hormon analizi

Serum örneklerinde FSH ve LH düzeylerinin ölçümü için ELISA (Shanghai Sunred Biological Technology Co., Ltd, Shanghai, China) kitleri kullanıldı. FSH enzim konsantrasyonu (IU/L) ve LH konsantrasyonu (mIU/mL) 450 nm'de ölçüldü.

5.7. İstatistiksel Analiz

Elde edilen sayısal veriler SPSS programı (SPSS version 21,0; SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanılarak istatistiksel açıdan değerlendirildi. Kullanılan veriler

ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi. Deneklere ait verilerin normal dağılım varsayımına uygun olup olmadığı Shapiro-Wilk testi ile test edildi. Grupların karşılaştırılmasında normal dağılıma uyan veriler tek yönlü varyans analizi One-Way ANOVA, Tukey testleri ile değerlendirildi. Normal dağılım göstermeyen çoklu grupların karşılaştırılmasında ise Kruskal Wallis, post hoc analizlerinde ise Tamhane testi kullanıldı. İstatistiksel değerlendirmede $p<0,05$ ve $p<0,01$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



6. BULGULAR

6.1. Gonadosomatik İndekslerden Elde Edilen Bulgular

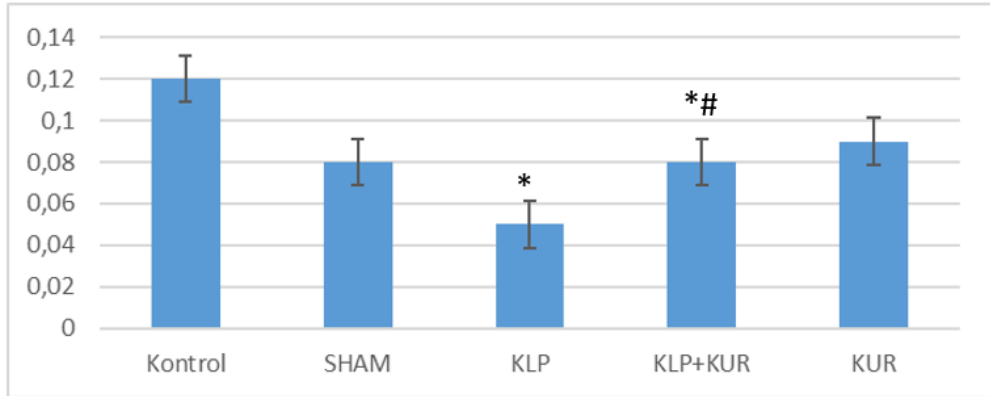
Gonadosomatik indekslerin (GSI) değerlendirilmesi sonucu elde edilen bulgular, ortalama±standart hata değerleri aşağıdaki tablo ve grafiklerde gösterilmiştir (Tablo 6.1; Şekil 6.1). Gonadosomatik indekslerin istatistiksel değerlendirmesi sonucunda; KLP grubunun gonadosomatik indeksinde, K, SHAM ve KUR gruplarına göre ileri derecede azalma olduğu gözlemlendi ($p<0,01$). Buna karşın, KLP+KUR grubu, KLP grubu ile karşılaştırıldığında gonadosomatik indeksinde artış olduğu, K grubu ile karşılaştırıldığında ise azalma olduğu tespit edildi ($p<0,01$). Ayrıca, K, SHAM ve KUR grupları kıyaslandığında gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı belirlendi ($p\geq0,05$).

Tablo 6.1 Tüm gruplardaki sıçanlara ait ortalama Gonadosomatik indeks (ortalama±standart hata) değerleri.

	K	SHAM	KLP	KLP+KUR	KUR
GSI (%) ± Standart hata	0,12±0,006	0,08±0,005	0,05±0,007*	0,08±0,003*#	0,09±0,005

*Kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı az olduğunu ifade eder ($p<0,01$).

KLP grubundan istatistiksel olarak anlamlı fazla olduğunu ifade eder ($p<0,01$).



Şekil 6.1 Tüm gruplardaki sıçanlara ait ortalama Gonadosomatik indeks değerleri.

*Kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı az olduğunu ifade eder ($p<0,01$).

KLP grubundan istatistiksel olarak anlamlı fazla olduğunu ifade eder ($p<0,01$).

6.2. Histopatolojik Bulgular

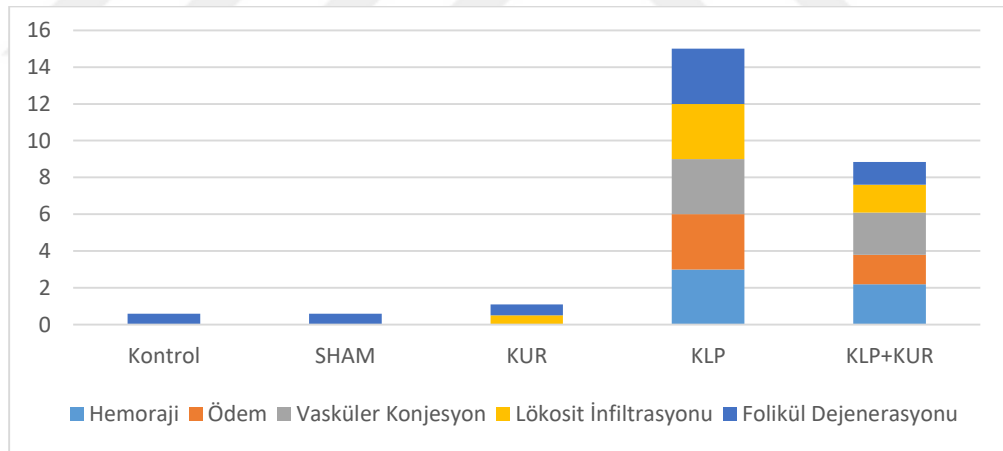
Kesitlerin mikroskopik olarak incelenmesi sonucu hemoraji, ödem, konjesyon, lökosit infiltrasyonu ve folikül dejenerasyonu açısından yapılan skorlama sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesi tabloda verilmiştir (Tablo 6.2).

Tablo 6.2 Histolojik hasarın gruplara göre dağılımı

	Kontrol	SHAM	KUR	KLP	KLP+KUR
Hemoraji	0.00	0.00	0.00	3.00*	2.20±0,6*#
Ödem	0.00	0.00	0.00	3.00*	1.60±0,6*#
Vasküler konjesyon	0.00	0.00	0.00	3.00*	2.30±0,7*#
Lökosit infiltrasyonu	0.00	0.00	0.50±0,5	3.00*	1.50±0,5*#
Folikül dejenerasyonu	0.60±0,5	0.60±0,5	0.60±0,5	3.00*	1.25±0,5*#

**Kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı fazla olduğunu ifade eder ($p<0,01$).

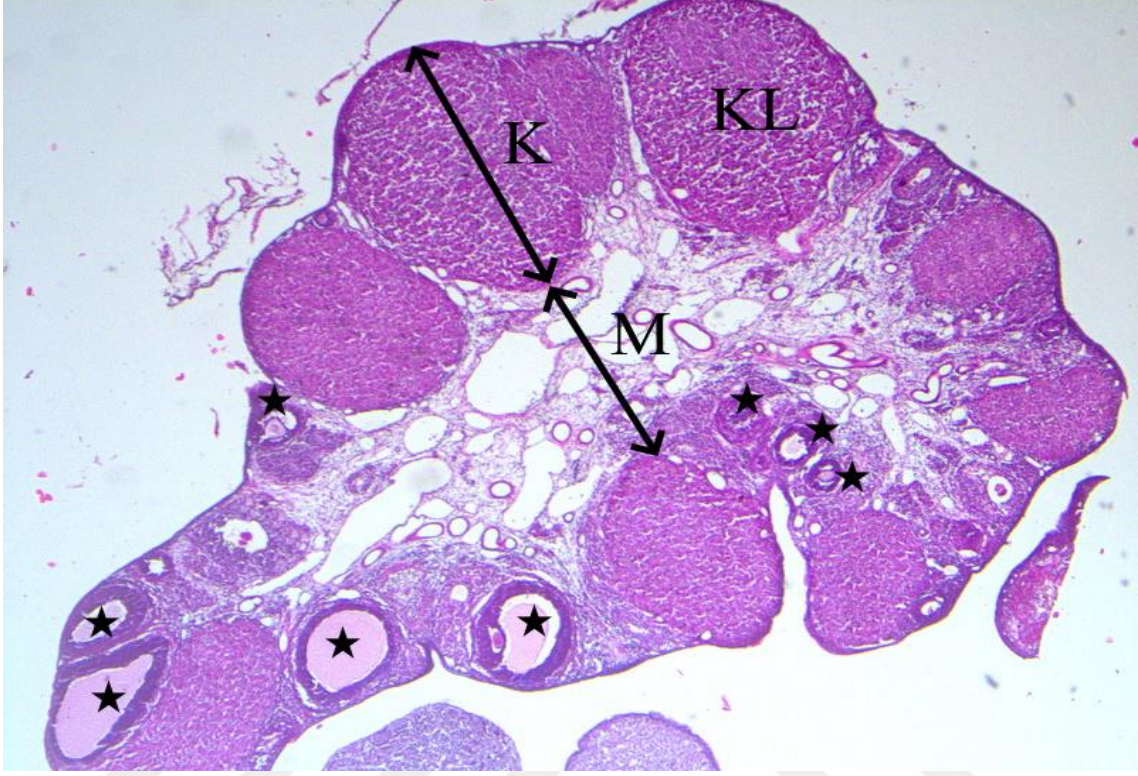
KLP grubundan istatistiksel olarak anlamlı az olduğunu ifade eder ($p<0,01$).



Şekil 6.2 Histolojik hasarın gruplara göre dağılımı

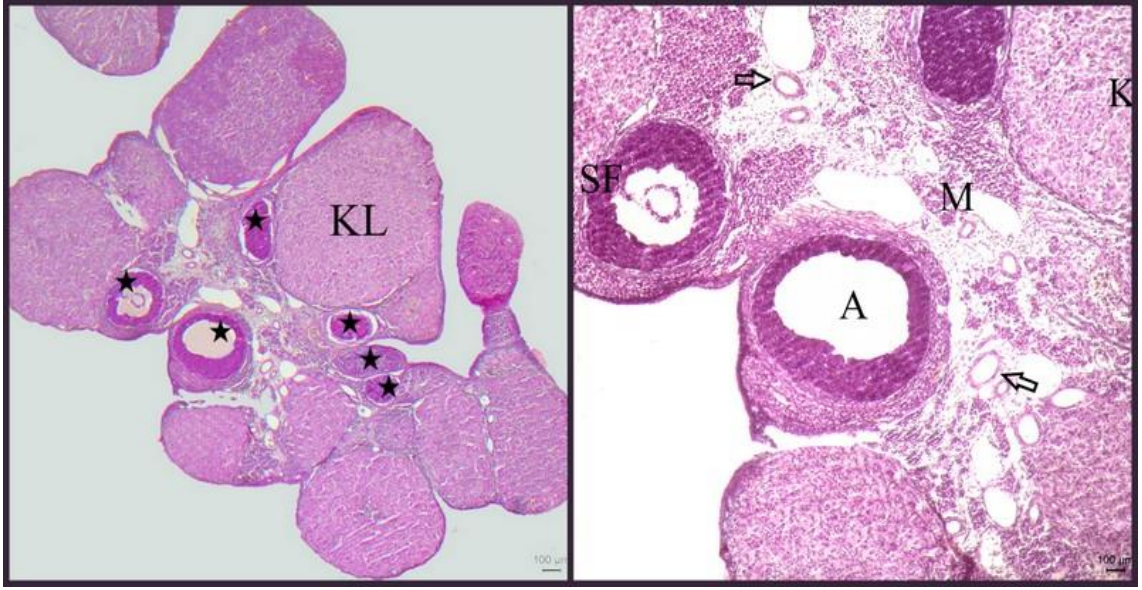
Kontrol grubuna ait ovaryum kesitlerinin ışık mikroskopik incelenmesinde foliküller sağlıklı bir görünümde olup korteks ve folikül yapıları da net bir şekilde izlenmekteydi. Germinal epitel tek katlı kübik epitel ve devamında prizmatik epitel görünümündeydi. Germinal epitelin altında, fibröz bağ dokusu lif ve hücrelerinden oluşan Tunika albuginea yer almaktaydı. Ovaryum korteksinde gelişimi başlangıç aşamasındaki sekonder folikül ve sekonder folikül yer almaktaydı. Korpus luteum ve sekonder foliküllerin arasında bulunan bağ dokusu alanları ve hücreleri arasındaki bağlantılar

bozulmamış normal bir yapıda görünmekteydi (Şekil 6.3). Ovaryum medullasındaki gevşek bağ dokusu içerisinde, düzgün sınırlara sahip çok sayıda, farklı çapta kan damarlarının ve gruplar halindeki hilus hücrelerinin varlığı dikkat çekmekteydi.



