



**MALATHİON İLE OKSİDATİF STRES
OLUŞTURULAN RATLARDA FERULİK
ASİTİN ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

Sermet GENAY

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Ulaş ACARÖZ

Tez No: 2022-040

Afyonkarahisar

**T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ**

**MALATHİON İLE OKSİDATİF STRES OLUŞTURULAN
RATLARDA FERULİK ASİTİN ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

Sermet GENAY

**BESİN\GIDA HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Danışman

Doç. Dr. Ulaş ACARÖZ

Tez No: 2022-040

AFYONKARAHİSAR

Bu tez çalışması; Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAPK) Tarafından Desteklenmiştir. Proje No: “20.SAĞ.BİL.26”

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Besin ve Gıda Teknolojisi Anabilim Dalı'nda** Sermet GENAY tarafından hazırlanan “Malathion İle Oksidatif Stres Oluşturulan Ratlarda Ferulik Asitin Etkisinin Araştırılması” adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca 16/09/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **oy birliği** ile **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Prof. Dr. Zeki GÜRLER

İmza

Üye

Doç. Dr. Ulaş ACARÖZ

İmza

Üye

Doç. Dr. Halil YALÇIN

İmza

Afyon Kocatepe Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
..... / / tarih ve
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Esmâ KOZAN

Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bilimsel Yayın Etiği İlkeleri ve Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü Afyon Kocatepe Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

.../ ... /.....

İmza

Sermet GENAY

ÖZET

MALATHİON İLE OKSİDATİF STRES OLUŞTURULAN RATLARDA FERULİK ASİTİN ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

Malathion yaygın olarak kullanılan organofosfatlı bir pestisittir. Bu madde, zirai alanda yararları olduğu kadar bilişsiz kullanımı halk sağlığını ve ekosistemi olumsuz etkileyecek zararlara da neden olabilir. Bu çalışmada malathion ile oksidatif stres oluşturan ratlarda, ferulik asitin olası koruyucu etkisinin araştırılması amaçlandı. Çalışmada 42 adet Wistar Albino Rat kullanıldı ve altı farklı grup oluşturuldu; Birinci Grup negatif kontrol, 2. grup yağ grubu, 3. grup pozitif kontrol (30 gün boyunca oral yolla 27 mg/kg dozunda malathion verildi.) olarak belirlendi. Ayrıca diğer 4, 5, 6. gruplara da 30 gün süreyle, günde bir defa olacak şekilde oral yolla 27 mg/kg malathion ile beraber sırasıyla günde 12,5 mg/kg, 25 mg/kg, 50 mg/kg dozunda gastrik gavaj yoluyla ferulik asit uygulandı. 30 gün süren çalışmanın sonucunda ratlardan alınan kan, kalp, karaciğer, böbrek, beyin, akciğer ve testis dokularında antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, CAT), lipid peroksidasyon (MDA), glutatyon (GSH) değerleri analiz edildi ve histopatolojik incelemeler gerçekleştirildi. Ayrıca ratlardan alınan karaciğer ve böbrek doku örneklerinden IFN- γ , TNF- α ve NFkB proinflamatuvar genlerinin moleküler analizi gerçekleştirildi. Malathion uygulaması antioksidan enzim aktivitelerinde azalmaya neden oldu. Ayrıca, malathion uygulaması glutatyon seviyelerinide azalmaya neden olurken lipid peroksidasyon seviyelerini yükseltti. Proinflamatuvar genlerin ekspresyon düzeylerinde artışa neden oldu ve dokularda histopatolojik değişikliklere neden oldu. Ferulik asit uygulaması bu olumsuz etkileri tersine çevirdi ve en yüksek etkisi 50 mg/kg dozda görüldü. Çalışma sonucunda, malathion tarafından indüklenen oksidatif strese karşı doğal antioksidan olan ferulik asitin etkili bir koruyucu olduğu tespit edildi

Anahtar Kelimeler: ferulik asit, lipid peroksidasyon, malathion, oksidatif stres, wistar albino rat,

SUMMARY

DETERMINATION OF THE EFFECTS OF FERULIC ACID AGAINST MALATHION-INDUCED OXIDATIVE STRESS IN RATS

Malathion is a widely used organophosphate pesticide. While this substance has benefits in the agricultural field, its unconscious use may also cause harm that will adversely affect public health and the ecosystem. In this study, it was aimed to investigate the possible protective effect of ferulic acid in rats that caused oxidative stress with malathion. In the study, 42 Wistar Albino Rats were used and six different groups were formed; Group 1 was determined as negative control, Group 2 as oil group, Group 3 as positive control (27 mg/kg malathion was given orally for 30 days). In addition, the other 4th, 5th, and 6th groups were administered orally, once a day for 30 days, with 27 mg/kg malathion and ferulic acid was applied by gastric gavage at a dose of 12.5 mg/kg, 25 mg/kg, and 50 mg/kg per day, respectively. As a result of the study that lasted for 30 days, antioxidant enzyme activities (SOD, CAT), lipid peroxidation (MDA), glutathione (GSH) values were analyzed and histopathological examinations were performed in blood, heart, liver, kidney, brain, lung and testes tissues taken from rats. In addition, molecular analysis of IFN- γ , TNF- α and NFkB proinflammatory genes was performed from liver and kidney tissue samples taken from rats. Malathion application caused a decrease in antioxidant enzyme activities. In addition, malathion administration caused a decrease in glutathione levels and increased lipid peroxidation levels. It caused an increase in the expression levels of proinflammatory genes and caused histopathological changes in tissues. Ferulic acid administration reversed these negative effects and the highest effect was seen at 50 mg/kg dose. As a result of the study, it was determined that ferulic acid, a natural antioxidant, has a protective effect against oxidative stress induced by malathion.

Keywords: ferulic acid, lipid peroxidation, malathion, oxidative stress, wistar albino rat

ÖNSÖZ

Çalışmalarım boyunca beni değerli yardım ve katkılarıyla yönlendiren, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, bilim yolunda ufkumu genişleten, saygıdeğer hocam Sayın Doç. Dr. Ulaş ACARÖZ'e, Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Doç. Dr. Zeki GÜRLER, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı hocalarımız Doç. Dr.Recep KARA, Doç. Dr. Damla Arslan ACARÖZ'e, Öğr. Gör. Ali SOYLU ile Dr. Öğretim Üyesi Fahriye Zemheri NAVRUZ ve Dr. Öğretim Üyesi Hasan Hüseyin DEMİREL'e, meslektaşım Gıda Mühendisi Valat DEMİRHAN'a ve hayattaki yoldaşım, eşim Ayşenur GENAY'a tüm içtenliğimle teşekkür ederim. Tez çalışması Afyon Kocatepe Üniversitesi BAP koordinatörlüğü tarafından AKÜ-BAP 20.SAĞ.BİL.26 kodlu proje kapsamında desteklenmiştir. Verilen desteklerden dolayı teşekkürlerimi iletirim.

Sermet GENAY

Afyonkarahisar

2022

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖZET	I
SUMMARY	II
ÖNSÖZ SAYFASI	III
İÇİNDEKİLER	IV
KISALTMALAR DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER	VII
RESİMLER	VIII
ÇİZELGELER	IX
1. GİRİŞ	1
2.GENEL BİGİLER	3
2.1. Pestisitler	3
2.2. Pestisitlerin Etki Ettikleri Canlıların Türlerine Göre Sınıflandırılması	3
2.3. Pestisitlerin Genel Sınıflandırılması	4
2.4. Pestisitlerin İnsan Sağlığına Etkileri	6
2.4.1.Oksidatif Stres	6
2.4.2. Serbest Radikaller ve Türleri	7
2.4.3. Malathion	8
2.4.4 Malathionun Oluşturduğu Doku Hasarı	9
2.5. Antioksidanlar	10
2.5.1. Enzimatik Kaynaklı Antioksidanlar	10
2.5.1.1. SOD (Süperoksit dismutaz)	10
2.5.1.2. Katalaz (CAT)	11
2.5.1.3. Malondialdehit (MDA)	12
2.5.1.4. Redükte Glutasyon (GSH)	12
3.MATERYAL ve METOT	14
3.1 Hayvan Materyali	14
3.2 Deneysel Aşama	14
3.3. Anestezi ve Sakrifikasyon Aşaması	15
3.4. Doku Homojenizasyonu	15

3.5. Süperoksid Dismutaz (SOD) ve Katalaz (CAT) Aktivitesinin Tayini	16
3.6. Malondialdehit (MDA) ve Redükte Glutasyon (GSH) Tayini	16
3.7. Histopatolojik Değerlendirme	17
3.7.1. Doku Takibi	17
3.8. Moleküler Analizler	18
3.9. İstatiksel Analiz	19
4.BULGULAR	20
4.1 Oksidatif Stres Parametrelerindeki Değişimler	20
4.1.1 Dokularda ve Kanda MDA Düzeyi	21
4.1.2 Dokularda ve Kanda GSH Düzeyi	22
4.1.3 Dokularda ve Eritrositlerde CAT Aktivite Düzeyi	23
4.1.4 Dokularda ve Eritrositlerde SOD Aktivite Düzeyi	24
4.2 Histopatolojik Bulgular	25
4.2.1 Beyin Dokusu Histopatolojik İncelemesi	25
4.2.2 Akciğer Dokusu Histopatolojik İncelemesi	26
4.2.3 Kalp Dokusu Histopatolojik İncelemesi	27
4.2.4 Karaciğer Dokusu Histopatolojik İncelemesi	28
4.2.5 Böbrek Dokusu Histopatolojik İncelemesi	29
4.2.6 Testis Dokusu Histopatolojik İncelemesi	30
4.3. Moleküler Sonuçlar	31
5. TARTIŞMA	34
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	46
7. KAYNAKLAR	47
8. EKLER	57
8.1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı	57
ÖZGEÇMİŞ	58

KISALTMALAR DİZİNİ

CAT: Katalaz

CU : Bakır İyonu

Cu/ ZnSOD: Bakır-Çinko Süperoksit Dismutaz

DDT : Dikloro Difenil Trikloretan

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

EPA : Çevre Koruma Kurumu

GSH: Redükte Glutasyon

GSH-Px: Glutasyon Peroksidaz

GSSG: Yükseltgenmiş Glutasyon

H₂O₂: Hidrojen Peroksit

KCN : Potasyum Siyanür

Kg : Kilogram

LD₅₀ : Lethal Doz

LPA: Lipid Peroksidasyonu

MDA: Malondialdehit

Mg: Miligram

MnSOD : Manganez Süperoksit Dismutaz

NBT : Nitroblue Tetrazolium

NF-kb: Nükleer Faktör Kappa B

ppm: Milyonda Bir Kısım

ROS: Reaktif Oksijen Türler

SOD: Süperoksit Dismutaz

TOS : Total Oksidan Durum

WHO: Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)

ŞEKİLLER

	SAYFA
Şekil 2.1 Hücre Hasarı (Serbest Radikallerden Kaynaklı)	7
Şekil 2.2 Malathion Genel Şekli	8
Şekil 4.1 IFN- Gamma Seviyelerinin Böbrek Dokusudaki mRNA Ekspresyon Düzeylerindeki Değişimi	23
Şekil 4.2 IFN- Gamma Seviyelerinin Karaciğer Dokusudaki mRNA Ekspresyon Düzeylerindeki Değişimi	24
Şekil 4.3 Nfkb Seviyelerinin Böbrek Dokusu mRNA Ekspresyon Düzeylerindeki Değişimi	24
Şekil 4.4 Nfkb Seviyelerinin Karaciğer Dokusu mRNA Ekspresyon Düzeylerindeki Değişimi	25
Şekil 4.5 TNF Alfa Seviyelerinin Karaciğer Dokusu mRNA Ekspresyon Düzeylerindeki Değişimi	25
Şekil 4.6 TNF Alfa Seviyelerinin Böbrek Dokusu mRNA Ekspresyon Düzeylerindeki Değişimi	26

RESİMLER

	SAYFA
Resim 4.1 Histopatolojik Değerlendirme-Beyin Dokusu	29
Resim 4.2 Histopatolojik Değerlendirme-Akciğer Dokusu	30
Resim 4.3 Histopatolojik Değerlendirme-Kalp Dokusu	31
Resim 4.4 Histopatolojik Değerlendirme-Karaciğer Dokusu	32
Resim 4.5 Histopatolojik Değerlendirme-Böbrek Dokusu	33
Resim 4.6 Histopatolojik Değerlendirme-Testis Dokusu	33



ÇİZELGELER

	SAYFA
Çizelge 3.1 Araştırmada Değerlendirilen Primer Serileri	19
Çizelge 4.1 Kanda ve Dokular İçerisindeki MDA Seviyesi	27
Çizelge 4.2 Kanda ve Dokular İçerisindeki GSH Seviyesi	27
Çizelge 4.3 Dokularda ve Eritrositerde CAT Seviyesi	28
Çizelge 4.4 Dokularda ve Eritrositlerde SOD Seviyesi	29



1. GİRİŞ

Artan nüfus karşısında insanoğlu, tarıma müdahale etmeden ihtiyaçları karşılayamaz olmuştur. Bugün ve gelecekte hızla artmakta olan nüfusa karşı paralel olarak ilerleyen bir zirai çalışma oluşmuştur. Bu zirai çalışmayla istenen ihtiyaçları karşılama konusunda artış sağlanmış olsa da bu henüz yeterli değildir. Böylece tüm dünyada kolayca kabul edilmiş olan pestisit ve tarım koruyucu ilaçlar gün geçtikçe daha fazla kullanılmakta, kullanıldıkça tüketim piramidine dâhil olan insanoğlu da bundan payını almaktadır. Sadece insanoğlu için değil, besin piramidindeki tüm canlılar da direkt veya dolaylı yollardan etkilenmektedir. Pestisit ve tarım koruyucu ilaçların zehirli olduğu bilinmektedir. Tahmin ediliyor ki, pestisitler her yıl 3 milyon kişide önemli ölçüde zehirlenmelere sebep olmakta ve 220 000 kişinin de yaşamını yitirmesine neden olmaktadır (Ojha vd., 2013). Ayrıca Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nın de yaptığı bir araştırma, pestisitlerin çok sayıda ülkede zehirlenmelere, hatta ölümlere neden olduğu insanlığa bildirilmiştir (WHO, 1997).

Pestisitler her an her yerde bulunabildiğinden dolayı canlılara yüksek riskler oluşturmaktadır. Doğada toz halde bulunan pestisitler hava ile taşınabilmekte, güvenli sandığımız gıdalarımıza bulaşabilmektedir. Toprakta çözünemeyen pestisitler ise toprakta kalıntı halde durabilmekte ve yetiştirdiğimiz ürünlerimizin yapısına biz fark etmeden katılabilmektedir. Aldrin gibi bazı pestisitler yasaklanmış olup kullanımı kaldırılmıştır. Bazılarının ise kullanımına kısıtlama getirilerek devam edilmiştir. Ülkemizde pestisit alanında çalışmalar yetersiz ve geç olduğu için bu durum aynı zamanda ülkemize ekonomide zarar olarak geri dönebilmektedir. Doğal tarımın neredeyse bitmek üzere olduğu tüm dünyada bizleri pestisit adı verilen bu zehirli maddeler kuşatmakta, günümüz ve gelecek nesilleri tehdit etmektedir.

Organofosfatlar (fosfat esterleri), fosforik asit esterleri olarak kabul edilebilirler. Pestisitler arasında organofosfatlar, toplam zehirlenmenin %50'sini oluştururlar. Organofosfatların sinirler üzerindeki tahribatının da ciddi bir tehlike olduğu bilinmektedir (Karami-Mohajeri ve Abdollahi, 2011). Malathionun ratlar üzerinde oksidatif stres oluşturduğu ve bu oksidatif stresten canlıların olumsuz etkilendiği kabul edilmektedir. Bu araştırmada oksidan özelliğe sahip malathion maruziyeti ile

oluşabilecek oksidatif strese karşı ferulikasit'in olası koruyucu etkisinin belirlenmesi amaçlanmaktadır.

Yaptığımız çalışmada bir organofosfat olan malathionun ratlarda beyin, karaciğer, akciğer, böbrek ve üreme sistemi üzerine olan etkileri görölmek istenmiştir. Bu sebeple bahsi geçen dokulardan hücre analizleri yapılmıştır. Toplam 30 adet sprague Dawley soyundan yetişkin erkek rat rastgele olarak seçilmiş ve gruplara ayrılmıştır. Malathiona karşı ferulikasitin etkilerini görmek için altı grup seçilmiştir. Malathion'un rat serum parametrelerinin doza bağımlı akut süreli etkilerini görmek amacıyla 12,5 mg/kg, 25 mg/kg, 50 mg/kg ferulikasit dozları incelenmiş, total oksidan durum (TOS) düzeyi, tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- α) ve lipit peroksidasyon ürünü olan malondialdehit (MDA) düzeyi ölçölmüştür.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Pestisitler

Pestisitler, pest adı verilen tarım zararlılarının etkisiz hale getirilmesi amacıyla kullanılan kimyasallardır. Geniş anlamda tanımı; pest adı verilen; tarım kaynaklı ürünlere bulaştıklarında sayısal olarak artarak ya da söz konusu tarım ürünlerini tüketerek tarıma zarar veren canlıları yaşamsal faaliyetlerini sonlandıran maddelerdir. Pestlerin tarım ürünlerinin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin bozulmasında önemli bir etken neden olduğu, verimde göz ardı edilemez düşümlere ve tüketicilerde sağlık problemlerine neden oldukları bilinmektedir. Pestler arasında alg, böcek, bakteri, mantar, rat gibi canlılar vardır. Pestisitler burada bahsi geçen canlılara karşı öldürücü olarak kullanılmaktadır. Bundan dolayı isimlerini etki ettikleri canlılardan almaktadırlar. Örnek olarak; insektleri öldürenlere insektisitler, rodentleri öldürenlere de rodentisitler adı verilmektedir (Doğan, 2012). Pestisitleri fiziksel yapılarına göre, etkiledikleri zararlıya göre, zehirlilik derecesi ve kaynaklarına göre sınıflandırılabilir. Bu sınıflandırma pestisitlerin farklı alt dallarının oluşmasına neden olmuştur. Pestisitler etki ettikleri canlıların türlerine göre aşağıdaki şekilde sınıflandırılmaktadırlar.

2.2. Pestisitlerin Etki Ettikleri Canlıların Türlerine Göre Sınıflandırılması

1. Afisitler: Yaprak bitlerine karşı kullanılan ilaçlar için kullanılmaktadır.
2. Akarisitler: Akarlara karşı kullanılmaktadır.
3. Algisitler: Algilere karşı kullanılan pestisitler için kullanılmaktadır.
4. Arbositler: Ağaçlara karşı kullanılan ilaçlar için kullanılmaktadır.
5. Fungusitler: Mantarlara karşı kullanılan pestisitler için kullanılmaktadır.
6. Herbisitler: Yabani otlara karşı kullanılmaktadır.
7. İnsektisitler: İnsektlere (böceklerle) karşı kullanılmaktadır.
8. Rodentisitler: Kemiricilere karşı kullanılmaktadır.

Yukarıdakiler dışında ovisitler, molluskisitler, avisitler, nematositler vb. gibi pestisitler de vardır. Yukarıdakiler arasında herbisitler en fazla kullanılanlarıdır. İnsektisitler de

bütün dünyada oldukça yaygın olarak kullanılan pestisitler arasındadır (Doğan, 2012). Pestisitlerin çok çeşitli kimyasal yapıya sahip bileşiklerden oluştuğu yukarıda da belirtilen sınıflandırmadan kolaylıkla anlaşılabilir. Öyle ki, etkiledikleri biyolojik yapıların çok çeşitli olması, bir kimyasal maddenin tümüne aynı tesirlikte etkili olmadığını da ortaya çıkarmaktadır. Buradaki en önemli etken ise canlıların birbirinden farklı biyolojik yapıya ve fizyolojik özelliğe sahip olmalarıdır. Bundan dolayı, bu kadar geniş bir aralığa sahip olan pestisitlerin takip ve kullanımında önemli kolaylıklar sağlayacak bir sınıflandırma elzem olmaktadır.

