



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

**DOKTORA  
TEZİ**

**MALATHİONUN, RAT KARACİĞER DOKULARINDA  
OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN SİSTEM,  
İNFLAMATUAR BELİRTEÇLER VE  
BAZI METABOLİK BİYOMOLEKÜLLER  
ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

**ÇINAR SEVERCAN**

**TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**NİSAN 2016**



**MALATHİONUN, RAT KARACİĞER DOKULARINDA OKSİDAN  
VE ANTİOKSİDAN SİSTEM, İNFLAMATUAR BELİRTEÇLER VE  
BAZI METABOLİK BİYOMOLEKÜLLER ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
İNCELENMESİ**

**Çınar SEVERCAN**

**DOKTORA TEZİ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**NİSAN 2016**

Çınar SEVERCAN tarafından hazırlanan “MALATHİONUN, RAT KARACİĞER DOKULARINDA OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN SİSTEM, İNFLAMATUAR BELİRTEÇLER VE BAZI METABOLİK BİYOMOLEKÜLLER ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

**Başkan, Danışman:** Prof. Dr. Hatice PAŞAOĞLU

Tıbbi Biyokimya AD/ Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum .....

**Üye :** Prof. Dr. Gürsel BİBEROĞLU

Çocuk Sağ. ve Hast. AD/ Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum .....

**Üye :** Prof. Dr. Neslihan BUKAN

Tıbbi Biyokimya AD/ Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum .....

**Üye :** Prof. Dr. Aslıhan AVCI

Tıbbi Biyokimya AD/ Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum .....

**Üye :** Prof. Dr. Berrin İmge ERGÜDER

Tıbbi Biyokimya AD/ Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum .....

Tez Savunma Tarihi: 01/04/2016

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

.....

Doç. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ETİK BEYAN

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

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

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



Çınar SEVERCAN

01.04.2016

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

(Doktora Tezi)

Çınar SEVERCAN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
NİSAN 2016

**ÖZET**

Bu çalışmada tarımda pestisit olarak kullanılan bir organofosfat olan Malathion'un akut (24 saat) farklı doz uygulamalarıyla Wistar albino ratlarının karaciğeri üzerindeki hasarı incelenmiştir. Bu amaçla her grupta 6 tane olmak üzere kontrol (Grup1) ve 100 mg/kg (Grup 2), 200 mg/kg (Grup 3), 400 mg/kg (Grup 4) doz grupları oluşturularak seçilen karaciğer parametreleri üzerindeki değişimler araştırılmıştır. Karaciğer malondialdehit (MDA), ileri glikasyon son ürünü (AGEs) düzeyleri ve asetilkolinesteraz (AChE), süperoksit dismutaz (SOD) aktivitelerinin gruplar arasında istatistiksel olarak farkın anlamlılığı bulunamamıştır ( $p>0.05$ ). Karaciğer kolinesteraz (ChE) aktivitesinin Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'ün, Grup 1'e göre anlamlı olarak azaldığı gözlemlenmiştir ( $p<0.013$ ). Karaciğer ileri protein oksidasyon ürünü (AOPP) düzeyinin Grup 3 ve Grup 4'te Grup 2'ye göre anlamlı olarak arttığı gözlenmiştir ( $p>0.013$ ). Karaciğer total oksidan durum (TOS) düzeyinin Grup 4'te, Grup 1 ve Grup 2'ye göre anlamlı olarak arttığı ve Grup 3'ün de Grup 2'ye göre anlamlı olarak arttığı bulunmuştur ( $p<0.013$ ). Karaciğer AOPP düzeyi artarken, TOS düzeyi de artmış ve aralarında pozitif korelasyon bulunmuştur ( $p<0,01$ ). Karaciğer katalaz aktivitesinin Grup 3 ve Grup 4'te, Grup 1'e göre anlamlı olarak arttığı bulunmuştur ( $p<0.013$ ). Karaciğer AOPP ve TOS düzeyleri artarken, karaciğer katalaz aktivitesi de artmıştır ve aralarında pozitif korelasyon bulunmuştur ( $p<0,01$ ). Karaciğer paraoksonaz-1 enzimin arilesteraz aktivesinin (PON1-ARE) Grup 3 ve Grup 4'te, Grup 1'e göre anlamlı olarak azaldığı gözlemlenmiştir ( $p<0.013$ ). Karaciğer TOS düzeyi artarken PON1-ARE'de azalmıştır ve aralarında negatif korelasyon bulunmuştur ( $p<0,01$ ). Aynı zamanda karaciğer ChE aktivitesi azalırken PON1-ARE'de azalmıştır ve aralarında pozitif korelasyon bulunmuştur ( $p<0,01$ ). Karaciğer tümör nekrozis faktör alfa (TNF- $\alpha$ ) düzeyinin Grup 4'te, Grup 1'e göre anlamlı olarak arttığı bulunmuştur ( $p<0.013$ ). Karaciğer dokularının histopatolojik incelemelerinde Grup 4'te vakuoler ve hidropik dejenerasyon gözlemlenmiştir. Karaciğer glikojen miktarının Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'te, Grup 1'e göre anlamlı olarak arttığı bulunmuştur ( $p<0.013$ ). Karaciğer PON1-ARE ve ChE aktivitesi azalırken, glikojen miktarı da artmıştır ve aralarında negatif korelasyon bulunmuştur ( $p<0,01$ ). Karaciğer glukojenik enzimleri olan alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), laktat dehidrogenaz (LDH) aktivitelerinin Grup 3 ve Grup 4'te, Grup 1 ve Grup 2'ye göre arttığı gözlenmiştir ( $p<0.013$ ). Korelasyon analiz sonuçlarına göre bu enzimler kendi aralarında ikili olarak karşılaştırıldığında birlikte artmışlardır ve aralarında pozitif korelasyon gözlenmiştir ( $p<0.01$ ). Sonuçlarımıza göre Malathion akut uygulamasında artan doz ile hepatotoksik etkiye neden olmaktadır. Bu nedenle insan-toplum sağlığı için gerekli önlemlerin alınması gerektiğini düşünmekteyiz.

Bilim Kodu : 1010

Anahtar Kelimeler : Malathion, karaciğer, asetilkolinesteraz, kolinesteraz, malondialdehit, ileri glikasyon son ürünü, ileri protein oksidasyon ürünü, total oksidan durum süperoksit dismutaz, katalaz, paraoksonaz-1 enziminin arilesteraz aktivesi, tümör nekrozis faktör alfa, karaciğer histopatolojisi, glikojen, alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz, laktat dehidrogenaz.

Sayfa Adedi : 119

Danışman : Prof. Dr. Hatice PAŞAOĞLU

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

Çınar SEVERCAN

GAZİ UNIVERSITY  
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES  
April 2016

ABSTRACT

In this study, we investigated the acute effects of different doses of Malathion, which is an organophosphate used as a pesticide in agriculture, on liver injury of Wistar albino rat. For this purpose, we set 4 groups containing 6 animals (control (Group 1), 100 mg/kg (Group 2), 200 mg/kg (Group 3), 400 mg/kg (Group 4)) and the change of liver selected parameters was analyzed. We found that there was no significant change in liver malondialdehyde (MDA), acetylcholinesterase (AChE) activity, advanced glycation end products (AGEs) and superoxide dismutase (SOD) levels among the Groups ( $p>0.05$ ). Liver cholinesterase (ChE) levels of Group 1, Group 2, Group 3 were significantly lower than Group 1 ( $p>0.013$ ). The liver advanced oxidation protein products (AOPP) significantly increased in Group 3 and Group 4 compare to Group 2 ( $p>0.013$ ). Total oxidant status (TOS) increased in Group 4 compare to Group 1 and Group 2 and TOS level of Group 3 was higher than Group 2 ( $p<0.013$ ). When the liver AOPP level increased, the TOS level increased simultaneously and we found that there was a positive correlation between them. The liver catalase activity of Group 3 and Group 4 was significantly higher than Group 1 ( $p<0.01$ ). When liver AOPP and TOS levels were increased, the catalase activity was increased and there were a positive correlation among them. The liver arylesterase of paraoxanase-1 enzyme (PON1-ARE) significantly decreased in Group 3 and Group 4 compare to Group 1 ( $p<0.013$ ). While liver TOS level was increasing, PON1-ARE diminished and it is found that negative correlation between them ( $p<0,01$ ). We also found that the liver ChE and PON1-ARE declined together and they were positively correlated ( $p<0,01$ ). Tumour necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) level of liver increased in Group 4 compare to Group 1 ( $p<0.013$ ). We also observed that there was vacuolar and hydropic degeneration in Group 4 in histopathological examination of liver tissues. The levels of hepatic glycogen of Group 2, Group 3 and Group 4 were higher than Group 1 ( $p<0.013$ ). The activity of liver PON1-ARE and ChE decreased while glycogen level was increasing and negative correlation was found among them. The liver alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and lactate dehydrogenase (LDH) which are glucogenic enzymes increased in Group 3 and Group 4 compare to Group 1 and Group 2 ( $p<0.013$ ). According to correlation analysis, when the comparison was evaluated as a binary, the glucogenic enzymes were increased simultaneously and there was a positive correlation among them ( $p<0,01$ ). According to our result, acute administrations of Malathion result in hepatotoxic effects with increasing doses. Therefore, we consider that necessary precautions should be taken in order to protection human and public health.

Science Code : 1010

Key Words : Malathion, liver, acetylcholineesterase, cholineesterase, malondialdehyde, advanced glycation end products, advanced oxidation protein products, total oxidant status, superoxide dismutase, catalase, arylesterase of paraoxanase-1 enzyme, tumour necrosis factor alpha, liver histopathology, glycogen, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, lactate dehydrogenase

Page Number : 119

Supervisor : Prof. Dr. Hatice PAŞAOĞLU

## TEŞEKKÜR

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

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

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

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

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

Tez yazım esnasında yardım ve desteklerini benden esirgemeyen değerli arkadaşım doktora öğrencisi Suzan MURATOĞLU'na, kardeşim Caner SEVERCAN'a ve eşi Elif ARSLAN SEVERCAN'a, kuzenim Gökçen BOZDAĞ'a

Manevi desteğini ve yardımlarını her zaman üzerimde hissettiğim annem Ferzan BOZDAĞ'a, ablam Pınar SEVERCAN TURAN'a, akrabalarım, yakın dostlarıma sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

|                                                                                 |      |
|---------------------------------------------------------------------------------|------|
| ÖZET .....                                                                      | iv   |
| ABSTRACT.....                                                                   | v    |
| TEŞEKKÜR.....                                                                   | vi   |
| ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....                                                       | xii  |
| ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....                                                         | xiii |
| SİMGELER VE KISALTMALAR.....                                                    | xvii |
| 1. GİRİŞ.....                                                                   | 1    |
| 2. GENEL BİLGİLER .....                                                         | 3    |
| 2.1. Pestisitler.....                                                           | 3    |
| 2.1.1 Pestisitlerin çevreyle olan ilişkisi.....                                 | 3    |
| 2.2. Organofosfatlar .....                                                      | 4    |
| 2.2.1. Organofosfatların Metabolizması .....                                    | 5    |
| 2.2.2. Etki mekanizması ve toksikoloji.....                                     | 6    |
| 2.3. Malathion .....                                                            | 9    |
| 2.3.1. Toksikolojik etkiler.....                                                | 9    |
| 2.3.2. Malathion'un karaciğer üzerindeki akut tahribatı.....                    | 10   |
| 2.4. Karaciğer Glikojeni.....                                                   | 12   |
| 2.4.1. Malathion'un Kan Glukozu ve Karaciğer Glikojeni Üzerindeki Etkileri..... | 13   |
| 2.5. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller.....                                 | 14   |
| 2.5.1. Süperoksit radikali ( $O_2^{\cdot-}$ ).....                              | 14   |
| 2.5.2. Hidroksil radikali ( $OH^{\cdot}$ ) .....                                | 15   |
| 2.5.3. Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) .....                                     | 16   |
| 2.5.4. Hipoklorik asit ( $HOCl$ ) .....                                         | 16   |

**Sayfa**

|                                                                                         |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.5.5. Singlet oksijen ( $^1\text{O}_2$ ) .....                                         | 17 |
| 2.5.6. Perhidroksi radikali ( $\text{OOH}^\cdot$ ) .....                                | 17 |
| 2.5.7. Peroksil radikali ( $\text{ROO}^\cdot$ ).....                                    | 17 |
| 2.5.8. Nitrik oksit (NO).....                                                           | 17 |
| 2.5.9. Peroksinitrit ( $\text{ONOO}^-$ ).....                                           | 18 |
| 2.5.10. Lipit peroksidasyonu ve malondialdehit (MDA).....                               | 18 |
| 2.5.11. İleri oksidasyon protein ürünü (AOPP) .....                                     | 19 |
| 2.5.12. İleri Glikasyon Son Ürünü (AGEs).....                                           | 20 |
| 2.6. Antioksidan sistem.....                                                            | 21 |
| 2.6.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) ve Katalaz .....                                       | 22 |
| 2.6.2. Paraoksonaz-1 (PON1) .....                                                       | 24 |
| 2.7. Malathion'un oksidatif stresle ilişkisi .....                                      | 26 |
| 2.8. İnflamasyon ve Tümör nekrozis faktör alfa ( $\text{TNF-}\alpha$ ) .....            | 27 |
| 2.9. Organofosfatların karaciğer enzimleri ve karaciğer hasarı üzerindeki etkileri..... | 28 |
| 3. YÖNTEM .....                                                                         | 31 |
| 3.1. Kullanılan Gereçler .....                                                          | 31 |
| 3.1.1 Deney hayvanları .....                                                            | 31 |
| 3.1.2. Kullanılan aletler ve cihazlar .....                                             | 31 |
| 3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler .....                                               | 31 |
| 3.2. Seçilen Deney Hayvanları ve Grupların Oluşturulması.....                           | 32 |
| 3.3. Karaciğer Doku Örneklerinin Homojenize Edilmesi.....                               | 33 |
| 3.4. Metotların Uygulanması .....                                                       | 33 |
| 3.4.1. Karaciğer Doku Süpernatant Lowry Yöntemi ile Protein Tayini .....                | 33 |
| 3.4.2. Karaciğer Doku Süpernatant Malondialdehit (MDA) Analizi.....                     | 34 |