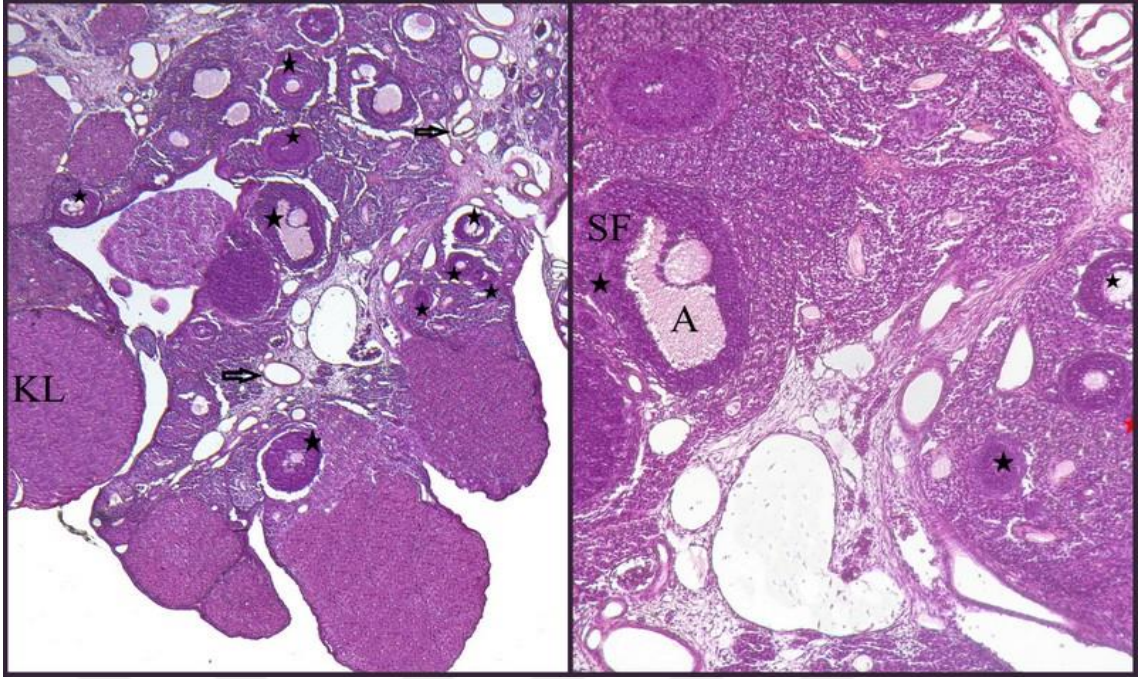
Şekil 6.3 Kontrol grubuna ait ovaryum kesitinde genel görünüm. K: korteks, M: medulla, KL: korpus luteum, yıldız: folikül. H&E, X4

SHAM grubuna ait kesitler incelendiğinde ovaryumun dış yüzünü örten tek katlı kübik örtü epitelin normal görünümüne sahip olduğu gözlemlendi. Epitel hücrelerinin arasında herhangi bir boşluk yoktu ve epitelin hemen altındaki gelişmiş bir tunika albuginea dikkat çekmekteydi (Şekil 6.4). Ovaryum korteksinde yer alan ve gelişimin farklı dönemlerine ait olan foliküllerin normal görünümde olduğu izlendi. Medullada gevşek bağ dokusu içerisinde, lümen iç sınırları düzgün olan lenf damarlarının yanı sıra, hilus hücre kümelenmeleri de gözlenmekteydi. Kan damarları düzgün yapıda olup iç lümen sınırları belirgindi.



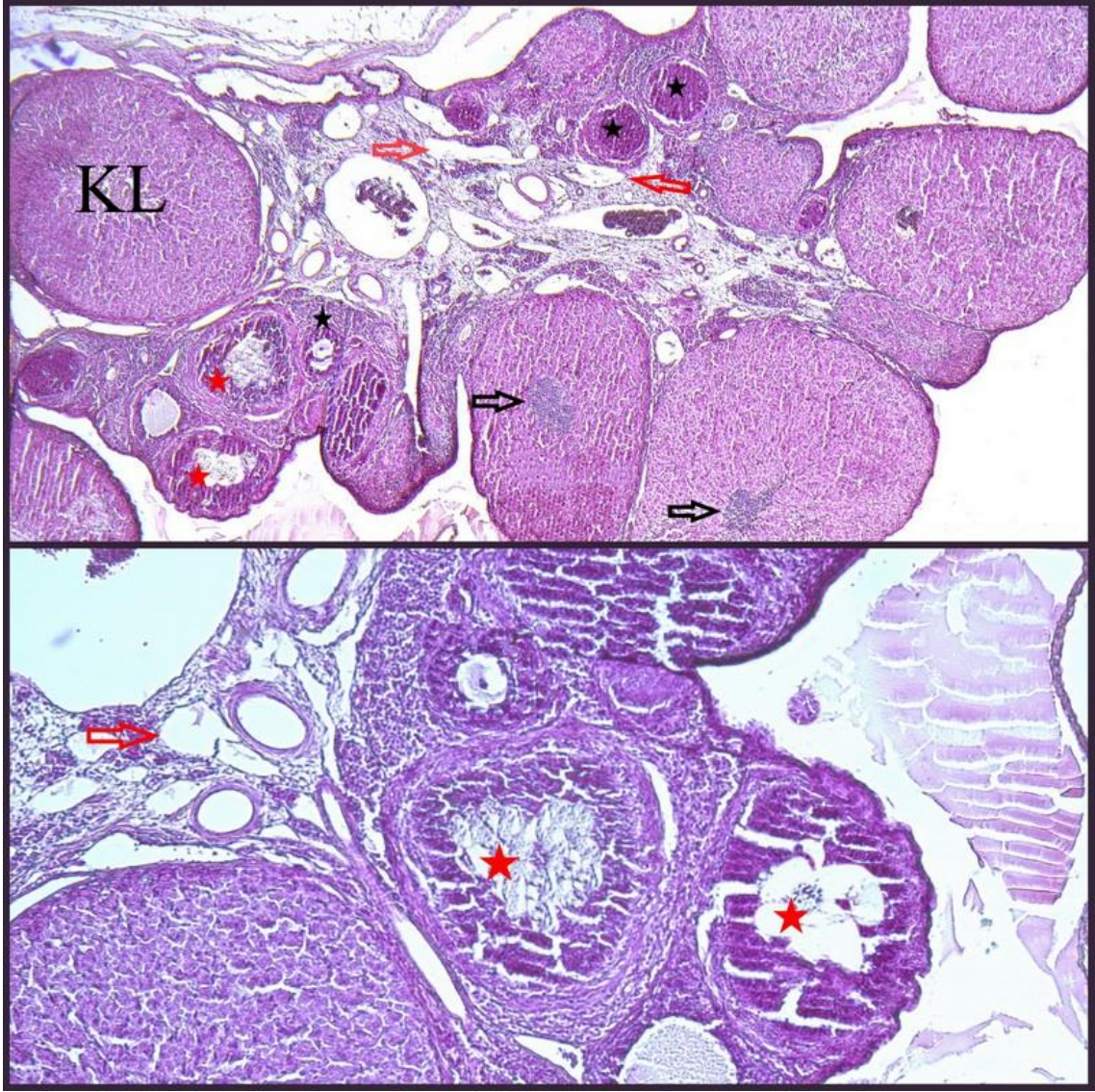
Şekil 6.4 SHAM grubuna ait ovaryum kesitinde genel görünüm. KL: korpus luteum, M: medulla, SF: sekonder folikül, A: antrum, yıldız: folikül, ok: ven. H&E, sol:X4, sağ: X20

KUR grubunda kontrol grubuna benzer bir yapı görüldü. Ovaryum dokusunun medullası sağlıklı bir şekilde izlenirken hilus hücreleri ve damarlar dikkati çekiyordu. Kortekste sekonder folikül ve primer foliküller görülmekteydi. Farklı boylarda gelişmekte olan sekonder foliküller belirgin görünümdeydi. Korpus luteum ve bağ dokusu alanları normal görünümdeydi. KUR grubunda Hematoksilen & Eozin ile boyanmış dokularda kortekste başlangıç aşamasında sekonder folikül izlenirken korpus luteumun hemen altındaydı. Kortikal bağ dokusunda histolojik olarak herhangi bir dejenerasyon gösteren yapıya rastlanmadı (Şekil 6.5).



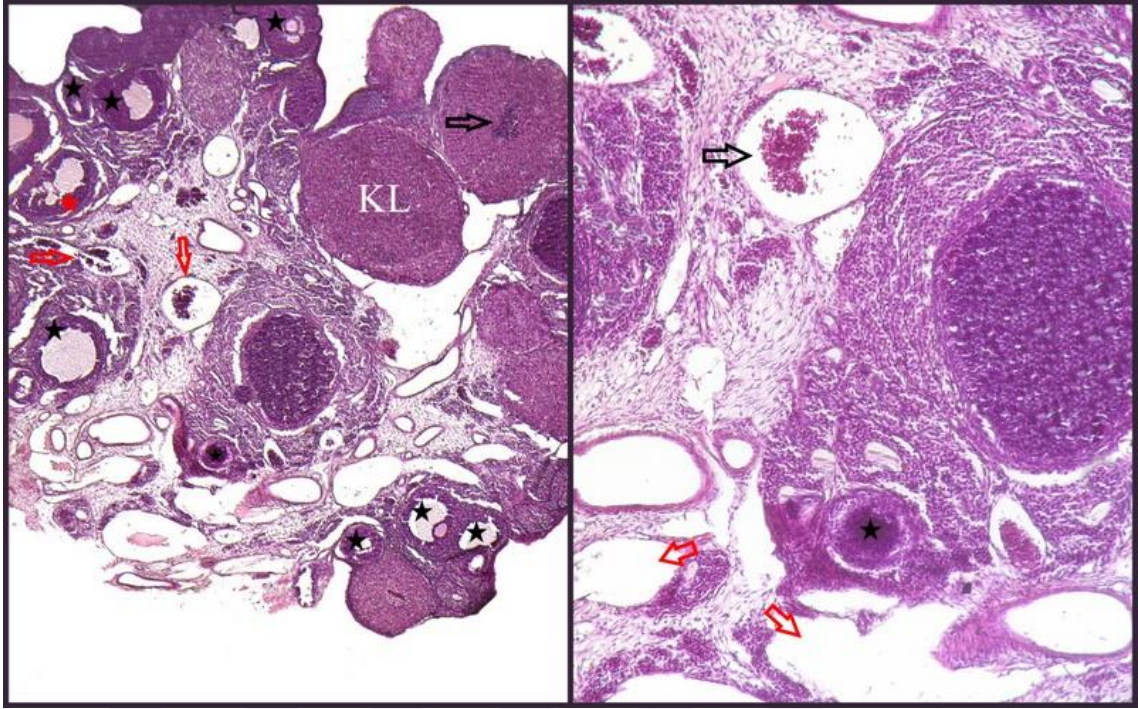
Şekil 6.5 KUR grubuna ait ovaryum kesitinde genel görünüm. KL: korpus luteum, M: medulla, SF: sekonder folikül, A: antrum, yıldız: folikül, ok: ven. H&E, sol: X4, sağ: X20

KLP grubunda ise diğer gruplara göre hemoraji, ödem, folikül dejenerasyonu daha yoğun. Organ bütünü ile kanama odakları içerisindeydi. Damar bütünlüğü ve bağ dokusu hücrelerindeki normal yapı bozulmuştu. Sekonder folikül çevresinde ve stromada hemoraji ve ödem gözlendi. Korpus luteum ile primer folikül arasında hemoraji odakları gözlenirken sekonder foliküle yakın alanda infiltrasyon görüldü (Şekil 6.6).



Şekil 6.6 KLP grubuna ait ovaryum kesitinde genel görünüm. KL: korpus luteum, siyah yıldız: sağlıklı folikül, kırmızı yıldız: dejenere folikül, siyah ok: lökosit infiltrasyonu, kırmızı ok: ödem. H&E, üst: X4, alt X20

KLP+KUR grubunda da hemoraji, ödem gibi hasarların olduğu fakat KLP grubuna göre hasarların daha az olduğu görüldü. Foliküllerde çok belirgin bir hasar gözlenmezken primer folikül çevresinde küçük hemoraji odağı izleniyordu. Sekonder folikül ve diğer foliküllerde sağlıklı görünümdeydi. KLP+KUR grubunda kurkuminin konjesyonu orta, hücre dejenerasyonu ve lökosit infiltrasyonunu zayıf düzeyde iyileştirdiği, hemoraji ve hücre hasarını ise yüksek düzeyde ortadan kaldırdığı gözlemlendi (Şekil 6.7; Tablo 6.2).