2.3. Pestisitlerin Genel Sınıflandırılması

1. Etki hızları
2. Etki şekilleri
3. Etkiledikleri canlı çeşidi (yukarıda verilmiştir),
4. Zehirlilik
5. Kalıcılık
6. Formülasyon
7. Kimyasal yapı ve kaynak

En çok kullanılan dört sınıflandırma içerisinde, kimyasal yapı ve kaynak önemli bir yere sahiptir. Bu sınıflandırmaya göre pestisitler doğal organik maddeler, sentetik organik maddeler ve inorganik maddeler şeklinde üç başlıkta incelenebilmektedir (Kaya vd., 2002).

Pestisitlerin sınıflandırılmasında kullanılan diğer bir yöntem ise zehirlilik türüne göre yapılabilir. Bu sınıflandırmada amaç insektisitlerin toksik etkilerinin anlaşılmasıdır. Bu sınıflandırmadaki amaç pestisitlerin hedef ve hedef olmayan organizmalardaki toksik etkilerinin ve özellikle insanlar üzerindeki toksik etkilerinin anlaşılmasıdır. Pestisitler sadece kullanıldıkları hedef canlılara değil, aynı zamanda çevrede bulunan canlılara da etki etmektedirler. Bu etki alanı içerisinde kalan canlılar arasında özellikle besin zincirinin üst sınıflarında bulunan memeliler gelmektedir. Memelilerde paraziter olarak kullanıldıklarından dolayı yanlış ve/veya gereğinden

yüksek dozda kullanımları önemli kayıplara veya tahribatlara neden olabilmektedir. Bundan dolayı insektisitlerin toksik kuvvetlerinin iyi bilinmesi gerekmektedir. Toksik etkilerinin anlaşılması ve değerlendirilmesi amacıyla ilaçların LD50 düzeyleri dikkate alınmalıdır (Doğan, 2012). Bundan dolayı pestisitlerin uygulanmasında doz ayarlamalarında oldukça hassas davranmak önem arz etmektedir. Tehlike arz eden bu pestisitlerin kullanımında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ile Çevre Koruma Kurumu (EPA)'nın belirlediği toksisite durumları muhakkak dikkate alınmalı ve uygulamalar veriler doğrultusunda yapılmalıdır. Pestisitlerin kullanımından kaynaklı zehirlenmeler doğrudan ya da dolaylı olarak ortaya çıkabilmektedir. Canlının türü, uygulanan pestisit dozu, dozun tekrarlanması, çevrenin ısısı, pestisit kimyasal yapısı vb. şartlar zehirlenmelerin ne şekilde ortaya çıkacağını direkt olarak etkilemektedir. Canlı vücudunda metabolize olma hızı düşük olan ve birikme eğilimi gösteren pestisitler nitelikli beş kronik zehirlenmeye sebep olabilmektedir. Bu kronik zehirlenmeler pestisit fazla dozda ve uzun süre tekrarlanarak alınması sonucu görülmektedir. Zehirlenme belirtileri bir ay veya daha fazla zaman sonra görülmektedir. Dokularda organik değişiklikler geliştiğinden dolayı bu tip zehirlenme tedavilerinde çoğu zaman sorunlarla karşılaşmaktadır. Bununla birlikte ani ölüm riski düşüktür. İn vivo olarak hızla yıkılıp vücuttan kısa sürede atılan pestisitler canlıda akut bir zehirlenmeye neden olmaktadır. Bu tip zehirlenmeler bir dozda ortaya çıkmaktadır. Akut bir zehirlenme belirtisi görebilmek için bu tür etkili ilaçların yeteri bir dozda alınmaları ve yüksek toksisiteye sahip olmaları gerekmektedir. Bununla beraber bazı pestisitler tek dozda alındığında etkileri aylar sonra ortaya çıkabilmekte, akut bir zehirlenme belirtisi göstermemektedirler. Bu tip zehirlenmelere gecikmiş akut toksikasyon denilmektedir.

Pestisitler hem gelişmiş ülkelerde hem de az gelişmiş ülkelerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Uygun olmayan bazı uygulamalardan dolayı akut zehirlenmelere sebep olmaktadır. Çevre ya da besin kirlilikleriyle birlikte toksisitesi düşük olan pestisitler ise insan sağlığına ciddi zararlar verebilmektedir (Dökmeci, 2001:103 ve Bond vd., 1974).

Yapılan bir araştırmada organofosfatlı pestisitlerin kontakt dermatite sebep olduğu tespit edilmiştir (Bonamonte vd., 2001). Pestisitlerden ekosistemi en çok etkileyen Dikloro Difenil Trikloretan (DDT)'dir. DDT, tüketici piramidinde son sırada yer alan

insanda bile ciddi sorunlara sebep olabilmekte, yaşam şartlarını zorlaştırmaktadır. DDT'nin birçok izomeri vardır. Saf haldeyken beyazımsı-krem rengi, kokusuz ve kristal haldedir. Böceklerle etki yolu değme ve mide yoluyladır. İnsanlarda bu etki genellikle dolaylı yollardandır. Pestisitlerin kullanımıyla birlikte tarımda yüksek verim elde edilmiştir. Fakat bu verim, beraberinde pestisitlerin zararlarını da getirmiştir. Pestisitler dokulara, sistemlere, hücre yapısına ve hücre metabolizmasına zarar verebilmektedir. Aynı zamanda pestisitlerden kaynaklı radikal oluşum da hücre faaliyetlerini bozabilmekte hücrenin oksijen yapı dengesini olumsuz yönde etkileyebilmektedir.

Serbest radikaller, bilindiği üzere birden çok ortak olmamış elektron ihtiva eden moleküllere veya atomlara denmektedir. Canlı sistemlere ait başta gelen serbest radikaller: oksijen, oksijenin radikalleri, hidrojen peroksit, süperoksit, hidroksil radikali ve geçiş metallerinin radikalleridir. Hücrenin DNA, protein, lipid ve enzim gibi çeşitli bileşiklerini etkiledikleri bilinmektedir. Bu hasarları önlemek amacıyla antioksidanlar savunma sistemi olarak kullanılmakta, zararlar yok edilmekte veya en aza indirilmektedir (Akkuş, 1995).

Pestisitlerin, günümüzde kullanılması neredeyse kaçınılmazdır. Artan nüfus göz önüne alındığında, pestisit kullanılmadan tarımdan yeterli verim elde etmek neredeyse olanaksız hale gelmiştir. Bazı pestisitler yasaklanmışken bazılarına ise kısıtlamalar getirilmiştir.

2.4. Pestisitlerin İnsan Sağlığına Etkileri

Yapılan çalışmalarda pestisitlerin nörolojik hastalıklar, solunumda güçlük, doğum bozuklukları, üreme bozuklukları, deri ve endokrinolojik konular üzerinde etkileri bulunmaktadır (Kesavachandran vd., 2009). Bununla birlikte pestisite maruz kalma ile tümör oluşumu, genotoksisite ve hematolojik kanser arasında pozitif bir korelasyondan söz etmek mümkündür (Bassil vd., 2007).

2.4.1. Oksidatif Stres

Oksidatif stres kısaca bitki ve hayvan hücrelerinin, reaktif oksijen ve azot türlerinden zarara uğraması olarak tanımlanmaktadır. Bir organizmada serbest radikallerin ve diğer aktif oksijen metabolitlerinin aşırı düzeyde oluşması ve/veya bunları ortadan kaldıran antioksidan sistemlerinin yetersiz kalması durumunda oksidatif stres meydana

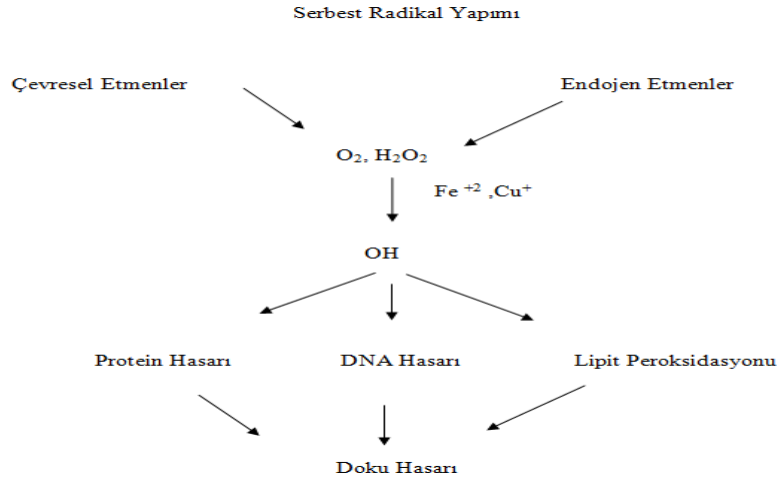
gelmektedir (Rahman vd., 2012). Malathion'a bağlı oksidatif stress iki saat sonra saptanmaktadır (Lasram vd., 2008). Canlı hücrelerdeki antioksidan düzeyi düştüğü zaman oksidatif stres gelişmektedir. Bu nedenle hücre savunma mekanizmasında antioksidan enzimlerinin aktivite durumu önemlidir (İnce vd, 2010). Oksidatif stres birçok olumsuzluğu yanında getirmektedir. Parkinson hastalığı, down sendromu, yaşlanma hızında artış, kalp hastalıkları, aterogenez, kanser, serebrovasküler bozukluklar, amfizem, böbrek yetmezliği ve karaciğer hastalığı oksidatif stresin neden olduğu hastalıklardandır.

Oksidatif stres doğal olarak gelişen bir mekanizmadır, oksidatif stresi kontrol altına alan özel mekanizmalar vardır. Mevcut mekanizmaların yetersizliği durumunda oksidatif hasar oluşmaktadır (Floyd, 1992).

2.4.2. Serbest Radikaller ve Türleri

Birden fazla elektron buluduran veya ortak olmayan (dış yörüngesinde) elektrona sahip olan moleküller serbest radikal olarak tanımlanabilmektedir (Clarkson, 2000). Bu radikallerin reaktif etkisi çok yüksektir ve diğer moleküllerden bir elektronu kolayca alabilmekte veya elektron verebilmektedirler. Bundan dolayı yükseltgen veya indirgen etki göstermektedirler. Ayrıca reaktif etkinin yüksek olması nedeniyle radikallerin çoğunun biyolojik sistemlerdeki yarılanma ömürleri oldukça kısa olmaktadır. Vücuttaki tüm hücrelerde normal olarak serbest radikal üretimi durmaksızın oluşmakta ancak bu durum beraberinde birçok hastalığa neden olabilmektedir (Young, 2001). Şekil 2.1' de doku hasarının oluşumu gösterilmektedir.

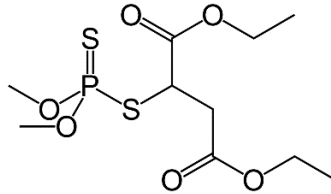
Serbest radikallerin kaynağı nitrojen veya oksijendir. Reaktif nitrojen türleri (RNS) nitrojen kaynağından olanlar, reaktif oksijen türleri (ROS) ise oksijen kaynaklı olanlardır (Valko, M. ve ark., 2007). Reaktif oksijen türleri (ROS) şunlardır; hidroksil (OH⁻), süperoksit (O₂⁻), alkoksil (RO⁻), peroksil (ROO⁻) ve lipit peroksil (LOO⁻). Reaktif nitrojen türlerinde de nitrojen dioksit (NO₂) ve nitrik oksit (NO⁻)'i saymak mümkündür (Valko vd., 2007; Pham-Huy vd., 2008).



Şekil 2.1 Hücre hasarı (Serbest radikallerden kaynaklı) (Aslan ve ark., 1995)

2.4.3. Malathion

Malathion tarımda, sivrisinek eradikasyonunda, haşere ile mücadele programlarında kullanılan bir pestisitir. En sık Amerika Birleşik Devletleri'nde insektisit (böcek öldürücü) olarak kullanıldığı bilinmektedir. Malathion genel şekli şekil 2.2'deki gibidir:



Şekil 2.2 Malathion Genel Şekli

Malathion bir organofosfat insektisidir ve asetilkolinesteraz inhibitörü olarak işlev görmektedir. Malathion ülkemizde ve dünyada zirai mücadelede kullanılmaktadır. Hedef olmayan canlılarda da toksik etkiye neden olmakta ve başta memeliler bu toksik etkiye maruz kalmaktadır.

Malathion ile zehirlenmeler ürünün saflığı ve maruz kalma yolları ilişkilidir (Karmin, 2000). Beslenmede alınan protein diğer etkenlerdendir. Malathion'un toksisitesi ratlarda protein alımıyla ters orantılı olduğu bildirilmiştir (Carlson, 1987). Malathion yaygın kullanıldığında insanlarda bazı akut ve kronik zehirlenmelere yol açabilmektedir.

Asetilkolin esteraz, malathion gibi organofosfatlı bileşikler tarafından inhibe edilmekte, asetilkolinin birikmesine neden olmaktadır (Hazarika vd., 2003). Organofosfatların hayvanlarda ve insanlarda oksidatif strese neden olduğu bilinmektedir (Akhgari vd., 2003). Malathion, oksidatif stress (Alp vd., 2011), metabolik bozukluklar (Lasram vd., 2009) ve immunotoksisite (Nain vd., 2011) gibi çeşitli biyotransformasyonlar ile ilişkilendirilmiştir. Malathion'un en önemli biyotransformasyonu karaciğerde görülmektedir. Bundan dolayı malathiona bağlı toksisite söz konusu olduğunda enzimlerle ilgili glukoz dengesi ve üretiminde akla gelen ilk organ karaciğer olmaktadır (Yang vd., 2000).

2.4.4. Malathionun Oluşturduğu Doku Hasarı

Oksidatif stres indüksiyonu, asetilkolinesteraz inhibisyonu, karaciğerde hasarlar ve böbrek fonksiyonlarında bozulmalar malathion toksikasyonu ile yakından ilişkili olduğu düşünülmektedir. Toksik maddelerin ya da ilaçların vücuda oral yoldan girmesiyle karaciğerde detoksifikasyon gerçekleştirilir. Bu toksik maddeler az iyonize ve yağda çözünür şekilde olduğunda barsak hücre membranından geçebilmekte ve vücut tarafından absorbe edilebilmektedir. Ayrıca bu maddeler hızla karaciğerde tutulmakta ve metabolize edilmektedirler.

Yapılan çalışmalarda alanin aminotransferaz, laktat dehidrogenaz, kreatinin kinaz, aspartat aminotransferaz, alkalen fosfataz gibi karaciğere ait enzim bloklarının serum seviyelerinde azımsanmayacak yükselişler fark edilmiş ve bu yükselişlerle birlikte karaciğerde olası hasar gözlemlenmiştir. (Lasram vd., 2014).

Toksik hasara uğrayabilecek diğer bir organ da böbrektir. Böbre yetmezlii zararlı maddelerden kaynaklı böbrek yetmezliği az olarak rastlanılan bir hastalıktır. Morfolojik olarak incelemek (mikroskopik), kanda üre ve kan kreatinini çalışarak oluşabilecek olası hasarın izlenmesi önem arz etmektedir (Lasram vd., 2014).

Bu çalışmada ferulik asidin etkisi incelenecektir. Fenolik bir bileşik olan ferulik asit, bitkilerin tohum ve yapraklarında mevcuttur. Özellikle buğday, yulaf, pirinç, portakal, enginar ve ananas gibi bitkilerde oldukça fazla miktarda bulunmaktadır. Hidoksisinnamik asit ailesine mensup olup kimyasal yapı olarak zerdeçala benzer (Ojha vd., 2015). Ferulikasin benzen halkasında elektron veren grupların olması sayesinde zincir sonlandırma reaksiyonları meydana gelmektedir. Aynı zamanda, ferulik asitin

komşu karbonları arasında çift bağlı (doymamış) karboksilik asit grubuna sahiptir. Bu durum ferulik asiti aynı zamanda iyi bir membran koruyucusu yapmaktadır. Yapılan çalışmalarla, ferulik asit'in nitrikosit, hidroksil radikalleri ve süperoksit gibi serbest radikalleri etkisiz hale getiren bir antioksidan olduğu belirlenmiştir (Sung vd., 2014; Mancuso and Santangelo, 2014).

2.5. ANTİOKSİDANLAR

Gıdaların antioksidan içerikleri ve antioksidanların biyoyararlanımları birçok nedene bağlı olabilmektedir. Bunlara gıda maddesinin cinsi, iklim şartları, depolama ve muhafaza ortamının ısısı, hasat zamanı ve hasat yöntemleri, gıdanın hazırlanması, nem, ışık, kişi ve toplumların tüketim alışkanlıkları örnek verilebilmektedir (Yılmaz İ.,2013).

Günümüzde antioksidan aktiviteye sahip olan birçok bileşik bilinmektedir. Endojen kaynaklı antioksidanları enzimatikler ve enzimatik olmayanlar olarak sınıflandırmak mümkündür. Antioksidan enzimler hücresel seviyede etkili olan enzimatik sistemler içinde birincisidir. Bunlara süperoksit dismutaz , katalaz ve glutatyon peroksidaz, örnek gösterilebilmektedir. Bu birinci enzimatik sistemin serbest radikal zararlarına karşı ana savunma unsuru olduğu söylenebilmektedir. Enzimatik olmayan antioksidanlara da N-asetilsistein, indirgenmiş glutatyon (GSH), taurin, melatonin, karotenoidler ve tiyoller gibi protein olmayan sülfhidrilleri saymak mümkündür.

Reaktif Oksijen Türleri (ROS)'nin düzensiz bir şekilde artmasında dolayı oksidatif stres oluşur. Biyolojik sistemler bu oksidatif stresin hasarlarına karşı kendilerini antioksidan denilen savunma sistemi ile korumaktadırlar. Antioksidanlar, oksidasyon hızını azaltabilmekte veya durdurmaktadırlar (Kohen ve Nyska, 2002).

Antioksidan enzimlerin oksidatif stres altında indüklenebilirliği önemli bir özelliktir. Bu indüklenmeler oksidatif strese karşı önemli bir adaptasyon oluşturmaktadır. Fakat bu stresin artma durumlarında adaptasyon düzeyi baskılanabilmektedir. Hücrelerin en önemli antioksidan savunma sistemleri SOD ve CAT'tir. SOD ve CAT kirleticilere karşı ilk savunmayı yaparak güçlü bir hat kurmaktadır. (Kaya, 2010).

2.5.1. Enzimatik Kaynaklı Antioksidanlar

2.5.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz (SOD), oldukça etkin bir in vivo enzimatik antioksidan grubundadır. Bir katalizör görevi yüklenerek süperoksit radikallerinin görev aldığı durum zararlılık etkisi az olan hidrojen peroksit dönüşmesidir. SOD, Süperoksit ve ROS radikallerine karşı savunma mekanizması oluşturan başta gelen antioksidandır. Oksijen radikaline karşı koruyuculuğu olan önemli enzimlerden biri de süperoksit dismutazdır. Gereğinden çok oksijeni detoksifiye yapmak için kullanılan kofaktörlerine göre enzim gruplarının isimleri verilmektedir.

Süperoksit anyonları sulu ortamlarda reaktif değildirler. Reaktivlik ve sitotoksik açıdan hidroksi radikali ve singlet oksijeni serbest oksijen radikalleri arasında en başta gelmektedir. Bu iki radikal hidrojen peroksit ve süperoksit anyonunun birbirleri ile reaksiyona girmelerinden dolayı serbest demir iyonunun da aracılığıyla oluşur.

Aktif bölgesinde manganez bulunan Mitokondri matriksinde SOD'un özel bir formu vardır. Radyasyon ve hipoksiye bağlı strese MnSOD'un ekspresyonunun arttığı bilinmektedir. İntermembranda bulunan sitokrom c O² ile azalır. Sitokrom c'nin azalması ile solunum zincirinde bazı elektronların kaçışı olabilmektedir. Sitokrom c'nin, ROS'a karşı temizleyici role sahip olduğu düşünülmektedir (Qaroot, 2013).

2.5.1.2. Katalaz (CAT)

Birçok hücrede var olan katalaz enzimi, hücre içerisinde en çok peroksizom denilen yerde bulunmakta (Ighodaro ve Akinloye, 2018), H₂O₂'nin suya ve moleküler oksijene parçalanmasının katalizlenmesinde görev almaktadır (Eren, 2015).

1901 Senesinde O. Leew, katalaz enzimini bulmuştur. Yine ilk defa karaciğer dokularından izole edilmesi Dounce ve Summer tarafından 1937 yılında gerçekleştirilmiştir.