**Sayfa**

|                                                                                           |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.4.3. Karaciğer Doku Süpernatant İleri Protein Oksidasyon Ürünü (AOPP) Analizi .....     | 36        |
| 3.4.4. Karaciğer Doku Süpernatant Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi Analizi .....      | 38        |
| 3.4.5. Karaciğer Doku Süpernatant Katalaz Aktivitesi Analizi .....                        | 39        |
| 3.4.6. Karaciğer Doku Süpernatant PON1-ARE .....                                          | 41        |
| 3.4.7. Karaciğer Doku Glikojen Miktarı .....                                              | 42        |
| 3.4.8. Karaciğer Doku Süpernatant TOS Analizi .....                                       | 43        |
| 3.4.9. Karaciğer Doku Süpernatant Asetilkolinesteraz (AChE) Aktivitesi Analizi .....      | 44        |
| 3.4.10. Karaciğer Doku Süpernatant AGEs Analizi .....                                     | 47        |
| 3.4.11. Karaciğer Doku Süpernatant TNF- $\alpha$ Analizi .....                            | 49        |
| 3.4.12. Karaciğer Doku Süpernatant ALT, AST, LDH Aktivitesi Analizi .....                 | 52        |
| 3.4.13. Karaciğer Doku Süpernatant Kolinesteraz Aktivitesi Analizi .....                  | 53        |
| 3.4.14. Karaciğer Dokusu Histopatolojik İncelemeler .....                                 | 54        |
| 3.5. Verilerin Analizi .....                                                              | 54        |
| <b>4. BULGULAR .....</b>                                                                  | <b>55</b> |
| 4.1. Kontrol ve Doz Gruplarının Karaciğer AChE Aktivitesi ve İstatistik Bulgular .....    | 56        |
| 4.2. Kontrol ve Doz Gruplarının Karaciğer ChE Aktivitesi ve İstatistik Bulgular .....     | 57        |
| 4.3. Kontrol ve Doz Gruplarının Karaciğer MDA Düzeyi ve İstatistik Bulgular .....         | 58        |
| 4.4. Kontrol ve Doz Gruplarının Karaciğer AOPP Düzeyi ve İstatistik Bulgular .....        | 59        |
| 4.5. Kontrol ve Doz Gruplarının Karaciğer AGEs Düzeyi ve İstatistik Bulgular .....        | 60        |
| 4.6. Kontrol ve Doz Gruplarının Karaciğer TOS Düzeyi ve İstatistik Bulgular .....         | 61        |
| 4.7. Kontrol ve Doz Gruplarının Karaciğer Katalaz Aktivitesi ve İstatistik Bulgular ..... | 63        |
| 4.8. Kontrol ve Doz Gruplarının Karaciğer SOD Aktivitesi ve İstatistik Bulgular .....     | 64        |

**Sayfa**

|                                                                                                                                                                                               |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.9. Kontrol ve Doz Gruplarının Karaciğer PON1-ARE Aktivitesi ve İstatistik Bulgular .....                                                                                                    | 65  |
| 4.10. Kontrol ve Doz Gruplarının Karaciğer TNF- $\alpha$ düzeyi ve İstatistik Bulgular .....                                                                                                  | 66  |
| 4.11. Kontrol ve Doz Gruplarının Karaciğer Doku Histopatolojik Gözlemler.....                                                                                                                 | 68  |
| 4.12. Kontrol ve Doz Gruplarının Karaciğer Glikojen Miktarı ve İstatistik Bulgular.....                                                                                                       | 70  |
| 4.13. Kontrol ve Doz Gruplarının Karaciğer ALT Aktivitesi ve İstatistik Bulgular .....                                                                                                        | 71  |
| 4.14. Kontrol ve Doz Gruplarının Karaciğer AST Aktivitesi ve İstatistik Bulgular .....                                                                                                        | 72  |
| 4.15. Kontrol ve Doz Gruplarının Karaciğer LDH Aktivitesi ve İstatistik Bulgular.....                                                                                                         | 74  |
| 4.16. Korelasyon Analizi .....                                                                                                                                                                | 75  |
| 5.TARTIŞMA .....                                                                                                                                                                              | 85  |
| 6.SONUÇ .....                                                                                                                                                                                 | 95  |
| KAYNAKLAR .....                                                                                                                                                                               | 97  |
| EKLER.....                                                                                                                                                                                    | 113 |
| EK-1. Yerel Etik Kurul Onayı .....                                                                                                                                                            | 114 |
| EK-2. Temmuz, 2015 Federation of European Biochemical Societies (FEBS) Kongresi'nde (Berlin/Almanya), "Malathion-induced oxidative stress in rat liver" adlı çalışmamızın poster sunumu ..... | 116 |
| EK-3. Kasım 2015, XXVII. Ulusal Biyokimya Kongresi'nde (Antalya) kongresinde "Malathionun Farklı Dozlarda, Karaciğer Dokuları Üzerinde Toksik Etkisi" adlı çalışmamızın sözel sunumu .....    | 117 |
| ÖZGEÇMİŞ .....                                                                                                                                                                                | 118 |

## ÇİZELGELERİN LİSTESİ

| Çizelge                                                                                                                                        | Sayfa |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Çizelge 3.1. Karaciğer doku süpernatant Lowry Protein deneyi .....                                                                             | 33    |
| Çizelge 3.2. Karaciğer doku süpernatant MDA deneyi .....                                                                                       | 35    |
| Çizelge 3.3. Karaciğer doku süpernatant AOPP deneyi .....                                                                                      | 37    |
| Çizelge 3.4. Karaciğer doku süpernatant SOD aktivitesi deneyi .....                                                                            | 39    |
| Çizelge 3.5. TOS Rel assay diagnostics kit içeriği .....                                                                                       | 43    |
| Çizelge 3.6. Karaciğer doku süpernatant TOS deneyi .....                                                                                       | 44    |
| Çizelge 3.7. AChE kit standartlarının hazırlanışı .....                                                                                        | 45    |
| Çizelge 3.8. Karaciğer doku süpernatant AChE aktivitesi analizi .....                                                                          | 46    |
| Çizelge 3.9. AGEs kit standartlarının hazırlanışı .....                                                                                        | 48    |
| Çizelge 3.10. Karaciğer doku süpernatant AGEs analizi .....                                                                                    | 48    |
| Çizelge 3.11. TNF- $\alpha$ kit standartlarının hazırlanışı .....                                                                              | 50    |
| Çizelge 3.12. Karaciğer doku TNF- $\alpha$ analizi .....                                                                                       | 51    |
| Çizelge 4.1. Kontrol ve doz gruplarının bütün parametrelerinin ortalama ve standart hata değerleri .....                                       | 55    |
| Çizelge 4.2. Kontrol ve doz gruplarının AChE aktivitesi için ortalama $\pm$ standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek değerleri .....      | 56    |
| Çizelge 4.3. Kontrol ve doz gruplarının ChE aktivitesi için ortalama $\pm$ standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek değerleri .....       | 57    |
| Çizelge 4.4. Kontrol ve doz gruplarının karaciğer MDA düzeyi için ortalama $\pm$ standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek değerleri ..... | 58    |
| Çizelge 4.5. Kontrol ve doz gruplarının karaciğer AOPP düzeyi için ortalama, standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek değerleri .....     | 60    |
| Çizelge 4.6. Kontrol ve doz gruplarının karaciğer AGEs düzeyi için ortalama, standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek değerleri .....     | 61    |
| Çizelge 4.7. Kontrol ve doz gruplarının karaciğer TOS düzeyi için ortalama $\pm$ standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek değerleri ..... | 62    |

| <b>Çizelge</b>                                                                                                                                               | <b>Sayfa</b> |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Çizelge 4.8. Kontrol ve doz gruplarının karaciğer katalaz aktivitesi için ortalama $\pm$ standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek değerleri.....        | 63           |
| Çizelge 4.9. Kontrol ve doz gruplarının karaciğer SOD aktivitesi için ortalama $\pm$ standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek değerleri.....            | 64           |
| Çizelge 4.10. Kontrol ve doz gruplarının karaciğer PON1-ARE için ortalama $\pm$ standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek değerleri .....                | 66           |
| Çizelge 4.11. Kontrol ve doz gruplarının karaciğer TNF- $\alpha$ düzeyinin için ortalama $\pm$ standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek değerleri ..... | 67           |
| Çizelge 4.12. Kontrol ve doz gruplarının karaciğer glikojen miktarının için ortalama $\pm$ standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek değerleri .....     | 70           |
| Çizelge 4.13. Kontrol ve doz gruplarının karaciğer ALT aktivitesinin için ortalama $\pm$ standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek değerleri .....       | 72           |
| Çizelge 4.14. Kontrol ve doz gruplarının karaciğer AST aktivitesinin için ortalama $\pm$ standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek değerleri .....       | 73           |
| Çizelge 4.15. Kontrol ve doz gruplarının karaciğer LDH aktivitesinin için ortalama $\pm$ standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek değerleri .....       | 75           |
| Çizelge 4.16. Spearman korelasyon analizi sonuçları (r ve p değerleri). ....                                                                                 | 76           |

## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

| Şekil                                                                               | Sayfa |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Şekil 2.1. Organofosfatların genel yapısı.....                                      | 4     |
| Şekil 2.2. Organofosfatların metabolizması Faz 1 reaksiyonu .....                   | 6     |
| Şekil 2.3. Malathion genel yapısı.....                                              | 9     |
| Şekil 2.4. Organofosfatların, asetilkolin esterase enzim inhibisyon reaksiyonu..... | 11    |
| Şekil 2.5. Glikojenin yapısı.....                                                   | 12    |
| Şekil 2.6. Lipit peroksidasyonu kimyasal yolu.....                                  | 19    |
| Şekil 2.7. Maillard reaksiyonu .....                                                | 20    |
| Şekil.2.8. Antioksidan enzim sistemi.....                                           | 22    |
| Şekil 2.9. Paraoksonaz-1'in paraoksonaz aktivitesi.....                             | 25    |
| Şekil 2.10. Organofosfatların metabolizmasında PON1-PON'in rolü.....                | 25    |
| Şekil 2.11. PON1'in arilesteraz aktivitesi.....                                     | 26    |
| Şekil 3.1. Karaciğer doku süpernatant protein standart grafiği .....                | 34    |
| Şekil 3.2. Karaciğer doku süpernatant MDA standart grafiği .....                    | 36    |
| Şekil 3.4. PON1-ARE yöntemi için kullanılan reaksiyon .....                         | 41    |
| Şekil 3.5. Karaciğer süpernatant AChE aktivitesi standart eğri grafiği.....         | 47    |
| Şekil 3.6. Karaciğer doku süpernatant AGEs standart eğri grafiği.....               | 49    |
| Şekil 3.7. Karaciğer doku süpernatant TNF- $\alpha$ standart eğri grafiği.....      | 52    |
| Şekil 4.1. Karaciğer AChE aktivitesi.....                                           | 56    |
| Şekil 4.2. Karaciğer ChE aktivitesi.....                                            | 58    |
| Şekil 4.3. Karaciğer MDA düzeyi.....                                                | 59    |
| Şekil 4.4. Karaciğer AOPP düzeyi.....                                               | 60    |
| Şekil 4.5. Karaciğer AGEs düzeyi .....                                              | 61    |
| Şekil 4.6. Karaciğer TOS düzeyi .....                                               | 62    |

| <b>Şekil</b>                                                                                    | <b>Sayfa</b> |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Şekil 4.7. Karaciğer Katalaz aktivitesi.....                                                    | 64           |
| Şekil 4.8. Karaciğer SOD aktivitesi.....                                                        | 65           |
| Şekil 4.9. Karaciğer PON1-ARE .....                                                             | 66           |
| Şekil 4.10. Karaciğer TNF- $\alpha$ düzeyi.....                                                 | 67           |
| Şekil 4.11. Kontrol Grubu (Grup 1) karaciğer doku histopatolojik görüntüsü.....                 | 68           |
| Şekil 4.12. 100 mg/kg Malathion doz grubu (Grup 2) karaciğer doku histopatolojik görüntüsü..... | 68           |
| Şekil 4.13. 200 mg/kg Malathion doz grubu (Grup 3) karaciğer doku histopatolojik görüntüsü..... | 69           |
| Şekil 4.14. 400 mg/kg Malathion doz grubu (Grup 3) karaciğer doku histopatolojik görüntüsü..... | 69           |
| Şekil 4.15. Karaciğer Glikojen miktarı.....                                                     | 71           |
| Şekil 4.16. Karaciğer ALT aktivitesi .....                                                      | 72           |
| Şekil 4.17. Karaciğer AST aktivitesi .....                                                      | 74           |
| Şekil 4.18. Karaciğer LDH aktivitesi.....                                                       | 75           |
| Şekil 4.19. Karaciğer ChE aktivitesi ve PON1-ARE arasındaki korelasyon.....                     | 78           |
| Şekil 4.20. Karaciğer ChE aktivitesi ve glikojen düzeyi arasındaki korelasyon .....             | 78           |
| Şekil 4.21. Karaciğer TOS ve AOPP düzeyi arasındaki korelasyon .....                            | 79           |
| Şekil 4.22. Karaciğer TOS düzeyi ve katalaz aktivitesi arasındaki korelasyon.....               | 79           |
| Şekil 4.23. Karaciğer TOS düzeyi ve PON1-ARE arasındaki korelasyon .....                        | 80           |
| Şekil 4.24. Karaciğer AOPP düzeyi ve katalaz aktivitesi arasındaki korelasyon .....             | 80           |
| Şekil 4.25. Karaciğer PON1-ARE ve glikojen miktarı arasındaki korelasyon.....                   | 81           |
| Şekil 4.26. Karaciğer TNF- $\alpha$ düzeyi ve katalaz aktivitesi arasındaki korelasyon .....    | 81           |
| Şekil 4.27. Karaciğer ALT ve AST aktivitesi arasındaki korelasyon.....                          | 82           |
| Şekil 4.28. Karaciğer ALT ve LDH aktivitesi arasındaki korelasyon .....                         | 82           |

|                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 4.29. Karaciğer AST ve LDH aktivitesi arasındaki korelasyon ..... | 83 |
|-------------------------------------------------------------------------|----|

## SİMGELER VE KISALTMALAR

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

| <b>Simgeler</b>                      | <b>Açıklama</b>                                  |
|--------------------------------------|--------------------------------------------------|
| <b>CaCl<sub>2</sub></b>              | Kalsiyum klorür                                  |
| <b>CHCl<sub>3</sub></b>              | Kloroform                                        |
| <b>CH<sub>3</sub>COOH</b>            | Asetik asit                                      |
| <b>C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH</b>  | Etanol                                           |
| <b>C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>OH</b>  | n-butanol                                        |
| <b>C<sub>6</sub>H<sub>6</sub></b>    | Piridin                                          |
| <b>Cl T</b>                          | Kloramin T                                       |
| <b>CuCl<sub>2</sub></b>              | Bakır klorür                                     |
| <b>CuSO<sub>4</sub></b>              | Bakır (II) sülfat                                |
| <b>Fe<sup>+3</sup></b>               | Ferrik                                           |
| <b>Fe<sup>+2</sup></b>               | Ferröz                                           |
| <b>FAD</b>                           | Flavin adenin dinükleotit                        |
| <b>FADH<sub>2</sub></b>              | Flavin adenin dinükleotit hidrojen molekülü      |
| <b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>    | Hidrojen peroksit                                |
| <b>HOCl</b>                          | Hipoklorik asit                                  |
| <b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>   | Sülfürik asit                                    |
| <b>KCl</b>                           | Potasyum klorür                                  |
| <b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>  | Potasyum fosfat                                  |
| <b>KI</b>                            | Potasyum iyodür                                  |
| <b>KOH</b>                           | Potasyum hidroksit                               |
| <b>NaCl</b>                          | Sodyum klorür                                    |
| <b>NAD</b>                           | Nikotinamid adenin dinükleotit                   |
| <b>NADH<sub>2</sub></b>              | Nikotinamid adenin dinükleotit hidrojen molekülü |
| <b>NADPH</b>                         | Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat hidrojen   |
| <b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>  | Sodyum karbonat                                  |
| <b>Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub></b> | Disodyum fosfat                                  |
| <b>NaOH</b>                          | Sodyum hidroksit                                 |
| <b>NBT</b>                           | Nitro blue tetrazolium klorür                    |
| <b>NO</b>                            | Nitrik Oksit                                     |
| <b>O<sub>2</sub></b>                 | Moleküler oksijen                                |
| <b>O<sub>2</sub><sup>-•</sup></b>    | Süperoksit radikali                              |
| <b><sup>1</sup>O<sub>2</sub></b>     | Singlet oksijen                                  |
| <b>OH<sup>•</sup></b>                | Hidroksil radikali                               |
| <b>OOH<sup>•</sup></b>               | Perhidroksil radikali                            |
| <b>ONOO<sup>-</sup></b>              | Peroksinitrit anyonu                             |
| <b>ROO<sup>•</sup></b>               | Peroksil radikali                                |
| <b>SDS</b>                           | Sodyum dodesil sülfat                            |
| <b>TBA</b>                           | Tiobarbitürik asit                               |
| <b>TEP</b>                           | 1,1,3,3-tetraetoksipropan                        |