Şekil 6.7 KLP+KUR grubuna ait ovaryum kesitinde genel görünüm. KL: korpus luteum, siyah yıldız: sağlıklı folikül, siyah ok: lökosit infiltrasyonu, kırmızı ok: ödem. H&E, sağ: X4, sol: X20

6.3. Stereolojik Bulgular

6.3.1. Over Foliküllerinin Sayımı

K, SHAM, KLP, KLP+KUR ve KUR gruplarında folikül sayısı değerlendirmeleri sağ ovaryum dokularından elde edilen H&E ile boyanan kesitler üzerinde yapıldı. Yapılan sayımlar sonucunda elde edilen primordiyal folikül, preantral folikül ve antral folikül sayıları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; KLP grubundaki primordiyal folikül sayısının diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı az olduğu tespit edildi ($p<0,01$). KLP+KUR grubundaki primordiyal folikül sayısının KLP grubundan anlamlı fazla olduğu, K grubundan ise az olduğu tespit edildi ($p<0,01$). K, KUR, ve SHAM gruplarındaki primordiyal folikül sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı bulundu ($p>0,01$).

Preantral folikül sayılarının KLP grubunda diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı daha az olduğu belirlendi ($p<0,01$). KLP+KUR grubundaki preantral folikül sayısının KLP grubundan istatistiksel olarak anlamlı fazla olduğu, K grubundan ise az olduğu tespit edildi ($p<0,01$). K, KUR ve SHAM gruplarındaki preantral folikül sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p>0,01$).

Antral folikül sayısının KLP grubunda, diğer gruplara göre ileri derecede az olduğu gözlemlendi ($p<0,01$). Kontrol grubundaki antral folikül sayısı ile KUR, SHAM ve KLP+KUR gruplarındaki antral folikül sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlendi ($p>0,01$).

Tablo 6.3 Tüm gruplardaki sıçanların ovaryumlarındaki primordiyal, preantral, antral folikül sayısı. (ortalama±standart hata).

	Kontrol ± Standart hata	SHAM±Standart hata	KLP±Standart hata	(KLP+KUR)±St andart hata	KUR±Standart hata
Primordiyal Folikül Sayısı	1648 ±100.903	1668.17±71.342 [#]	364.83±36.257*	891.33±75.575**	1539±119.532 [#]
Preantral Folikül Sayısı	1285.20 ±90.683	1056.14±155.43 [#]	312.67±23.571*	784.60±82.456**	1165.17±51.088 [#]
Antral Folikül Sayısı	362,50 ± 11,63	294,83 ± 24,33 [#]	80,60 ± 7,04*	254,00 ± 74,03 [#]	283,00 ± 22,97 [#]

*Kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı az olduğunu ifade eder ($p<0,01$).

[#] KLP grubundan istatistiksel olarak anlamlı fazla olduğunu ifade eder ($p<0,01$).

6.3.2. Korteks ve Medulla hacim bulguları

Cavalieri hacim hesaplama yöntemi kullanılarak korteks ve medulla hacminin değerlendirilmesi sonucu elde edilen bulgular, ortalama±standart hata değerleri aşağıdaki tablo ve grafiklerde verildi (Tablo 6.4; Şekil 6.8).

Tablo 6.4 Tüm gruplardaki sıçanlara ait ortalama korteks ve medulla hacimleri (ortalama±standart hata).

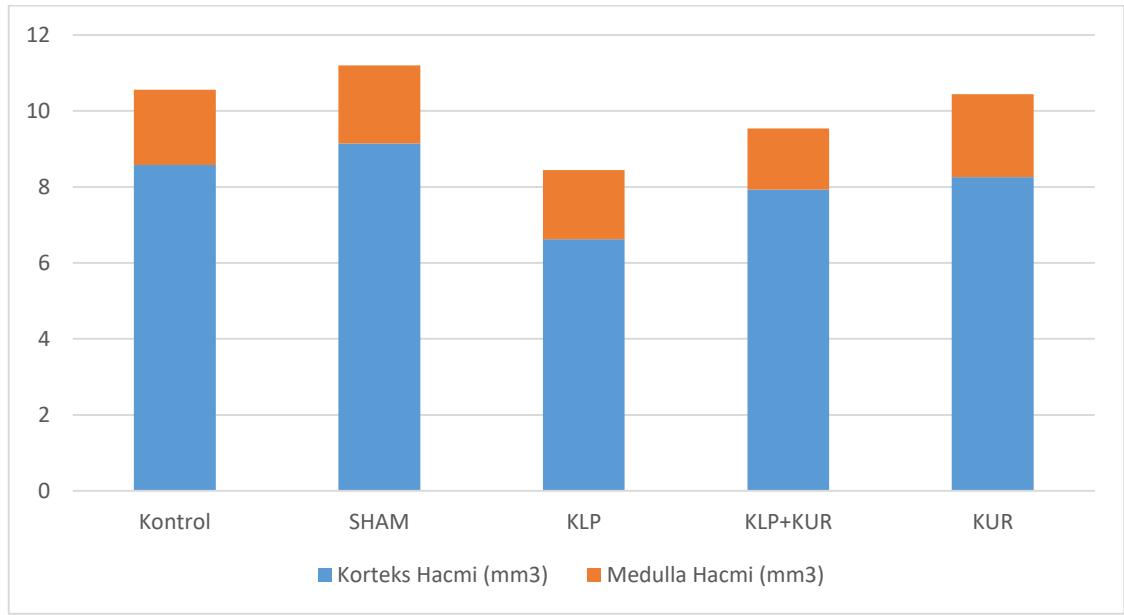
	Korteks hacmi (mm ³)±Standart hata	Medulla hacmi (mm ³)±Standart hata
Kontrol	8,58±0,32	1,98±0,31
SHAM	9,14±0,87	2,06±0,70
KLP	6,62±0,75*	1,82±0,50
KLP+KUR	7,93±0,66**	1,61±0,52
KUR	8,26±0,67	2,18±0,39

*Kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı az olduğunu ifade eder ($p<0,01$).

[#] KLP grubundan istatistiksel olarak anlamlı fazla olduğunu ifade eder ($p<0,01$).

Korteks hacminin stereolojik analizinin istatistiksel değerlendirmesi sonucunda; KLP grubunun korteks hacminin, diğer tüm gruplar ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede bir azalma olduğu tespit edildi ($p<0,01$). KLP+KUR grubunun korteks hacminin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha az, KLP grubuna göre ise daha fazla olduğu görüldü ($p<0,01$). K, SHAM, KUR gruplarının birbiri arasında anlamlı bir fark olmadığı gözlendi ($p\geq0,05$).

Medulla hacminin stereolojik analizinin istatistiksel değerlendirmesi sonucunda; tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın bulunmadığı görüldü ($p\geq0,05$).



şekil 6.8 Tüm gruplardaki sıçanlara ait ortalama korteks ve medulla hacimleri

6.4. Biyokimyasal Bulgular

6.4.1. Katalaz enzim aktivitesinin değerlendirilmesi

Çalışmamızda oluşturulan tüm gruplara ait deneklerden alınan kan serum örneklerinde CAT enzimi aktivitesi ölçüldü. Elde edilen bulgular aşağıdaki tablo ve grafikte sunuldu (Tablo 6.5; şekil 6.9).

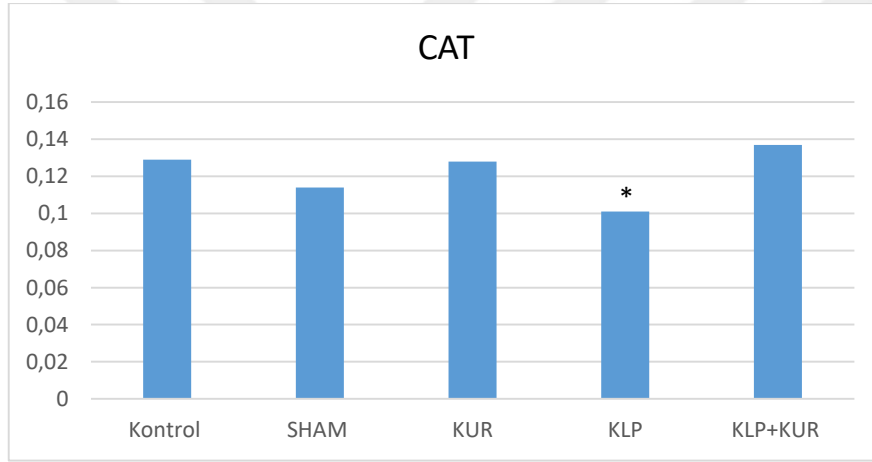
CAT aktivitesinin biyokimyasal analizinin istatistiksel değerlendirmesi sonucunda; KLP grubunun CAT aktivitesinde K, SHAM, KUR, KLP+KUR gruplarına göre ileri derecede anlamlı bir azalma olduğu tespit edildi ($p<0,01$). KLP+KUR gruplarının CAT aktivitesinde KLP grubuna göre istatistiksel anlamlı bir artış olurken, K, SHAM ve KUR

gruplarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olmadığı bulundu ($p \geq 0,05$).

Tablo 6.5 Tüm gruplara ait CAT enzim aktivitesi (nmol/min/ml (540 nm); ortalama±standart sapma) değerleri.

Gruplar	CAT enzim aktivitesi (ortalama±standart sapma)
Kontrol	0,129±0,0100
SHAM	0,114±0,012
KUR	0,128±0,023
KLP	0,101±0,047*
KLP+KUR	0,137±0,018

*Diğer tüm guruplardan istatistiksel olarak anlamlı az olduğunu ifade eder ($p < 0,01$).



Şekil 6.9 Tüm gruplara ait CAT enzim aktivitesi değerleri.

6.4.2. Süperoksit Dismutaz düzeylerinin değerlendirilmesi

Serum örneklerinde SOD düzeylerinin değerlendirilmesi sonucu elde edilen bulgular, ortalama±standart hata değerleri aşağıdaki tablo ve grafiklerde verildi (Tablo 6.6; Şekil 6.10).

Gruplara ait SOD enzim aktivitesi değerlendirildiğinde, kontrol grubuna kıyasla KLP grubunda ileri derecede anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p < 0,01$). KLP+KUR gruplarının SOD enzim miktarının kontrol grubuna göre daha az, KLP grubuna göre ise daha fazla olduğu gözlemlendi ($p < 0,01$).

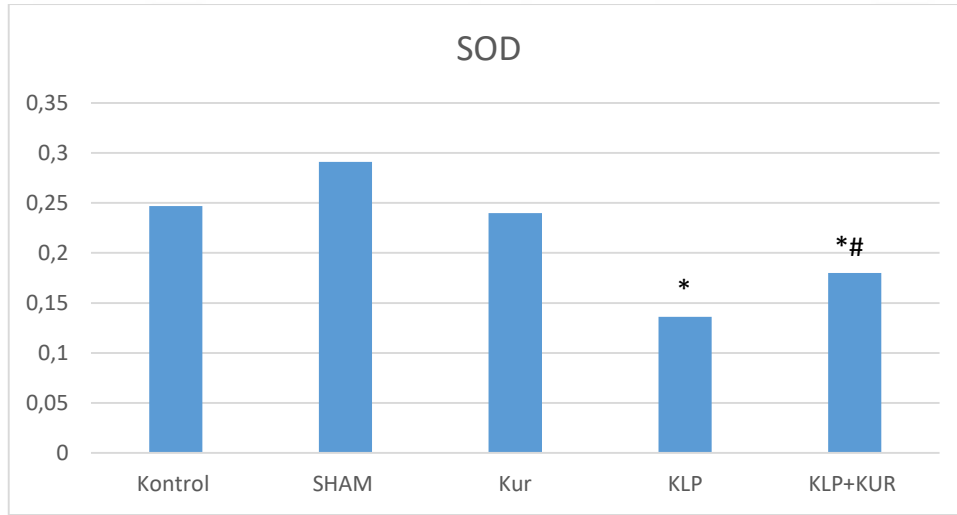
KLP+KUR gruplarının SOD enzim miktarının SHAM ve KUR gruplarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi ($p \geq 0,05$).

Tablo 6.6 Tüm gruplara ait SOD enzim aktivitesi (ortalama±standart sapma)

Gruplar	SOD enzim aktivitesi (ortalama±standart sapma)
Kontrol	0,247±0,025
SHAM	0,291±0,030
KUR	0,240±0,019
KLP	0,136±0,015*
KLP+KUR	0,180±0,012 *#

*Kontrol gurubundan istatiksel olarak anlamlı az olduğunu ifade eder ($p<0,01$).