Katalaz'ın karaciğer ve eritrositlerde güçlü bir aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir (Valko vd., 2007). Beyin, iskelet kasları ve kalp kasında CAT'ın düşük miktarlarda olduğunu söylemek mümkündür. CAT ve GSH-Px, hidrojen peroksidi su ve atomik oksijene indirgedileri önceki çalışmalarda belirtilmiştir (Çaylak, 2011).

CAT, SOD'nun katalizlediği reaksiyon sonucunda oluşan H₂O₂'nin fenton reaksiyonlarıyla ($Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow OH^- + OH^{\cdot} + Fe^{3+}$) hücreler için hidroksil radikaline dönüşmeden yok edilmesi için oldukça önemli bir enzimdir (Dantas vd., 1996). Sitozolik bir enzim olan CAT, kirleticilerin etkisiyle indüklenebilmektedir. Aynı

zamanda zamanda hidrojen peroksiti katalizleyerek su ve moleküler oksijen oluşturan önemli bir antioksidan enzimdir. Balıkların özellikle karaciğer dokusunda daha yüksek düzeylerde bulunmaktadır. Bu durumun karaciğerin detoksifikasyon organı olmasından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

2.5.1.3. Malondialdehit (MDA)

Biyolojik sistemlerde oksidatif stresin ölçülmesinde MDA'nın spektrofotometrik ölçümü yaygın bir yöntemdir (Qaroot, 2013).

Lipit peroksidasyonu, hücre zarı içerisinde bulunan doymamış yağ asitlerinin serbest oksijen radikalleri yardımı ile alkollere, yağ asitlerine, aldehitlere vb. maddelere oluşmasıyla gerçekleşen reaksiyonlara denir.

MDA'nın lipid peroksidasyonunda en önemli ürün olduğu belirtilmektedir. MDA'nın oluşması için yağ asitlerinin peroksidasyonunda üç ya da daha fazla kovalent bağ bulunması gerekmektedir. MDA hücre membranlarındaki iyon alışverişini etkilemekte ve membrandaki bileşikler çapraz bir bağlama şekline yol açmaktadır. Böylece enzim aktivitesi ve iyon geçirgenliği farklılaşması gibi kötü sonuçların ortaya çıkması görülebilmektedir (Moslen, 1994). Plazma lipid hidroperoksitleri ve MDA bileşiklerin artması, oksidatif stresin kemoterapi tedavisi gören hastalarda görülebildiğine işaret etmektedir (Clemens vd. 1997; Lin, 2002).

2.5.1.4. Redükte Glutasyon (GSH)

Glutasyon, mitokondrilerin sağlıklı bir şekilde çalışması için gereklidir. Hasar görmüş veya işlev bozukluğuna sahip olan mitokondrilerin kanser oluşum aşamasında kritik bir yere ve öneme sahiptir. Mitokondriler toksinler veya başka bir nedenle çalışmazsa, hücre solunum için oksijen yerine glukoz kullanarak daha ilkel bir forma geçebilmektedir. Bu durumda kanserleşme oluşmaktadır. Redükte glutasyon (GSH), oksidatif strese karşı hücre içeriğinin aynı kalmasında önemli role sahip olmakla beraber yapısı (L-γ- glutamil-L-sisteinil-glisin) tripeptid şeklindedir. Glutasyon (GSH), hücrede miktarı en fazla olan ve yapısında protein bulundurmeyen bir tiyol bileşiğidir (Banerjee vd., 2003). Redoks oluşumlarında substrat olarak bulunan redükte glutasyon, güçlü bir direnci reaktif oksijen türlerine karşı göstermektedir (Kinnula vd.,2004). GSH, glutasyonun indirgenmiş formudur, glutasyon disülfid (GSSG) ise okside formudur (Valko vd, 2007). Şiddetli bir oksidatif stres varlığı hücrenin GSSG'nin

GSH'a indirgenmesini engelleyebilmektedir. Bundan dolayı GSSG'nin sitozolde birikmesine neden olabilmektedir. GSSG aktif olarak hücreden dışarı taşınırsa veya bir protein sülfhidril ile tepkimeye girerek karma disülfid oluşturursa redoks dengenin bozulması önlenebilmektedir. Hücresel GSH, şiddetli oksidatif stresten dolayı tükenebilmektedir. (Lu, 1999).

Glutasyon, hücrede indirgen formda bulunmaktadır ve vücut içerisinde glisin, sistein ve glutamattan sentezlendiği bilinmektedir. Glutasyon, bir substrat olarak GSH redoks döngüsünde hidroksil radikalleri ile singlet oksijenin temizliğinde görev almaktadır. Serbest radikalleri direkt olarak temizlemekle beraber GSH-Px ile beraber enzimatik bir etki de göstermektedir. GSH'ın, hücrelerde enzimlerin ve diğer hücre içi bileşenlerin redükte halde kalmamaları için elzem bir rolü vardır. GSH karaciğerde en fazla sentezlenmekte ve %40 civarında bir oranı safra ile atılmaktadır.

Glutasyon endojen peroksidlere karşı okside olarak onları indirgemekte ve glutasyon peroksidaz bu reaksiyonu katalizlemektedir. Glutasyonun hücreyi etkin bir şekilde koruyabilmesi için büyük kısmı (yaklaşık %90) redükte halde tutulmalıdır. Glutasyonun Glutasyon Redüktaz'la indirgenmesi reaksiyonu NADPH'a ihtiyaç duyduğundan dolayı heksoz monofosfat ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir (Sözmen vd., 2002; Memisogullari vd., 2003; Vincent vd., 2004; Cherebuni vd., 2005).

Redükte glutasyon (GSH)'ta aktif bir sülfidril (-SH) grubu bulunmaktadır. Neredeyse bütün hayvansal hücrelerde ve bakterilerin bazılarında bulunmaktadır (Meister ve Anderson, 1983; Meister, 1995). GSH'ın oksitlenebilirlik özelliği özellikle H₂O₂'nin elemine edilmesinde önemli bir yer tutmaktadır (Calberg ve Mannervik 1985; Akkuş, 1995).

3. MATERYAL ve METOT

3.1.Hayvan Materyali

Fiziksel olarak ortalama ağırlıkları 200-300 gram arasında değişen erkek wistar albino türü ratların analizde denek olarak kullanılması için Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesinden destek alınarak temin edilmiş ve çalışmada kullanıldı. Çalışmanın analiz süreci yine aynı yerde yapıldı. Ratlar belirli gruplara ayrıldı ve deney aşamasında geçilmeden önce 7 gün uyum sağlaması maksadıyla bekletildi. Erkek wistar albino türü ratlar sürekli olarak havalandırılan, 12 saat ışık , 12 saat karanlık ortam ve sıcaklığı 24 ± 1 °C olan deney hayvanları bölümünde kafeslerde bulunduruldu. Ratlara standart yem ve adlibitum su verildi. Günlük bakım ve ihtiyaçları düzenli olarak görüldü, yapılan uygulamalar belirtilen süre içerisinde itina ile sürdürüldü. Çalışmaya başlamadan önce etik kurulunun uygun bulmasıyla Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulundan alındı.

3.2.Deneysel Aşama

Ratlar her grupta 7'şer adet olacak şekilde, çalışmanın deney aşaması 30 günlük periyotta sürdürüldü. I. Grup: Kontrol grubu, II. Grup: Mısır yağı grubuna 0.5 ml mısır yağı, III. Grup Malathion grubunda ratlara gastrik gavaj yoluyla 0.5 ml mısır yağı içerisinde çözdürülen 27 mg/kg dozunda malathion, IV. Grup: Ferulik asit ve malathion grubunda ratlara 0.5 ml mısır yağı içerisinde çözdürülen 27 mg/kg dozunda malathion ve 0,5 ml 12,5 mg/kg Ferulik asit, V. Grup: Ferulik asit ve malatasyon grubunda ratlara 0.5 ml mısır yağı içerisinde çözdürülen 27 mg/kg dozunda malathion ve 25 mg/kg ferulik asit, VI. Grup: ferulik asit ve malathion grubunda ratlara 0.5 ml mısır yağı içerisinde çözdürülen 27 mg/kg dozunda malathion ve 0,5 ml 50 mg/kg ferulik asit gastrik gavaj ile verildi. Çalışmada kullanılan olan malathion (Kalender et al., 2010; Ince et al., 2017) ve Ferulik asit (Lalith Kumar and Muralidhara, 2014; Adefegha et al., 2016;) verilme miktarları daha önce yapılan çalışmalar esas alınarak belirlendi.

3.3. Anestezi ve Sakrifikasyon Aşaması

Ratlara son uygulamalardan 24 saat sonrasında deney hayvanlarından ketamin ve ksilazin anestezisi altında intrakardiyak olarak kan ve ayrıca karaciğer, akciğer, böbrek, kalp, testis ve beyin dokuları alınacak, hızlı bir şekilde laboratuvarında ön işlemleri gerçekleştirildi. Anestezi bitiminde intrakardiyal olarak EDTA bulunan enjektör yardımı ile yaklaşık 3-5 cc kan alabilmek amacıyla göğüs kafesi içerisinden alındı. Ardından zaman kaybetmeden servikal dislokasyon yapıldı ve böylelikle sakrifikasyon süreci de tamamlandı. 10 dakikada 3000 devir/dk'da kan numunesine ait plazmalar santrifüjden yararlanılarak ayrıştırıldı. 1,5'luk eppendorf tüplerinde ayrıştırma yapılan plazmalar -80 °C 'de tutularak analizleri gerçekleştirilinceye kadar muhafaza edildi. Albino ratlar sakrifiye işleminden sonra önceden açılmış olan göğüs kafesinin yanındaki batin bölgesi de cerrahi yollarla açıldı ve ratların karaciğerler dokuları alındı. Dokulardan birer parça biyokimyasal ve moleküler boyutta analiz amacıyla -80 °C de saklandı, diğer bölümler histopatolojik izlenmek üzere alındı.

3.4. Doku Homojenizasyonu

Winterbourn ve ark. (1975) tarafından geliştirilen metod Eritrositlerin hazırlanmasında kullanıldı. Bu amaçla eritrositlerin, kan örneklerinin santrifüjlenmesi (3500 rpm, 15 dakika, 4 °C) ve akabinde 3 defa izotonik tuzlu su tampon çözeltisi (pH 7.4) ile temas ettirilerek meydana getirildi ve eritrositler eşit bir hacim ile izotonik salin tampon solüsyonu ile Eppendorf tüplerine boşaltıldı. Tam olarak -20 ±1 °C'de flakonlarda bekletildi. Analize başlamadan önce, soğuk deiyonize su ile eritrosit süspansiyonunun ölçüm için hazır hale getirilmesi sağlandı. Doku numunelerinin hazırlık aşamaları İnce ve ark. (2014) 'nın belirttiği aşamalarına göre oluşturuldu. Özetle hayvanların sakrifiye edilmesi ve beyin, akciğer, testis böbrek, kalp ve karaciğer dokuları soğuk tutulmuş izotonik tuzlu su tamponundan yararlanılarak yıkama işlemi gerçekleştirildi. Dış yüzeyinde bulunan doku parçalarından ayrıştırıldı ve soğutulmuş Tris-HCl tamponu (0.15 M, pH 7.4) içinde temizleme ve durulama işlemi yapıldı. Doku örneklerinin parçalanarak oluşturulan homojenatları (%10, w/v) bir Tris-HCl tamponu kullanılarak hazır hale getirildi. Karıştırma işlemi bitip iyice homojenize olan dokular 3500 rpm'de 4 °C'de yaklaşık olarak 10 dakika boyunca santrifüj işlemi yapılarak, ölçme işlemine kadar -20 °C'de muhafaza edildi. Lipid peroksidasyon parametreleri dâhil olmak üzere

MDA, GSH, SOD ve CAT ölçme işlemi için eritrositlerin ve dokuların uygun homojenatlarından yararlanıldı.

3.5. Süperoksid Dismutaz (SOD) ve Katalaz (CAT) Aktivitesinin Tayini

Oksidatif stresin oluşturduğu hasara karşı SOD ve CAT, hücrelerin korunmasında büyük bir öneme sahiptir (Guerin vd., 2001). Eritrosit lizatı ve doku örneklerinin SOD aktivitesi, önceden de ifade edilen Sun vd., (1988) prosedürleri ile takip edildi ve yapıldı. Bu metodun oluşma metodu, bir süperoksit süreci meydana getiren ve süperoksitin bir belirteci olarak nitroblue tetrazolyumu (NBT) mavi formazon'a indirgeyen ksantin oksidaz ve ksantin arasındaki tepkimelerden oluşmaktadır. Spektrofotometri cihazında 560 nm'de uygulandı. SOD etkinliği birim olarak dokuda g protein başına U, eritrositte ise U/gHb şeklinde belirtildi. CAT etkinliğinin ölçümü, Aebi (1974) ve Luck (1963)' un bildirilen yöntemleri göre yapıldı. Bu yöntemlerin prensibi, katalaz tarafından hidrojen peroksidin su ve oksijene ayrılması prensibine dayanır. Hidrojen peroksit, maksimum absorpsiyonu UV spektrumunda 240 nm'de karşılaşılır. 45 saniye boyunca, oda sıcaklığında 240 nm'de indirgeme hızı ölçüldü ve eritrositte k/gHb ve dokuda k/μg protein (k; nmol/dk) belirtildi. Dokularda bulunan proteinler ve eritrositler hemoglobin ihtivasi Lowry vd. (1951) ve Drabkin ve Austin (1935) göre ölçümler yapılarak temin edildi.

3.6. Malondialdehit (MDA) ve Redükte Glutasyon (GSH) Tayini

Lipid peroksidasyonunun (LPO) güvenilir bir biyolojik belirteci olarak malondialdehit seviyesinden faydalanıldı. MDA, Draper ve Hardley (1990) ve Ohkawa ve arkadaşlarının (1979) yaptıkları çalışmalar örnek alınarak tam kan örnekleri ve doku homojenatları bu yöntemle yapıldı. Bu yöntemler, tiyobarbitürik asit ve MDA tepkimesinden elde edilen rengini trofotometrik olarak değerlendirir. MDA yoğunluğu, tiyobarbitürik asit-MDA birleşiminin absorpsiyon katsayısı ile belirlendi. Çift ışıklı spektrofotometre cihazı kullanılarak 532 nm'de tespit edildi (Shimadzu 1601, Tokyo, Japonya).

Reaktif oksijen çeşitlerine karşı GSH, enzimatik olmayan bir savunma mekanizmasının ana kaynağıdır. Tüketimi sonucunda oksidatif stres ile indüklenebilir (Guerin vd., 2001). Doku ve kan örneklerindeki GSH yoğunluğu, önceden Beutler vd., (1963)

tarafından açıklandığı gibi belirlendi. Özetle, örnekler (0,2 ml) ve damıtılmış su (1,8 ml) ile tüplere konularak karıştırma işlemi yapılır, numuneye 3 ml çökeltme solüsyonu (1,67 g HPO₃, 30 g NaCl, 0,2 g EDTA, 100 ml distile suda) eklenildi. Bu çözeltide, yaklaşık olarak 5 dakika kadar tutulur ve ardından süzülmesi sağlandı (Whatman No. 42). Ortaya çıkan süzüntü (2 ml) başka bir tüpte 0.3 M Na₂HPO₄ (8 ml) ve 5,5'-Dithiobis (2-nitrobenzoik asit) (1 ml) ile birlikte karıştırıldı. 412 m'de yapılan spektrofotometrik ölçümle optik yoğunluk tespiti (Shimadzu 1601 UV-VIS spektrofotometre, Tokyo, Japonya) gerçekleştirildi.

3.7. Histopatolojik Değerlendirme

Kalp, beyin karaciğer, böbrek, akciğer dokuları toplanan Disseke ratları %10 oranında formaldehit solüsyonunda bekletildi. Histolojik doku takip talimatlarına uygun olacak şekilde bu dokular analiz edildi. Doku örnekleri parafin blokların içine yerleştirildi. Yaklaşık olarak 5-6 µm kalınlığa sahip parafin kesitlerinin kesiminden sonra hematoksilin-eozin boyaması yapılarak, Nikon, Eclipse Ci, mikroskopunda tayin edildi. Histolojik doku takip metodu aşağıda anlatılmıştır.

3.7.1. Doku Takibi

Ölçümlerin gerçekleştirilebilmesi için % 10'luk tampon ihtiva eden formalin çözeltisinde testis, beyin, kalp, böbrek, karaciğer ve akciğerden temin edilen parçalar araştırıldı. Doku numuneleri 2-3 mm kalınlığına sahip ve uygun ölçülerde küçültme işlemi yapılarak doku numune takip kaplarının içine alındı. Sürekli olarak akan su içerisinde 10 saat kadar yıkama yapıldıktan sonra öncelikle 50 ve 70, 80, 96'lık ve absolüt alkol ve ksilol, ksilollü parafin daha sonrasında 58 C°'de erimiş parafinde ikişer saat bırakılmıştır ve yine parafin içerisine yerleştirilmiştir. Mikrotom (Leica, RM 2245) ile parafin blokları 5 mikron kalınlığa sahip ölçülerde kesilerek alınan numuneler su banyosundan (Leica, HI 1210) lamellere alındı. Yaklaşık olarak on beş dakika kadar etüvde bekletilip nemini atması sağlandıktan sonra histopatolojik metotlarda tahlil verisi elde edebilmek için kullanıldı. Tüm parça kesitler sırasıyla 50, 70, 80 ve 96'lık alkol oraları ile ksilol tutularak hematoksilin-eosin boyama yöntemi (HE) ile metotlara uygun bir şekilde boyama işlemi yapıldı (Luna, 1968). Boyamaları uygun olarak yapılan numuneler, ışık mikroskopunda (Nikon, Eclipse Ci, Tokyo, Japan) analiz edildi ve

numunelerden mikroskopik ölçütlerde fotoğraflar alındı (Nikon DS Fİ3, microscopic digital camera systems, Tokyo, Japan).

3.8. Moleküler Analizler

Numunelerin dokusundaki hasar ile ilgili yangısal genlerin ekspresyon seviyeleri incelendi. RNA İzolasyonu, RNA'ların Kalite Tespiti, cDNA Eldesi ve DNaz Uygulaması; Uygulama neticesinde albino ratlarda tedarik edilen böbrek ve karaciğer doku numuneleri RNAlater solusyonu içerisine aktarıldı. -80°C'de süreç bitene kadar muhafaza edildi. -80°C'den çıkartılan doku örnekleri RNA izolasyonu için hazırlandı. RNA izolasyonu RNA Purifikasyon Kiti kullanılarak gerçekleştirildi. Karaciğer ve böbrek doku örneklerinde ayrııştırılan RNA'ların miktar ve uygunluğu Multiskan™ FC Mikroplate Fotometre cihazında uygun dalga boylarında ölçülerek, gruplara ve dokulara göre ayrııştırılan RNA miktarları cDNA eldesinde toplamda 1 µg RNA olacak şekilde hesaplanarak kullanıldı. Mevcut RNA'lar üzerinden DNA'yı ayırtmak için 1 µg kalıp RNA, 1 µl 10X Reaksiyon Solüsyonu, 1 µl RNaz içermeyen DNaz I ilave edilip ve dietil pirokarbonat ile hacim 10 µl'ye tamamlanarak 30 dakika 37°C'de ve 10 dakika 65°C sıcaklıkta inkübasyona alındı. DNaz I uygulanan RNA'dan RevertAid H Minus Single Strand cDNA Sentez Kiti ile cDNA alındı. Primer Tasarımı; Analizde tasarladığımız primerler NCBI internet adresinden Rattus norvegicus'a özgü β-aktin, NFκB, TNF-α, ve IFN-γ genlerine ait mRNA dizileri kullanılarak ve FastPCR 6.0 (Kalendar vd., 2009) programından faydalandı ve uygunluğu kontrol edildi. Primer dizileri ve gen bankası numaraları çizelge 3.1'de verilmiştir. Real-time PCR; Deney grupları içerisindeki gen ekspresyon düzeylerindeki bezerlik ve farklılıkları tespit etmek nedeniyle real-time PCR ve özgü primerlerden faydalandı. Belirlenen genlerin ve housekeeping gen (β-Aktin) ekspresyonu, karaciğer dokusundan temin edilen numuneler Bio RAD real-time PCR'da tayin edildi. Akabinde Real-time PCR'da oluşturulan sonuçlar analizi Bio RAD CFX Manager 3.1 yazılımı üzerinde uygun bir şekilde yapıldı. PCR karışımı, 1 µl revers primer (10 pmol), 1 µl forward primer (10 pmol), 10 µl SybrGreen karışımı 1 µl cDNA ve 7 µl su eklenerek, hacim 20 µl'ye tamamlanarak düzelendi. Amplifikasyon işleminde öncelikle; primer yapışması, denatürasyon ve zincir uzatma olmak üzere daha sonra elde edilen amplifikasyon eğrilerine ait olan döngü eşiği (Ct) parametrelerinden hareketle, hedef genlerin mRNA ekspresyon düzeylerinin nisbi değişimleri 2-ΔΔCt metodu ile hesaplandı (Pfaffl, 2001).