**Kısaltmalar**

**AChE**  
**ACTH**  
**AGEs**  
**ALP**  
**ALT**  
**AOPP**  
**AST**  
**ATP**  
**BSA**  
**CAT**  
**CuSOD**  
**CRH**  
**CYP**  
**DDT**  
**DNA**  
**EDTA**  
**EC-SOD**  
**FeSOD**  
**G6PD**  
**GR**  
**GS**  
**GSH**  
**GSH-Px**  
**HDL**  
**IL-6**  
**LDL**  
**LDH**  
**MPO**  
**MDH**  
**MDA**  
**MnSOD**  
**mRNA**  
**NF-KB**  
**NO**  
**PON1**  
**PON1-ARE**  
**PON1-PON**  
**RNT**  
**ROT**  
**SOD**  
**TCA**  
**TNF- $\alpha$**   
**TOS**  
**XO**  
**VLDL**

**Açıklama**

Asetilkolinesteraz  
 Adrenokortikotropik Hormonu  
 İleri Glikasyon Ürünü  
 Alkalen Fosfataz  
 Alanin Aminotransferaz  
 İleri Glikasyon Son Ürünü  
 Aspartat Aminotransferaz  
 Adenozin Trifosfat  
 Bovine Serum Albümin  
 Katalaz  
 Bakır Süperoksit Dismutaz  
 Kortikotropin Releasing Hormonu  
 Sitokrom Enzimleri  
 Dikloro Difenil Trikloroethan  
 Deoksiribo Nükleik Asit  
 Etilendiamin Tetraasetik Asit  
 Ekstraselüler SOD  
 Demir Süperoksit Dismutaz  
 Glukoz-6-fosfat Dehidrojenaz  
 Glutasyon Redüktaz  
 Glutasyon S-transferaz  
 İndirgenmiş glutasyon  
 Glutasyon Peroksidaz  
 Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein  
 İnterlökin-6  
 Düşük yoğunluklu Lipoprotein  
 Laktat Dehidrojenaz  
 Myeloperoksidaz  
 Malat dehidrojenaz  
 Malondialdehit  
 Mangan Süperoksit Dismutaz  
 Mesajcı RNA  
 Nükleer Faktör-Kappa B  
 Nitrik Oksit Radikali  
 Paraoksonaz-1  
 Paraoksonaz-1 arilesteraz aktivitesi  
 Paraoksonaz-1 paraoksonaz aktivitesi  
 Reaktif Nitrojen Türleri  
 Reaktif Oksijen Türleri  
 Süperoksit Dismutaz  
 Trikarboksilik Asit Döngüsü  
 Tümör nekrozis faktör alfa  
 Total Oksidan Durum  
 Ksantin Oksidaz  
 Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

**Kısaltmalar**

**ZnSOD**

**Açıklama**

Çinko Süperoksit Dismutaz

## 1. GİRİŞ

Pestisit ve diğer tarım koruyucu kimyasallar neredeyse bütün dünyada yaygın bir şekilde kullanılmaktadır fakat bu kimyasallar çevre ve halk sağlığını ciddi olarak tehdit etmektedir. Birçok ülkede, pestisit zehirlemesinin morbidite ve mortalite açısından majör problem olduğu bildirilmektedir. Pestisitlerin, her yıl 3 milyon kişinin ciddi olarak zehirlenmesine ve 220 bin insanın ölümüne neden olduğu tahmin edilmektedir (Ojha ve diğerleri, 2013). Pestisitler arasında toplam zehirlenme oranının %50'sini organofosfat grubu oluşturmaktadır. Organofosfatların, sinirler üzerinde ciddi tahribata neden olduğu bilinmektedir (Karami-Mohajeri ve Abdollahi, 2011). Bilinen diğer toksik etkisi ise oksidatif stresdir. Bu etki, metabolik değişim ve hücre ölümüyle (nekrozis ve apoptozis) sonuçlanmaktadır (Soltaninejad ve Abdollahi, 2011).

Organofosfatlar vücutta başlıca kolinesteraz (ChE) ve asetilkolinesteraz (AChE) enzimlerini inhibe etmektedir (Picco ve diğerleri, 2008). Bu enzimler lokalizasyonu ve kullandıkları substrat açısından farklı enzimlerdir (Chatonnet ve Lockridge, 1989).

Reaktif oksijen türleri (ROT) hücrede normal metabolik süreçlerde ve transdüksiyon durumlarında üretilmektedir ancak patofizyolojik süreçlerde önemli rol oynamaktadır. Lipitler, proteinler ve nükleik asitler gibi biyomoleküller, ROT tarafından dejenerasyona uğramaktadır (Valko ve diğerleri, 2006). Bu konuda yapılan çalışmalarda bir organofosfat olan Malathion'un total antioksidan kapasitesinin azaldığı, lipit peroksidasyonunun arttığı belirtilmiştir (Azadbar ve diğerleri, 2009; Lasram ve diğerleri, 2014).

Çalışmamızda, Malathion'un 100 mg/kg, 200 mg/kg, 400 mg/kg dozlarında karaciğer dokusunda doza bağımlı akut süreli etkisini inceledik. Bu amaçla karaciğer dokusunda asetilkolinesteraz (AChE) ve kolinesteraz (ChE) aktivelerini, tümör nekrozis faktör alfa (TNF- $\alpha$ ) ve total oksidan durum (TOS) düzeyi, antioksidan enzimlerden katalaz, süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesini ve lipit peroksidasyon ürünü olan malondialdehit (MDA) düzeyini ölçtük. Ayrıca çalışmamızda Malathion'un doza bağımlı akut süreli karaciğer glikojen düzeyini ve glikojenik enzimlerden karaciğer alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) ve laktat dehidrogenaz (LDH) aktivitesinin değişimini araştırmayı amaçladık. Aynı zamanda bu parametrelerle birlikte karaciğer ileri protein oksidasyon ürünü (AOPP) düzeyi, paraoksonaz-1 enzimin arilesteraz aktivesini (PON1-

ARE) ve reaktif oksijen türlerinin artışı sonucunda enzimatik olmayan protein ve karbonhidratlar arasında gerçekleşen glikasyon reaksiyonunun ileri glikasyon son ürünü (AGEs) düzeyini belirlemeyi amaçladık.

Bu verilere ek olarak Malathion'un doza bağımlı akut etkisi sonucunda karaciğer dokusunda meydana gelen histopatolojik değişimleri gözlemeyi amaçladık.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Pestisitler**

Pestisitler, tarım zararlıları olarak adlandırılan haşere ve bazı mantar grublarını etkisiz hale getiren bileşikler olarak tanımlanır. Bu bileşikler; insektisitler (organofosforlar, organoklorlar, karbamatlar), rodentisitler (antikoagulanlar), herbisitler (paraquat), fungusitler (ditiyokarbamatlar), fumigantlar (etilen dibromid) gibi gruplara ayrılır (Soltaninejad ve diğerleri).

Ancak; tarımda pestisitlerin yaygın kullanımı halk ve toplum sağlığını tehdit etmekte, akut ve kronik zehirlenmelere neden olmaktadır. Pestisitler üzerinde yapılan çalışmalar parkinson hastalığı gibi nörolojik hastalıklar, üreme bozuklukları, fetal doğum bozuklukları, solunum yolu hastalıkları, deri üzerinde hasara sebep olan hastalıklara neden olduğunu göstermektedir. (Kesavachandran ve diğerleri, 2009). Pestisitlere maruz kalan bireylerde solid tümör oluşumu, hematolojik kanser ve genotoksisite arasında pozitif bir korelasyon olduğu bildirilmiştir. (Bassil ve diğerleri, 2007). Gelişmekte olan ülkelerde mesleki olarak denetim koşullarının az olması sonucunda birçok ölüme sebep olduğu rapor edilmiştir. (Kesavachandran ve diğerleri, 2009)

#### **2.1.1 Pestisitlerin çevreyle olan ilişkisi**

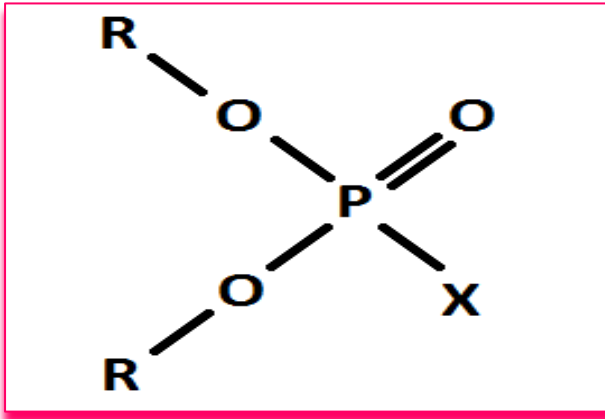
Pestisitler arasında yaygın olarak kullanılanları organofosfatlar, karbamatlar ve klorinlenmiş hidrokarbonlardır. Organoklorinler geçmiş yıllarda yaygın bir şekilde kullanılmakta iken doğada yarılanma süresi organofosfatlara göre daha kısa olduğundan dolayı yasaklanmıştır. Ancak bazı ülkeler organoklorinleri kullanmaya devam etmektedirler. Organoklorinler yağda hızlı çözünmektedir ve bu nedenle karaciğer ve beyinde ciddi hasarlara neden olmaktadır (Moses ve diğerleri, 2010).

Çevre kirleticileri; fiziksel, kimyasal ve biyolojik kirleticiler olarak sınıflandırılmaktadır. Pestisitler ise kimyasal kirleticisi sınıfına dahildir ve su, hava, toprak yoluyla taşınarak toplum sağlığını kuşaklar sonrasında bile tehdit etmektedir (Dökmeci, 2001: 102 ve William, 1992: 1158).

Pestisitler doğada en çok içme sularının kirlenmesine neden olmakta iken ikinci olarak toprağın kirlenmesine yol açmaktadır. Yarılanma ömrü kısa olan pestisitler toprakta birikmekte, rüzgâr ve erozyonla başka yerlere taşınmaktadır. Ülkemizde yıllık pestisit kullanımının 100 bin ton olduğu ve pestisitleri daha az kullanan gelişmiş ülkelere kıyasla ölüm oranının 15 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (Dökmeci, 2001: 103).

## 2.2. Organofosfatlar

Organofosfatlar yaygın olarak kullanılan insektisitlerdir. Ayrıca herbisit ve fungusit olarak da kullanılmaktadırlar. Organofosfatlar 19. yüzyılın başlarında geliştirilmesine rağmen böcekler üzerine etkisi 1932'ye kadar keşfedilmemiştir (Wagner, 1989: 2-5). Organofosfatlar merkezi bir fosfor atomu ve çok sayıda yan zincirden oluşmaktadır. İnsektisit olarak kullanılanların birçoğu dimektoksi ve dietoksi bileşiklerinden oluşmaktadır. En iyi bilinen insektisitler olan Malathion ve Diazinon bu grup içinde yer almaktadır. Organofosfatların genel yapısı Şekil 2.1'de gösterilmiştir (Gallo ve Lawryk, 1991: 3-5).



**R:** Genel olarak alkoksi ( $\text{OCH}_3$  veya  $\text{OC}_2\text{H}_5$ )

**X:** Yan zincir

Şekil 2.1. Organofosfatların genel yapısı

Organofosfatların tarımda ve evde kullanımına sebep olan özelliği DDT gibi organoklorlardan daha az kalıcı olmalarıdır. Organofosfatlar insanlar ve hayvanlar için daha az toksik olan karbamat grubu insektisitlerin yerini almaktadır (Ware, 1986: 4-5).

### 2.2.1. Organofosfatların Metabolizması

Ksenobiotik metabolizması genellikle karaciğerde meydana gelmekte ancak akciğer ve bağırsaklarda az da olsa görülmektedir. Bu metabolizma iki faz içerir; Faz 1'de metabolik enzimler kimyasalları aktive etmekte ve fonksiyonel grupların girişi ile Faz 2 reaksiyonları gerçekleşmeye başlamaktadır. Faz 2 enzimleri glukronik asit, sülfat, glisin, glutamik asit gibi çeşitli hidrofilik grupları bağlamaktadır ve organizmadaki metabolitlerin salgılanmasını sağlar (Joseph ve Mannervik, 2006: 562-571).

Ksenobiotiklerin organizmaya girdikten sonra Faz 1 ve Faz 2 enzimleriyle metabolize olması organofosfatlara benzemektedir. Organofosfatların metabolizmasında Faz 1 reaksiyonları oksidasyon ve hidrolizden oluşmaktadır.