#KLP grubundan istatiksel olarak anlamlı fazla olduğunu ifade eder ($p<0,01$)



Şekil 6.10 Tüm gruplara ait SOD enzim aktivitesi değerleri

6.4.3. Serum FSH düzeylerinin değerlendirilmesi

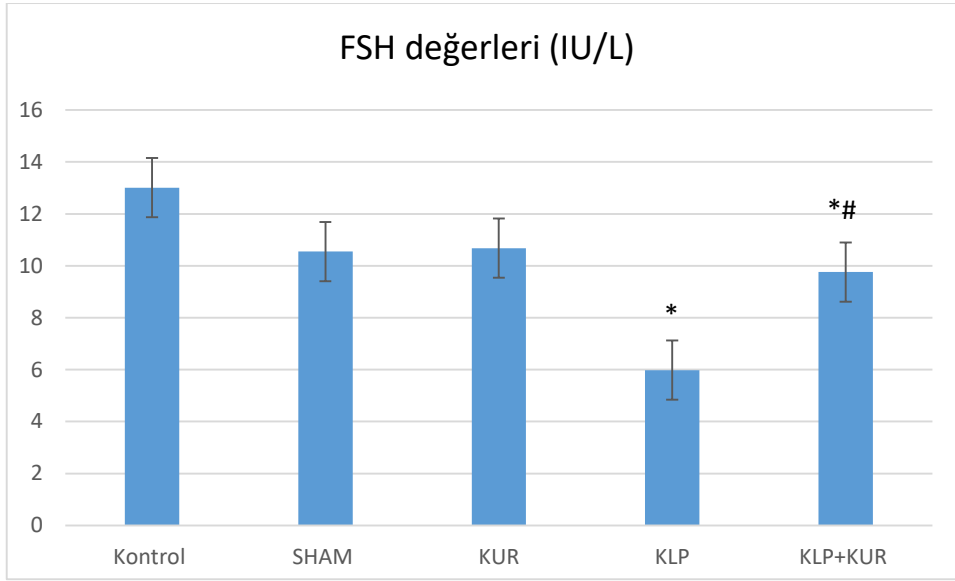
Serum örneklerinde FSH düzeylerinin değerlendirilmesi sonucu elde edilen bulgular, ortalama±standart hata değerleri aşağıdaki tablo ve grafiklerde verildi (Tablo 6.7; Şekil 6.11).

Serum FSH düzeylerinin biyokimyasal analizinin istatiksel değerlendirmesi sonucunda; KLP grubu FSH düzeyinde diğer tüm gruplara göre ileri derecede bir azalma olduğu bulundu ($p<0,01$). KLP+KUR grubu FSH düzeyinin ise KLP grubundan daha yüksek, Kontrol grubundan ise daha düşük olduğu tespit edildi ($p<0,01$). K, SHAM ve KUR gruplarının FSH düzeyleri arasında ise istatiksel anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p\geq 0,05$).

Tablo 6.7 Tüm gruplara ait FSH değerleri (IU/L)

Gruplar	FSH değerleri (IU/L)
Kontrol	13,01± 0,28
SHAM	10,55 ± 0,67
KUR	10,68 ± 1,36
KLP	5,98± 0,52*
KLP+KUR	9,76 ± 0,66*#

*Kontrol gurubundan istatiksel olarak anlamlı az olduğunu ifade eder (p<0,01).



Şekil 6.11 Tüm gruplara ait FSH değerleri (IU/L)

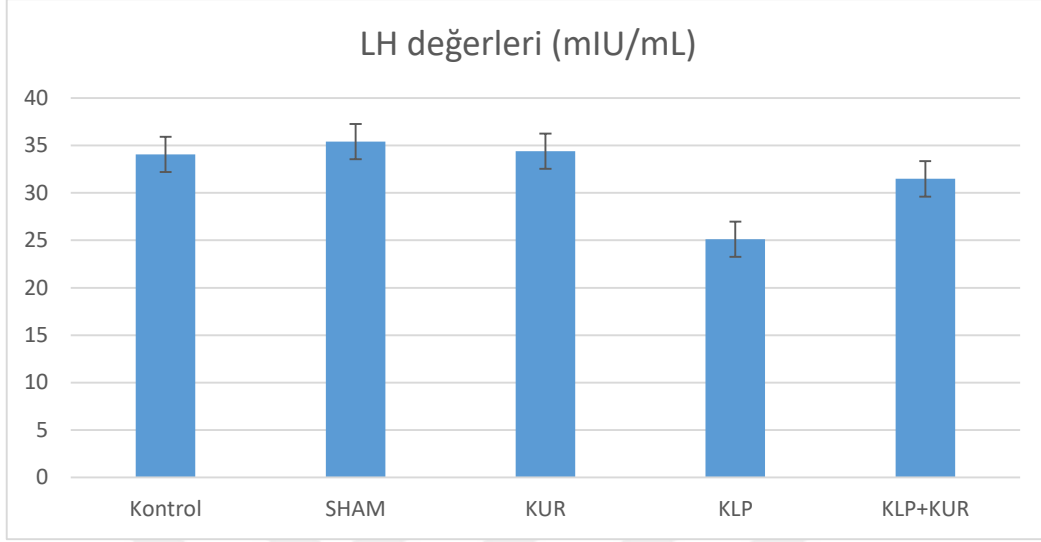
6.4.4. Serum LH düzeylerinin değerlendirilmesi

Serum örneklerinde LH düzeylerinin değerlendirilmesi sonucu elde edilen bulgular, ortalama±standart hata değerleri aşağıdaki tablo ve grafiklerde verildi (Tablo 6.8; Şekil 6.12).

Tablo 6.8 Tüm gruplara ait LH değerleri (mIU/mL)

Gruplar	LH değerleri (mIU/mL)
Kontrol	34,06 ± 1,16
SHAM	35,42 ± 0,75
Kur	34,40 ± 2,81
KLP	25,13 ± 2,27
KLP+KUR	31,48 ± 3,26

Serum LH düzeylerinin biyokimyasal analizinin istatistiksel değerlendirmesi sonucunda; Kontrol, SHAM, KUR, KLP, KLP+KUR gruplarının birbiri arasında anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi ($p \geq 0,05$).



Şekil 6.12 Tüm gruplara ait LH değeri (mIU/mL)

7. TARTIŞMA

Organofosfat insektisitler (OFI'ler), çeşitli mahsullere zarar veren haşerelerle mücadele etmek, üretkenliği ve tarımsal ürün kalitesini artırmak için tarımda yaygın olarak kullanılmaktadır. OFI'lerin sıklıkla kullanımı çevrede yaygın olarak dağılmalarına neden olmuş ve bunun biyolojik sistem üzerinde zararlı etkiler gösterdikleri yapılan çalışmalarla bildirilmiştir (Feron and Groten, 2002). OFI'lerin karaciğer, böbrek, bağışıklık sistemi, kalp ve damar duvarı, pankreas gibi farklı dokularda biyokimyasal ve histopatolojik değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir (Kossmann vd., 1997; Gomes vd., 1999; Aly and El-Gend, 2000; Hagar and Fahmy, 2002; Yavuz, Altuntas, Delibas vd., 2004 Yavuz, Delibaş, Yıldırım vd., 2004). Bu insektisitlerin hedef organlarından biri de, hormon sentezleyerek ve oosit üreterek normal üreme işlevinde önemli bir rol oynayan ovaryumlardır (Güney vd., 2007). Bu bileşikler toksik etkilerini, kolinerjik sinapslarda asetilkolin birikmesine yol açan sinir dokusundaki asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesini inhibe ederek yaparlar. Fazla asetilkolin, sürekli asetilkolin reseptör tetiklenmesine neden olarak, otonom ve somatik sinir sistemlerinin bozulmasına neden olur (Jeyaratnam and Maroni, 1994; Aardema vd., 2008).

KLP (O,O-dietil O-[3, 5,6-trikloro-2-piridinol] fosforotioat) dünya çapında tarım ve konut haşere kontrolünde yaygın olarak kullanılan geniş spektrumlu bir OF insektisittir (Uchendu, Ambali and Ayo, 2012). KLP vücuda soluma, kontamine gıdaların yutulması veya deri teması yoluyla girebilir. Akut zehirlenmeye neden olabilir; iyi bilinen semptomları arasında miyoz, artan idrara çıkma, ishal, terleme, gözyaşı ve tükürük bulunur (Deb and Das, 2013). Akut zehirlenmenin yanı sıra, KLP'ye uzun süreli ve tekrarlayan düşük doz maruziyetlerin farklı organlar üzerinde birçok kronik etkisi vardır ve endokrin sistemin işleyişini etkilemektedir (Viswanath vd., 2010; Mavedati vd., 2015; Mosbah vd., 2016; Ventura vd., 2016). Oksidatif stres, KLP toksisitesinin olası mekanizmalarından biridir. Bu tür oksidatif stresin başlaması, yaygın olarak ya aktif bir metabolitin oluşumu ya da reaktif oksijen türleri (ROS) üreten başka bir metabolizma ile ilişkilidir (Eaton vd., 2008).

Son yıllarda, tamamlayıcı veya yerine koyma tedavisi olarak farmakolojik amaçlar için doğal ürünlerin kullanılmasına ilgi artmıştır (Nunes vd., 2016). Bazı doğal ürünler önemli farmakolojik aktivitelere sahiptir. Çeşitli patolojilere yol açan mitojenik,

sitotoksik ve genotoksik reaksiyonlarda yer alan birçok hayati hücre sinyal yolunu düzenleyebilirler (Kossmann vd., 1997; Ramana, Singhal and Reddy, 2014).

Kurkumin, Asya 'da baharat gıda katkı maddesi ve bitkisel ilaç olarak yaygın kullanılan bir polifenol bileşiktir. Kurkumin, zerdeçal köklerinden ekstrakte edilir ve sarı pigment ile karakterize edilir. Çok çeşitli biyolojik ve farmakolojik fonksiyonlara sahiptir (Gomes vd., 1999). Çok sayıda çalışma, kurkuminin antioksidan, anti-inflamatuar, antineoplastik ve anti-mutajenik gibi güçlü biyolojik aktivitelere sahip olduğunu göstermiştir. Medikal tedavi olarak kurkumin takviyesinin farklı hastalıklarda semen parametrelerini iyileştirebildiği, infertil erkeklerde üreme hormonlarının kapasitesini ve kadınların üreme parametrelerini artırarak hormonal bozukluklarda faydalı bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Alizadeh vd., 2018; Alibraheemi, Bustani and Al-Dhalimy, 2021).

Bu literatür bilgileri doğrultusunda bu çalışmada tarımda yaygın olarak kullanılan bir insektisit olan klorprifosun gebelikteki maruziyetinin, dişi yavruların gelişmekte olan ovaryumları üzerinde oluşturması muhtemel toksik etkilerini ve bu toksik etkiler üzerine güçlü bir antioksidan olan kurkuminin koruyucu etkinliğini histopatolojik, stereolojik ve biyokimyasal analizlerle araştırmayı hedefledik.

Çalışmada tüm deney gruplarına ait sıçanların gonadosomatik indeksleri hesaplandı ve elde edilen verilere yapılan istatistiksel analiz sonucunda KLP grubunun gonadosomatik indeksinde, diğer tüm gruplara göre ileri derecede anlamlı azalma olduğu gözlemlendi.

Gonadosomatik indeks gonadal gelişimin belirlenmesinde kullanılan bir indekstir ve gonad ağırlığının vücut ağırlığına oranı olarak ifade edilmektedir. Chebab vd., (2017) yaptıkları çalışmada klorprifosun dişi sıçanların vücut ağırlıklarında ve ovaryumlarının ağırlıklarında diğer tüm gruplara göre azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir (Chebab, Mekircha and Leghouchi, 2017). Benzer şekilde Farag vd., (2021) de yaptıkları çalışmada KLP'ye maruziyetin dişi sıçanlarda kilo kaybına ve ovaryum ağırlıklarında azalmaya neden olduğunu göstermişlerdir (Farag vd., 2021). Eronat ve Sağır (2020) gebe sıçanlarla yaptıkları çalışmada, gebelikte klorprifos maruziyetinin düşük doğum ağırlıklı sıçan doğumuna neden olduğunu belirtmişlerdir. Birçok çalışma, hamilelik sırasında KLP veya diğer pestisitlere maruz kalmanın düşük doğum ağırlığına neden olduğunu göstermiştir (El-Baz vd., 2015; Joly Condette vd., 2015). KLP tarafından indüklenen vücut ağırlığının

azalması, doğrudan hücrel etkilerden veya beyinde yiyecek ve su alımını ve hormonal işlevi yöneten daha yüksek merkezler üzerindeki etkilerden kaynaklanabilir (Mavedati vd., 2015). KLP'nin neden olduğu azalmış yumurtalık ağırlığı ise daha önce yumurtalıklarda protein hasarına neden olan adrenokortikotropik hormonun (ACTH) artan salınımı ile açıklanmıştır (Johari vd., 2010).

Bu çalışmada, KLP verilen gruptaki dişi yavru sıçanların GSI değerinin düşük olması, oksidatif stresin indüklenmesine ve gebe sıçanların hormonal düzenindeki değişikliklere bağlı olarak oluşan düşük doğum ve ovaryum ağırlığına bağlı olabilir.