Bu durumda;

$$\Delta Ct = (Ct_{\text{hedef gen}} - Ct_{\text{beta actin}})_{\text{denek grubu}} - (Ct_{\text{hedef gen}} - Ct_{\text{beta actin}})_{\text{kontrol grubu}}$$

denkleminde yararlanıldı. Bulunan sonuç için ayrı olarak her bir gen için $2^{-\Delta Ct}$ formülüne yerleştirilerek mRNA ekspresyon düzeyine eklenecek şekilde artış veya azalma biçiminde tespit edildi. Endojen kontrol geni olarak β -aktin geni kullanıldı.

Çizelge 3.1 Çalışmada Kullanılan Primer Dizileri

Gen	Oligonükleotit Dizisi		Gen Bankası No
β -Aktin	F	GAGGGAAATCGTGCGTGACAT	NC_005111.4
	R	ACATCTGCTGGAAGGTGGACA	
NF κ B	F	TCCCCAAGCCAGCACCCCAGC	NM_199267.2
	R	GGCCCCCAAGTCTTCATCAGC	
TNF- α (Takahashi vd., 2018)	F	CGAGTGACAAGCCCGTAGCC	NM_012675.3
	R	GGATGAACACGCCAGTCGCC	
IFN- γ	F	AAGACAACCAGGCCATCAGCA	NM_138880.3
	R	TTCACCTCGAACTTGGCGATGC	

3.9. İstatiksel Analiz

Gruplar içerisindeki farklılıklar ve ortalamalar Duncan analizi, Varyans Analizi ve Windows yazılımı SPSS 15.0 programı içinde hesaplandı.

4. BULGULAR

Materyal ve metod bölümünde anlatılan aşamalar ile çalışma süreçleri oluşturuldu. Deneklerden alınan beyin, akciğer, karaciğer, kan, böbrek, kalp, ve testis dokularının analizleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçların analizlerinin istatistiki hesaplamaları ile aşağıda belirtilen sonuçlara ulaşılmıştır.

4.1 Oksidatif Stres Parametrelerindeki Değişimler

Çalışmamızdaki deneme ve kontrol gurubundan alınan kan, böbrek, beyin, kalp, karaciğer, akciğer, testis doku örneklerinde MDA, GSH, SOD VE CAT düzeyleri hesaplandı. Araştırma sonunda bu sonuçların dokulardaki düzeylerine ait bulunan bulguların istatistiksel değerleri ve karşılaştırmaları aşağıdaki çizelgeler ve grafikler ile sunuldu.

4.1.1 Dokularda ve Kanda MDA Düzeyi

Çizelge 4.1’ de MDA düzeyinin doku ve kandaki değişimleri gösterilmektedir. Sadece malathion uygulanan doku ve kan incelendiğinde MDA düzeylerinde ferulik asit uygulanan gruplara göre artışa neden olduğu sonucuna varılırken, ferulik asit ile birlikte birbirinden farklı olarak uygulanan dozlarda uygulandığında MDA düzeylerinin sadece malathion verilen gruba göre önemli derecede kontrole yaklaştırdığı tespit edildi.

Çizelge 4.1 Kanda ve Dokular İçerisindeki MDA Düzeyi

MDA	Kan (nmol/ml)	Böbrek (nmol/g doku)	Karaciğer (nmol/g doku)	Kalp (nmol/g doku)	Beyin (nmol/g doku)	Akciğer (nmol/g doku)	Testis (nmol/g doku)
Kontrol	24,41±8,9 ^d	12,59±2,58 ^c	10,34±3,19 ^c	5,26±1,48 ^c	7,51±1,46 ^c	12,49±4,01 ^b	1,19±0,22 ^c
Yağ	23,8±8,18 ^d	12,33±5,09 ^c	10,04±3,65 ^c	5,04±1,95 ^c	7,76±1,57 ^c	11,45±3,3 ^b	1,14±0,3 ^c
Malathion	74,31±27,43 ^a	27,83±6,58 ^a	24,32±9,1 ^a	14,51±6 ^a	14,83±3,99 ^a	22,37±9,53 ^a	2,36±0,48 ^a
Malathion+Ferulik 12,5 mg/kg	59,07±16,82 ^{ab}	21,55±8,71 ^{ab}	20,58±8,23 ^{ab}	12,36±4,7 ^{ab}	13,62±4,19 ^a	20,5±7,33 ^a	2,04±0,44 ^{ab}
Malathion+Ferulik 25 mg/kg	52,11±21,61 ^{bc}	19,09±8,2 ^{bc}	16,16±3,88 ^{bc}	9,8±3,19 ^b	11,5±4,38 ^{ab}	18,37±5,5 ^{ab}	1,75±0,37 ^b
Malathio+Ferulik 50 mg/kg	37,84±15,41 ^{cd}	16,46±5,61 ^{bc}	13,39±3,83 ^c	8,98±3,52 ^{bc}	9,06±2,65 ^{bc}	15,29±5,74 ^{ab}	1,91±0,3 ^b

4.1.2 Dokularda ve Kanda GSH Düzeyi

Çizelge 4.2’de GSH düzeyinin doku ve kandaki değişimleri gösterilmektedir. Ferulik asit uygulanan deneklerde kontrol gruplarına göre kıyaslama yapıldığında beyin, böbrek, akciğer, karaciğer, testis ve kalpte GSH seviyelerinin arttığı tespit edilirken, sadece malathion uygulanan grubun GSH seviyeleri kontrol ve ferulik asit uygulanan gruplara göre anlamlı seviyede düştüğü gözlemlenmiştir. Malathion ve ferulik asit gruplarını sadece malathion içeren grup ile karşılaştırdığımızda azalma olduğu, GSH seviyelerinde ise anlamlı seviyede yükselme olduğu ve hatta kontrol grubu seviyelerine yakınlığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4.2 Kanda ve Dokular İçerisindeki GSH düzeyleri

GSH	Kan (nmol/ml)	Böbrek (nmol/g doku)	Karaciğer (nmol/g doku)	Kalp (nmol/g doku)	Beyin (nmol/g doku)	Akciğer (nmol/g doku)	Testis (nmol/g doku)
Kontrol	42,11±13,54 ^a	23,29±6,63 ^a	21,69±6,9 ^a	7,03±2,79 ^a	13,64±4,79 ^a	17,48±5,37 ^a	3,75±1,2 ^a
Yağ	41,21±3,99 ^a	22,49±4,68 ^a	20,38±2,4 ^a	6,75±2,25 ^a	13,59±5,52 ^a	16,49±4,43 ^a	3,69±0,82 ^a
Malathion	25,75±7,11 ^c	7,27±2,92 ^d	8,54±3,23 ^c	2,58±1,04 ^c	6,89±2,89 ^b	9,21±2,27 ^c	1,92±0,68 ^c
Malathion+Ferulik 12,5 mg/kg	26,16±5,8 ^c	10,08±3,3 ^{cd}	12,09±4,22 ^{bc}	3,05±1,04 ^c	7,36±2,69 ^b	10,71±3,46 ^{bc}	2,54±0,76 ^{bc}
Malathion+Ferulik 25 mg/kg	30,64±6,91 ^{bc}	14,69±6,17 ^{bc}	13,39±3,55 ^b	3,51±1,22 ^{bc}	9,71±3,37 ^{ab}	11,04±4,59 ^{bc}	3,04±1,08 ^{ab}
Malathio+Ferulik 50 mg/kg	35,19±5,93 ^{ab}	17,84±4,49 ^{ab}	15,43±2,86 ^b	5,11±1,65 ^{ab}	10,49±2,12 ^{ab}	14,09±3,55 ^{ab}	3,3±0,79 ^{ab}

4.1.3 Dokularda ve Eritrositlerde CAT Aktivite Düzeyi

Çizelge 4.3'te CAT seviyelerinin dokulardaki ve eritrositlerdeki değişimi sunuldu. Malathiona maruz kalan kan ve dokulardaki CAT enzim aktivitesinde fark edilebilir düşüşlere sebep olduğu, ferulik asit kullanımı sonrası ise enzim aktivitesinin pozitif bir artış gösterdiği ve kontrol grubu seviyelerine doğru hareket ettiği görülmüştür.

Çizelge 4.3 Dokularda ve Eritrositlerde CAT Düzeyi

Katalaz	Eritrosit (k/gHb)	Böbrek (k/μg protein)	Karaciğer (k/μg protein)	Kalp (k/μg protein)	Beyin (k/μg protein)	Akciğer (k/μg protein)	Testis (k/μg protein)
Kontrol	14,36±5,03 ^a	8,53±3,05 ^a	5,27±0,98 ^a	4,76±1,79 ^a	3,88±1,54 ^a	3,37±1,32 ^a	2,9±0,71 ^a
Yağ	13,38±5,6 ^a	8,42±3,07 ^a	5,13±1,91 ^a	4,59±1,2 ^a	3,77±1,36 ^a	3,17±0,93 ^a	2,82±1,01 ^a
Malathion	5,11±1,76 ^c	2,85±1,16 ^c	2,97±1,13 ^b	2,24±0,84 ^b	1,85±0,47 ^b	1,39±0,37 ^c	1,53±0,31 ^b
Malathion+Ferulik 12,5 mg/kg	7,63±2,41 ^{bc}	3,51±1,06 ^{bc}	3,49±1,43 ^b	2,95±1,2 ^b	2,41±0,8 ^b	1,76±0,53 ^{bc}	1,68±0,44 ^b
Malathion+Ferulik 25 mg/kg	8,59±3,39 ^{bc}	4,25±1,35 ^{bc}	3,76±0,9 ^{ab}	3,31±0,85 ^{ab}	2,76±0,57 ^{ab}	2,02±0,69 ^{bc}	1,9±0,61 ^b
Malathion+Ferulik 50 mg/kg	11,01±2,87 ^{ab}	5,48±1,72 ^b	4,46±1,17 ^{ab}	3,45±1,3 ^{ab}	2,97±1,13 ^{ab}	2,72±1,64 ^{ab}	2,21±0,49 ^{ab}

4.1.4 Dokularda ve Eritrositlerde SOD Aktivite Düzeyi

Çizelge 4.4'te SOD seviyelerinin dokulardaki değerleri sunuldu. Malathion teması ile kanda ve kullanılan dokularında SOD enzim etkinliğinde kontrol grubu ve ferulik asit gruplarına göre azalmaya nedeniyet verirken, eklenen ferulik asit ile SOD aktivitesinde yükselişler fark edilmiştir.

Çizelge 4.4 Dokularda ve Eritrositlerde SOD Düzeyi

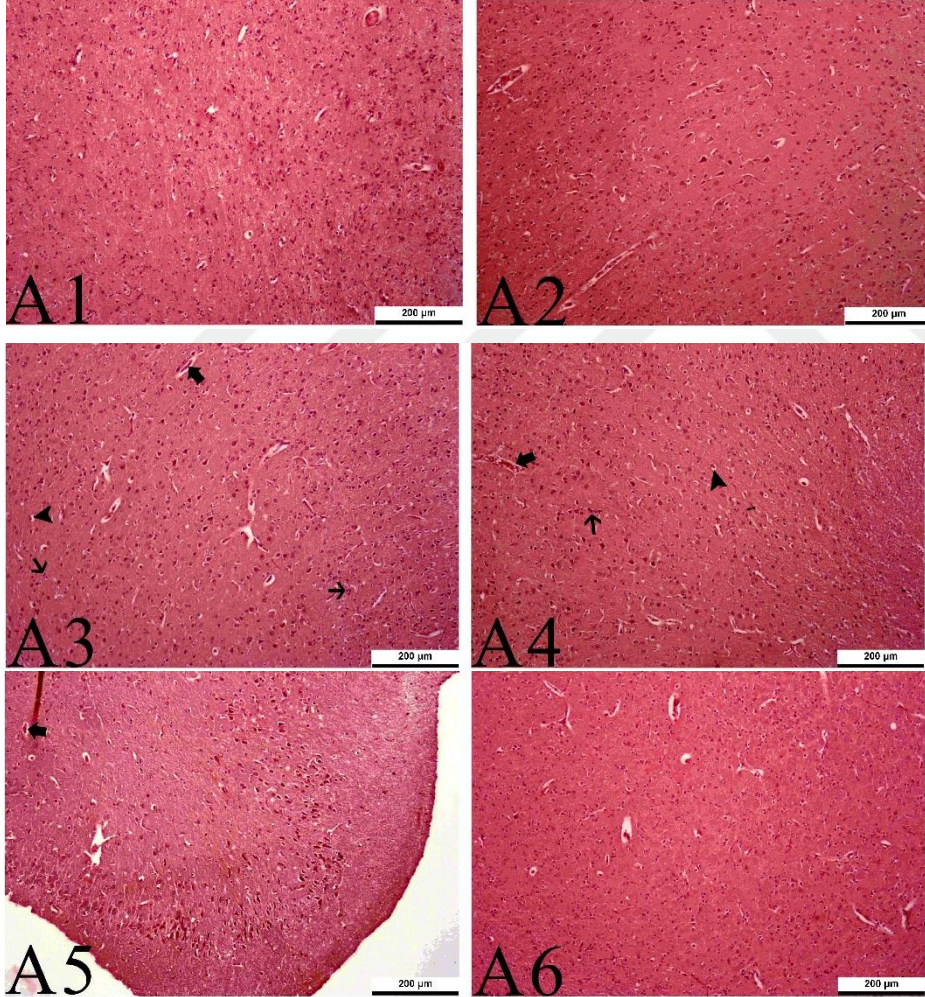
SOD	Eritrosit (U/gHb)	Böbrek (U/μg protein)	Karaciğer (U/μg protein)	Kalp (U/μg protein)	Beyin (U/μg protein)	Akciğer (U/μg protein)	Testis (U/μg protein)
Kontrol	44,07±12,21 ^a	6,18±2,2 ^a	4,61±0,93 ^a	3,28±1,05 ^a	2,63±1,08 ^a	3,97±1,09 ^a	2,53±0,5 ^a
Yağ	41,78±11,19 ^a	6,12±2,29 ^a	4,52±1,91 ^a	3,21±1,12 ^a	2,58±0,83 ^a	3,83±1,25 ^a	2,44±0,62 ^a
Malathion	12,67±5,12 ^d	2,25±0,58 ^b	1,97±0,35 ^c	1,47±0,57 ^c	1,12±0,39 ^c	1,65±0,57 ^c	1,28±0,41 ^c
Malathion+Ferulik 12,5 mg/kg	18,23±7,36 ^{cd}	3,01±1,07 ^b	2,32±0,74 ^{bc}	1,68±0,65 ^{bc}	1,18±0,32 ^{bc}	2,24±0,69 ^{bc}	1,39±0,46 ^c
Malathion+Ferulik 25 mg/kg	25,09±10,32 ^{bc}	3,34±1,11 ^b	2,61±0,63 ^{bc}	1,97±0,5 ^{bc}	1,57±0,43 ^{bc}	2,62±0,77 ^{bc}	1,66±0,47 ^{bc}
Malathio+Ferulik 50 mg/kg	33,48±7,95 ^{ab}	5,81±2,28 ^a	3,36±0,87 ^b	2,41±0,62 ^{ab}	1,91±0,56 ^{ab}	3,05±1,05 ^{ab}	2,07±0,85 ^{ab}

4.2 Histopatolojik Bulgular

Deney gruplarına ait organların histopatolojik değişiklikleri resim 4.1, resim 4.2, resim 4.3, resim 4.4, resim 4.5 ve resim 4.6’da gösterilmiştir.

4.2.1 Beyin Dokusu Histopatolojik İncelemesi

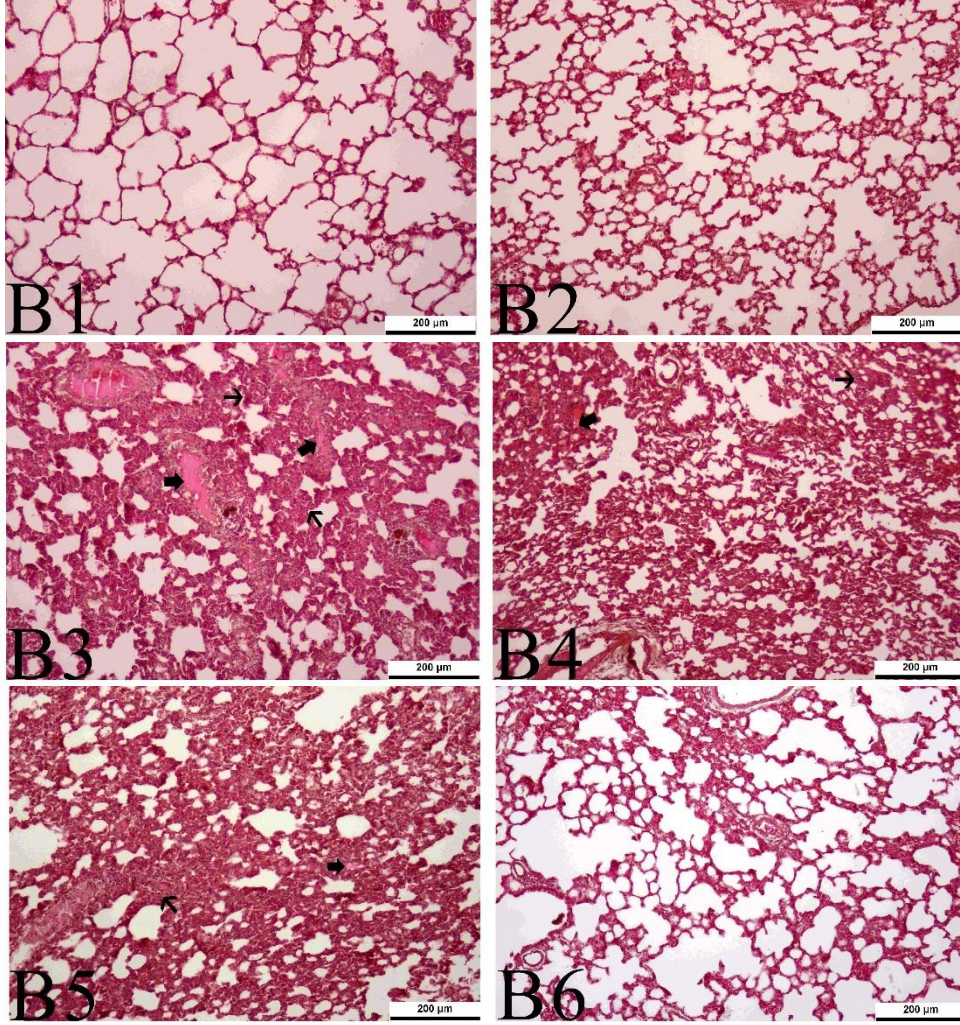
Resim 4,1’de A3. Numaralı görselde kalın ok ile belirtilen çizgiler damarlardaki hiperemiye, ince ok ile belirtilen çizgiler fokal glia hücre infiltrasyonu alanlarını, okbaşı olarak belirtilen yerler ise nöronlarda vakuolizasyon oluşumlarını göstermektedir. A4. ve A5 Numaralı görselde kalın ok damarlardaki hiperemiye göstermektedir.