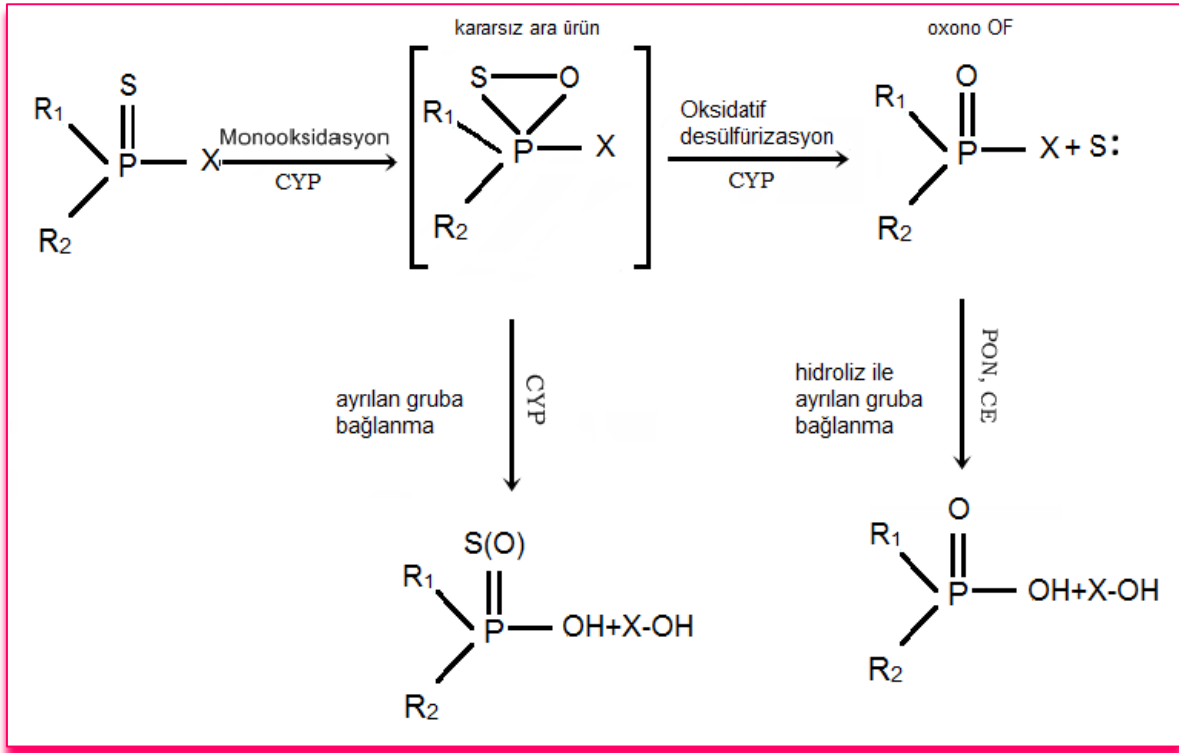
Oksidasyon, organofosfatların thiono formunun aktive olması için önemli bir reaksiyondur. Sitokrom enzimlerinin (CYP) yardımı ile thiono formundaki sülfür atomu bir atom oksijenle bağlanır ve sonucunda organofosfatlardan oksono metabolitleri ve aktif sülfür atomunu parçalayan kararsız ara ürün oluşur (oksidatif desülfürizasyon). Organofosfatların oksono metabolitleri, AChE'nin güçlü inhibitörleridir ve bu reaksiyon organofosfatların sebep olduğu nörotoksik etkilerin büyük bir kısmını meydana getirmektedir. Paraoksonaz enziminin yardımıyla organofosfatların hidrolizi oksidasyon reaksiyonundan sonra gerçekleşir ve bu reaksiyon da enzimin detoksifikasyonu için önemlidir. Organofosfatların detoksifikasyonu, paraoksonaz enziminin organofosfatlardan dialkalifosfat ve yan grubunun ayırması sonucunda oluşmaktadır.

Faz I'de, oksidatif desülfürizasyon ve hidrolizin yanı sıra yan zincirlerin oksidatif reaksiyonlarla uzaklaştırılması (alkil gruplarının yükseltgenmesi) ya da yan gruplardan oksijen atomunun ayrılması da meydana gelmektedir. Bu ikinci reaksiyonda kararsız ara üründen oksijenin ayrılmasıyla oluşan metabolitler desülfürizasyon reaksiyonu ile oluşan metabolitler ile yarışmaktadır (Şekil 2.2).

Organofosfatlar desülfürize olurken bir taraftan da oksidayona uğrayan yan grupların ayrılması ile detoksifiye edilmeye çalışılmaktadır. Bu iki reaksiyon arasında ki denge organofosfatlar toksisitesi ürünleri için çok önemlidir. Oksidasyon ürünleri hidrofilik

gruplar oluşturur ve kolay şekilde Faz 2 metabolizması ile konjuge olmaktadır. (R. Gupta, 2006: 127-145).

Faz I'de meydana gelen organofosfat metabolitleri Faz II'nin enzimleri tarafından katalizlenen hidrofilik gruplar ile konjuge olurlar ve üre olarak atılırlar. Faz II'de sadece detoksifikasyon gerçekleşmektedir.



Şekil 2.2. Organofosfatların metabolizması Faz 1 reaksiyonu (R: Genel olarak alkoksi (OCH<sub>3</sub> veya OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>) X: Yan zincir)

### 2.2.2. Etki mekanizması ve toksikoloji

Organofosfatlar vücutta başlıca kolinesteraz (ChE) ve asetilkolinesteraz (AChE) enzimlerini inhibe etmektedir (Picco ve diğerleri, 2008). ChE ve AChE lokalizasyon ve substrat olarak farklı olan enzimlerdir (Chatonnet ve Lockridge, 1989).

#### Kolinesteraz (ChE)

ChE, oksidoredüktazlar enzim sınıfına dahildir (EC 3.1.1.8) ve karaciğerde, pankreasta, kalpte, serumda ve beynin beyaz maddesinde bulunur (Moss ve diğerleri, 1987). ChE aynı

zamanda butürlkolinesteraz, psödokolin esteraz olarak da adlandırılmaktadır. AChE aynı protein yapısına sahiptir (Quinn, 1987).

ChE karaciğerde sentezlenerek kana salınmaktadır (Moss ve diğerleri, 1987). ChE'nin biyolojik fonksiyonu bilinmemektedir. Ancak bütiriltiyokolin, bütirilkolin, propiyoniltiyokolin, propiyonilkolin ve farmakolojik açıdan önemli bir ajan olan süksinilkolin gibi çeşitli kolin esterlerini hidroliz etmektedir (Kutty ve Payne, 1994).

### Asetilkolinesteraz (AChE)

AChE, oksidoredüktazlar enzim sınıfına dahildir (EC 3.1.1.7) ve eritrositlerde, karaciğer, akciğerde, dalakta, sinir uçlarında, beynin gri maddesinde ve birçok dokuda bulunmaktadır. Genel olarak görevi asetilkolini hidrolize ederek sinir iletimini sağlamaktadır. Sinir sisteminde asetilkolin, kolinasetiltransferaz enzimi tarafından katalizlenen reaksiyonda kolin ve asetil-CoA'dan oluşmaktadır. Asetilkolin daha sonra sinaptik boşluğa salınır ve görevini tamamlar. Sonrasında sinir iletiminin tamamlanması için asetilkolin, AChE'nin katalizlemesiyle kolin ve asetata çevrilerek yıkılır (Chatonnet ve Lockridge, 1989).

Pestisit zehirlenmelerinde eritrositlerde AChE dönüşümsüz olarak inhibe olmaktadır ancak karaciğer tarafından birkaç hafta içinde yeniden sentezlenerek AChE aktivitesi yenilenmektedir (Yang ve Dettbarn, 1996; Kale ve diğerleri, 1999 ).

AChE enzim aktivitesindeki azalma sinir hücreleri tarafından üretilen asetilkolinin yıkılıp yeniden sentezinin engellenmesine neden olmaktadır. Enzimler tarafından asetilkolinin düzenlenmezse sinir iletimi belirsiz olarak devam eder, bu da memelilerde halsizlik ve kaslarda felç gibi belirtilere neden olmaktadır (Gallo, 1991: 3-5).

### Akut toksisite

Organofosfatlar oda sıcaklığında sıvı haldedir; buhar haldeyken deri, solunum epiteli ve korneaya nüfuz edebilmektedir. Sıvı hali ise deri yoluyla ve kontamine olan yiyeceklerin tüketilmesinden sonra bağırsaklar tarafından emilmektedir (Evison ve diğerleri, 2002).

Organofosfatlar kolinesteraz inhibitörüdür ve kullanılan pestisitler arasında en toksik olanlarıdır (Wagner, 1989: 2-5). Solunum yoluyla alındığında ilk olarak solunum sistemi etkilenir ve kanlı burun akıntısı, öksürük, göğüs ağrısı, nefes almada zorluk, bronşlarda sıvı azalması bağlı olarak solunum yolu hastalıkları gözlenmektedir. Organofosfatlara deri yoluyla temas sonucu bölgesel terleme ve istemsiz kas kasılmaları meydana gelmektedir. Göz ile temas sonucu gözde ağrı, kanama, gözyaşı, göz bebeğinde küçülme ve bulanık görme gibi durumlar ortaya çıkmaktadır. Bu maddelere maruziyetin devamı halinde sistemik etkiler birkaç dakika ile 12 saat arasında başlamaktadır. Bu sistemik etkiler solgunluk, bulantı, kusma, diyare, abdominal kramplar, baş ağrısı, baş dönmesi, göz ağrısı, bulanık görme, göz bebeğinde genişleme ve küçülme ve terlemeye neden olmaktadır (Karmin, 2000: 202).

Ciddi zehirlenme sonucunda merkezi sinir sistemi ve periferik sinir sisteminde hasar meydana gelmektedir (Smith, 1993: 5-7). AChE'nin normal aktivitesinin yarıya inmesi organofosfatlara akut olarak maruz kalındığının göstergesidir (Karmin, 2000: 202).

Refleks kaybı, halsizlik, yorgunluk, istemsiz kas kasılması, koordinasyonsuzluk, dil ve gözkapaklarında titreme, en sonunda solunum kasları, el ve ayaklarda felç gibi belirtiler gözlenmiştir. Daha ciddi durumlarda, istemsiz defekasyon ve ürinasyon, psikoz, düzensiz kalp ritmi, bilinç kaybı, konvülsiyon ve koma meydana gelmektedir. Asetilkolin alyuvarlarda ve kan plazmasında bulunur. Böylece organofosfatlara ve karbamata maruz kalma sonucunda kan dolaşımındaki ChE seviyesi iyi bir indikatör olmaktadır (Smith, 1993: 5-7).

Tüm bu semptomlar doza ve etkilenen spesifik bir sinir hücreğine göre değişiklik göstermektedir. Genellikle toksik etki üç kategoriye ayrılır:

- 1- Düz kaslar üzerine etki. Kalp ve endokrin bezleri de içerir (Muskarinik Reseptör),
- 2- İskelet kaslarında sonlanan motor sinirler ve otonom sinir sistemi üzerine etki,
- 3- Merkezi sinir sistemi üzerine etki (Timbrell, 1991: 5-8).

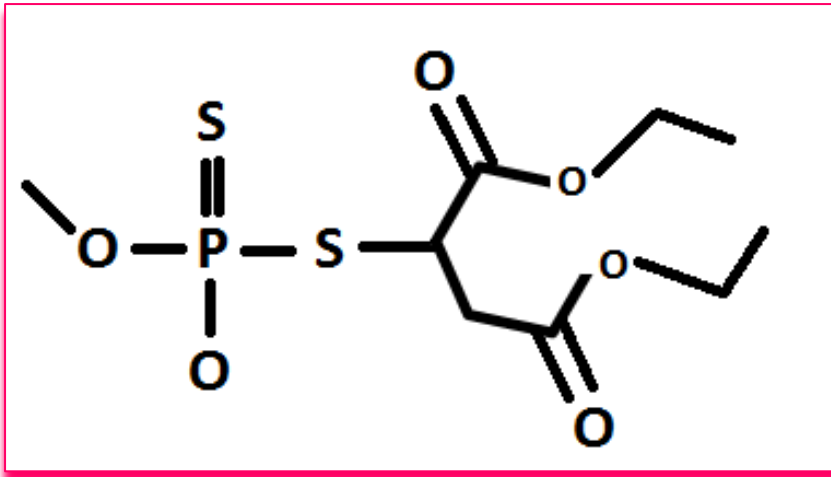
Bunun yanında organofosfatların pyrethroid insektisitler ile sinerjistik etkisi olduğu belirtilmiştir (Ware, 1986: 4-5).

### Kronik toksisite

Düşük dozda sürekli organofosfatlara maruz kalma sonucunda oluşan etkiler pestisit ile ilaçlama yapan çalışanlarda gözlenmektedir. Tekrarlanan ve uzun süreli maruz kalma sonucunda gecikmeli belirtiler içeren akut etkiler gözlenmektedir. Hafıza kaybı, konsantrasyon bozukluğu, depresyon, öfke, baş ağrısı, konuşma bozukluğu, kabus, uyurgezerlik, uyuklama ve insomnia gibi diğer etkilerde gözlenmektedir (Gallo ve Lawryk, 1991: 3-5).

### **2.3. Malathion**

Malathion (S-1,2-bis (etoksikarbonil) etil, O, O-dimetil fosforoditioat) non-sistemik, geniş spektrumlu organofosfatlar grubu insektisitidir. En erken geliştirilen organofosfat insektisitlerinden biridir (1950 yılında tanıtıldı). Malathion böceklerin meyve ve sebzelere olan zararını kontrol etmek için uygundur. Ayrıca sivrisinek, evlerde bulunan böcekler, hayvan parazitleri ve bitlerle mücadele etmek için de kullanılmaktadır. Malathion'un genel yapısı Şekil 2.3.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.3. Malathion genel yapısı

#### **2.3.1. Toksikolojik etkiler**

##### Akut toksisite

Organofosfatlara akut maruziyet ya da kolinesteraz inhibitörü bileşikleri çeşitli belirtilere neden olmaktadır. Bunlar: halsizlik, koordinasyonsuzluk, baş ağrısı, baş dönmesi, titreme,

bulantı, mide krampları, terleme, bulanık görme, nefes almada zorluk, düşük kalp ritmidir. Yüksek dozları ise bilinç kaybı, konvülsiyon ve ölüm ile sonuçlanmaktadır.

Malathion ile zehirlenmelerin birçoğu ürünün saflığı ve maruziyet yollarına bağlıdır (Karmin, 2000: 202). Diğer faktörler ise diyetle bulunan protein miktarı ve cinsiyettir. Ratlarda protein alımı azaldıkça, Malathion'un toksisitesi giderek artmaktadır (Carlson, 1987: 5-79). Malathion'un vücuda alım ve atılımında, deney hayvanları ve insanlarda cinsiyete bağlı farklılar bulunması nedeniyle farklı toksik etkilere sahip olabilmektedir.

Malathionla birçok zehirlenme olayı pestisit ile çalışanlarda ya da kaza ile küçük çocukların Malathion'a maruz kalması sonucu meydana gelmektedir. Rapor edilen bir Malathion zehirlenmesinde %0,5 Malathion içeren aerosol bombasına maruz kalan çocukta ciddi kolinesteraz inhibisyonu görülmüştür (Gosselin ve diğerleri, 1984: 5-45).