Bu çalışmada tüm deney gruplarına ait sıçanların ovaryum dokularından alınan kesitler Hematoksilen & Eozin boyası ile boyanarak histopatolojik olarak değerlendirildi. Kesitlerin mikroskopik olarak incelenmesi sonucu hemoraji, ödem, konjesyon, lökosit infiltrasyonu ve folikül dejenerasyonu açısından yapılan skorlama sonuçlarına göre en fazla hasarın KLP grubuna ait ovaryum dokularında olduğu görüldü. KLP'nin ovaryum histolojisi üzerine etkisi ile ilgili yapılan daha önceki çalışmalarda, KLP'nin germinal epitelde rüptüre, kortekste ve medullada olağan dışı vakuollere, oositlerde nekrotik değişikliklere, korpus luteumda ve foliküllerde dejenerasyona, lökosit infiltrasyonuna neden olduğu bildirilmiştir (Madhavi and Saraswathi, 2011; Kumar vd., 2015; Altun, Özdemir and Arslan, 2017; Farag vd., 2021).

Araştırmacıların bildirmiş oldukları bu veriler bu çalışma sonuçları ile uyumludur. Çalışmada yapılan stereolojik analizler sonucunda elde edilen veriler istatistiksel olarak analiz edildiğinde KLP grubundaki primordiyal folikül, preantral folikül ve antral folikül sayılarının diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı daha az olduğu tespit edildi. Ayrıca ovaryumların korteks ve medulla hacimleri değerlendirildiğinde; KLP grubunun korteks hacminde diğer tüm gruplar ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede bir azalma olduğu, medulla hacminde ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü.

Pestisit intoksikasyonu, hormonal regülasyonun tüm aşamalarında östrojen/progesteron dengesinde bozulmaya neden olabilir (Bretveld vd., 2006). Sıçanlarda artan östradiol düzeylerinden (Mokhtar vd., 2013; Sakr vd., 2011) ve progesteron düzeylerindeki düşüşten (Mokhtar vd., 2013; Kapoor vd., 2011) pestisitlerin sorumlu olduğu kanıtlanmıştır. Pestisitler endokrin bozucu olarak hareket etme potansiyeline sahiptir ve maruz kalmalarının sıçanlarda muhtemelen azalmış serum

progesteron seviyeleri yoluyla yumurtalık gen ekspresyonunu ve folikülogenezi değiştirerek yumurtlama ve doğurganlığın azalmasına ve foliküler atrezi artışına neden olduğu kanıtlanmıştır (Armenti vd., 2008; Juliani vd., 2008; Shibayama vd., 2009). Atrezi, apoptoz yoluyla yumurtalıktaki foliküllerin atılmasının fizyolojik modu olduğundan, ancak artan atrezi yüzdesi, pestisit zehirlenmesine bağlı oksidatif stresi gösterir (Gupta vd., 2006; Mokhtar vd., 2013). Benzer foliküler atrezi örneği, klorprifos ile tedavi edilen sıçanlarda da gözlenmiştir (Rao and Kaliwal, 2002; Nishi and Hundal, 2013). Yumurtalık foliküllerinin artan atrezisi, değişen endojen hormon seviyeleri yoluyla pestisitlerin zararlı etkilerine bağlanabilir (Bretveld vd., 2006, Mokhtar vd., 2013). Birkaç OF pestisit, östrus döngüsünü kesintiye uğratar ve atretik foliküllerin sayısını artırırken, sağlıklı foliküllerin sayısını azaltır (Dhondup and Kaliwal, 1997; Ozsoy vd.,2016). Erişkin dişi sıçanların OF pestisit maruz kalması ovaryumlarda oksidatif strese ve apoptotik folikül sayısında artışa neden olduğu gösterilmiştir (Ozsoy vd.,2016). Ovaryumların toksikantlara maruz kalması sonucunda primer veya preantral foliküllerin tahrip olduğu ve folikül havuzunun yenilenememesinden dolayı da kalıcı infertilite meydana geldiği kanıtlanmıştır (Hirshfield, 1997).

Çalışmada tüm gruplara ait deneklerden alınan kan serum örneklerinde yapılan biyokimyasal analizlerde CAT ve SOD enzim aktivitesi ölçüldü. Elde edilen verilere yapılan istatistiksel analizler sonucunda KLP grubunda hem CAT hem de SOD enzim aktivitesinin diğer gruplara göre ileri derecede anlamlı azaldığı görüldü.

Oksidatif stres, oksidatif stres belirteçlerinin artırılması ve antioksidan dengenin bozulması yoluyla KLP'nin toksisite mekanizmalarından biri olarak bildirilmiştir. Bu bağlamda reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı birikimi söz konusudur (Banerjee, Seth and Ahmed, 2001). Katalaz, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon S-transferaz (GST), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon redüktaz gibi antioksidan enzimler, normal fizyolojik koşullar altında ROS'un toksisitesini önlemeye yardımcı olur (Abolaji vd., 2014; Abolaji vd., 2015). Ancak oksidatif stres durumunda, ROS ve diğer serbest radikallerin bu dokuların karbonhidrat, lipid, DNA ve protein bileşenleri ile etkileşimi nedeniyle beyin ve üreme dokularında hasar meydana gelebilir (Attia, ElMazoudy and El-Shenawy, 2012). Abolaji vd. (2017) KLP ile yaptıkları bir çalışmada klorprifosun dişi sıçanların beyin, ovaryum ve uterusunda katalaz, SOD ve GPx aktivitelerini azalttığını bildirmişlerdir (Abolaji vd., 2017). Ayrıca araştırmacılar elde ettikleri veriler doğrultusunda KLP'nin dişi sıçanların beyin, ovaryum ve uteruslarında oksidatif strese,

inflamasyona ve apoptozise neden olduğunu belirtmişlerdir (Aksoy vd., 2014). KLP' nin antioksidan enzimler üzerine etkilerini araştıran diğer birçok çalışma ile KLP'nin çeşitli dokularda ve kan serum örneklerinde KAT ve SOD enzim aktivitesini azalttığı bildirilmiştir (Baba vd., 2013; Sharma, Sangha and Khera, 2015; Farag vd., 2021).

Mevcut çalışmada tüm gruplara ait deneklerden alınan kan serum örneklerinde yapılan analizlerde FSH ve LH düzeyleri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde KLP grubunda FSH seviyesinin azaldığı buna karşılık LH seviyesinde anlamlı bir farklılığın olmadığı tespit edildi. Daha önce yapılan çalışmalar ile klorprifosun dişi sıçanların kan serum örneklerinde FSH ve LH düzeylerini indirgediği bildirilmiştir (Madhavi and Saraswathi, 2011; Chebab, Mekircha and Leghouchi, 2017; Altun, Özdemir and Arslan, 2017). Bu, klorpirifosun ön hipofiz gonadotropinleri (LH ve FSH'nin salgılanmasından sorumlu) üzerindeki doğrudan toksik etkisine bağlı olabilir. GnRH'nin salgılanmasından sorumlu olan hipotalamik nöronların da etkilenmiş olması mümkündür (ön hipofiz gonadotropinleri üzerinde trofik etki gösterir) (Das vd., 2014). CLP, hipotalamik GnRH gen ekspresyonunu ve biyosentezini derinden etkiler (Gore, 2002). Ayrıca, daha önce yapılan çalışmalar ile, KLP'ye maruz kalmanın hipofiz bezinde oksidatif stresi indüklediğini gösterilmiştir (Umosen vd., 2012; Muftau vd., 2014).

Bu çalışmada KLP grubu sıçanlardan elde edilen tüm veriler literatür verileri ile karşılaştırılarak değerlendirildiğinde KLP'nin dişi sıçanların ovaryum dokularında oksidatif strese neden olduğunu, oluşan bu oksidatif stresin ovaryumların ağırlıklarında dolayısıyla GSI indeks değerlerinde azalmaya, ovaryumlarda dejenerasyona, primordiyal preantral ve antral foliküllerin sayılarında azalmaya, FSH ve LH hormonlarının düzeylerinde azalmaya neden olduğunu söyleyebiliriz.

Mevcut çalışmada KLP+KUR grubundaki dişi sıçanların gonadosomatik indeksi KLP grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı artış olduğu tespit edildi. Ayrıca KLP+KUR grubunun ovaryum kesitlerinin ışık mikroskopik değerlendirilmesi sonucu KLP+KUR grubunda da hemoraji, ödem gibi hasarların olduğu fakat KLP grubuna göre hasarların daha az olduğu görüldü. KLP+KUR grubunda kurkuminin konjesyonu orta, hücre dejenerasyonu ve lökosit infiltrasyonunu zayıf düzeyde iyileştirdiği, hemoraji ve hücre hasarını ise yüksek düzeyde ortadan kaldırdığı gözlemlendi. Yapılan stereolojik analizlerde KLP grubunda azalan primordiyal, preantral ve antral folikül sayılarının KLP+KUR grubunda istatistiksel olarak anlamlı arttığı görüldü. Kan serum örneklerinde

yapılan biyokimsanal analizlerde ise SOD antioksidan enzim aktivitesinin, KLP+KUR grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı daha az, KLP grubuna göre daha fazla olduğu tespit edildi. KAT enzim aktivitesinin diğer guruplara göre farklı olmadığı bulundu. Ayrıca yine kan serum örneklerinden elde edilen FSH düzeylerinin KLP+KUR grubunda, KLP grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fazla olduğu görüldü.

Kurkuminin, yumurtalık dokularındaki oksidatif stres belirteçlerinde önemli bir azalma sağladığı ve sıçanlarda hormon düzeylerini iyileştirdiği bilinmektedir (Elnahas vd., 2020). Kurkuminin, foliküler gelişim ve yumurtlama sırasında FSH ve LH düzeyleri ve hipofiz-yumurtalık eksenli hormonları üzerinde olumlu bir etki gösterdiği bildirilmiştir (Alibraheemi, Bustani and Al-Dhalimy, 2021). Ayrıca yapılan pekçok çalışma ile kurkuminin, yumurtalık büyümesini, folikülojenezi (Azami vd., 2020) teşvik ettiği ve farelerde (Tiwari-Pandey and Ram Sairam, 2020) yumurtalık fonksiyonlarının yaşa bağlı baskılanmasını, farelerde d-galaktoz kaynaklı yumurtalık yetmezliğini (Yan vd., 2018) ve sıçanlarda siklofosfamidin neden olduğu yumurtalık yetmezliğini (Melekoglu vd., 2018) hafiflettiği gösterilmiştir. Pekçok farklı türle yapılan çalışmalarda da kurkumin, balıklarda yumurtalık folikülogenezini ve yumurtlamayı desteklediği (Koca vd., 2020), kurkumin içeren bitki katkı maddesinin, mandada da yumurtalık folikülü gelişimini desteklediği (Japheth vd., 2021), tavşanlarda yumurtalık foliküllerinin sayısını ve çapını artırdığı bildirilmiştir (Sirotkin vd., 2018). Tossetta vd. (2021) yaptıkları çalışma ile kurkuminin gebelik komplikasyonlarını (preeklampsi, gestasyonel diyabetes mellitus, fetal büyüme geriliği, erken doğum ve toksinlere ve patojenlere yanıt) yönetmek için yararlı olabileceğine dair verileri literatüre sunmuşlardır.

Bu çalışmadan elde edilen veriler, diğer çalışma sonuçları ile birlikte değerlendirildiğinde kurkuminin klorprifosun ovaryumlarda neden olduğu oksidatif stresi indirgediği ve buna bağlı olarak ovaryumlarda meydana gelen dejenerasyonu hafiflettiğini söyleyebiliriz.

8. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- Gonadosomatik indekslerin istatistiksel değerlendirmesi sonucunda; KLP grubunun gonadosomatik indeksinin, Kontrol, SHAM ve KUR gruplarına göre ileri derecede azalma olduğu gözlemlendi ($p<0,01$). Buna karşın, KLP+KUR grubu KLP grubu ile karşılaştırıldığında ise GSI değerinde artış olduğu tespit edildi ($p<0,01$). Ayrıca, Kontrol, SHAM ve KUR grupları kıyaslandığında gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı belirlendi ($p\geq 0,05$).
- Ovaryum kesitlerinin ışık mikroskopik değerlendirilmesi sonucunda Kontrol, Sham ve KUR grupları aynı histolojik yapıyı gösterirken, KLP grubunda hemoraji, ödem, konjesyon, lökosit infiltrasyonu ve folikül dejenerasyonu açısından yapılan skorlama sonuçlarına göre en fazla hasarın KLP grubuna ait ovaryum dokularında olduğu görüldü. KLP+KUR grubunda kurkuminin konjesyonu orta, hücre dejenerasyonu ve lökosit infiltrasyonunu zayıf düzeyde iyileştirdiği, hemoraji ve hücre hasarını ise yüksek düzeyde ortadan kaldırdığı gözlemlendi.
- Yapılan stereolojik analizler sonucunda KLP grubundaki primordiyal folikül, preantral folikül ve antral folikül sayılarının diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı daha az olduğu tespit edildi ($p<0,01$). KLP grubunda azalan primordiyal, preantral ve antral folikül sayılarının KLP+KUR grubunda istatistiksel olarak anlamlı arttığı görüldü ($p<0,01$).
- Kan serum örneklerinde yapılan biyokimyasal analizlerde ise KLP grubunda SOD antioksidan enzim aktivitesinin, diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı daha az olduğu tespit edildi ($p<0,01$). KLP+KUR grubunda ise SOD enzim aktivitesinin kontrol grubuna göre daha az, KLP grubuna göre ise daha fazla olduğu tespit edildi ($p<0,01$). CAT enzim aktivitesi istatistiksel olarak karşılaştırıldığında ise KLP grubunda CAT enzim aktivitesinin, diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı daha az olduğu tespit edildi ($p<0,01$).
- Kan serum örneklerinde yapılan analizlerde FSH ve LH düzeyleri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde KLP grubunda FSH seviyesinin azaldığı ($p<0,01$), buna karşılık LH seviyesinde anlamlı bir farklılığın olmadığı tespit edildi. Tüm gruplar arasında LH düzeyleri açısından anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi ($p\geq 0,05$).