Resim 4.1: A1. Kontrol grubuna ait beyin dokusu, A2. Yağ grubuna ait beyin dokusu A3. Malathion grubuna ait beyin dokusu A4. Malathion ve FA(12,5) grubuna ait beyin dokusu A5. Malathion ve FA25 grubuna ait beyin dokusu A6. Malathion ve FA50 grubuna ait beyin dokusu

4.2.2 Akciğer Dokusu Histopatolojik İncelemesi

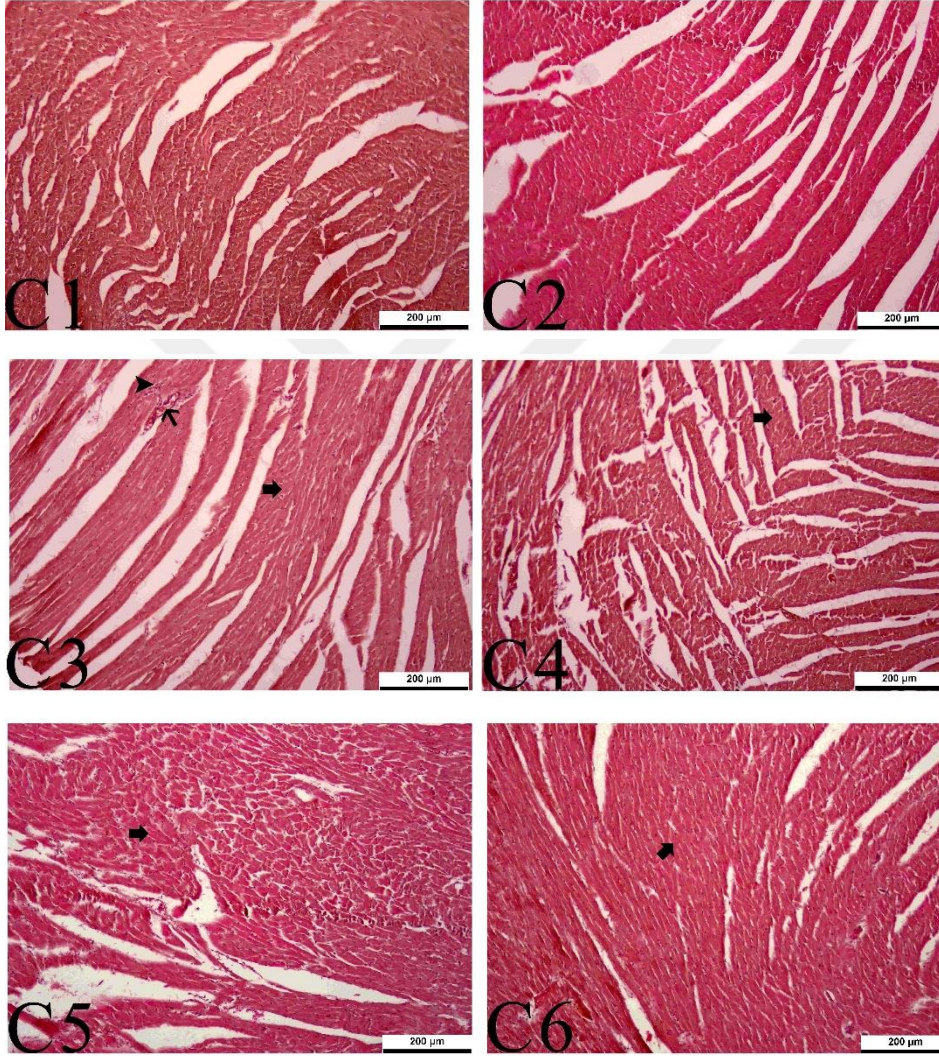
Resim 4.2’de B3, B4 ve B5 Numaralı görsellerde kalın ok ile belirtilen çizgiler alveollerde ödem birikimini, ince ok ile belirtilen çizgiler İntersitisyel bölgede kalınlaşmayı göstermektedir.



Resim 4.2: **B1.** Kontrol grubuna ait akciğer dokusu **B2.** Yağ grubuna ait akciğer dokusu **B3.** Malathion grubuna ait akciğer dokusu **B4.** Malathion ve FA(12,5) grubuna ait akciğer dokusu **B5.** Malathion ve FA25 grubuna ait akciğer dokusu **B6.** Malathion ve FA50 grubuna ait akciğer dokusu

4.2.3 Kalp Dokusu Histopatolojik İncelemesi

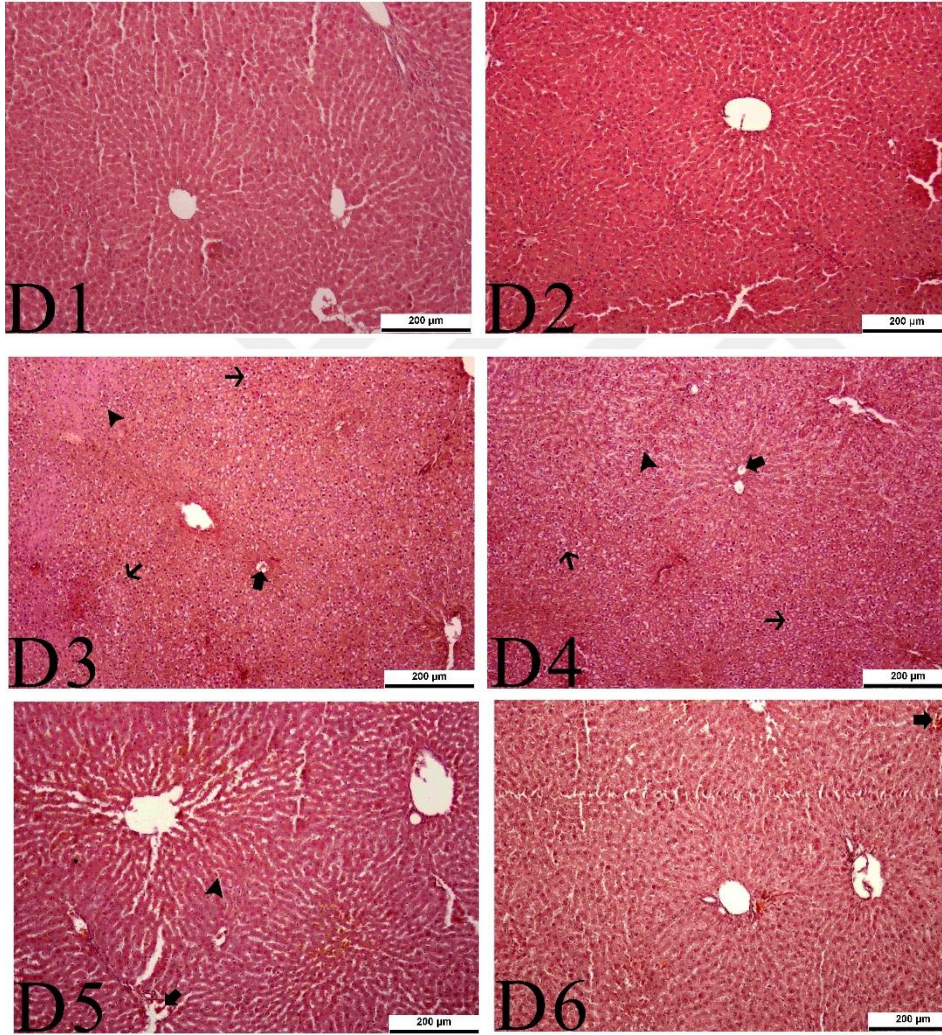
Resim 4,3’de C3, C4,C5 ve C6 numaralı görselde kalın ok ile belirtilen çizgiler myokard hücrelerinde hyalin dejenerasyonu alanları, ince ok ile belirtilen çizgiler damarlardaki hiperemiyi, okbaşı olarak belirtilen yerler ise myokardda MNH infiltrasyonu alanlarını göstermektedir.



Resim 4.3: C1. Kontrol grubuna ait kalp dokusu C2. Yağ grubuna ait kalp dokusu C3. Malathion grubuna ait kalp dokusu C4. Malathion ve FA(12,5) grubuna ait kalp dokusu C5. Malathion ve FA25 grubuna ait kalp dokusu C6. Malathion ve FA50 grubuna ait kalp dokusu

4.2.4. Karaciğer Dokusu Histopatolojik İncelemesi

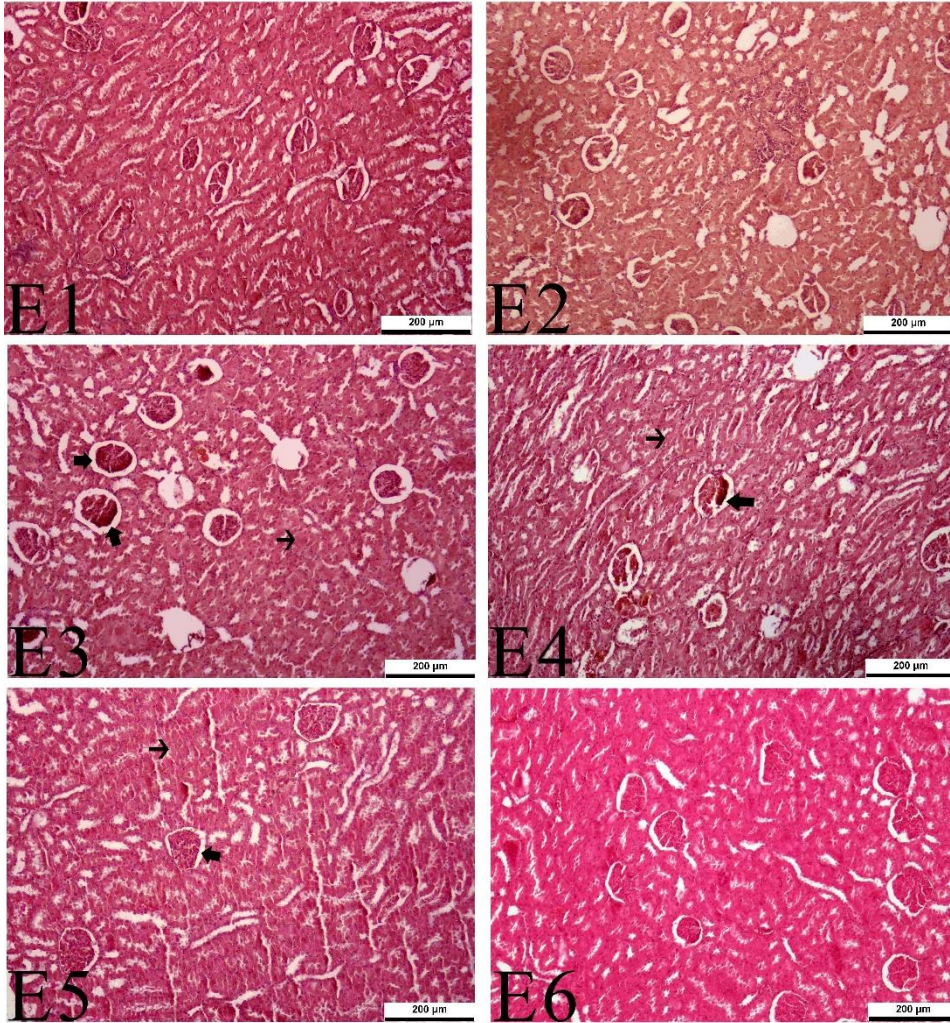
Resim 4,4’de D3, D4,D5 ve D6 numaralı görselde kalın ok ile belirtilen çizgiler vena sentralislerde hiperemiyi, ince ok ile belirtilen çizgiler hepatositlerde vakuoler dejenerasyon alanları, okbaşı olarak belirtilen yerler ise çift çekirdekli hepatosit oluşumları göstermektedir.



Resim 4.4: **D1.** Kontrol grubuna ait karaciğer dokusu **D2.** Yağ grubuna ait karaciğer dokusu **D3.** Malathion grubuna ait karaciğer dokusu **D4.** Malathion ve FA(12,5) grubuna ait karaciğer dokusu **D5.** Malathion ve FA25 grubuna ait karaciğer dokusu **D6.** Malathion ve FA50 grubuna ait karaciğer dokusu

4.2.5 Böbrek Dokusu Histopatolojik İncelemesi

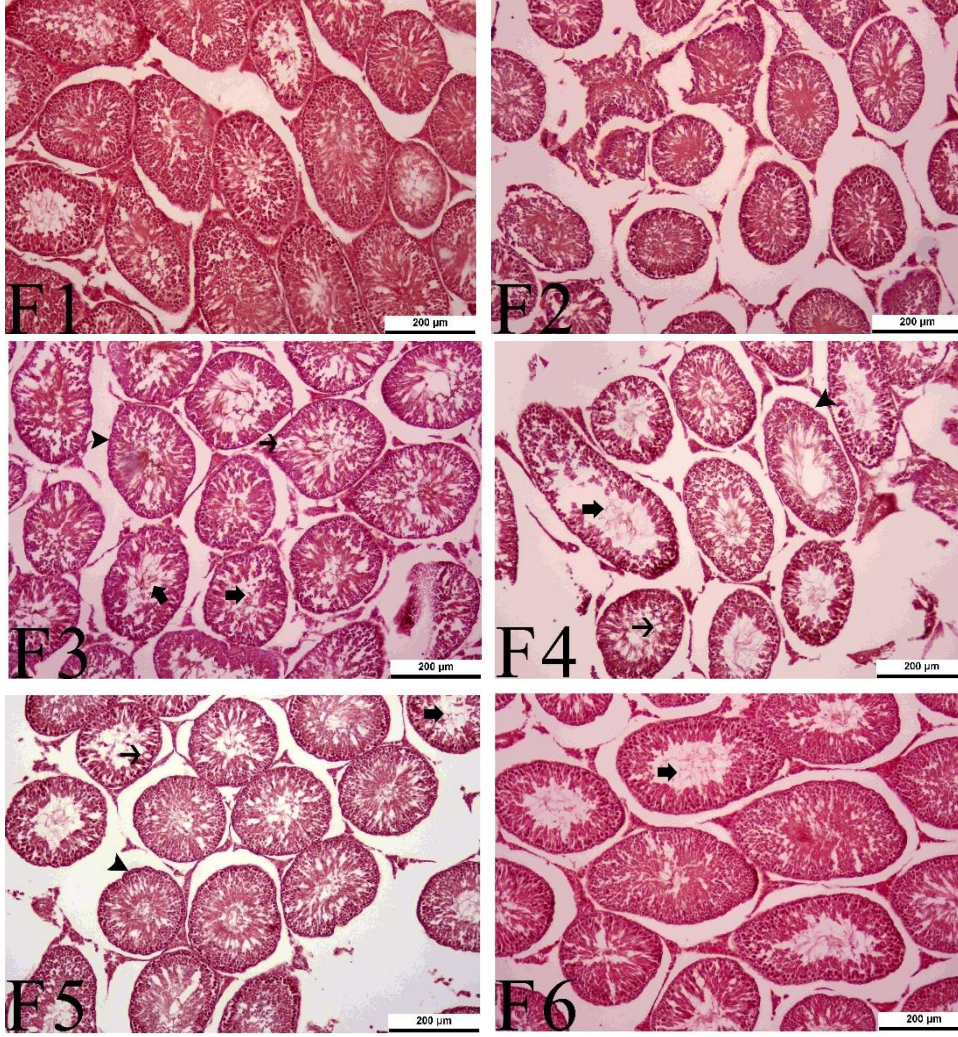
Resim 4,5’de E3, E4 ve E5 numaralı görselde kalın ok ile belirtilen çizgiler glomerulus bowman boşluğunda genişleme, ince ok ile belirtilen çizgiler tubuluslarda dejeneratif değişiklikleri göstermektedir.



Resim 4.5: **E1.** Kontrol grubuna ait böbrek dokusu **E2.** Yağ grubuna ait böbrek dokusu **E3.** Malathion grubuna ait böbrek dokusu **E4.** Malathion ve FA(12,5) grubuna ait böbrek dokusu **E5.** Malathion ve FA25 grubuna ait böbrek dokusu **E6.** Malathion ve FA50 grubuna ait böbrek dokusu

4.2.6 Testis Dokusu Histopatolojik İncelemesi

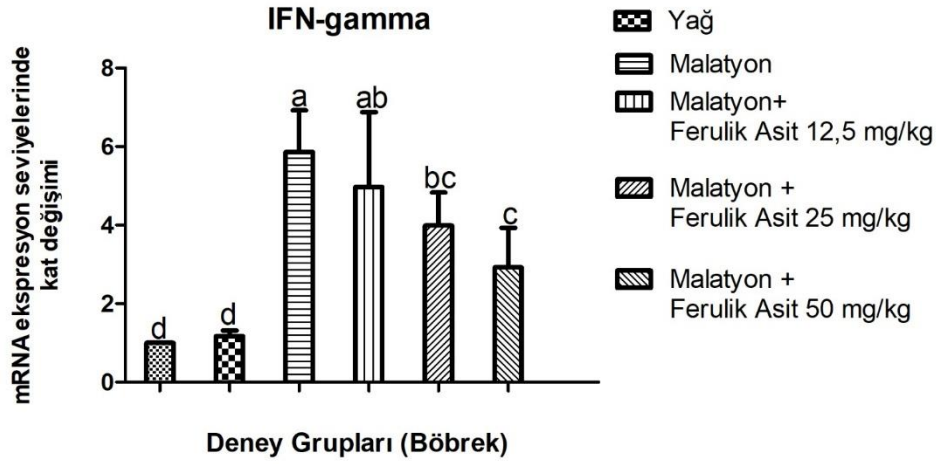
Resim 4,6’da F3, F4, F5 ve F6’da numaralı görselde kalın ok ile belirtilen çizgiler TSK lümeninde spermatozoit yoğunluğunda azalmayı, ince ok ile belirtilen çizgiler TSK lümeninde vakuolizasyon oluşumları, okbaşı olarak belirtilen yerler ise düzensiz bazal membrana sahip TSK oluşumları değişiklikleri göstermektedir.



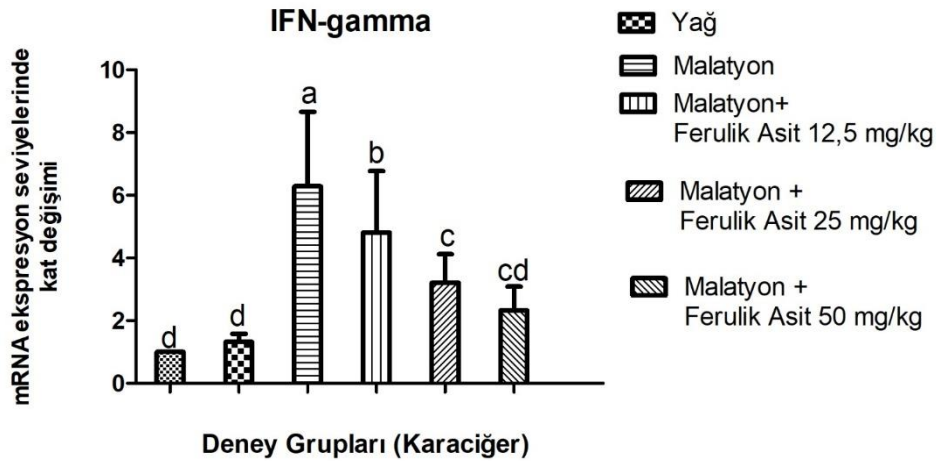
Resim 4.6: **F1.** Kontrol grubuna ait testis dokusu **F2.** Yağ grubuna ait testis dokusu **F3.** Malathion grubuna ait testis dokusu **F4.** Malathion ve FA(12,5) grubuna ait testis dokusu **F5.** Malathion ve FA25 grubuna ait testis dokusu **F6.** Malathion ve FA50 grubuna ait testis dokusu

4.3. Moleküler Sonuçlar

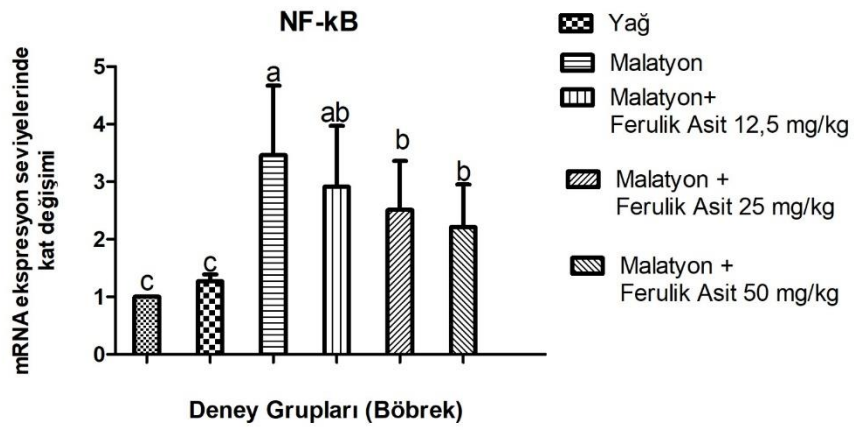
Doku hasarı ile ilişkili yangısal genlerin alınan karaciğer ve böbrek örneklerindeki (IFN-gamma, TNF- α ve NFkB) ekspresyon düzeylerine bakıldı. Şekil 4.1, şekil 4.2, şekil 4.3, şekil 4.4, şekil 4.5 ve şekil 4.6’da analiz sonucunda alınan değerler gösterilmiştir.