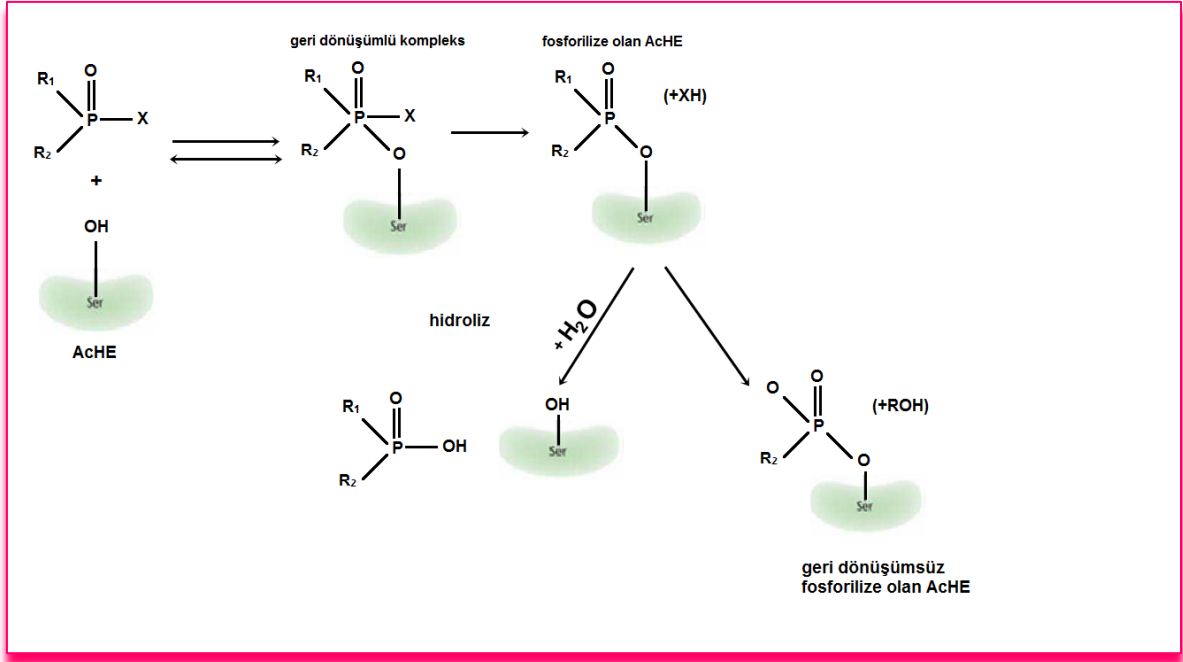
#### Kronik toksisite

15 gün boyunca düşük doz Malathion ile beslenen gönüllü insanlarda serum kolinesteraz aktivitesinde önemli bir etki gözlenmemiştir. 2 yıl boyunca 5-25mg/kg/gün ile beslenen ratlarda kolinesteraz aktivitesinde azalma gözlenmiştir. Az miktarda 8 hafta boyunca verilen bileşikler sonucunda serum kolinesteraz aktivitesinde biraz azalma görülürken, doz artırıldığında kolinesteraz inhibesinin arttığı gözlenmiştir (Gallo, 1991: 3-5).

#### **2.3.2. Malathion'un karaciğer üzerindeki akut tahribatı**

Organofosfatların toksisitesi asetilkolinesteraz inhibisyonuna neden olmaktadır. AChE, sinaptik membranda bulunur. Hidrolitik nörontransmitter asetilkolin aracılığıyla kolin ve asetat üretilir. Bu reaksiyon merkezi ve periferik sinir sisteminde sinaptik aktivitenin düzenlenmesi için önemlidir. Organofosfatlar kolinesteraz inhibitörü olan asetilkolinesterazın fonksiyonunu engeller ve bu sinaptik yarıklarda aşırı asetilkolin birikmesine sebep olur. Bu nörotoksik etkiler nöromusküler felce neden olup tüm vücuda yayılır (R. Gupta, 2006: 127-145).

Organofosfatların AChE'nin aktif kısmı ile arasındaki kovalent bağ AChE'yi inhibe etmektedir (Şekil 2.4.).



Şekil 2.4. Organofosfatların, asetilkolin esteraz enzim inhibisyon reaksiyonu (R: Genel olarak alkoksi (OCH<sub>3</sub> veya OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>) X: Yan zincir)

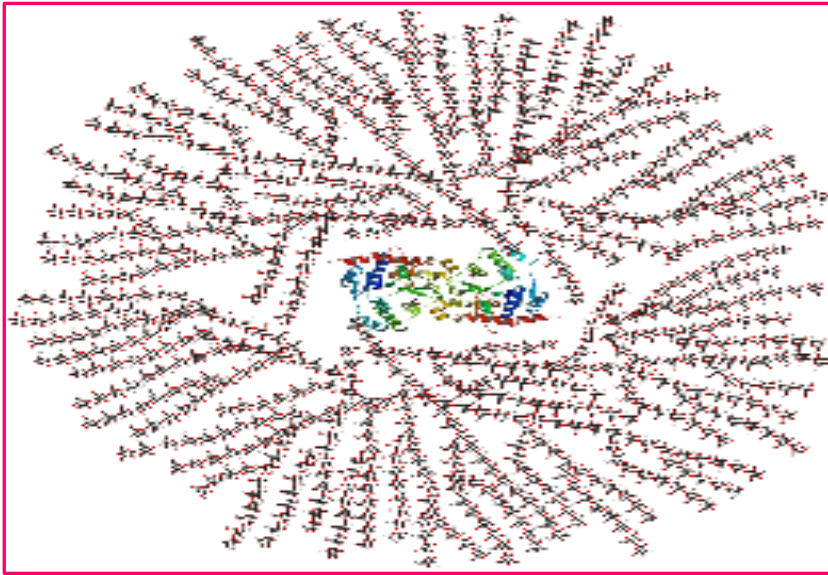
AChE'nin aktif kısımdaki serinin hidroksil kısmı organofosfatlar ile geri dönüşümlü bir kompleks oluşturur, bu kompleksin fosforilasyonu ve hidrolizasyonundan sonra bazen geri dönüşümlü çoğu zaman geri dönüşümsüz kompleks oluşturmaktadır. Geri dönüşümsüz kompleks uzun süreli toksik etkilere neden olmaktadır.

Organofosfatların birçok organ üzerinde olumsuz etkisi vardır (R. Gupta, 2006: 127-145). İmmün sistem (Neishabouri ve diğerleri, 2004), karaciğer (Akhgari, Abdollahi, Kebryaezadeh, Hosseini ve Sabzevari, 2003), kaslar (Pournourmohammadi ve diğerleri, 2005), üriner sistem (Rodrigo ve diğerleri, 2001), üreme sistemi (Joshi ve diğerleri, 2003), pankreas (Hagar ve Fahmy, 2002) ve dolaşım sistemi (De Blaquiére ve diğerleri, 2000) organofosfatlar tarafından etkilenir. Organofosfatların hızlı toksik etki göstermesi, iyi şekilde absorbe olmaları ve AChE'ye olan yüksek duyarlılıklarından kaynaklanmaktadır (Cabello ve diğerleri, 2001; Abdollahi, 2011). AChE aktivitesinin inhibisyonu organofosfat toksisitesi için bir belirteç olarak bilinmektedir ve kan hücrelerinin oksidatif stres düzeyiyle ilişkilidir (Shadnia ve diğerleri, 2005). Eğer antioksidanlar serbest radikal üretimini engellemezse, serbest radikal aktivitesi hücre hasarına sebep olmaktadır (Abdollahi ve diğerleri, 2004). Organofosfatlar akut ve kronik dozda insanlarda ve hayvanlarda oksidatif strese yol açmaktadır (Akhgari ve diğerleri, 2003), (Shadnia ve diğerleri, 2005), (Kovacic, 2003). Diazinon'un rat karaciğerinde mitokondrial transport

sistemini etkilediği gözlenmiştir (Nakagawa ve Moore, 1999). Malathion hem insan hem de hayvanlarda karaciğer, böbrek, testisler ve beyin gibi birçok organı etkiler (Meyera ve diğerleri, 2005). Malathion AChE inhibisyonu ve kolinerjik reseptör aktivasyonu yoluyla toksisiteyi artırmaktadır (Da Silva ve diğerleri, 2006; Lasram ve diğerleri, 2008). Ayrıca Malathion'un lipofilik yapısı hücre membranıyla etkileşimini kolaylaştırmakta ve birçok organın fosfolipit çift katmanlı yapısının bozulmasına neden olmaktadır (Videira ve diğerleri, 2001). Ratlarda yapılan çalışmalar akut olarak Malathion'a maruz kalmanın mitokondrial fonksiyonlarda değişikliğe sebep olduğunu belirtmiştir. Şiddetli ve akut Malathion zehirlenmesi alyuvarlardaki AChE aktivitesini %70-80 oranında inhibe etmektedir. Yapılan pilot çalışmalarda, akut zehirlenmelerde Malathion'un 400 mg/kg dozunun enzimin aktivitesini normale göre %10-30 arasında inhibe ettiği gözlenmiştir (Karami-Mohajeri ve diğerleri, 2013).

#### 2.4. Karaciğer Glikojeni

Vücutta başlıca glikojen depoları, karaciğer ve iskelet kaslarında bulunur. Kas glikojenin görevi, kas kasılması sırasında ATP (Adenin Trifosfat) sentezi için yakıt kaynağı oluşturmaktadır. Karaciğer glikojeninin görevi ise açlık döneminde, kan glukoz konsantrasyonu belli seviyede tutmaya çalışmaktır.



Şekil 2.5. Glikojenin yapısı

Glikojen molekülünün yapısı  $\alpha$ -D-glukoz birimlerinden oluşan dallı-zincirli homopolisakkarit yapısındadır. Primer glikozid bağı  $\alpha$  (1;4)'den oluşmaktadır. Ortalama her sekiz-on glikozil kalıntısından sonra,  $\alpha$  (1;6) dallanma olmaktadır (Şekil 2.5) (Pitcher ve diğerleri, 1988).

Glikojen sentezi enerji ve substrat miktarı yüksek olduğunda uyarılırken, enerji ve glukoz düşük olduğunda glikojen yıkımı görülür. Glikojen sentezi tokluk halinde glikojen sentaz enzimin aktivesi ile başlar.

Glikojenin yıkımı ise glikojen fosforilaz glikojenin zincirlerinin glikozil kalıntıları arasında bulunan  $\alpha$  (1;4) kırmasıyla başlar. İnsülin hormonu varlığında glikojen yıkımı azalır (Ulukaya, 2007: 123-131).

#### **2.4.1. Malathion'un Kan Glukozu ve Karaciğer Glikojeni Üzerindeki Etkileri**

Karaciğer, glukoz alımı ve depolanmasını glikojenez aracılığıyla dengede tutarak ve glikojenoliz ve glikoneojenez yoluyla da glukoz salınımı yaparak kan glukoz hemostazında önemli rol oynar (Nordlie ve diğerleri, 1999), (Abdollahi ve diğerleri, 2003). Organofosfat insektisitleriyle zehirlenme sonucu oluşan yan etkilerden biri hiperglisemidir ve kanda glukoz seviyesi beş kat daha fazla olmaktadır (Meller ve diğerleri, 1981). Malathion subkronik dozda ratların kas (Abdollahi ve diğerleri, 2004) ve karaciğerinde (Pournourmohammadi ve diğerleri, 2005), glukoz metabolizması ile akut dozda ise glukozun hormonal kontrolüyle (Panahi ve diğerleri, 2006) etkileşim içinde olduğunu belirtmiştir.

Birçok çalışma organofosfat pestisitlerine maruz kalan bireylerde diyabet hastalığına rastlandığını belirtmiştir (Abdollahi ve diğerleri, 2003a, 2003b, 2004; Exton, 1987; Rothman ve diğerleri, 1995). Organofosfatların kronik ve akut maruziyetinin yan etkilerinden birinin de hiperglisemi olduğu belirtilmiştir (Abdollahi ve diğerleri, 2004; P. Gupta, 1974; Matin ve Husain, 1987; Rodrigues ve diğerleri, 1986). Son yıllarda yapılan çalışmalarda Malathion'un metabolik parametreleri bozduğunu belirtmiştir (Abdollahi ve diğerleri, 2004; Rahimi ve Abdollahi, 2007; Rezg ve diğerleri, 2006, 2007; Teimouri ve diğerleri, 2006). Organofosfatların kronik etkisinin pankreasta endokrin ve ekzokrin fonksiyonların hasar görmesi sonucunda hiperglisemi gelişmiştir. (Dressel ve diğerleri,

1979; Gokel ve diğeri, 2002; Harputluoglu ve diğeri, 2003; Kandalaft ve diğeri, 1991; Lankisch ve diğeri, 1990; Panieri ve diğeri, 1997). İki haftalık Malathion etkisinin hiperglisemiye neden olduğı gösterilmiştir. Malathion'un kronik maruziyeti hiperglisemi ile birlikte oksidatif stresin artışı insülin rezistansı artışına ve bunun da insülin rezistansı ile hormonal komplikasyonlara neden olduğı ve diyabet ile sonuçlandığı gösterilmiştir.

Aynı zamanda deneysel çalışmaları Malathion'un kronik uygulamalarıyla glikojen oranının arttırdığını belirtmiştir (Abdollahi ve diğeri, 2004; Rezg ve diğeri, 2006; Rezg ve diğeri, 2008).

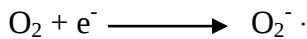
## 2.5. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller

Biyolojik sistemlerde oksidasyon ve redüksiyon tepkimeleri metabolik değişimlerdeki pek çok biyokimyasal mekanizmayı açıklamaktadır (Valko ve diğeri, 2006). Biyolojik sistemlerde redükleyici ve oksitleyici ajanlar kullanmak yerine sıklıkla antioksidan ve oksidan sistemler kullanılmaktadır. Redükleyici ajan ya da antioksidan elektron verirken oksitleyici ajan ya da oksidasyon hızlandırıcı elektron almaktadır. Hücreler sürekli olarak oksidanlara hem fizyolojik olarak (mitokondriyal solunum gibi) (Chance ve diğeri, 1979) hem de patofizyolojik olarak maruz kalmaktadır (Ames ve diğeri, 1995).

Oksidatif stres birçok hastalık tipinde birleştirici hasar mekanizması oluşturmaktadır. Bu değişime reaktif oksijen türleri üretimi ve biyolojik sistemlerin reaktif ara ürünlerden hızlıca detoksifiye olma yeteneğı ya da oluşan hasarın kolaylıkla onarılması esnasında dengesizlik oluşmaktadır.

### 2.5.1. Süperoksit radikali ( $O_2^{\cdot-}$ )

Genel olarak oksijen molekülü ( $O_2$ ) bir elektron alması ile kararsız bir ara bileşik olan süperoksit radikal ( $O_2^{\cdot-}$ ) anyonu meydana gelmektedir.



$O_2$ 'den  $O_2^{\cdot-}$ 'e dönüşümü ;

- 1- Elektron transport zinciri Nikotinamid adenin dinükleotit hidrojen molekülünden ( $NADH_2$ ), Nikotinamid adenin dinükleotit ( $NAD$ ) eldesinde,
- 2- Flavin adenin dinükleotit hidrojen molekülünden ( $FADH_2$ ), Flavin adenin dinükleotite ( $FAD$ ) eldesinde,
- 3- Sitokrom  $P_{450}$  enzim sistemi aktivitesi sonucunda,  $NADPH$  (Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat hidrojen) oksidasyonunda,
- 4- Nitrik oksit ( $NO$ ) sentezi reaksiyonu için gerekli olan arginin veya tetrahidrobiopterin eksiliğinde oluşmaktadır (Freidovich, 1999; Gilbert, 2000).

Makrofajlar tarafından gerçekleştirilen fagositoz sırasında  $O_2$  tüketimi artarken  $NADPH$  oksidaz tarafından ise  $O_2^{\cdot-}$  artışı tetiklenmektedir.