Sonuç olarak, bu çalışmadan elde ettiğimiz histopatolojik, stereolojik ve biyokimyasal veriler sonucunda prenatal dönemde klorprifosa maruziyetin yavru dişi sıçanların ovaryumlarında oksidatif strese neden olduğunu ve bunun da ovaryumlarda dejenerasyona neden olduğunu ve ayrıca antioksidan olarak kullanmayı tercih ettiğimiz kurkuminin ise klorprifosun neden olduğu oksidatif stresi ve ovaryumlarda oluşan hasarı indirdiğini gösterdik.

Tüm bu sonuçlar doğrultusunda, köklü, güvenli ve toksik olmayan bir bileşik olan kurkuminin, yumurtalık oksidatif stresinin tedavisinde potansiyel bir uygulamaya sahip olduğunu düşünmekteyiz. Ayrıca ergenliği, yumurtalık folikülogenezini ve doğurganlığı düzenleyebileceği, hamilelik sırasında da komplikasyonları önleyebileceği kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

- Aardema, H., Meertens, J.H., Ligtenberg, J.J., Peters-Polman, O.M., Tulleken, J.E. and Zijlstra, J.G. (2008). Organophosphorus pesticide poisoning: cases and developments, *Neth. J. Med.* 66 (4) (2008) 149–153.
- Abolaji, A. O., Kamdem, J. P., Lugokenski, T. H., Farombi, E. O., Souza, D. O., da Silva Loreto, É. L., and Rocha, J. B. (2015). Ovotoxicants 4-vinylcyclohexene 1, 2-monoepoxide and 4-vinylcyclohexene diepoxide disrupt redox status and modify different electrophile sensitive target enzymes and genes in *Drosophila melanogaster*. *Redox Biology*, 5, 328-339.
- Abolaji, A. O., Kamdem, J. P., Lugokenski, T. H., Nascimento, T. K., Waczuk, E. P., Farombi, E. O., ... and Rocha, J. B. T. (2014). Involvement of oxidative stress in 4-vinylcyclohexene-induced toxicity in *Drosophila melanogaster*. *Free Radical Biology and Medicine*, 71, 99-108.
- Abolaji, A. O., Ojo, M., Afolabi, T. T., Arowoogun, M. D., Nwawolor, D., and Farombi, E. O. (2017). Protective properties of 6-gingerol-rich fraction from *Zingiber officinale* (Ginger) on chlorpyrifos-induced oxidative damage and inflammation in the brain, ovary and uterus of rats. *Chemico-Biological Interactions*, 270, 15-23.
- Abubakar, Y., Tijjani, H., Egbuna, C., Adetunji, C. O., Kala, S., Kryeziu, T. L., ... and Patrick-Iwuanyanwu, K. C. (2020). Pesticides, history, and classification. In *Natural remedies for pest, disease and weed control* (pp. 29-42). Academic Press.
- Aksoy, A. N., Toker, A., Celik, M., Aksoy, M., Halıcı, Z. and Aksoy, H. (2014). The effect of progesterone on systemic inflammation and oxidative stress in the rat model of sepsis. *Indian Journal of Pharmacology*, 46(6), 622.
- Alibraheemi, N. A. A., Bustani, G. S., and Al-Dhalimy, A. M. B. (2021). Effect of curcumin on LH and FSH hormones of polycystic syndrome induced by letrozole in female rats. *Lat Am J Pharm*, 40, 179-183.
- Alizadeh, F., Javadi, M., Karami, A.A., Gholaminejad, F., Kavianpour, M. and Haghighian, H.K. (2018). Curcumin nanomicelle improves semen parameters,

- oxidative stress, inflammatory biomarkers, and reproductive hormones in infertile men: a randomized clinical trial. *Phytotherapy Research*, 32(3): 514-21.
- Altun, S., Özdemir, S., and Arslan, H. (2017). Histopathological effects, responses of oxidative stress, inflammation, apoptosis biomarkers and alteration of gene expressions related to apoptosis, oxidative stress, and reproductive system in chlorpyrifos-exposed common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Environmental Pollution*, 230, 432-443.
- Aly, N.M. and El-Gend, K.S. (2000). Effects of dimethoate on the immune system of the female mice. *J Environ Sci Health* 2000; 35: 77–86.
- Amitai, G., Moorad, D., Adani, R., and Doctor, B. P. (1998). Inhibition of Acetylcholinesterase And Butyrylcholinesterase By Chlorpyrifos-Oxon. *Biochemical Pharmacology*, 56(3), 293-299.
- Armenti, A. E., Zama, A. M., Passantino, L., and Uzumcu, M. (2008). Developmental methoxychlor exposure affects multiple reproductive parameters and ovarian folliculogenesis and gene expression in adult rats. *Toxicology and applied pharmacology*, 233(2), 286-296.
- Assady M., Farahnak A., Golestani A and Esharghian MR.(2011). Superoxide dismutase (SOD) enzyme activity assay in *Fasciola* spp. Parasites and liver tissue extract. *Iran J Parasitol* 2011;6(4):17-22.
- Attia, A. A., ElMazoudy, R. H., and El-Shenawy, N. S. (2012). Antioxidant role of propolis extract against oxidative damage of testicular tissue induced by insecticide chlorpyrifos in rats. *Pesticide biochemistry and physiology*, 103(2), 87-93.
- Azami, S. H., Nazarian, H., Abdollahifar, M. A., Eini, F., Farsani, M. A., and Novin, M. G. (2020). The antioxidant curcumin postpones ovarian aging in young and middle-aged mice. *Reproduction, Fertility and Development*, 32(3), 292-303.
- Baba, N. A., Raina, R., Verma, P. K., Sultana, M., Prawez, S., and Nisar, N. A. (2013). Toxic effects of fluoride and chlorpyrifos on antioxidant parameters in rats: protective effects of vitamins C and E. *Fluoride*, 46(2), 73-9.

- Banerjee, B. D., Seth, V., and Ahmed, R. S. (2001). Pesticide-induced oxidative stress: perspective and trends. *Reviews on environmental health*, 16(1), 1-40.
- Becit, M. (2017). Piknogenol ve Kurkuminin Çeşitli Kanser Hücre Hatlarında Sisplatin Sitotoksitesine Etkilerinin İncelenmesi. Yayınlanmamış Yüksek lisans Tezi. Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Bretveld, R. W., Thomas, C. M., Scheepers, P. T., Zielhuis, G. A., and Roeleveld, N. (2006). Pesticide exposure: the hormonal function of the female reproductive system disrupted?. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 4(1), 1-14.
- Carvalho, F. P. (2017). Pesticides, Environment and Food Safety. *Food and Energy Security*, 6(2), 48-60.
- Chambers, H. W., Meek, E. C., and Chambers, J. E. (2010a). Chemistry of Organophosphorus Insecticides. In Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology (Pp. 1395-1398). Academic Press.
- Chambers, J. E., Meek, E. C., and Chambers, H. W. (2010b). The Metabolism of Organophosphorus Insecticides. In Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology (Pp. 1399-1407). Academic Press.
- Chattopadhyay, I., Biswas, K., Bandyopadhyay, U., and Banerjee, R. K. (2004). Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications. *Curr*
- Chebab, S., Mekircha, F., and Leghouchi, E. (2017). Potential protective effect of Pistacia lentiscus oil against chlorpyrifos-induced hormonal changes and oxidative damage in ovaries and thyroid of female rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 96, 1310-1316.
- Chien, Y. J., Chang, C. Y., Wu, M. Y., Chen, C. H., Horng, Y. S., and Wu, H. C. (2021). Effects of curcumin on glycemic control and lipid profile in polycystic ovary syndrome: Systematic review with meta-analysis and trial sequential analysis. *Nutrients*, 13(2), 684.
- Condette, C. J., Bach, V., Mayeur, C., Gay-Quéheillard, J., and Khorsi-Cauet, H. (2015). Chlorpyrifos exposure during perinatal period affects intestinal microbiota associated with delay of maturation of digestive tract in rats. *Journal of pediatric*

gastroenterology and nutrition, 61(1), 30-40. Doi:
[10.1097/MPG.0000000000000734](https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000000734)

- Çamurcu, H. (2005). Dünya Nüfus Artışı Ve Getirdiği Sorunlar. Balıkesir Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi, 8(13), 87-105.
- Çetin, N., Eraslan, G., Bilgili, A., ve Eşsiz, D. Tavşanlarda İçme Suyu ile Kronik Klorprifos Alımının Elektrokardiyogram Üzerine Etkisi. Sağlık Bilimleri Dergisi, 14(3), 177-183.
- Das, K., Sarkar, K., Tarafder, P., Nath, P. P., and Paul, G. (2014). Chlorpyrifos suppresses female reproductive function in rat. Int. J. Pharma Bio Sci, 5(1), 810-818.
- Das, S., and Adhya, T. K. (2015). Degradation of Chlorpyrifos in Tropical Rice Soils. Journal of Environmental Management, 152, 36-42.
- Davies, J. E., Enos, H. F., Barquet, A., Morgade, C., Danauskas, J. X., and Freed, V. H. (1980). Minimizing Occupational Exposure To Pesticides: Epidemiological Overview. Residue Reviews, 7-20.
- Deb, N., and Das, S. (2013). Chlorpyrifos toxicity in fish: a review. Current World Environment, 8(1), 77-84
- Delen, N., Durmuşoğlu, E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C., and Burçak, A. (2005). Türkiye’de Pestisit Kullanımı, Kalinti ve Organizmalarda Duyarlilik Azalışı Sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisligi, 6, 3-7.
- Deveci, H. A., Karapehlivan, M., İnan, K. A. Y. A., Kükürt, A., ve Alpay, M. (2015). Akut Klorprifos-Etil Zehirlenmesine Karşı Kafeik Asit Fenetil Ester’in Koruyucu Etkisi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 62(4), 255-260.
- Dhondup, P., and Kaliwal, B.B.(1997). Inhibition of ovarian compensatory hypertrophy by the administration of methyl parathion in hemicastrated albino rats. Repro Toxicol. 1997;11(1):77-84.
- Eaton, D. L., Daroff, R. B., Autrup, H., Bridges, J., Buffler, P., Costa, L. G., ... and Spencer, P. S. (2008). Review of the toxicology of chlorpyrifos with an emphasis on human exposure and neurodevelopment. Critical reviews in toxicology, 38(sup2), 1-125.

- Ekmekyapar, F., Tosun, C., ve Ataçoğlu, İ. (2014). Klorprifosun *Daphnia Magna* Kullanarak Toksisitesinin Araştırılması ve Çevresel Risk Değerlendirmesi. Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 3(1), 1-8.
- El-Baz, M. A., El-Deek, S. E., Nsar, A. Y., El-Maali, N. A., Abdel Hafez, F. F., and Amin, A. F. (2015). Prenatal pesticide exposure: meconium as a biomarker and impact on fetal weight. *J Environ Anal Toxicol*, 5(268), 2161-0525. Doi: [10.4172/2161-0525.1000268](https://doi.org/10.4172/2161-0525.1000268)
- Elnahas, K. H., Aziza, S. A., El-Senosi, Y. A., and Aggag, M. A. (2020). Curcumin and Hesperidin alleviates oxidative stress and hormonal alterations in a rat model of cyclophosphamide-induced premature ovarian failure. *Benha Veterinary Medical Journal*, 39(1), 95-100.
- Eronat, K., and Sağır, D. (2020). Protective effects of curcumin and *Ganoderma lucidum* on hippocampal damage caused by the organophosphate insecticide chlorpyrifos in the developing rat brain: Stereological, histopathological and immunohistochemical study. *Acta Histochemica*, 122(7), 151621.
- Fan, X. ve de Sousa Lopes S.M.C. (2021). Molecular makeup of the human adult ovary. *Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research*, Vol:18, 187-193
- Farag, A., Abu-Raia, N., Dessouky, A., and Bayomy, H. (2021). Ameliorative effects of Green Tea Polyphenol Epigallocatechin-3-gallate on chlorpyrifos ovarian toxicity in adult albino rats. *Mansoura Journal of Forensic Medicine and Clinical Toxicology*, 29(1), 17-35.
- Feron VJ. and Groten JP.(2002). Toxicology evaluation of chemical mixtures. *Food Chem Toxicol* 2002; 40: 825–39.
- Food And Agriculture Organization of The United Nations (FAO). (2003). International Code of Conduct on the Distribution And Use Of Pesticides [On Line].
- Gomes J., Dawodu AH., Liyyd O., Revitt DM. and Aniall SV.(1999). Hepatic injury and disturbed amino acid metabolism in mice following prolonged exposure to organophosphorus pesticides. *Hum Exp Toxicol* 1999; 18: 33–37.