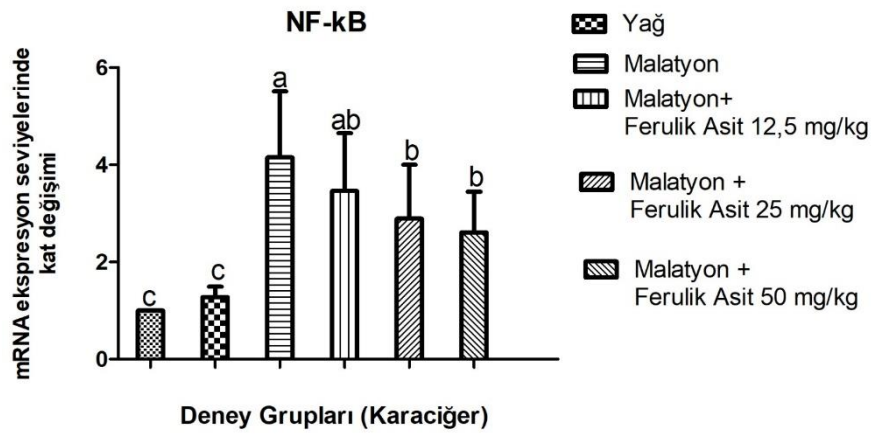
Şekil 4.1 IFN- gamma seviyelerinin böbrek dokusudaki mRNA ekspresyon düzeylerindeki değişimi



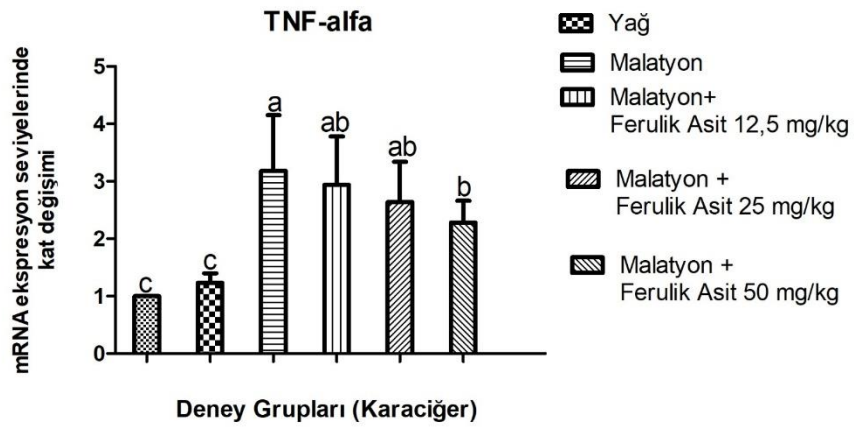
Şekil 4.2 IFN- gamma seviyelerinin karaciğer dokusudaki mRNA ekspresyon düzeylerindeki değişimi



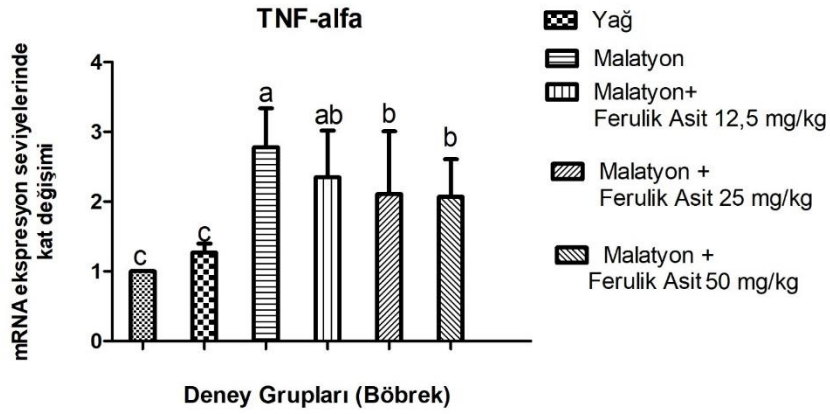
Şekil 4.3 Nfkb seviyelerinin Böbrek dokusu mRNA ekspresyon düzeylerindeki değişimi



Şekil 4.4 Nfkb seviyelerinin karaciğer dokusu mRNA ekspresyon düzeylerindeki değişimi



Şekil 4.5 TNF alfa seviyelerinin karaciğer dokusu mRNA ekspresyon düzeylerindeki değişimi



Şekil 4.6 TNF alfa seviyelerinin böbrek dokusu mRNA ekspresyon düzeylerindeki değişimi

5. TARTIŞMA

Bilindiği üzere pestisitler tarımda çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Pestisitlerin canlılar üzerine potansiyel yan etkilerinin olduğu bilinmektedir. En fazla kullanılan pestisitlerin organofosfat bileşikler olduğu bilinmektedir. Organoklor bileşiklerin çevreye ve canlılara verdiği zararın daha fazla olması sebebiyle yerini organofosfat bileşiklere bırakmıştır. Organofosfatlar bağışıklık sistemine etki ederek, kolinerjik ve antikolinerjik yollarla toksik etkilerini oluşturdukları son zamanlarda yapılan çalışmalar ışığında söylenebilmektedir (Wong vd., 1992; Vial vd., 1996). Bu etkilerin sadece immunolojik değişimlerle sınırlı olmadığı önceki çalışmalarda belirtilmiştir. Malathion, organofosfat bileşikler ile organofosfor bileşikler içerisinde oksidatif stres ve oksidatif strese bağlı olarak meydana gelebilecek potansiyel inflamasyonlarda en sık olarak kullanılanlardan biridir. Bu çalışmamızda malathionun ve malathionla karşı ferulik asitin etkilerini görmek amacıyla 3 farklı doz grubu oluşturularak araştırılmak istenmiştir. Bu doğrultuda 27 mg/kg'lık sabit malathion dozuna karşı 12,5 mg/kg, 25 mg/kg ve 50 mg/kg'lık artan ferulik asite bağlı gruplar oluşturulmuştur. Bu çalışmada doku hasarını, oksidatif stresi, doku inflamasyonu gibi durumların doza bağlı olarak değişimi görülmek istenmiştir.

Lipaz enziminin inhibe olduğu kontrol grubu haricindeki tüm gruplarda görülmüştür. Neredeyse tüm hücreler ve organizma için lipaz oldukça önemli bir rol üstlenmektedir. Lipazlar lipid substratların hidrolizinde görev almaktadırlar. Lipid homeostazının zarar görmesi ile nörodejeneratif hastalıklar (Quistad vd., 2003), obezite (Shi vd., 2004) ateroskleroz (Macphee vd., 2006) ve kansere (Chiang vd., 2006) neden olduğu söylenmektedir. Organofosfat pestisitlerin antikolinerjik aktiviteleri vardır. Ayrıca organofosfatların hedefleri arasında pestisit lipazlar ile diğer başka hedefler vardır. Bu hedefler için seçici davranmaktadırlar (Casida, 2008). Yine başka bir çalışmada lipazların serin hidrolaz ailesinin bir üyesi olan monoasil gliserol lipaz ve amid hidrolazın bir organofosfat pestisit olan fenitrothionla olan ilişkisi çalışılmış; her iki enzimin de aktivitelerinde ileri dereceli düşüşler olduğu gözlenmiştir (Suzuki, 2014). Malathionun etkisiyle lipaz enziminin her doz grubunda inhibe olması, ratlara gastrik gavaj yoluyla verilen dozların metabolizmayı güçlü bir biçimde etkilediğini düşündürmektedir. Asetilkolinesteraz çalışmalarının malathion ve organofosfat

zehirlenmelerin tanısında yoğunlukta olduğu yapılan literatür araştırmalarında görülmektedir.

Organofosfat pestisitler gösterdikleri antikolinerjik aktiviteleriyle bilinmektedirler, organofosfat pestisitler lipazlara ve farklı diğer hedeflere de seçici davranmaktadırlar (Casida, 2008). Lipazlarla yapılan bir diğer çalışma da serin hidrolaz ailesinden bir yağ asidi olan amid hidrolaz ve monoaçıl gliserol lipazın bir organofosfat pestisit olan fenitrothionla olan ilişkisidir. Söz konusu iki enzimin aktivitelerinde büyük düşüşlerden bahsedilebilmektedir (Suzuki, 2014). Elde ettiğimiz bulgular doğrultusunda lipaz enziminin her doz grubunda malathionun etkisiyle inhibe olduğu yönündedir. Ratlara verilen göreceli düşük dozların metabolizmayı bu denli güçlü bir biçimde etkilemesi düşündürücüdür. Literatür araştırmalarına baktığımız zaman malathion ve organofosfat toksikasyonlarının tanısında oldukça çok asetilkolinesteraz çalışmaları görülebilmektedir. Kontrol grubu ile kıyaslandığında 3 grupta da amilaz aktivitesinde artışlardan söz etmek mümkündür, fakat bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu söylemek güçtür ($p = 0,017$). Akut pankreatit rahatsızlığının organofosfat kaynaklı zehirlenmelerde fazlaca rapor edildiğinden söz edilmektedir. Amilaz seviyesinin bu maruziyet ile karşı karşıya kalan hastalarda yükseldiği görülmüştür (Hsiou vd., 1996).

Mevinfos akut olarak çok yüksek doz organofosfat içeren bir bileşiktir. Mevinfos ile intihar teşebbüsünde bulunan kişinin hastaneye kaldırılması ile yapılan araştırmalar bitiminde amilaz seviyesi ve bununla birlikte birçok parametrenin de değişikliğe uğradığı söylenmektedir. Kontrol grubuyla kıyaslandığında çalışmamızdaki her grupta bu artışların olduğunu söylemek mümkündür. Ancak malathion maruziyetinin miktarı ve/veya uygulama süresi artırılması ile bu artışların istatistiksel olarak bir anlam kazanabileceği düşünülmektedir. Kontrol grubu ile Grup 3 ve Grup 4 arasındaki serum TOS seviyesine bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmüştür ($p=0,004$). Grup 2, Grup 3 ve Grup 4 karşılaştırıldığında yine serum TOS seviyesinde anlamlı bir değişimden bahsetmek uygundur. Malathionun malaoksona dönüşümü aşamasında birçok reaktif oksijen türünün ortaya çıktığı belirtilmektedir.

Bir çalışmada oksidatif stres durumunun malathionun glutatyon ile konjugasyonu sonucunda sonlandırılabilceği belirtilmektedir (Ranjbar vd., 2010).

İn-vivo çalışmalarda organofosfatlarla indüklenmiş olan oksidatif stres sıklıkla gösterilmiştir. Antioksidan koruma mekanizması organofosfat maruziyetlerinde değişmektedir. Bu aşamada lipid peroksidasyonunun arttığı gözlenmiştir. Bazı çalışmalarda kronik, subkronik ve akut maruziyetlerde lipid peroksidasyonunda artışlar olduğu görülmüştür (Teimouri vd., 2006; Oral vd., 2006).

Serum AGEs düzeylerine bakıldığında doz gruplarımız ve kontrol grubu arasında bir artış gözlenmiş olsa da istatistiksel olarak anlamlı değişimin kontrol grubu ile Grup 4 arasında olduğu görülmüştür ($p < 0,002$). AGEs nörodejeneratif hastalıklarda, karaciğer rahatsızlıklarında, diyabet komplikasyonlarında ve hatta bazı kanser türlerinde bile rol aldığı yapılan son çalışmalarda belirtilmektedir (Palimeri vd., 2015). AGEs seviyelerinin glukozun artmasıyla artacağı, aralarında bir doğrusal ilişkinin olduğu bilinmektedir. Malathion ve diğer organofosfat pestisitlerin birçoğu hiperglisemiye nedeni olabilmekte ve glukoz düzeyindeki artma nedeniyle buna bağlı olarak AGEs seviyelerinin de artacağı bildirilmektedir. Oluşan AGEs, Tip 2 Diyabet veya insulin direncine neden olabilmektedir. Bu etkiyi oksidatif stres yoluyla, inflamasyon yoluyla ya da direkt olarak IRS-1'e etki ederek yapabileceği düşünülmektedir (Henriksen vd., 2011).

Kontrol grubu ve diğer doz grupları arasında bir karşılaştırma yapıldığında glukoz değerlerinde anlamlı bir değişim olmadığı görülmüştür ($p = 0,329$; $p < 0,013$). İlgili çalışmaların birçoğu glukoz homeostazında organofosfat pestisitlere ait etkilerin olduğunu söylemektedir. Bazı çalışmalar göz önüne alındığında karaciğerin glukoz üretim miktarında bazı değişimlere neden olduğu söylenmekte ve malathionun toksisite durumunda glukoneojenez yoluyla bu değişimlerin kaynağı olabileceği düşünülmektedir (Mostafalou vd., 2012). Çalışmamızda gruplar arası anlamlı istatistiksel değişim yoktur fakat insulin sonuçlarıyla birlikte değerlendirilmeye alındığında bazı anlamlar kazandığı düşünülmektedir. Bu sonuçlar göz önüne alındığında Grup 4'te Grup 1, Grup 2 ve Grup 3 'e kıyasla artmış bir glukoz seviyesi görülebilmektedir. Aynı grupları değerlendirdiğimizde, insülindeki değişimin istatistiksel anlamlı bir artışından söz edilebilmektedir. Başka çalışmalarda, malathion uygulamalarında hipergliseminin oluşabileceğinden söz edilmektedir. Bu açıdan insülin miktarının artmasıyla glukozun seviyesinin düşmesi beklenirken, Grup 2 ve Grup 3 'de kan glukoz seviyesinde önemli

bir değişme görülmemiş, Grup 4'te ise küçük bir artış görülmüştür. Bu durum insülinin artmış glukoza düşürmesinden kaynaklı olabileceği değerlendirilmektedir. Yine bir başka çalışmada, akut olarak ratlara 650 mg/kg malathion uygulandığında hipergliseminin oluştuğundan bahsedilmiştir (Rodrigues vd., 1986). Uygulanan doz miktarının artırılması veya daha uzun süreli doza maruz bırakılması hiperglisemi ile karşılaşılma ihtimalini arttırabileceği düşündürmektedir.

Grup 4'te diğer gruplara göre Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD) değerlerinde bir artış gözlenmiş fakat söz konusu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu düşünülmemektedir. Yapılan bir çalışmada malathion, parathion ve chlorpyrifos tek başlarına veya birbirleriyle kombine kullanılmış ve her iki durumun da glutatyon redüktaz ve glukoz-6-fosfat dehidrojenazın enzim aktivitelerinde bazı artışlar olduğu görülmüştür. Bu bulguların ışığında organopestisitlerin tek başlarına ya da kombine kullanımlarda oksidatif stres oluşturabildikleri görülmektedir (Ojha vd., 2009). Bununla birlikte G6PD ve glukoz düzeylerinde g   l  pozitif bir korelasyondan söz edilebilmektedir.

Organofosfat pestisitleri maruziyetlerinde tip 2 diyabet riski ve insulin direnci karşılaşılan en önemli komplikasyonlardandır. Malathionun subkronik modeliyle yapılan çalışmalarda oksidatif hasar ve inflamasyon ile ilgili parametreler incelendiğinde glisemi, sitokin ve insulin miktarlarında artışların olduğu görülmüştür (Lasram vd., 2014). Kan glukoz seviyesindeki artışlara paralel olarak malathion intoksikasyonunun insulin salınımını arttırdığı yönünde başka çalışmalara da rastlanmıştır (Pournourmohammadi vd., 2007; Vosough-Ghanbari vd., 2007; Nili-Ahmadabadi vd., 2013). Kontrol grubu ve diğer gruplar arasında serum insulin düzeyinde anlamlı bir artıştan bahsedilebilmektedir. Yapılan ilgili çalışmaların birçoğunda insulin direnci organofosfatlar ile oluşan maruziyetlerde karşılaşılan klinik durumların en başında yer almaktadır. Akut maruziyetlerde glukoz homeostazının bozulması sebebiyle hiperinsulinemi görüldüğü bazı çalışmalarda bildirilmiştir (Ghafour-Rashidi vd., 2007). Reaktif oksijen türleri insulin direncinin patofizyolojisinde mühim bir yere sahip olduğu bildirilmektedir. Treonin fosfataz aktivitesinin inhibe edilerek gerçekleştirildiği bildirilmektedir (Mahadev vd., 2004). Çalışmamızda insülin

ve TOS seviyeleri arasında güçlü bir korelasyondan bahsemek mümkündür. AGEs ve insulin arasında da yine güçlü bir korelasyon varlığından söz edilebilmektedir.

Kontrol grubunun diğer doz gruplarıyla karşılaştırılmasında BUN değerlerinde anlamlı olabilecek bir değişim görülmemiştir. Organofosfat kaynaklı toksisitede etki altında kalabilecek hedef organlardan biri de böbreklerdir. Yapılan çalışmalarda üre düzeyindeki artışların sebebinin akut, subakut ve kronik toksisite olduğu tespit edilmiştir (Sivapiriya vd., 2006). Üre oluşumu ile protein yıkımı arasında bir ilişki vardır. Bu durumun protein katabolizmasındaki artıştan kaynaklanabileceği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Lasram, 2014).

Taherdehi ve arkadaşları (2019) yılında yaptıkları çalışmada, Malathion'un erkek ratların testislerinde Glutatyon (GSH) ve Malondialdehit (MDA) düzeyine etkisinin araştırılması ve Askorbik Asit'in koruyucu rolünü araştırmışlardır. Yöntemleri, yaklaşık 200-250 g ağırlığında olan 30 yetişkin erkek Wistar Rat'ını her bir grupta 6 rat bulunmak üzere 5 gruba bölmüşlerdir. Bu gruplar; bir kontrol grubu (müdahale yok), sahte (normal salin %0.9), deneysel Grup 1 (malathion 50 mg/kg), deneysel Grup 2 (Malathion 50 mg/kg + Askorbik Asit 200 mg/kg) ve deneysel Grup 3 (Askorbik Asit 200 mg/kg) gruplarıdır. Malathion, solventler ve askorbik asit intraperitoneal olarak enjekte edilmiş olup 6 haftanın ardından tüm gruplara MDA ve GSH değerlerini ölçme amacıyla sağ testisleri kullanmışlardır. Elde ettikleri bulgulara Malathion'un MDA düzeyini artırdığı, GSH düzeyini ise azalttığını görmüşlerdir ($P < 0.001$). Malathion'un askorbik asit ile kombinasyonu halinde ise MDA seviyesini düşürdüğü, GSH seviyesini ise artırdığı sonucuna ulaşmışlardır. Araştırmanın sonunda elde ettikleri sonuçlar ise ratların testislerinde malathion kaynaklı lipid peroksidasyonu ve oksidatif stres şekillendiği bunun yanı sıra antioksidan özelliği sayesinde askorbik asidin malathion kaynaklı zehirli etkilere olumlu etki edebileceğine ulaşmışlardır.

Salahshoor vd., (2020) yılında yaptıkları çalışmada Malathion'un erkek ratların üreme parametrelerine neden olduğu hasara karşı Tribulus terrestris ekstraktının etkilerini incelemişlerdir. Bu çalışmada 48 erkek Wistar ratını sekiz gruba ayırmışlardır; birinci grup, sham grubu (normal salin); ikinci grup, Malathion (250 mg/kg); üçüncü, dördüncü ve beşinci gruplar, T. terrestris grupları (sırasıyla 2.5, 5 ve 10 mg/kg vücut ağırlığı); ve altı, yedi ve sekizinci gruplar ise Malathion + T. terrestris (2,5, 5 ve 10 mg/kg) şeklinde

çalışmışlardır. Çalışma neticesinde, erkek üreme parametrelerinin değerlerinde artan MDA düzeyiyle ve Malathion grubunda sham grubuyla karşılaştırıldığında önemli ölçüde azalma ($P < 0,01$) ile karşılaşmışlardır. Çalışmaları sonucunda, Tribulus terrestris özünün, Malathion'un bazı erkek üreme parametreleri üzerindeki toksik etkilerini hafiflettiğini görmüşlerdir.