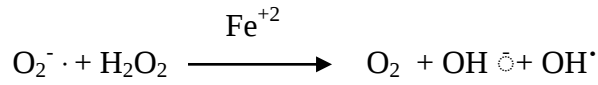
$O_2^{\cdot-}$  özellikle hücre membranında oldukça fazla hasar meydana getirerek hücre permeabilitesini bozmaktadır.  $O_2^{\cdot-}$  organik ya da inorganik bileşiklerle reaksiyona girer.  $NO$  ile reaksiyona girerek peroksinitriti oluşturmaktadır (Pieper ve diğerleri, 1997).

### 2.5.2. Hidroksil radikali ( $OH^{\cdot}$ )

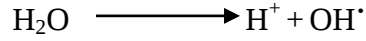
$OH^{\cdot}$  radikali yarı ömrü oldukça kısa olan bir serbest radikaldir. Biyolojik sistemlerde tüm substratlarla reaksiyona girebilmekte ve oldukça büyük hasar oluşturmaktadır. Protein ve lipitler arası çapraz bağ oluşturabilmekte, elektron transferi yapmakta ve proton çıkarabilmektedir. Ferrik ( $Fe^{+3}$ )'in  $O_2^{\cdot-}$  reaksiyonu ile Ferröz ( $Fe^{+2}$ ) oluşmaktadır. Bu reaksiyona Fenton reaksiyonu denir.  $Fe^{+2}$ 'in  $H_2O_2$  ile reaksiyonu sonucunda ise  $OH^{\cdot}$  radikali oluşmaktadır (Pieper ve diğerleri, 1997).



Haber-Weiss reaksiyonu ile de  $\text{OH}^\bullet$  oluşmaktadır (Chen ve Schopfer, 1999)

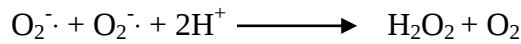
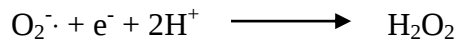
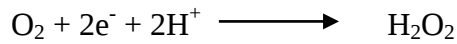


İyonize radyasyon etkisi ile de  $\text{OH}^\bullet$  oluşmaktadır (Fang ve diğerleri, 2002).



### 2.5.3. Hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )

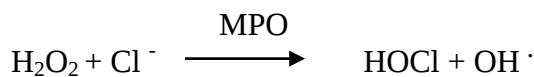
Genel olarak  $\text{O}_2$ 'nin iki elektron ve iki proton almasıyla oluşmaktadır. Aynı zamanda  $\text{O}_2^{\cdot -}$ 'in bir elektron ve iki proton almasıyla ya da iki  $\text{O}_2^{\cdot -}$ 'in iki proton almasıyla da oluşmaktadır (Evans ve Halliwell, 2001).



$\text{H}_2\text{O}_2$  yüksüz olduğu için hücre membranında kolaylıkla geçmektedir.  $\text{H}_2\text{O}_2$ , Fe ve Cu gibi geçiş metal iyonlarının varlığında  $\text{OH}^\bullet$  radikaline yıkılmaktadır (Fang ve diğerleri, 2002).

### 2.5.4. Hipoklorik asit ( $\text{HOCl}$ )

Nötrofillerde myeloperoksidazın (MPO) katalizlediği reaksiyon sonucunda oluşmaktadır (Hawkins ve diğerleri, 2003).

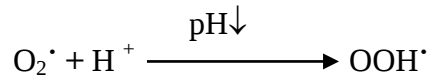


### 2.5.5. Singlet oksijen ( $^1\text{O}_2$ )

Reaktif oksijen türleri arasında yer alan bir moleküldür.  $\text{O}_2$ 'nin dışarıdan enerji almasıyla ya da MPO'nun  $\text{H}_2\text{O}_2$  katalizleyerek son ürünlerden biri olan HOCl reaksiyonu ile oluşmaktadır.

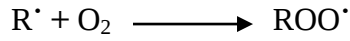
### 2.5.6. Perhidroksi radikali ( $\text{OOH}^\cdot$ )

$\text{O}_2^{\cdot-}$ 'nin asidik ortamlarda proton alması sonucunda çok daha kuvvetli olan  $\text{OOH}^\cdot$  radikali oluşmaktadır (Cheeseman ve diğerleri, 1993).



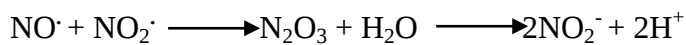
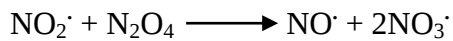
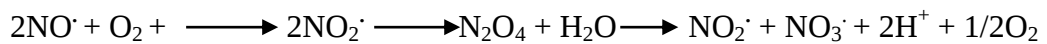
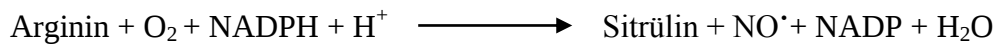
### 2.5.7. Peroksil radikali ( $\text{ROO}^\cdot$ )

$\text{R}^\cdot$  radikalleri hızlı bir şekilde oksijen ile reaksiyona girerek  $\text{ROO}^\cdot$ 'yi oluşturmaktadır.  $\text{ROO}^\cdot$ , lipid peroksidasyonunu başlatan radikal olup çok uzun ömürlüdür (Cheeseman ve diğerleri, 1993).



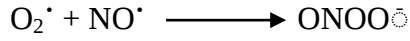
### 2.5.8. Nitrik oksit (NO)

NO memelilerde Nitrik oksit sentazın (NOS) katalizlenmesi sonucunda sentezlenmektedir. NOS katalizlediği reaksiyonla L-arginin amino asitinden sitrülün ve NO oluşur. NO, oksijen ve su varlığında çok kısa bir yarı ömre sahiptir ve kolayca oksitlenip nitrojen oksitlerini oluşturmaktadır (Gutteridge, 1995).



### 2.5.9. Peroksinitrit (ONOO<sup>-</sup>)

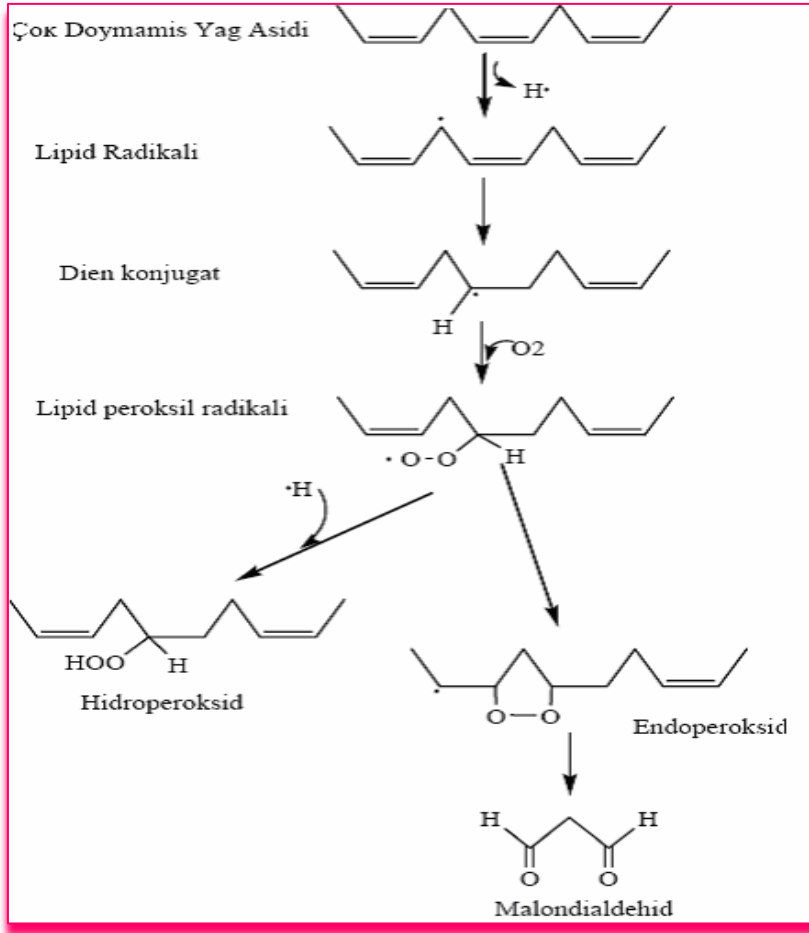
O<sub>2</sub><sup>-</sup> veya H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, NO<sup>•</sup> ile reaksiyona girmesi ile oluşmaktadır (Berlett ve Stadtman, 1997).



Reaktif oksijen türleri (ROT) fazla bulunduğunda patofizyolojik modelleri hücre hasarına neden olurken, direkt ya da çeşitli sinyal yollarında ara ürünler şeklinde çalışıp DNA hasarı, protein oksidasyonu ve lipit peroksidasyonu ile sonuçlananlar membran hasarına yol açmaktadır. Reaktif nitrojen türleri de (RNT) aynı şekilde hareket etmektedir. Nitrik oksit radikali (NO) damar basıncını azaltma, hücre büyümesini engelleme gibi özelliklere sahipken, peroksinitrit anyonu (ONOO<sup>-</sup>) intraselüler ROT konsantrasyonunu artırmaktadır (Rodrigo, 2009: 2-18).

### 2.5.10. Lipit peroksidasyonu ve malondialdehit (MDA)

Organizmada oluşan ROT sonucu yağ asidi zincirinden metilen grubunun hidrojen atomunu uzaklaştırılmasıyla lipit peroksidasyonu meydana gelmektedir. Lipit peroksidasyonun oluşmasında en etkili radikal hidroksil iyonu olduğu düşünülmektedir. Hidrojen atomunun uzaklaşması ile yağ asidi zinciri radikal niteliği kazanır ve çift bağ aktarılması sonucu dien konjugatlar oluşur. Daha sonra lipit radikalinin oksidasyonu ile lipit peroksit radikali meydana gelir. Bu radikaller poliansature yağ asitlerini etkiler ve hidrojen atomlarını alarak lipit hidroperoksitlere dönüşmektedir. Lipit peroksidasyonu ve lipit hidroperoksitleri aldehit ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesi ile sonlanmaktadır (Akkuş, 1995: 75-78). Malondialdehit (MDA) bu bileşiklerden birisidir (Şekil 2.6) (Demirtaş, 2009).



Şekil 2.6. Lipit peroksidasyonu kimyasal yolu

Üç karbonlu bir ketoaldehit olan Malondialdehit (MDA) önce asetat veya malonata okside olur, daha sonra ise krebs siklusu ile  $\text{CO}_2$ 'e indirgenir. Ancak yüksek lipit peroksidasyonu ile MDA konsantrasyonu artarak dokulara hasar vermektedir (Ulus ve diğerleri, 2003).

Oksidatif stresin ölçülmesinde en yaygın metod MDA düzeyinin belirlenmesidir. MDA, protein lizin rezidüleriyle ve fosfolipitlerin amin gruplarıyla reaksiyona girebilmektedir. MDA, hücre veya çekirdek içine kolaylıkla difüze olabilmektedir. Bu şekilde DNA bazlarıyla da reaksiyona girerek hasara neden olmaktadır (Uchida, K. (2003).

#### 2.5.11. İleri oksidasyon protein ürünü (AOPP)

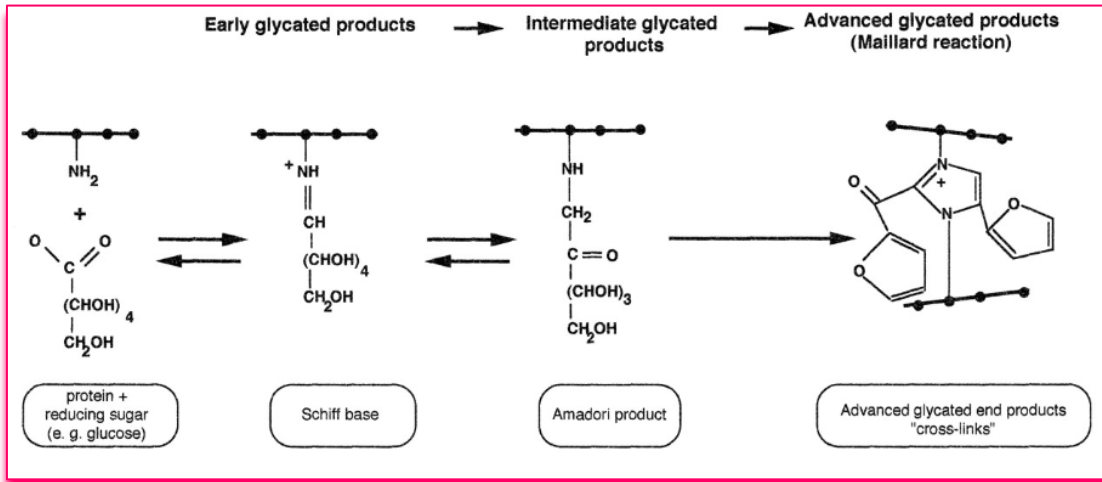
Proteinlerin aminoasit yan zincirleri ROT tarafından oksidasyona uğratılmaktadır (Reddy ve diğerleri, 2008). Protein oksidasyonunun bir belirteci olan ileri oksidasyonu protein ürünleri ditirozin içeren çapraz bağlı protein ürünleri olarak tanımlanmaktadır (Alderman

ve diğerleri, 2002). Protein çapraz bağlanmaları oksidatif değişimin bir belirticidir ve birkaç farklı reaksiyon gerçekleşmektedir. Bu reaksiyonlar;

1. Karbon merkezli iki radikalın direkt reaksiyonu sonucu,
2. İki tirozin radikali arasında etkileşim sonucu,
3. İki sistein-tiil radikalının reaksiyonu sonucu,
4. Karbonil grubu içeren proteinlerin aynı veya farklı protein yan zincirindeki lizin ile reaksiyonu sonucu,
5. Reaktif aldehytlerin aynı veya farklı proteinin lizin ile arasındaki reaksiyon sonrası,
6. Glikasyon/glioksidasyon reaksiyonları sonucu karbonil grubuna sahip proteinlerin aynı veya farklı proteinlerin lizin veya arjinin ile reaksiyonu sonrası,
7. Michael reaksiyonu ile lipid peroksidasyonu belirteçlerinin, proteinlere eklenmesi sonucu oluşan protein aldehytlerin, aynı veya farklı proteinlerdeki lizin ile reaksiyonu olarak sıralanabilir (Stadtman ve Levine, 2003).

### 2.5.12. İleri Glikasyon Son Ürünü (AGEs)

Aynı zamanda glikotoksin olarak adlandırılan Advanced glikasyon son ürünü hiperglisemi, diyabet ve birçok kronik hastalıklarda oksidan ürünlerinin yükseldiğini işaret eden bir belirticidir. AGEs, indirgenmiş şekerler ile protein, lipid, nükleik asitlerin amino grupları arasında nonenzimatik bir reaksiyon oluşmaktadır. Bu reaksiyon aynı zamanda Maillard ya da Browning reaksiyonu olarak da adlandırılmaktadır (Şekil 2.7) (Bierhaus ve diğerleri, 1998).