- Gore, A. C. (2002). Organochlorine pesticides directly regulate gonadotropin-releasing hormone gene expression and biosynthesis in the GT1-7 hypothalamic cell line. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 192(1-2), 157-170.
- Gundersen, H.J. (1986). Stereology of arbitrary particles. A review of unbiased number and size estimators and the presentation of some new ones, in memory of William R. Thompson. *J Microsc* 1986;143(Pt 1):3-45.
- Gundersen, H.J., and Jensen, E.B. (1987). The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *J Microsc* 1987;147(Pt 3):229-263.
- Gupta, R. K., Miller, K. P., Babus, J. K., and Flaws, J. A. (2006). Methoxychlor inhibits growth and induces atresia of antral follicles through an oxidative stress pathway. *Toxicological Sciences*, 93(2), 382-389.
- Gupta, S. C., Mishra, M., Sharma, A., Balaji, T. D., Kumar, R., Mishra, R. K., and Chowdhuri, D. K. (2010). Chlorpyrifos induces apoptosis and DNA damage in *Drosophila* through generation of reactive oxygen species. *Ecotoxicology and environmental safety*, 73(6), 1415-1423.
- JE, H. (2012). Guyton and Hall: medical physiology. (Yeğen, B. Ç., Alican, İ. ve Solakoğlu Z., Çeviri, 2013). Tıbbi fizyoloji. Nobel Tıp Kitabevleri.
- Güney, M., Demirin, H., Oral, B., Özgüner, M., Bayhan, G., and Altuntas, I. (2007). Ovarian toxicity in rats caused by methidathion and ameliorating effect of vitamins E and C. *Human & experimental toxicology*, 26(6), 491-498.
- Hagar, H. H. and Fahmy, A. H.(2002). A biochemical, and ultrastructural evaluation of the effect of dimethioate intoxication on rat pancreas. *Toxicol Lett* 2002; 133: 161–70.
- Hassaan, M. A., and El Nemr, A. (2020). Pesticides Pollution: Classifications, Human Health Impact, Extraction and Treatment Techniques. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*.
- Hirshfield, A. N. (1997). Overview of ovarian follicular development: considerations for the toxicologist. *Environmental and molecular mutagenesis*, 29(1), 10-15.
- Hodgson, E., and Rose, R. L. (2008). Metabolic interactions of agrochemicals in humans. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 64(6), 617-621.

- Japheth, K. P., Kumaresan, A., Patbandha, T. K., Baithalu, R. K., Selvan, A. S., Nag, P., ... and Oberoi, P. S. (2021). Supplementation of a combination of herbs improves immunity, uterine cleansing and facilitate early resumption of ovarian cyclicity: A study on post-partum dairy buffaloes. *Journal of Ethnopharmacology*, 272, 113931.
- Jatoi, A. S., Hashmi, Z., Adriyani, R., Yuniarto, A., Mazari, S. A., Akhter, F., and Mubarak, N. M. (2021). Recent Trends and Future Challenges of Pesticide Removal Techniques—A Comprehensive Review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 105571.
- Jeyaratnam, J. and Maroni, M. (1994). Organophosphorous compounds, *Toxicology* 91 (1) (1994) 15–27.
- Jeyaratnam, J., De Alwis Seneviratne, R. S., and Copplestone, J. F. (1982). Survey of Pesticide Poisoning in Sri Lanka. *Bulletin of The World Health Organization*, 60(4), 615.
- John, E. M., and Shaike, J. M. (2015). Chlorpyrifos: pollution and remediation. *Environmental Chemistry Letters*, 13(3), 269-291.
- Juliani, C. C., Silva-Zacarin, E. C. M., Santos, D. C., and Boer, P. A. (2008). Effects of atrazine on female Wistar rats: morphological alterations in ovarian follicles and immunocytochemical labeling of 90 kDa heat shock protein. *Micron*, 39(5), 607-616.
- Kapoor, U., Srivastava, M. K., and Srivastava, L. P. (2011). Toxicological impact of technical imidacloprid on ovarian morphology, hormones and antioxidant enzymes in female rats. *Food and chemical toxicology*, 49(12), 3086-3089.
- Karanth, S., Liu, J., Olivier Jr, K., and Pope, C. (2004). Interactive Toxicity of The Organophosphorus Insecticides Chlorpyrifos and Methyl Parathion in Adult Rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 196(2), 183-190.
- Kaur, R., Mavi, G. K., Raghav, S., and Khan, I. (2019). Pesticides Classification and Its Impact on Environment. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci*, 8(3), 1889-1897.

- Kılıç, O., Eryılmaz, G. A., ve Çakır, S. (2021). Zonguldak İlinde Meyve Üreticilerinin Kimyasal Gübre ve Tarım İlacı Kullanımına Yönelik Çevresel Duyarlılıkları. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 36(1), 113-121.
- Koca, S. B., Yigit, N. O., Özdoğan, H. B. E., and Ozmen, O. (2020). Reversible sterilization by supplementing turmeric (*Curcuma longa*) powder to diets of female *Pseudotropheus socolofi*. *Fish physiology and biochemistry*, 46(4), 1199-1205.
- Kossmann, S., Magner-Krezel, Z., Sobieraj, R. and Szwed Z. (1997). The assesment of nephrotoxic effect based on the determination of the activity of some selected enzymes in urine. *Przegel Lek* 1997; 54: 707–11.
- Köksoy, B., Akyüz, D., Şenocak, A., Durmuş, M., ve Demirbaş, E. (2021). Novel Swcnt-Hybrid Nanomaterial Functionalized with Subphthalocyanine Substituted Asymmetrical Zinc (II) Phthalocyanine Conjugate: Design, Synthesis, Characterization And Sensor Properties for Pesticides. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 329, 129198.
- Kristensen, S. G., Rasmussen, A., Byskov, A. G., and Andersen, C. Y. (2011). Isolation Of Pre-Antral Follicles From Human Ovarian Medulla Tissue. *Human Reproduction*, 26(1), 157-166.
- Kumar, R., Ali, M., Kumar, A., and Gahlot, V. (2015). Comparative bioremedial effect of withania somnifera and *curcuma longa* on ovaries of pesticide induced mice.
- Li, J. W., Fang, B., Pang, G. F., Zhang, M., and Ren, F. Z. (2019). Age-and diet-specific effects of chronic exposure to chlorpyrifos on hormones, inflammation and gut microbiota in rats. *Pesticide biochemistry and physiology*, 159, 68-79.
- Madeo, F., Fröhlich, E., Ligr, M., Grey, M., Sigrist, S. J., Wolf, D. H. and Fröhlich, K. U. (1999). Oxygen stress: a regulator of apoptosis in yeast. *The Journal of cell biology*, 145(4), 757-767.
- Madhavi, K., and Saraswathi, V. S. (2011). In vivo toxicological evaluation of chlorpyrifos pesticide on female albino mice: Therapeutic effects of *Curcuma longa*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(2), 439.

- Martins, D., and English A. M. (2014). Catalase activity is stimulated by H₂O₂ in rich culture medium and is required for H₂O₂ resistance and adaptation in yeast. *Redox biology*, 2, 308-313.
- Matsumura F. (1985) Classification of Insecticides. In: *Toxicology of Insecticides*. Springer, Boston, Ma.
- Matsumura, F. (1985). *Toxicology of Insecticides*. Softcover Reprint of the Hardcover 2nd Edition Plenum Press, New York.
- Matthews, G. (2008). *Pesticide Application Methods*. John Wiley and Sons.
- Mavedati, O., Bandariyan, E., Aminashayeri, S., Sergez, T. M., and Beigi, B. A. (2015). β -Cryptoxanthin ameliorates the reproductive toxicity of chlorpyrifos in male rabbit. *Comparative Clinical Pathology*, 24(2), 409-415.
- Mccollister, S. B., Kociba, R. J., Humiston, C. G., Mccollister, D. D., and Gehring, P. J. (1974). Studies Of The Acute and Long-Term Oral Toxicity Of Chlorpyrifos (O, O-Diethyl-O-(3, 5, 6-Trichloro-2-Pyridyl) Phosphorothioate). *Food and Cosmetics Toxicology*, 12(1), 45-61.
- Meço, B. C., Tulunay, M., Özayar, E., Yalçın, S., Oba, Ş., Ünal, M. N., ve Oral, M. (2015). Klorprifos Zehirlenmesini Takiben Gelişen Intermediate Sendromda Geç Ve Aralıklı Oksim Tedavisi: Olgu Sunumu. *Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 12(3), 383-388.
- Melekoglu, R., Ciftci, O., Eraslan, S., Cetin, A., and Basak, N. (2018). Beneficial effects of curcumin and capsaicin on cyclophosphamide-induced premature ovarian failure in a rat model. *Journal of ovarian research*, 11(1), 1-8.
- Mokhtar, H. I., Abdel-Latif, H. A., ElMazoudy, R. H., Abdelwahab, W. M., and Saad, M. I. (2013). Effect of methomyl on fertility, embryotoxicity and physiological parameters in female rats. *Journal of applied pharmaceutical science*, 3(12), 109-119.
- Monniaux, D., Cadoret, V., Clément, F., Tran, RD, Elis, S., Fabre, S. and Uzbekova, S. (2019). folikülogenez. *Encyclopedia of Endocrine Diseases (Second Edition)*, Vol: 2- 377-398

- Mosbah, R., Yousef, M. I., Maranghi, F., and Mantovani, A. (2016). Protective role of *Nigella sativa* oil against reproductive toxicity, hormonal alterations, and oxidative damage induced by chlorpyrifos in male rats. *Toxicology and industrial health*, 32(7), 1266-1277.
- Muftau, S., Aisha, O. O., Ambali, S. F., Oyedepo, I. T., Umaru, K. M., Yusuf, P. O., ... and Isa, H. I. (2014). Ameliorative effect of *hibiscus sabdariffa* linn on subchronic chlorpyrifos-induced alterations in sex and thyroid hormones in male wistar rats. *American Journal of Pharmacology and Toxicology*, 9(1), 96-106.
- Myers M., Britt KL., Wreford NGM., Ebling FJP. and Kerr JB. (2004). Methods for quantifying follicular numbers within the mouse ovary. *Reproduction* 2004;127(5):569-580.
- Nazir, A., Mukhopadhyay, I., Saxena, D. K., and Chowdhuri, D. K. (2001). Chlorpyrifos-induced hsp70 expression and effect on reproductive performance in transgenic *Drosophila melanogaster* (hsp70-lacZ) Bg 9. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 41(4), 443-449.
- Nishi, K., and Hundal, S. S. (2013). Chlorpyrifos induced toxicity in reproductive organs of *female* Wistar rats. *Food and chemical toxicology*, 62, 732-738.
- Nunes, A.R., Alves, M.G., Oliveira, P.F., Silva, L.R. and Silva, B.M. (2016). Bioactive compounds and health-promoting properties of *Ficus Carica* (L.): a review, 26, 3–28, in: L.R. Da Silva, B. Silva (Eds.), *Natural Bioactive Compounds from Fruits and Vegetables as Health Promoters, Part I*, Bentham Science Publishers, 2016.
- Ozsoy, A. Z., Nursal, A. F., Karsli, M. F., Uysal, M., Alici, O., Butun, I., and Delibas, I. B. (2016). Protective effect of intravenous lipid emulsion treatment on malathion-induced ovarian toxicity in female rats. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 20(11), 2425-2434.
- Perry, A. S., Yamamoto, I., Ishaaya, I., and Perry, R. Y. (2013). *Insecticides in Agriculture and Environment: Retrospects and Prospects*. Springer Science and Business Media.
- Pierson, R. A. (2019). Human folliculogenesis revisited: the menstrual cycle visualized by ultrasonography. In *the Ovary* (pp. 51-69). Academic Press.