Abbasabad Arab vd. (2018) yılında yaptıkları çalışmada Malathion'un dişi rat dokusundaki MDA düzeyi ve GSH içeriği üzerine etkilerini belirlemiş ve Askorbik Asit'in koruyucu rolünü değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada 30 yetişkin, dişi, Wistar ratları (200-250 g) kullanılmış ve her biri 6 rattan oluşan 5 grup (grup-1: kontrol grubu (müdahale yok), grup-2: sahte grup (normal salin %0.9 50 mg/kg), grup-3: Askorbik Asit 200 mg/kg, grup-4: Malathion 50 mg/kg ve grup-5: Malathion 50 mg/kg + Askorbik Asit 200 mg/kg) oluşturmuşlardır. İki haftanın sonunda veriler, malathionun kontrol grubuna göre MDA düzeyini artırdığını ve GSH içeriğini azalttığını göstermiştir ($p<0,001$). Ayrıca, malathion'un Askorbik Asit ile kombinasyon şeklinde uygulanması, rat yumurtalık dokusunda MDA seviyesini düşürmüş ve GSH içeriğini arttırmıştır.

Erthal vd. (2020) yılında yaptıkları çalışmada ratlarda juvenil ve peripubertal dönemlerde testis gelişimi sırasında düşük doz Malathion'un etkilerini değerlendirmişlerdir. Bu amaçla 45 erkek Wistar rat'ını 3 gruba ayırarak 40 gün boyunca % 0,9 tuzlu su içinde seyreltilmiş 10 mg/kg veya 50 mg/kg malathion'a olarak maruz bırakılmış. Sonuç olarak her iki malathion dozunun da sperm sayısını azalttığını ve anormal sperm sayısını artırdığını gözlemlemişler, GSH seviyesinde önemli düşüşlere neden olmuşlardır.

Aksoy ve Alper (2019) yılında yaptıkları çalışmada arı sütünün malathion kaynaklı toksisite ve biyokimyasal değişiklikler üzerindeki etkilerini belirlemeyi amaçlamışlardır. Çalışmada ratlar kullanılmış ve 6 gruba ayrılmış (kontrol, plasebo grubu ratlara taşıyıcı kimyasallar (%1 DMSO) uygulanmış, malathion grubu ratlarına deri altından DMSO içinde 0.8 g/kg malathion enjekte edilmiş, arı sütü grubundaki ratlara 100 mg/kg arı sütü içeren salin solüsyonu gavaj ile verilmiş, arı sütü ve malathion grubundaki sıçanlara ise 0.8 g/kg malathion enjeksiyonundan 1 saat önce gavaj yoluyla 100 mg/kg arı sütü verilmiş, malathion ve arı sütü grubuna da 0.8 g/kg malathion enjeksiyonundan 1 saat sonra gavaj yoluyla 100 mg/kg arı sütü verilmiştir) ve

incelenen sonuçlar neticesinde; malathion gruplarında eritrosit, karaciğer, böbrek ve beyin MDA (malondialdehit) konsantrasyonlarının diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur ($p<0.05$), kontrol ve sham gruplarına göre beyinde GSH (glutasyon) konsantrasyonlarının arttığı, eritrosit, karaciğer ve böbrekte azaldığı gözlenmiştir, eritrosit, karaciğer, böbrek ve beyin dokularında CAT (katalaz) konsantrasyonu kontrol ve sham gruplarına göre anlamlı olarak azalmıştır ($p<0.05$), SOD (süperoksit dismutaz) konsantrasyonu diğer gruplara göre anlamlı olarak azalırken ($p<0.05$), tedavi ve önleme gruplarında SOD konsantrasyonu diğerlerine göre anlamlı olarak artmıştır ($p<0.05$). Elde edilen bulgular neticesinde arı sütünün antioksidan etkisinin organofosfat içeren ve oksidatif strese yol açabilen insektisitlerden biri olan malathion tedavisini destekleyebileceğini öne sürmüşlerdir. Arı sütünün profilaktik özelliklerinin malathion toksisitesi üzerinde terapötik özelliklere göre daha etkili olduğu düşünülmüştür.

Selmi ve arkadaşları (2015) yılındaki çalışmalarında anne sütü yoluyla geçen malathionun, rat yavrularının böbrek ve karaciğerindeki oksidatif stres, fonksiyonel ve metabolik parametreler üzerindeki etkilerini belirlemeyi amaçlamışlardır. Malathiona maruz kalmanın (200 mg/kg, vücut ağırlığı (vw)) MDA içeriğindeki artışla değerlendirilen oksidatif stres durumunu indüklediğini ve ayrıca doğum sonrası günlerde SOD ve CAT verilerinde azalma görmüşlerdir. Bu bulgular, yavrularının anne sütü yoluyla emzirme sırasında malathiona maruz kalınmasının böbrek ve karaciğer oksidatif stresine neden olduğunu görmüşlerdir.

Ranjbar vd. (2010) yılında yaptıkları araştırmada, bir fosfodiesteraz-5 inhibitörü olarak pentoksifilin, rat beyin mitokondrilerinde malathion kaynaklı oksidatif hasar üzerindeki olası koruyucu etkilerini araştırmışlardır. Ratlar, malathion (200 mg/kg/gün) ve pentoksifilin (PTX, 50 mg/kg/gün) ürünlerini kombinasyon halinde veya tek başına almışlardır. 1 haftalık uygulamadan sonra alınan verilerde; glutasyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT), bakır-çinko süperoksit dismutaz (Cu/ZnSOD) ve mangan süperoksit dismutaz (MnSOD) gibi enzimatik süpürücülerin aktivitesi ölçülmüştür. Malathion, tüm beyin homojenatında CAT, Cu/ZnSOD, GSH-Px aktivitelerini uyarmış, LPO ve NOx'i artırmıştır ve GSH/GSSG'yi azaltmıştır. Malathion, kontrol grubuna kıyasla MnSOD proteininin ekspresyonunu belirgin şekilde artırmıştır. Malathion, AT

tarafından geri kazanılan mitokondrinin canlılığını azaltmıştır. Oksidatif hasarın, en azından kısmen, mitokondrideki malathionun AT ile karşılaştırılabilir PTX ile geri kazanılabilen toksisite mekanizması olduğu sonucuna varılmıştır.

Fortunato vd. (2006) yılında gerçekleştirdikleri araştırmada malathion kaynaklı lipid peroksidasyonunu (LPO), protein karbonilasyonunu belirlemek ve malathion ratların beyinlerinde antioksidan sistemi değiştirip değiştirmediğini belirlemek amacıyla yapmışlardır. Malathion, akut ve kronik protokollerde intraperitoneal olarak 25, 50, 100 ve 150 mg malathion/kg dozlarında uygulanmıştır. Alınan sonuçlarda, beyindeki LPO'nun hem akut hem de kronik protokolde arttığını göstermiştir. Artan oksidatif stres, akut malathion protokolünde korteks, striatum ve kronik malathion protokolünde hipokampusta gözlenen katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi antioksidan enzimlerin aktivitesinde artışa sebep olmuştur. Varmış oldukları netice ise malathion'un oksidatif stresi indüklediğini ve seçici beyin bölgelerinde SOD ve CAT aktivitesini modüle ettiğini göstermiştir.

Jalili vd. (2019) yılında yapmış oldukları çalışmada, malathionun rat karaciğeri üzerindeki toksik etkilerine karşı resveratrolün etkilerini değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada 48 erkek rat rastgele 8 gruba ayrılmış: kontrol grubu (salin) ve malathion kontrol uygulanan gruplar (50 mg/kg), resveratrol grupları (2, 8 ve 20 mg/kg) ve malathion + resveratrol uygulanan gruplar (2, 8 ve 20 mg/kg) olmak üzere sınıflandırmışlardır. Uygulamalar 14 gün boyunca her gün intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Histolojik analizlerde, kontrol ve resveratrol uygulama gruplarında karaciğer normal yapısını göstermiştir. Malathion kontrol grubunda ise malathion uygulaması sonrasında karaciğerde belirgin değişiklikler ve hasarlar görülmüştür. Bu anomaliler arasında beyaz kan hücrelerinde artış (iltihap), artan düzensizlikler, sinüzoidal dilatasyon ve hepatosit vakuolizasyonu (nekroz) yer almıştır. Malathion + resveratrol uygulaması ile tüm dozlarda uygulama, malathion toksisitesinin neden olduğu karaciğer hasarını azalttığı görülmüştür.

Abdel-Salam vd. (2017) yılında, nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörü olan NG-nitro-l-arginin metil esterinin ve NOS inhibitörü olan 7-nitroindazolün (7-NI) oksidatif stres üzerindeki etkisini araştırmış ve beyin ile karaciğerdeki doku hasarını incelemişlerdir. Sonuçlarda, malathion, belirgin histopatolojik değişikliklere neden olmuş ve beyin ile

karaciğer dokularında iNOS ekspresyonunu artırmıştır. Beyin dokusunda, sadece malathion uygulanan ratlarda, nükleer piknotik dejenerasyon, yoğun bazofili ve nöronal hücrelerin apoptotik çekirdekleri sergileyen Purkinje hücre tabakasının çoğunun yok edilmesi şeklinde şiddetli histopatolojik değişiklikler göstermişlerdir. Öte yandan, sırasıyla 10 ve 20 mg/kg'da 7-NI uygulanan ratlarda, tıkanmış nöronal damarlara ek olarak normal nöronal dokulara da rastlanılmıştır. 7-NI'nin daha yüksek dozunun uygulandığı grupta ise, ökromatik çekirdekli nöronlar normal biçimde tespit edilmiştir. Karaciğer dokusunda ise malathion, fibrotik ipliklerin oluşumu ile hepatik lobüllerin düzensizliği ile birlikte karaciğer yapısında ciddi hasara neden olmuştur. Hepatik hücreler, piknotik çekirdekli vakuolar balonlaşan sitoplazma, genişlemiş ve safra duktal epitel hiperplazisi ile tıkanmış görünen hepatik damarların etrafında inflamatuvar infiltrasyonlar biçiminde dejeneratif özellikler görülmüştür. l-NAME ile birlikte malathion uygulanan ratlarda, bazı hepatositlerin hücresel zarlarını kaybettikleri, genişlemiş ve tıkanmış karaciğer damarları ve karaciğerin normal yapısına sahip olduğu görülmüştür.

Ince vd. (2017) yılında yapmış oldukları çalışmada, ratlarda malathion kaynaklı toksisite üzerinde taurinin koruyucu etkisini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Toplam 48 erkek rat 6 eşit gruba ayrılmış: Kontrol ratlarına oral olarak 0.5 ml fizyolojik tuz çözeltisi verilmiş, Mısır yağı grubundaki ratlara ağızdan 0,5 ml mısır yağı verilmiş, Malathion grubundaki ratlara 27 mg/kg (1/50 LD50) dozunda 0.5 ml mısır yağında çözündürülmüş ve oral yolla verilmiş, diğer gruplar; Malathion (27 mg/kg) ve taurin (0.5 ml fizyolojik tuz solüsyonunda çözölmüş) sırasıyla 50, 100 ve 200 mg/kg dozunda ratlara 30 gün süresince ağızdan verilmiştir. Bu uygulamanın proinflamatuvar sitokinler üzerindeki etkisi incelendiğinde, IF- γ , IL1-p, TNF-a ve NF κ B mRNA ekspresyon seviyeleri gibi proinflamatuvar sitokinler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, malathion uygulaması IF- γ , IL1- β , TNF- α ve NF κ B mRNA ekspresyon seviyelerinin sırasıyla 5, 1.7, 2.3 ve 2.5 katında artmasına neden olduğu görölmüştür ($p < 0.05$). Ancak IF- γ ve NF κ B mRNA düzeylerinin malathion grubuna göre taurin uygulama gruplarında 2 kat oranında azaldığı tespit edilmiştir ($p < 0.05$).

Rosety ve ark., 2005, malathiona akut maruziyetten sonra yaldızlı çipura Sparus aurata L'nin solungaçlarındaki antioksidan yanıtı ve histopatolojik değişiklikleri kronolojik

ticari sınıf malathionun (% 50 EC) subölümcül konsantrasyonuna maruz kalan tatlı su balığı *Channa punctatus*, deney organlarında histopatolojik değişiklikler sergilemiştir. Her ikisi de yüksek derecede dejeneratif böbrek ve Bowman'ın kapsülünde ciddi nekroz ve boşlukların yanı sıra glomerüllerin ve böbrek tübüllerinin büzülmesi ile tübüleri topladığını kaydetmişti. Bu araştırma çalışmasının bulgularına göre, *Channa punctatus*'un 4 gün boyunca malathion'a maruz kalan karaciğer dokuları, sitoplazmanın dejenerasyonunu ve hepatositlerin vakuolizasyonunu göstermiştir. Pugazhvendan ve ark., 2009, tatlı su balığı *Ophiocephalus punctatus*'ta malathion toksisitesinin etkisini araştırmış ve balıklar üzerinde histopatolojik değişiklikler gözlemlemiştir. 16 µl / L olarak bulunan tatlı su balığı *Ophiocephalus punctatus* için malathionun LC50 değerini tahmin etmişlerdir. Araştırmacılar tarafından bildirilen üst ve alt% 90 güven sınırlarının sırasıyla 20 µl / L ve 12 µl / L olduğu bulunmuştur. Araştırma bulgularına göre, kontrol balıklarının kasındaki protein içeriği 7. günde ($10.25 \pm 0.4\text{mg / g}$) en yüksek aktiviteyi gösterirken, kontrol grubunda 0. günde ($8.5 \pm 0.4\text{mg / g}$) daha düşük değere tanık olunmuştur. Öte yandan, malathion'a maruz kalan balıklar, deneyin 7. gününden sonra çok düşük kas proteini değeri, yani ($6.25 \pm 0.1\text{mg / g}$) gösterdi. Beynin histolojisinin normal olduğu ve kontrol balıklarının sinir hücreleri tarafından düzgün bir şekilde hizalandığı gözlemlendi. Malathion'a maruz kalan balıklarda parçalanmış ve ciddi hasar görmüş sinir hücreleri sergilendi. Nöral demetlerin parçalanması görüldü. Benzer şekilde, araştırmacılar tarafından kontrol balıklarının solungaçlarında normal mimari rapor edilmiştir. Araştırmacılar, deneysel balık solungaçlarında ciddi hasar, gözle görülür ödem ve aktif mukoza salgılanması gözlemlemişlerdi. Sekonder lamellerin epitel hücrelerinin tahrip olduğu gözlemlendi, birkaç lamel kıvrıldı ve sonunda solungaçların tıkanıklığına ve kanamasına yol açtı. Solungaçlar, pestisit 7 gün maruz kalmasının ardından doğal rengini kaybetti. Pugazhvendan ve ark., 2009, çalışmalarında, kontrol balıklarında karaciğerin normal histolojik mimarisini gözlemlemişlerdir, ancak deneysel balık karaciğerinin histopatolojisi, kanallı hücrelerin çoğaldığını ve hepatik hücreler arasında küçük boşlukların ortaya çıktığını göstermiştir. Karaciğer dokusu dejeneratif ve nekroz ile dağılmış olarak bulundu. Kontrol balıklarında normal yumurtalık dokusunu gözlemlemişlerdi. Deneysel balıklarda, inhibe edilmiş oosit gelişimi, kırık germinal veziküller, yumurta sarısı granüllerinin kaybolması ve birçok rahatsız edici oogonyla araştırmacılar tarafından gözlenmiştir.

Magar ve Dube, 2013, *Channa Punctatus*'un kalp dokusunda metabolik profiller ve histolojik çalışmalar üzerinde malathionun sublmcl konsantrasyonunun etkisini araştırmış ve *Channa punctatus*'un kalbinin normal yapısını bulmuşlardır. Malathion ile tedavi edilen balıklarda kalp kasında tıkanıklık ve atrofi olduğu gözlendi. Araştırmacı, kas liflerinin birbirinden ayrılmasıyla birlikte kas lifinin vakuoler dejenerasyonunu gözlemledi. Ayrıca, malathion ile tedavi edilen balıkların miyokard liflerinde enflamatuar hücrelerin toplanması ile birlikte kanama ve hemolizi de fark etmişlerdir.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapılan çalışmada malathion verilen doku numunelerinde, lipid peroksidasyonuna bağlı MDA seviyelerinin arttığı, GSH, CAT ve SOD antioksidan enzim etkinliğinin düştüğü ve alınan doku örneklerinde hasara ait histopatolojik farklılıkların olduğu görülmüştür. Malathion ile aynı anda verilen 12,5, 25 ve 50 mg/kg dozda ferulik asitin ise oluşan durumları tersine yönlendirdiği görülmüştür. Sonuç olarak ferulik asitin malathion ile indüklenen bütün doku hasarlarına karşı antioksidan, antiinflamatuvar etkisi ile birlikte dokuyu koruyucu olarak gösterdiği etki belirlendi. Değerlendirildiğinde, özellikle ferulik asit açısından zengin gıda öğelerinin (buğday, yulaf, pirinç, portakal, enginar ve ananas gibi bitkiler) tüketilmesinin, insan sağlığı açısından malathion başta olmak üzere oksidatif stres kaynaklı doku hasarlarına neden olan pestisiterin maruziyetine karşı koruyucu etkilerinin olma potansiyeli taşıdığı görülmüştür.

Bu çalışmada bir pestisit olan malathionun, neden olduğu oksidatif stres hasarlarına karşı ferulik asitin koruyucu etkisinin belirlenmesi literatüre ilave bilgilerin girmesine olanak sağlamış ve ayrıca pestisit kaynaklı oluşabilecek olumsuz etkilerin azaltılmasında ferulik asitin kullanılabileceğini göstermiştir.

7. KAYNAKLAR

- Abbasabad Arab, S., Nikraves, M. R., Jalali, M., & Fazel, A. (2018). Evaluation of oxidative stress indices after exposure to malathion and protective effects of ascorbic acid in ovarian tissue of adult female rats. *Electronic Physician*, 10(5). <https://doi.org/10.19082/6789>
- Abdel-Salam, O. M. E., Youness, E. R., Mohammed, N. A., Yassen, N. N., Khadrawy, Y. A., El-Toukhy, S. E., & Sleem, A. A. (2017). Nitric oxide synthase inhibitors protect against brain and liver damage caused by acute malathion intoxication. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 10(8). <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.07.018>
- Aebi H. (1974). "Catalase, Methods of Enzymatic Analysis (Second Edition)", 2: 673-684.
- Akhgari, M., Abdollahi, M., Kebryaezadeh, A., Hosseini, R. and Sabzevari, O. (2003). Biochemical evidence for free radical-induced lipid peroxidation as a mechanism for subchronic toxicity of malathion in blood and liver of rats. *Human & Experimental Toxicology*, 22(4), 11-205.
- Akkuş, İ. (1995). "Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri", Mimoza Yayınevi, Sağlık dizisi 5, Konya 43, 68-73
- Aksoy, L., & Alper, Y. (2019). The Effects of Royal Jelly on Oxidative Stress and Toxicity in Tissues Induced by Malathion, an Organophosphate Insecticide. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 70(2). <https://doi.org/10.12681/jhvms.20827>
- Alp, H., Aytekin, I., Esen, H., Alp, A., Büyükbağ, S. and Bağcı, K. (2011). Protective effects of caffeic acid phenethyl ester, ellagic acid, sulforaphane and curcuma on malathion induced damage in lungs, liver and kidneys in an acute toxicity rat model. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 162(7), 40-333.
- Al-Attar, AM., (2010) Physiological and Histopathological Investigations on the Effects of α -Lipoic Acid in Rats Exposed to Malathion. *Journal of Biomedical Biotechnology* 203503.
- Ayud, S., Verma, J., Das, N. (2003) Effect of endosulfan and malathion on lipid peroxidation, nitrite and TNF- α release by rat peritoneal macrophages. *International Immunopharmacology*;3:1819–28.
- Bassil, K.L., Vakil, C., Sanborn, M., Cole, D.C., Kaur, J.S., Kerr, K.J. (2007). Cancer health effects of pesticides: systematic review. *Canadian Family Physicians* ;53:1704–11.