Şekil 2.7. Maillard reaksiyonu

Normal metabolizmada belirli AGEs düzeyi görülebilir fakat yüksek AGEs düzeyinin dolaşım sistemi ve dokularda patojenik olabileceğini işaret etmektedir. AGEs'in patojenik etkisinin oksidatif stres ve inflamasyon artışına neden olduğu söylenmektedir. Yüksek AGEs düzeyi hücre yüzey reseptörleriyle ya da çapraz bağlı proteinlerle bağ yaparak yapı ve fonksiyonun değişimine neden olmaktadır (Uribarri ve diğerleri, 2010).

## 2.6. Antioksidan sistem

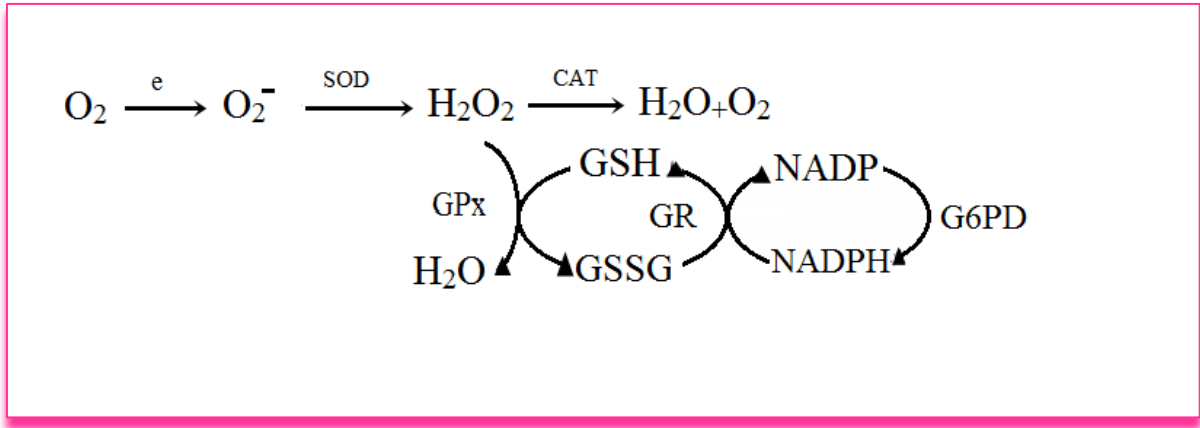
Antioksidan savunma sistemi normal hücre metabolizmasında ki ROT türlerinin üretimine karşı hücrel homeostazisi korumaktadır. Antioksidan sistem metabolik enerjinin kullanıldığı antioksidan maddeler tarafından korunur. Antioksidan maddeler, alıp verdikleri elektronlar ile eşleşmemiş durumda olanları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

Antioksidan molekülleri endojen olarak üretilmektedir ya da eksojen olarak diyet veya antioksidan takviyesi ile alınmaktadır. Endojen olan başlıca antioksidan enzimleri süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px)'dir. SOD süperoksit anyonunu  $H_2O_2$ 'e dönüştürmektedir, ayrıca  $H_2O_2$ , katalaz ve glutatyon peroksidaz için substrattır. Katalaz, hidroperoksiti su ve oksijene metabolize eder ve glutatyon peroksidaz indirgenmiş glutatyon (GSH) ile reaksiyona girdiğinde  $H_2O_2$ ,  $H_2O$ 'ya katalize olur (Andreoli, 1991).

E ve C vitamini gibi eksojen antioksidanlar hücre membranında, hücre içinde ve hücre dışında bulunmaktadır. ROT'u uzaklaştırmak ve inhibe etmek için reaksiyona girerler. Membranın hidrofobik lipid iç tabakası farklı spektrumlarda antioksidana ihtiyaç duymaktadır. Yağda çözünebilir E vitamini membran bütünlüğünün kaybını önlemek için bulunan en önemli antioksidanlardan biridir (Rodrigo, 2009: 2-18).

### 2.6.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) ve Katalaz

Serbest oksijen radikali süpürücüsü olan SOD ve katalaz oksidatif stresin etkilerini belirlemek açısından kullanılan markerlerdir (Lawrence ve diğerleri, 1995). Antioksidan enzim sistemi bakır ve çinko içeren süperoksit dismutaz (Cu-ZnSOD), mangan içeren süperoksit dismutaz (MnSOD), katalaz, GSH-Px, glutatyon redüktaz (GR) ve glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD)'dan oluşmaktadır. Bu enzimlerin özelliği normal metabolizma ve oksidatif hasar sırasında oluşan toksik oksijen radikaline karşı koruma sağlamaktır (Şekil 2.8.) (Sun, 1990).



Şekil.2.8. Antioksidan enzim sistemi

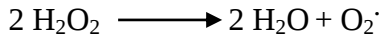
#### Süperoksit dismutaz (SOD)

McCord ve Fridovich tarafından 1969 yılında bulunmuştur. Bu enzim süperoksit serbest radikalinin ( $O_2^{\cdot -}$ ) hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve moleküler oksijene ( $O_2$ ) dönüşmesini katalizlemektedir. SOD ailesi dört tane metallo formdan oluşmaktadır. Bunlardan iki tanesi yapılarında bakır ve çinko içerirken diğerleri mangan ve demir içermektedir. Bakır-çinko süperoksit dismutaz (Cu-ZnSOD) birçok ökaryotik hücrede sitozolde bulunmaktadır. Cu-ZnSOD'un farklı bir formu ekstraselüler sıvıda bulunmaktadır ve ekstraselüler SOD (EC-SOD) olarak adlandırılmaktadır. Mangan süperoksit dismutaz (MnSOD) mitokondrial matrikste bulunmasının yanı sıra bakterilerde de görülmektedir. Demir süperoksit dismutaz (FeSOD) ise birçok aerobik bakteride bulunmaktadır. FeSOD ve MnSOD aynı aminoasit dizilerine sahipken Cu-ZnSOD'dan oldukça farklıdır (Sun, 1990).

Prokaryotik hücrelerde sadece FeSOD ve MnSOD vardır. FeSOD temel yapı enzimi iken MnSOD indüklenabilir enzimdir. Ökaryotik hücrelerde Cu-ZnSOD, EC-SOD ve MnSOD olmak üzere üç tip SOD bulunmaktadır. Cu-ZnSOD sitozolde bulunmakta ve iki özdeş alt üniteden oluşmaktadır. EC-SOD'un yapısında da bakır ve çinko bulunmakta ancak 4 tane birbirine eşit ve nonkovalent bağlı alt üniteden oluşmaktadır. MnSOD mitokondrial matrikste bulunmakta ve birbirine eşit dört alt üniteden oluşmaktadır. Cu-ZnSOD siyanüree karşı hassastır ancak kloroform-etanola karşı dirençlidir. MnSOD ise siyanüre karşı direnç gösterirken kloroform-etanol muamelesi ile bozulmaktadır (Sun, 1990).

### Katalaz

Katalaz bilinen en eski enzimlerden biridir ve 1901 yılında Loew tarafından isimlendirilmiştir. Hidrojen peroksiti suya ve oksijene parçalar.



Birçok aerobik hücrede bu enzim bulunmaktadır. Hayvan hücrelerinde birçok organda bulunmasına rağmen karaciğer ve eritrositlerde daha fazla konsantrasyonda bulunmaktadır. Hücre içi düzeyde daha çok peroksizomlarda (%80) ve sitozolde (%20) görülmektedir. Katalaz 240000 bağıl moleküler kütleye sahiptir ve dört protein alt üniteden oluşmaktadır. Her bir alt ünitenin aktif kısmına hem grubu bağlıdır. Katalazın inhibitörleri azit, siyanür, 3-amino-1,2,4 triazol, indirgenmiş glutatyon ve ditiotreitoldur (Sun, 1990).

$\text{O}_2$ , hücresel döngülerle bir elektron alarak  $\text{O}_2^-$  indirgenmektedir.  $\text{O}_2^-$ , spontan dismutasyon reaksiyonu ile hücreler için oldukça toksik olan  $\text{H}_2\text{O}_2$  molekülü oluşmaktadır.  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{Fe}^{+2}$  veya diğer geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu sonucunda oldukça reaktif olan hidroksil  $\text{OH}^\cdot$  Radikali oluşmaktadır. Son ürün olarak  $\text{H}_2\text{O}$  indirgenmektedir (Sun, 1990). Reaktif radikaller  $\text{O}_2^-$ ,  $\text{OH}^\cdot$  ve  $\text{H}_2\text{O}_2$  membranların çoklu doymamış yağ asiti yan zincirinden bir hidrojen atomu alırlar ve lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır (Kale ve diğerleri, 1999). Bu radikaller aynı zamanda DNA hasarına, enzim aktivitesi değişimine, polisakkarit polimer yapısının bozulmasına neden olarak oksidatif strese sebep olur. Eğer antioksidan sistem bastırılırsa bu durum hücre hasarıyla sonuçlanmaktadır (Halliwell, 1994).

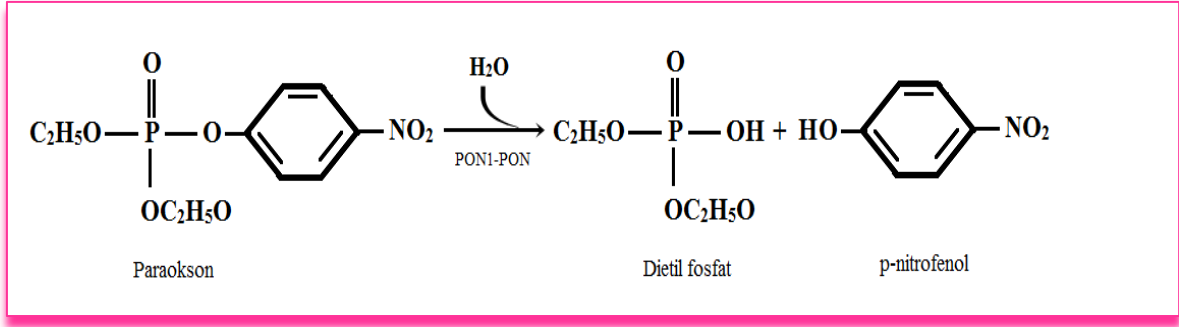
Moleküler oksijen ürünleri karşı korumak için hücre içerisinde enzimatik ve enzimatik olmayan birçok mekanizma gerçekleşmektedir. SOD, katalaz, GSH-Px gibi enzimler birincil antioksidan enzimleridir ve direk olarak aktif oksijen türlerini yok etmektedirler. Glutasyon S-transferaz (GS), GR ve G6PD enzimleri ise ROT'un detoksifikasyonuna karşı ikincil antioksidan enzimlerdir (Sun, 1990).

### **2.6.2. Paraoksonaz-1 (PON1)**

Paraoksonaz-1 (PON1) hidrolazlar enzim ailesine ait (E.C.3.1.8.1), karaciğer tarafından sentezlenen, plazmada aromatik karboksilik asit esterlerini ve organofosfatları hidroliz edebilme kapasitesine sahip bir enzimdir (Mackness, 1989; Mackness ve diğerleri, 1996). Yapılan çalışmalar farklı rat dokularında PON1 enzimi olduğunu belirtmiştir. Bunlar; böbrek (Chemnitius ve diğerleri, 1983; Pond ve diğerleri, 1996), beyin (Chemnitius ve diğerleri, 1983; Pellin ve diğerleri, 1990) ve akciğerdir (Pond ve diğerleri, 1996). PON1 enzimi; karaciğer, böbrek, kalp, beyin, ince bağırsak ve akciğer dışındaki dokularda da bulunmaktadır (Furlong ve diğerleri, 1980). PON1 enziminin paraoksonaz ve arilesteraz olmak üzere iki önemli aktivitesi klinik ve deneysel çalışmalarda kullanılmaktadır (N. Gupta ve diğerleri, 2012). Ayrıca PON1 enziminin laktonaz aktivitesi de gösterilmiştir. PON1'in laktonaz aktivesi, homosistein tiyolakton'un toksisitesine karşı koruduğu bildirilmiştir (Jakubowski, 2000).

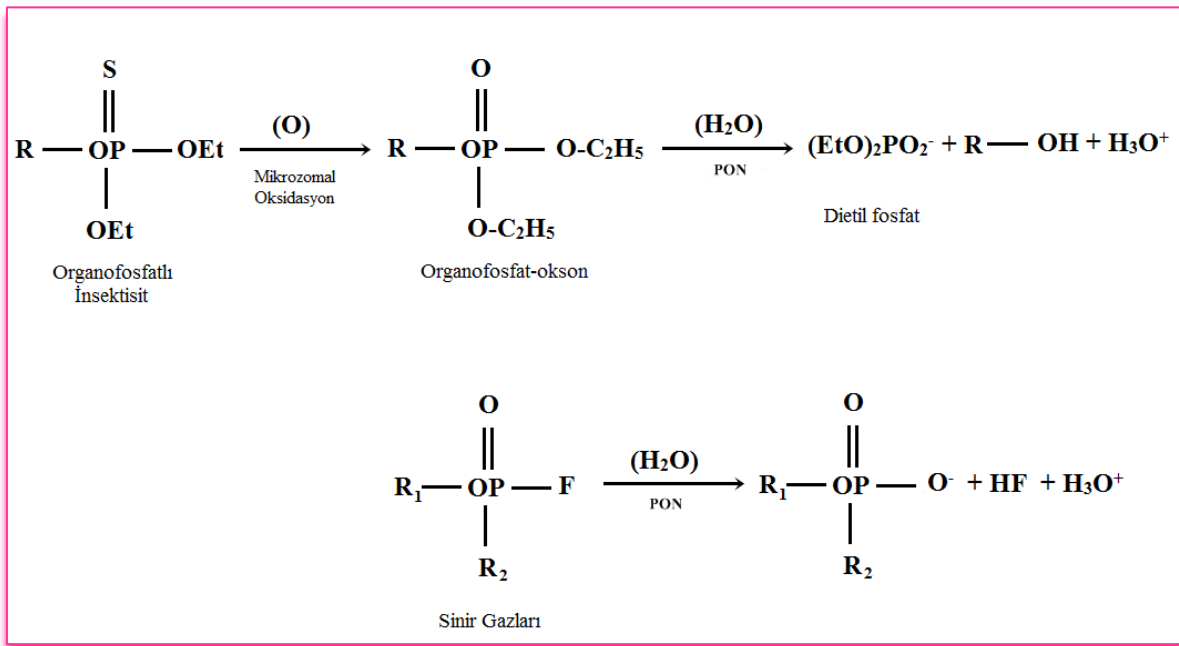
#### **PON1'in paraoksonaz aktivitesi (PON1-PON)**

Paraoksonaz-1 (PON1)'in ilk olarak paraoksonaz aktivitesi (PON1-PON) bulunmuştur. PON1-PON'un insektisit zehirlenmesinde paraoksonun hidrolizini katalizlediği bildirilmiştir (Şekil 2.9). Böylece ksenobiyotik toksisitesine karşı koruyucu rol oynadığı gözlenmiştir (Costa ve diğerleri, 2005).