- Prudente, I. R. G., Cruz, C. L., De Carvalho Nascimento, L., Kaiser, C. C., and Guimarães, A. G. (2018). Evidence of Risks of Renal Function Reduction Due To Occupational Exposure to Agrochemicals: A Systematic Review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 63, 21-28.
- Qin, F., Gao, Y. X., Guo, B. Y., Xu, P., Li, J. Z., and Wang, H. L. (2014). Environmental Behavior of Benalaxyl and Furalaxyl Enantiomers in Agricultural Soils. *Journal Of Environmental Science And Health, Part B*, 49(10), 738-746.
- Racke, K. D. (1993). Environmental Fate of Chlorpyrifos. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 1-150.
- Ramana, K.V., Singhal, S.S. and Reddy, A. B. (2014). Therapeutic potential of natural pharmacological agents in the treatment of human diseases. *BioMed research international*, 4 (2014).
- Rao, R. P. and Kaliwal, B. B. (2002). Monocrotophos induced dysfunction on estrous cycle and follicular development in mice. *Industrial health*, 40(3), 237-244.
- Robb, E. L., and Baker, M. B. (2021). Organophosphate Toxicity. In: *StatPearls*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL); 2021. PMID: 29261901.
- Ross, G. (2005). Risks and Benefits of DDT. *The Lancet*, 366(9499), 1771-1772.
- Sabarwal, A., Kumar, K., and Singh, R. P. (2018). Hazardous Effects of Chemical Pesticides on Human Health–Cancer and Other Associated Disorders. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 63, 103-114.
- Sağır, D. (2019). Protective effects of curcumin on liver damage in rats treated with chlorpyrifos during pregnancy. *Medicine Science*, 8(3), 586-591.
- Sak, M. E., Soydinc, H. E., Sak, S., Evsen, M. S., Alabalik, U., Akdemir, F. and Gul, T. (2013). The protective effect of curcumin on ischemia-reperfusion injury in rat ovary. *International Journal of Surgery*, 11(9), 967-970.
- Sakr, S. A., Mahran, H. A. and Abdel-Maksoud, A. M. (2011). Suppressive effect of Ginkgo biloba extract (EGb 761) on topsin induced ovarian toxicity and oxidative stress in albino rats. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, (Issue), 46-54.

- Sharma, D., Sangha, G. K. and Khera, K. S. (2015). Triazophos-induced oxidative stress and histomorphological changes in ovary of female Wistar rats. *Pesticide biochemistry and physiology*, 117, 9-18.
- Shibayama, H., Kotera, T., Shinoda, Y., Hanada, T., Kajihara, T., Ueda, M., ... and Ochi, S. (2009). Collaborative work on evaluation of ovarian toxicity 14) Two-or four-week repeated-dose studies and fertility study of atrazine in female rats. *The Journal of Toxicological Sciences*, 34(Special), 147-155.
- Simon, J. Y. (2014). *The Toxicology And Biochemistry of Insecticides*. Crc Press.
- Sirotkin, AV., Kadasi, A., Stochmalova, A., Balazi, A., Földesiová, M., Makovicky, P., Chrenek, P. and Harrath, A.H. (2018). Effect of turmeric on the viability, ovarian folliculogenesis, fecundity, ovarian hormones and response to luteinizing hormone of rabbits. *Animal* 2018; 12: 1242–1249.
- Sultatos, L. G., and Murphy, S. D. (1983). Kinetic Analyses of The Microsomal Biotransformation of The Phosphorothioate Insecticides Chlorpyrifos and Parathion. *Fundamental and Applied Toxicology*, 3(1), 16-21.
- Tiryaki, O., Canhilal, R., ve Horuz, S. (2010). Tarım İlaçları Kullanımı ve Riskleri. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi, 26(2), 154-169.
- Tiwari-Pandey, R. and Ram Sairam, M. (2009). Modulation of ovarian structure and abdominal obesity in curcumin-and flutamide-treated aging FSH-R haploinsufficient mice. *Reproductive Sciences*, 16(6), 539-550.
- Tossetta, G., Fantone, S., Giannubilo, S.R. and Marzioni, D. (2021). The multifaced actions of curcumin in pregnancy outcome. *Antioxidants (Basel)* 2021; 10: 126.
- Tudi, M., Daniel Ruan, H., Wang, L., Lyu, J., Sadler, R., Connell, D. and Phung, D. T. (2021). Agriculture Development, Pesticide Application and its Impact on The Environment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(3), 1112.
- Turusov, V., Rakitsky, V., and Tomatis, L. (2002). Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT): Ubiquity, Persistence and Risks. *Environmental Health Perspectives*, 110(2), 125-128.

- Uchendu, C., Ambali, S.F. and Ayo, J.O. (2012). The organophosphate, chlorpyrifos, oxidative stress and the role of some antioxidants: a review. *African Journal of Agricultural Research*, 7 (18) (2012); 2720–2728.
- Ukeda, H., Kawana, D., Maeda, S. and Sawamura, M.(1999). Spectrophotometric assay for superoxide dismutase based on the reduction of highly water-soluble tetrazolium salts by xanthine-xanthine oxidase. *Journal of Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 63(3), 485-488.
- Umosen, A. J., Ambali, S. F., Ayo, J. O., Mohammed, B. and Uchendu, C. (2012). Alleviating effects of melatonin on oxidative changes in the testes and pituitary glands evoked by subacute chlorpyrifos administration in Wistar rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(8), 645-650.
- Unsworth J. (2010). *History of Pesticide Use*upac-International Union of Pure and Applied Chemistry, Mai.
- Ventura, C., Nieto, M. R. R., Bourguignon, N., Lux-Lantos, V., Rodriguez, H., Cao, G. and Núñez, M. (2016). Pesticide chlorpyrifos acts as an endocrine disruptor in adult rats causing changes in mammary gland and hormonal balance. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 156, 1-9.
- Viggiano A, Viggiano D, Viggiano A, and Luca BD.(2003). Quantitative histochemical assay for superoxide dismutase in rat brain. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 51(7), 865-871.
- Viswanath, G., Chatterjee, S., Dabral, S., Nangneri, S. R., Divya, G. and Roy, P. (2010). Anti-androgenic endocrine disrupting activities of chlorpyrifos and piperophos. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 120(1), 22-29.
- Wagner, M., Yoshihara, M., Douagi, I., Damdimopoulos, A., Panula, S., Petropoulos, S., ... and Damdimopoulou, P. (2020). Single-Cell Analysis of Human Ovarian Cortex identifies Distinct Cell Populations But No Oogonial Stem Cells. *Nature Communications*, 11(1), 1-15.
- Wartenberg, H. (1982). Development of The Early Human Ovary And Role Of The Mesonephros in The Differentiation of the Cortex. *Anatomy And Embryology*, 165(2), 253-280.

- Watts, M. (2012). Chlorpyrifos as a possible global POP. Pesticide Action Network North America, Oakland, CA. www.pan-europe.info/News/PR/121009_Chlorpyrifos_as_POP_final.pdf.
- World Health Organization (WHO). (2013). International Code of Conduct on the Distribution and Use of Pesticides: Guidelines on Data Requirements for The Registration of Pesticides (No. Who/Htm/Ntd/Whopes/2013.7). World Health Organization.
- World Health Organization. (2019). Detoxifying Agriculture and Health From Highly Hazardous Pesticides: A Call For Action.
- World Health Organization. (2020). The Who Recommended Classification of Pesticides By Hazard And Guidelines To Classification 2019. World Health Organization.
- Yadav, I. C., and Devi, N. L. (2017). Pesticides Classification and its impact on Human and Environment. *Environmental Science and Engineering*, 6, 140-158.
- Yalçın, A. S., Yılmaz, A. M., Altundağ, E. M., ve KoçtürK, S. (2017). Kurkumin, kuersetin ve çay kateşinlerinin anti-kanser etkileri. *Marmara Pharmaceutical Journal* 21: 19-29
- Yallapu, M. M., Maher, D. M., Sundram, V., Bell, M. C., Jaggi, M., and Chauhan, S. C. (2010). Curcumin induces chemo/radio-sensitization in ovarian cancer cells and curcumin nanoparticles inhibit ovarian cancer cell growth. *Journal of ovarian research*, 3(1), 1-12.
- Yan, Z., Dai, Y., Fu, H., Zheng, Y., Bao, D., Yin, Y., ... and Cui, Y. (2018). Curcumin exerts a protective effect against premature ovarian failure in mice. *Journal of molecular endocrinology*, 60(3), 261-271.
- Yavuz T., Altuntas I., Delibas N., Yildirim B., Candir O., Cora A., Karahan N., Ibrisim E. and Kutsal A.(2004). Cardiotoxicity in rats induced by methidathion ameliorating effect of vitamins E and C. *Hum Exp Toxicol* 2004; 23: 323–29.
- Yavuz, T., Delibas, N., Yildirim, B., Altuntas, I., Candir, O., Cora, A., Karaman, N., Ibrisim, E., Kutsal, A. (2004). Vascular wall damage in rats induced by methidathion and ameliorating effect of vitamins E and C. *Archives of toxicology*, 78(11), 655-659.

Zacharia, J. T. (2011). Identity, Physical and Chemical Properties of Pesticides. Pesticides in The Modern World-Trends in Pesticides Analysis, 1-18



EK-1: Tez Önerisi Kabul Formu

	SINOP ÜNİVERSİTESİ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ YÖNETİM KURULU KARARI		
OTURUM TARİHİ 23.08.2021	OTURUM SAYISI 22	KARAR SAYISI 2021/284	
KARAR NO 2021-284: Enstitümüz Disiplinlerarası Çevre Sağlığı Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Gonca GÜLSOY'un yeni tez önerisine ilişkin Disiplinlerarası Çevre Sağlığı Anabilim Dalı Başkanlığının E.39078 sayılı yazısı görüşüldü. Yapılan görüşme sonucunda; Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğimizin 35. Maddesine göre, ilgili Anabilim Dalı Başkanlığının önerisi doğrultusunda, tez konusunun aşağıdaki şekliyle kabulüne, tez çalışması etik kurul onayı gerektirdiğinden onay alındıktan sonra tez çalışmasına başlamasına, durumun ilgili Disiplinlerarası Çevre Sağlığı Anabilim Dalı Başkanlığı'na bildirilmesine oybirliği ile karar verildi.			
ÖĞRENCİNİN;			
Adı Soyadı	EABD	Akademik Danışmanı	
Gonca GÜLSOY	Disiplinlerarası Çevre Sağlığı	Dr. Öğr. Üyesi Dilek SAĞIR	
Tezinin Adı	Klorprifosun Gelişmekte Olan Sıçan Ovaryumunda Oluşturduğu Toksikite Üzerine Kurkuminin Koruyucu Etkisinin Histolojik Olarak İncelenmesi		
Prof. Dr. Hakan UŞAKLI (Başkan)	(İmza)	Doç. Dr. Murat SARIKAYA (Üye)	(İzinli)
Dr. Öğr. Üyesi Sevda YILDIZ (Üye)	(İmza)	Doç. Dr. Rıza BAYRAK (Üye)	(İmza)
Dr. Öğr. Üyesi Adem ORAKÇI (Üye)	(İmza)	Dr. Öğr. Üyesi Fatma KOÇAK (Üye)	(İzinli)
 ASLI GİBİDİR  Adem Kürşat KESKİN Enstitü Sekreteri			

KYT-FRM-133/00

EK-2: Etik Kurul Onayı



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : E-68489742-604.02.03-209057
Konu : 09/02/2022 tarihli dilekçeniz hk.

DR. ÖĞR. ÜYESİ DİLEK SAĞIR

09/02/2022 tarihli dilekçenizde “Prenatal dönemde oganofosforlu pestisitlere maruz kalan sıçanların hipokampusları üzerine curcumin ve *Ganoderma lucidum*’un etkilerinin araştırılması” başlıklı 2016/24 nolu projeden elde edilen kadavra dokuları üzerinden “Klorprifosun Gelişmekte Olan Sıçan Ovaryumunda Oluşturduğu Toksisite Üzerine Kurkumin ve *Ganoderma lucidum*’un Koruyucu Etkisinin İncelenmesi” ve “Klorprifosun Gelişmekte Olan Sıçan testisinde Oluşturduğu Toksisite Üzerine Kurkumin ve *Ganoderma lucidum*’un Koruyucu Etkisinin İncelenmesi” konulu yeni bir çalışma yapma talebiniz kurulumuzca uygun görülmüştür.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ
HADYEK Başkanı

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Kodu : 8B52-E2D7-0047 Belge Doğrulama Adresi : <https://ebyssorgu.omu.edu.tr>

Adres: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Rektörlüğü

Telefon No : 0362 312 19 19

e-Posta : omu@omu.edu.tr

Fax No : 0362 457 60 91

İnternet Adresi : <http://www.omu.edu.tr/>

Bilgi İçin : Hayriye ÇELİK

Veri Giriş Personeli

Telefon No:



EK-3: Özgeçmiş

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Gonca GÜLSOY

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : MUSTAFA GÜLŞEN ÇINAROĞLU Anadolu Lisesi, 2009

Lisans : Marmara Üniversitesi, 2014

Yüksek Lisans : -

Mesleki Deneyim

İş Yeri : Arnavutköy Toplum Sağlığı Merkezi(İstanbul), Sağlık
Bakanlığı, 2015-2016

İş Yeri : Taşköprü İlçe Sağlık Müdürlüğü (Kastamonu), Sağlık Bakanlığı,
2016-...

Yayın Listesi :