- Beutler, E. (1963). Kan glutasyon tayini için geliştirilmiş yöntem. J. lab. clin. Med., 61, 882-888.
- Bradman, A., Salvatore, A.L., Boeniger, M., Castorina, R., Snyder, J., Barr, D.B., Jewell, N.P., Kavanagh-Baird, G., Striley, C., and Eskenazi, B. (2009) Community-Based Intervention to Reduce Pesticide Exposure to Farmworkers and Potential Take-Home Exposure to their Families. *Journal of Exposure Science Environmental Epidemiology*. 2009 January ; 19(1): 79–89. doi:10.1038/jes.2008.18
- Bonamonte, D., Foti, C., Cassano, N., Rigano, L. And Angelini, G., (2001). “Contact dermatitis from organophosphorus pesticides”, *Contact Dermatitis*, 44: 179-180
- Bond, R.G., Straup, C.P. (1974) *Handbook of Enviromental Control IV* p436 CRC Press Ohio.
- Carlson, G. P. (1987). Factors modifying toxicity. In *Toxic Substances and Human Risk: Principles of Data Interpretation*. New York: Plenum Press, 5-79
- Casida, J.E., Nomura, D.K, Vose S.J., Fujioka K. (2008). Organophosphate-Sensitive Lipases Modulate Brain Lysophospholipids, Ether Lipids and Endocannabinoids. *Chemical Biology Interaction* September 25; 175(1-3): 355–364
- Casida, J.E., Quistad, G.B., (2004). Organophosphate toxicology: safety aspects of nonacetylcholinesterase secondary targets. *Chemical Research in Toxicology* 17,983–998.
- Chiang, K.P., Niessen, S., Saghatelian, A., Cravatt, B.F. (2006) An enzyme that regulates ether lipid signaling pathways in cancer annotated by multidimensional profiling. *Chemical Biology*;13:1041–1050.
- Clarkson, P. M., Thompson, H.S. (2000). Antioxidants: what role do they play in physical activity and health?. *American Journal of Clinical Nutrititon*, 72(2), 637-646.
- Deka S., Mahanta R. (2016). Malathion Toxicity On Fish - A Review. *International Journal of Current Research* Vol. 8, Issue, 12, pp.44120-44128, December, 2016
- Dhote, F., Peinnequin, A., Carpentier, P., Baille, V., Delacour, C., Foquin, A., Lalle-ment, G., Dorandeu, F., (2007). Prolonged inflammatory gene response followingsomaninduced seizures in mice. *Toxicology* 238, 166–176.
- Dillman 3rd, J.F., Phillips, C.S., Kniffin, D.M., Tompkins, C.P., Hamilton, T.A., Kan, R.K., (2009). Gene expression profiling of rat hippocampus following exposure to theacetylcholinesterase inhibitor soman. *Chemical Research of Toxicology*. 22, 633–638.

Doğan A.: Toksikoloji. Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi, Kars, 2012.

Dökmeci, İ (2001) *Toksikoloji, Zehirlenme Tanı ve Tedavileri*, Nobel Tıp Kitabevi, (S. 215-228, 646-652)

Drabkin, D. L., & Austin, J. H. (1935). Spectrophotometric studies: II. Preparations from washed blood cells; nitric oxide hemoglobin and sulfhemoglobin. *Journal of Biological Chemistry*, 112(1), 51-65.

Draper H.H., Hadley, M. (1990). Malondialdehyde determination as index of lipid Peroxidation. In *Methods in enzymology* (Vol. 186, pp. 421-431). Academic press.

El-Demerdash, F.M., Yousef, M.I., Al-Salhen, K.S. (2003). Protective effects of isoflavone on some biochemical parameters affected by cypermethrin in male rabbits. *Journal of Environmental Science Health* 38:365–78.

Erthal, R. P., Staurengo-Ferrari, L., Fattori, V., Luiz, K. G., Cunha, F. Q., Pescim, R. R., Cecchini, R., Verri, W. A., Guarnier, F. A., & Alves Fernandes, G. S. (2020). Exposure to low doses of malathion during juvenile and peripubertal periods impairs testicular and sperm parameters in rats: Role of oxidative stress and testosterone. *Reproductive Toxicology*, 96. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2020.05.013>

Floyd R.A.(1992). DNA damage and repair in *Oxidative Damage and Repair*. Davies KJA. Ed. Pergamon Press; 175-180.

Franco, J.L., Posser, T., Mattos, J.J. (2009) Zinc reverses malathion-induced impairment in antioxidant levels. *Toxicology Letter* 187: 137-43

Fortunato, J. J., Feier, G., Vitali, A. M., Petronilho, F. C., Dal-Pizzol, F., & Quevedo, J. (2006). Malathion-induced oxidative stress in rat brain regions. *Neurochemical Research*, 31(5). <https://doi.org/10.1007/s11064-006-9065-3>

Ghafour-Rashidi, Z., Dermenaki-Farahani, E., Aliahmadi, A., Esmaily, H., Mohammadirad, A., Ostad, S.N., Abdollahi, M., (2007). Protection by cAMP and cGMPphosphodiesterase inhibitors of diazinon-induced hyperglycemia and oxidative/nitrosative stress in rat Langerhans islets cells: molecular evidencefor 72 involvement of non-cholinergic mechanisms. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 87,261–270.

- Guerin P., El Mouatassim S., Menezo Y. (2001). Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings. *Human reproduction update*, 7(2), 175-189.
- Hariri, A.T., Moallem, S.A., Mahmoudi, M., Memar, B., Hosseinzadeh, H. (2010). Subacute effects of diazinon on biochemical indices and specific biomarkers in rats: protective effects of crocin and safranal. *Food Chemistry Toxicology*;48(10):2803–8.
- Hazarika, A., Sarkar, S.N., Hajare, S., Kataria, M. And Malik, J.K., (2003). “*Influence of malathion pretreatment an the toxicity of anilofos in male rats: a biochemical interaction study*”, *Toxicology.*, 185: 1-8
- Henriksen, E.J., Diamond-Stanic, M.K., Marchionne, E.M., (2011) Oxidative stress and the etiology of insulin resistance and type 2 diabetes. *Free Radical of Biology Medical*.51,993–999.
- Hsiou C.T., Yang C.C., Deng J.F., Bullard M.J., Liaw S.J (1996). Acute pancreatitis following organophosphate intoxication. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 34:3, 343-347.
- <https://tr.wikipedia.org/wiki/Malathion>
- Ighodaro O.M. , Akinloye O.A., (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GSH-Px): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria J Med*;54:287–293.
- Ince, S., Arslan-Acaroz, D., Demirel, H. H., Varol, N., Ozyurek, H. A., Zemheri, F., & Kucukkurt, I. (2017). Taurine alleviates malathion induced lipid peroxidation, oxidative stress, and proinflammatory cytokine gene expressions in rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 96. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.09.141>
- Ince S., Kucukkurt I., Demirel H.H., Acaroz D.A., Akbel E., Cigerci I.H. (2014a). Protective effects of boron on cyclophosphamide induced lipid peroxidation and genotoxicity in rats. *Chemosphere*, 108, 197-204.
- Ince, S., Kucukkurt, I., Cigerci, I. H., Fidan, A. F., & Eryavuz, A. (2010). The effects of dietary boric acid and borax supplementation on lipid peroxidation, antioxidant activity, and DNA damage in rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* , 24(3), 161-164.

- I.S. Young, J.V. Woodside.(2001). Antioxidants in health and disease. *Journal Of Clinical Pathology*, 54(3), 176-186.
- İnternet: WHO (World Health Organization) (1997). “1997 Guidelines for poison control”, http://www.who.int/ipcs/publications/training_poisons/guidelines_poison_control/en/index.html
- Jain N., Sharma P., Sharma N., Joshi S.C., (2009). Haemato-Biochemical Profile Following Sub Acute Toxicity Of Malathion in Male Albino Rats. *Pharmacologyonline* 2: 500- 506
- Jalili, C., Farzaei, M. H., Roshankhah, S., & Salahshoor, M. R. (2019). Resveratrol attenuates malathion-induced liver damage by reducing oxidative stress. *Journal of Laboratory Physicians*, 11(03). https://doi.org/10.4103/jlp.jlp_43_19
- Kalender, S., Kalender, Y., Durak, D., Ogutcu, A., Uzunhisarcıklı, M., Cevrimli, B.S., And Yildirim, M., (2007) ‘Methyl parathion induced nephrotoxicity in male rats and protective role of vitamins C and E’, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 88: 213–218
- Kalendar R., Lee D., Schulman A.H. (2009). FastPCR Software for PCR Primer and Probe Design and Repeat Search. *Genes. Genomes and Genomics*, 3(1),1-14.
- Kalender, S., Uzun, F.G., Durak, D., Demir, F., Kalender, Y. (2010) Malathion-induced hepatotoxicity in rats: The effects of vitamins C and E. *Food and Chemical Toxicology* 48 633–638
- Karami-Mohajeri, S. And Abdollahi, M. (2011). Toxic influence of organophosphate, carbamate, and organochlorine pesticides on cellular metabolism of lipids, proteins, and carbohydrates: a systematic review. *Human & Experimental Toxicology*, 30, 1119-1140
- Karmin, M. A. (2000). *Pesticide Profiles*. New York: Lewis Publishers, 202.
- Kaya S, Pirinççi Ğ, Bilgili A.: Pestisitler. *Veteriner hekimliğinde toksikoloji*. Medisan Yayınları, 2. Baskı, Ankara, 385-401, 2002
- Kesavachandran, C.N., Fareed, M., Pathak, M.K., Bihari, V., Mathur, N., Srivastava, A.K. (2009) Adverse health effects of pesticides in agrarian populations of developing countries. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* ;200:33–52

- Kohen R. , Nyska A., (2002). Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol*, 30: 620-630.
- Kucukkurt I., Ince S., Fidan A.F. , Ozdemir A. (2008). The effects of dietary supplementation of different amount of Yucca schidigera powder (Sarsaponin 30®) on blood and tissue antioxidant defense systems and lipid peroxidation in rats. *J Anim Vet Advan*. 2008; 7: 1413-1417.
- Lasram, M. M., Annabi, A. B., Elj, N., Selmi, S., Kamoun, A. and El-Fazaa S. (2009). Metabolic disorders of acute exposure to malathion in adult Wistar rats. *Journal of Hazardous Materials*, 163, 5-1052.
- Lasram, M. M., Annabi, A. B., Rezg, R. Naziha, E., Slimen, S., Kamoun, A., El-Fazaa, S. and Gharbi N. (2008). Effect of short-time malathion administration on glucose homeostasis in Wistar rat. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 92, 114–119.
- Lasram, M.M., Bini Douib, I., Bouzid, K., Annabi, A., El Elj, N., Dhouib, H., El Fazaa, S., Abdelmoula, J., Gharbi, N. (2014) A review on the molecular mechanisms involved in insulin resistance induced by organophosphorus pesticides *Toxicology* 322 1–13.
- Lasram, M.M., Dhouib, I.B., Bouzid, K., Lamine, A.J., Annabi, A., Belhadjhmida, N., Ahmed, M.B., Fazaa, S.E., Abdelmoula, J., Gharbi, N. (2009) Metabolic disorders of acute exposure to malathion in adult Wistar rats. *Journal of Hazardous Materials* 163 1052–1055.
- Lasram, M.M., Lamine, A.J., Dhouib, I.B., Bouzid, K., Annabi, A., Belhadjhmida, N., Ahmed, M.B., El Fazaa, S., Abdelmoula, J., Gharbi, N. (2014) Antioxidant and antiinflammatory effects of N-acetylcystein against malathion-induced liver damages and immuntotoxicity in rats. *Life Science* Jun 27;107(1-2):50-8.
- Lowry, O. H. (1951). *Protein measurement with the Folin phenol reagent*. *J biol Chem*, 193, 265-275.
- Luck H.A. (1963). Katalaz tahmini için spektrofotometrik yöntem. *Enzimatik analiz yöntemleri*.
- Luna L.G. (1968). *Manual of histologic staining methods of armed forces institute of pathology*. 3rd Ed, McGraw-Hill Book Company, New York;1-253.

- Macphee, C.H., Nelson, J., Zalewski, A. (2006) Role of lipoprotein-associated phospholipase A2 in atherosclerosis and its potential as a therapeutic target. *Current Opinion. Pharmacology*;7:154–161
- Mahadev, K., Motoshima, H., Wu, X., Ruddy, J.M., Arnold, R.S., Cheng, G., Lam-beth, J.D., Goldstein, B.J., (2004). The NAD(P)H oxidase homolog Nox4 modulates insulin-stimulated generation of H₂O₂ and plays an integral role in insulin signal transduction. *Molecular and Cell Biology*. 24, 1844–1854
- Mostafalou, S., Eghbal, M.A., Nili-Ahmadabadi, A., Baeeri, M., Abdollahi, M. (2012) Biochemical evidence on the potential role of organophosphates in hepatic glucose metabolism toward insulin resistance through inflammatory signaling and free radical pathways. *Toxicology and Industrial Health*. 2012 Oct;28(9):840-51
- Nain, S., Bour, A., Chalmers, C., and Smits, J. E. (2011). Immunotoxicity and disease resistance in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) exposed to malathion. *Ecotoxicology*, 20, 892-900
- Nili-Ahmadabadi, A., Pourkhalili, N., Fouladdel, S., Pakzad, M., Mostafalou, S., Hassani, S., Baeeri, M., Azizi, E., Ostad, S.N., Hosseini, R., Sharifzadeh, M., Abdollahi, M., (2013). On the biochemical and molecular mechanisms by which malathion induces dysfunction in pancreatic islets in vivo and in vitro. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 106, 51–60.
- Ohkawa H., Ohishi N., Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical biochemistry*, 95(2), 351-358.
- Ojha, A., Yaduvanshi, S. K., Pant, S. C., Lomash, V. and Srivastava, N. (2013). Evaluation of DNA damage and cytotoxicity induced by three commonly used organophosphate pesticides individually and mixture, in rat tissues. *Environmental Toxicology*, 28(10), 543-552
- Oral, B., Guney, M., Demirin, H. (2006). Endometrial damage and apoptosis in rats induced by dichlorvos and ameliorating effect of antioxidant vitamins E and C. *Reproduction of Toxicology*, 22(4): 783–90
- Palimeri, S., Palioura E., Kandarakis E.D., (2015) Current perspectives on the health risks associated with the consumption of advanced glycation end products: recommendations for dietary management. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*.
- Pfaffl M.W. (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Research*, Vol. 29, No. 9.

- Pham-Huy L.A. , H.E.H., Pham-Huy C., (2008). "Free radicals, antioxidants in disease and health", International Journal of Biomedical Science: IJBS, 4(2): 89.
- Rahman, T., Hosen, I., Islam, M. M. T. and Shekhar, H. U., (2012). Oxidative stress and human health, *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 3, 997–1019.
- Ranjbar, A., Ghahremani, M.H., Sharifzadeh, M., Golestani, A., Ghazi-Khansari, M., Baeeri, M. (2010) Protection by pentoxifylline of malathion-induced toxic stress and mitochondrial damage in rat brain. *Human Experimental Toxicology* 2010;29(10):851–64.
- Rodrigues, M.A., Puga, F.R., Chenker, E. and Mazanti, M.T. (1986) Short-term effect of malathion on rats' blood glucose and on glucose utilization by mammalian cells in vitro. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 12, 110–113.
- Salahshoor, M. R., Abdolmaleki, A., Faramarzi, A., Jalili, C., & Shiva, R. (2020). Does *Tribulus terrestris* improve toxic effect of Malathion on male reproductive parameters? *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 12(2). https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_224_19
- Selmi, S., El-Fazaa, S., & Gharbi, N. (2015). Oxidative stress and alteration of biochemical markers in liver and kidney by malathion in rat pups. *Toxicology and Industrial Health*, 31(9). <https://doi.org/10.1177/0748233713475507>
- Shi, Y., Burn, P. (2004) Lipid metabolic enzymes: emerging drug targets for the treatment of obesity. *Nature Reviews Drug Discovery*;3:695–710.
- Sivapiriya, V., Jayanthisakthisekaran, J., Venkatraman, S. (2006). Effects of dimethoate (O,O-dimethyl S-methyl carbamoyl methyl phosphorodithioate) and ethanol in antioxidant status of liver and kidney of experimental mice. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 85:115–21.
- Shoelson, S.E., Lee, J., Yuan, M., (2003). Inflammation and the IKK /I /NF- B axis in obesity- and diet-induced insulin resistance. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders* 27 (3), 49–52.
- Slimen, S., Saloua, E.F., Najoua, G. (2014) Oxidative stress and cytotoxic potential of anticholinesterase insecticide, malathion in reproductive toxicology of male adolescent mice after acute exposure. *Iran Journal of Basic Medical Sciences*. 2014 Jul; 17(7): 522–530.

- Sun Y., Oberley L.W., Li Y. (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase., *Clinical Chemistry*, Cilt 34, Sayı 3, 1 Mart, Sayfalar 497–500
- Suzuki, H., Ito, Y., Noro, Y., Koketsu, M., Kanijima, M., Tomizawa, M. (2014). Organophosphate agents induce plasma hypertriglyceridemia in mouse via single or dual inhibition of the endocannabinoid hydrolyzing enzyme(s). *Toxicology Letters* 225 153–157.
- Taherdehi, F. G., Jalali, M., Fazel, A., Valokola, M. G., & Nikraves, M. R. (2019). Evaluating the protective role of ascorbic acid in malathion-induced testis tissue toxicity of male rats. *International Journal of Preventive Medicine*, 10(1). https://doi.org/10.4103/ijpvm.IJPVM_253_17
- Tamura, H., Maness, S.C., Dorman, D.C., Gray, L.E., And Gaido, K.W., (2001). “Androgen receptor antagonism by the organophosphate insecticide fenitrothion”, *Toxicol. Sci.*, 60: 56-62
- Teimouri, F., Amirkabirian, N., Esmaily, H. (2006) Alteration of hepatic cells glucose metabolism as a non-cholinergic detoxication mechanism in counteracting diazinon-induced oxidative stress. *Human Experimental Toxicology*,; 25(12): 697–703
- Quistad, G.B., Barlow, C., Winrow, C.J., Sparks, S.E., Casida, J.E. (2003) Evidence that mouse brain neuropathy target esterase is a lysophospholipase. *Proceeding of the. National Academy of Sciences. U.S.A*;100:7983–7987.
- Valko M., Leibfritz D., Mancol J., Cronin M.T.D., Mazur M., Telser J.,(2007).Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry&Cell Biology*: 39; 44-84
- Vial T., Nikolas B., Descotes J. (1996). Clinical Immunotoxicity of pesticide *Journal of Toxicology and Environment Health* 48, 215-229.
- Vosough-Ghanbari, S., Sayyar, P., Pournourmohammadi, S., Aliahmadi, S., Ostad, N.S., Abdollahi, M., 2007. Stimulation of insulin and glucagon synthesis in rat Langerhans islets by malathion in vitro Evidence for mitochondrial interaction and involvement of subcellular noncholinergic mechanisms. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 89, 130–136.
- Winterbourn CC, Hawkins RE, Brain M, Carell RW, The estimation of red cell superoxide activity. *J Lab Clin Med*. 1975;55: 337-341

- Wong S., Fournier M., Coddere D., Banska W., and Kryzstyniak K.,(1992) Enviromental Immuntotoxicology. In D. Peakal ed. *Animal Biomarkers as Pollution Indicators* pp 167-189 London. Chapman-Hall
- Yang, M.C., McLean, A.J., Rivory,L.P., And Le Couteur, D.G., (2000). “Hepatic disposition of neurotoxins and pesticides”, *Pharmacol. Toxicol.*, 87: 286–291
- Yurumez, Y., Cemek, M., Yavuz, Y., Birdane, Y., Buyukokuroglu, M.E. (2007) Beneficial effect of Nacetylcysteine against organophosphate toxicity in mice. *Biologic and Pharmaceutical Bulletin*;30 490–4.