Şekil 2.9. Paraoksonaz-1'in paraoksonaz aktivitesi

PON1-PON lipid peroksidasyonunun detoksifiye edilmesinde antioksidan enzim olarak kabul edilmiştir (Mackness ve diğerleri, 1991). PON1-PON, biyolojik sistemlerde bilinen iki önemli moleküler mekanizmanın düzenleyicisidir. Birincisi organofosfat bileşiklerini ve sinir gazlarını hidrolize ederek bu bileşiklerin toksik etkilerinin azalmasında etkin rol oynamasıdır (Şekil 2.10.) (Akgür ve diğerleri, 1999).



Şekil 2.10. Organofosfatların metabolizmasında PON1-PON'in rolü (R: Genel olarak alkoksi grup, sarin gazı için R1:isopropil halka, R2: metil grubu)

Organofosfat zehirlenmelerinde serum PON1-PON'un kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak düştüğü belirtilmiştir (Sozmen ve diğerleri, 2002). Düşük serum PON1-PON'un ROT'u artırabileceği ve sonucunda oksidatif stresle birlikte hiperglisemiye neden olacağı belirtilmiştir. Tip 1 ve tip 2 diyabet hastalarında PON1-PON sağlıklı hastalara kıyasla

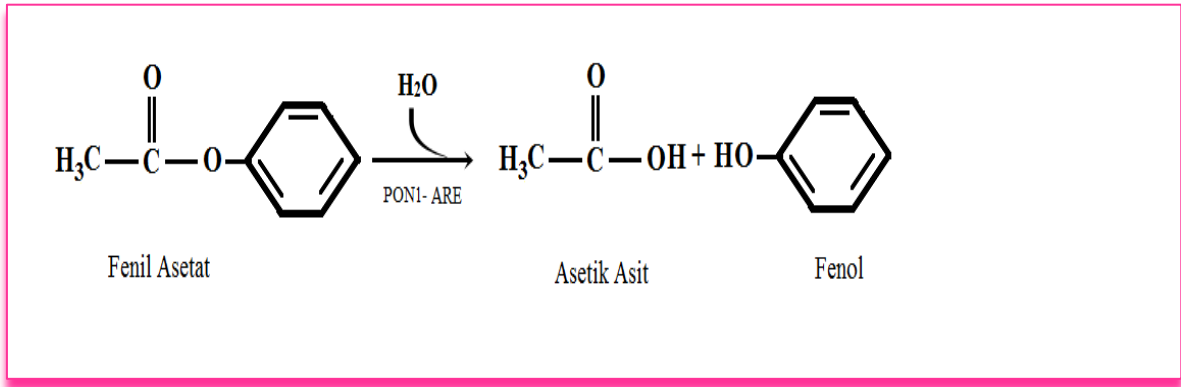
belirgin olarak düşük izlenmiştir (Mackness ve diğerleri 1998; Mackness ve diğerleri, 2002).

PON1-PON'un ikinci önemli görevi ise hidroliz sonrası okside LDL ve HDL tarafından kronik arter hastalığına ve homosistein artışına karşı koruma sağlamasıdır (Mackness ve diğerleri, 1999; Aviram ve diğerleri, 1998).

Toksik ajanlardan hücresel hasara karşı koruma sağlayan mekanizma dışında PON1-PON karaciğer mikrosomlarında lipid transferi ve VLDL partiküllerinin toplanmasında (Ozols ve diğerleri, 1999) ve bakteriyel endotoksinlere karşı korumada (La Du ve diğerleri, 1999) önemli rol oynamaktadır.

#### PON1'in arilesteraz aktivitesi (PON1-ARE)

PON1'de PON1-ARE, fenil asetatın hidrolizini katalizleyen enzim aktivitesidir (Şekil 2.11) (Dias ve diğerleri, 2014). Kardiyak sendromu olan hastalarda serum PON1-ARE'nin PON1-PON ile birlikte oksidatif strese karşı koruyucu enzim olduğu bildirilmiştir (Gür ve diğerleri, 2007). PON1-ARE, lipid peroksidlerin toksisitesine karşı PON1'in diğer aktivitelere kıyasla en iyi antioksidan cevap gösterdiği söylenmiştir (Dais ve diğerleri, 2014).



Şekil 2.11. PON1'in arilesteraz aktivitesi

#### **2.7. Malathion'un oksidatif stresle ilişkisi**

Malathion'un eritrosit ve lenfositlerin fiziksel ve biyokimyasal özelliklerini bozduğu bilinmektedir (Banerjee ve diğerleri, 1998, 1999; Baselt ve Cravey, 1989). Pestisitler ve diğer kimyasalların serbest radikal üretiminde, antioksidanlarda ya da serbest oksijen

radikaline karşı koruyucu enzim sisteminde bozulmaya yol açarak oksidatif strese sebep olduğu bilinmektedir (Agrawal ve diğerleri, 1991; Almeida ve diğerleri, 1997; El-Sharkawy ve diğerleri, 1994; Koner ve diğerleri, 1997; 1998; Ray ve Banerjee, 1998).

Malathiona maruziyeti metabolik bozukluklar (Lasram ve diğerleri, 2009), oksidatif stres (Alp ve diğerleri, 2011), immunotoksisite (Nain ve diğerleri, 2011), inflamasyon (Mostafalou ve diğerleri, 2012) ve hepatotoksisite (Kalender ve diğerleri, 2010) ile ilişkilendirilmektedir. Malathion tarafından meydana gelen karaciğerdeki patolojik lezyonlar hepatosteatozise sebep olmaktadır. Kronik karaciğer hastalığı patogeneğinde hepatik inflamasyonda rol oynar (Hotamisligil, 2006). Karaciğer inflamasyonu proinflamatuvar sitokinlerin salgılanmasına sebep olmaktadır. Böylece inflamasyon sinyallerinin artmasına ve sonrasında hepatosteatozise devam etmesine neden olmaktadır. Ayrıca, ROT ve oksidatif stresin artması karaciğer hasarı ile ilişkilendirilmektedir (Moore ve diğerleri, 2010). Malathion, malaokson ile metabolize olduğunda karaciğerde büyük oranda ROT'un artışına neden olmaktadır (Buratti ve diğerleri, 2005). Malathion'un sebep olduğu oksidatif stresin iki saat sonra saptandığı (Lasram ve diğerleri, 2008) ve bunun karaciğerde toksisiteye sebep olduğu belirtilmiştir. Epidemiyolojik, klinik ve deneysel kanıtlar antioksidanların hepatoprotektif etkisini belirtmektedir. Ayrıca bazı antioksidanlar hepatosteatozise esnasında inflamatuvar sürecin inhibisyonunu göstermektedir (Demirören ve diğerleri, 2013).

## **2.8. İnflamasyon ve Tümör nekrozis faktör alfa (TNF- $\alpha$ )**

Diazinon, fention ve Malathion gibi organofosfatların TNF- $\alpha$ , IL-6 (İnterlökin-6) gibi inflamatuvar sitokinleri artırdığı rat çalışmalarında gösterilmiştir (Hariri ve diğerleri, 2010; Ayub ve diğerleri, 2003). Aynı zamanda insan astrosit hücre kültürü ile yapılan çalışmada bir organofosfat olan klorprifosun, IL-6'nın mRNA sentezinin artırdığı belirtilmiştir. Subkronik ya da kronik düşük doz uygulamalarında Malathion'un makrofaj fonksiyonunu artırarak mast hücrelerinin degranülasyonuna neden olduğu gözlenmiştir (Rodgers ve Xiong, 1997a, 1997b). İnflamatuvar sitokinlerinin bu yükselişi nükleer faktör-kappa B (NF-KB) gibi redoks-duyarlı transkripsiyon faktörlerinin aktivesine katkı sağlamaktadır (Karami-Mohajeri ve Abdollahi, 2011). NF-KB karaciğer hücrelerinde hepatik insülin direncinin gelişimine neden olmaktadır (Arkan ve diğerleri, 2005; Cai ve diğerleri, 2005). Diğer bir deyişle NF-KB inflamatuvar sitokinler tarafından aktive olarak insülin direncini

tetiklemektedir (Mohseni-Salehi-Monfared ve diğ erleri, 2009). Bu Şekilde inflamatu ar sitokinler ile glukoz dengesini d zenlemek i in iliŐkilendirilmiŐtir (Kajbaf ve diğ erleri, 2007).

## **2.9. Organofosfatların karaciğ er enzimleri ve karaciğ er hasarı  zerindeki etkileri**

Alanin aminotransferaz (ALT) (EC 2.6.1.2) ve Aspartat aminotransferaz (AST) (EC 2.6.1.1) amino grubunun  $\alpha$ -ketoglutarat transferini katalizleyerek pir vat ve glutamat oluşumunu sağlar. Aminotransferazlar h cre i i enzimlerdir ve karaciğ erde h cre d zenlenmesinde h cre i eriğ i kana ge mez ve bu nedenle plazmada d Ő k d zeyde bulunur. Plazma aminotransferaz d zeyinin y kselmesi, karaciğ er dokularında h cre i eriğ inin kana ge tiğ i ve  ok sayıda karaciğ er h cre yıkımını g stermektedir (Ulukaya, 2007: 248-249). Laktat dehidrogenaz (LDH) oksidored ktazlar enzim sınıfa aittir (EC 1.1.1.27) ve pir vatın laktata  evrilmesini katalizlemektedir. Eɡersiz halinde enerji ihtiya ını karŐılamak i in anerobik solunum kasta  retilen ve kana salınan laktat, karaciğ er h crelerinde pir vata okside edilir. Pir vat ya glukoneogenez yoluyla glukozu d n Ő t r l r ya da TCA sikl sunda okside edilir (Ulukaya, 2007: 101).

Karaciğ er’de artan lipit peroksidasyonu sonucu hepatosit h crelerin membran permeabilitesi bozularak sitoplazma i eriğ i sel ler boŐluğ a ge mekte ve bu Şekilde karaciğ er enzimleri kana salınmaktadır (Bagchi ve diğ erleri, 1995).

Yapılan  alıŐmalarda, Malathion (Kalender ve arkadaşları, 2010; Aboul-Soud ve diğ erleri, 2011), dimethoate (Saafi ve arkadaşları, 2011) ve diazinon (Gokcimen ve diğ erleri, 2007) gibi organofosfatlara maruz kalan deney hayvanlarının oksidatif stres parametrelerinin artışı ile serum ALP, ALT, AST ve LDH aktivitesinin arttığ ı ve bu durumun sonucu olarak karaciğ er hasarı meydana geldiğ i belirtilmiştir.

Organofosfatlara uzun s re maruz kalan deney hayvanlarında karaciğ er doku hasarı hispatolojik g r nt lerle de elde edilmiştir. Organofosfatlara uzun s re maruz kalan ratların karaciğ erinde %80 oranında histopatolojik değ iŐim g zlenmiŐtir. Bu değ iŐiklik parlak subkapsuler infiltrasyon ve hepatositlerde diffuze olmuŐ parankimat z dejenerasyon varlığ ıyla ilgilidir. Hepatositlerin submikroskopik yapısında a ık renkte lipid vakuolleri ve h cre organellerini i eren sitoplazma kalıntıları belirtilirken mitokondri genellikle kabarık,

matriks boş ve krista tahrip edilmiş şekilde gözlenmiştir (Tos'Luty ve diğerleri, 2003). Aynı zamanda kronik Malathion uygulaması sonucunda karaciğer yapısında hasar belirtilmiştir. Çeşitli hücrelerde de nekrozun histolojik özellikleri gözlenmiştir. Ayrıca, Malathiona maruz kalan rat karaciğerinde hepatositlerde sinusoid genişleme ve vakuol oluşumu, lökositik inflamasyon, dilatasyon ve kan damarlarının iç kanama sonucu tıkanığı gözlenmiştir (Atef, 2010).



### 3. YÖNTEM

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

#### 3.1. Kullanılan Gereçler

##### 3.1.1 Deney hayvanları

Bu çalışmada ortalama ağırlığı 230,75 gr olan 24 adet dişi Wistar albino rat kullanılmıştır. Çalışma grubunu oluşturan tüm ratlar, Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi (GÜDAM) bünyesinde, normal musluk suyu ve standart fare yemi ile serbest olarak beslenmiştir.

##### 3.1.2. Kullanılan aletler ve cihazlar

- 1- Elisa Analizatör (Sunrise)
- 2- Elisa Yıkayıcı ( Tecan)
- 3- Spektrofotometre (Libra)
- 4- Otoanalizör (Roche Cobas model E411 marka ve Beckman Coulter marka AU2700 model)
- 5- Binoküler mikroskop (Olympus, Cx30)
- 6- Hassas terazi ( Radwag AS220C/2)
- 7- Vorteks (Asistant, Reamix2789)
- 8- Homojenizatör ( Schütt, Homgen plus)
- 9- Santrifüj cihazı (Thermo Scientific, Heraeus Megafuce 40R)
- 10- Otomatik pipetler (Transferpette, Isolab, Medispec-plus, Isotherm)

##### 3.1.3. Kullanılan kimyasal maddeler

Çalışmada kullanılan kimyasalların tamamı Sigma markadır.

Nötral tamponlanmış formalin, Sodyum karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), Sodyum hidroksit ( $\text{NaOH}$ ), Folin ciocalteu's fenol, Bakır (II) Sülfat ( $\text{CuSO}_4$ ), Sodyum Dodesil Sülfat (SDS), 1,1,3,3-

tetraetoksipropan (TEP), sülfürik asit  $H_2SO_4$ , Sodyum potasyum tartarat, Tiobarbitürik asit (TBA), Asetik asit ( $CH_3COOH$ ), n-butanol ( $C_4H_9OH$ ), piridin ( $C_6H_6$ ), sodyum klorür ( $NaCl$ ), Potasyum klorür ( $KCl$ ), di sodyum fosfat ( $Na_2HPO_4$ ), potasyum fosfat ( $KH_2PO_4$ ), Bakır klorür ( $CuCl_2$ ), Bovine serum albümin (BSA), Etilendiamin tetraasetik asit (EDTA), Ksantin oksidaz (XO) enzim çözeltisi, Kloroform ( $CHCl_3$ ), Etanol ( $C_2H_5OH$ ), Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), Fenil asetat, Kalsiyum klorür ( $CaCl_2$ ), Potasyum hidroksit ( $KOH$ ), Anhrone, Sülfürik asit ( $H_2SO_4$ ), Glukoz.

### 3.2. Seçilen Deney Hayvanları ve Grupların Oluşturulması

Hayvanlar her grupta 6 adet olacak şekilde 4 gruba ayrıldı.

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

Hayvanlar 1 günün sonunda ketamin-ksilazin anestezisi altında feda edildi ve karaciğer dokuları alındı. Karaciğer yatay ve dikey olarak kesilerek 4 parçaya ayrıldı. Dokulardan biri histopatolojik incelemeler için nötral tamponlanmış formalin içine konuldu. Bir diğer doku asetilkolinesteraz (AChE), kolinesteraz (ChE), ileri glikasyon son ürünleri (AGEs), tümör nekrozis faktör alfa ( $TNF-\alpha$ ), total oksidan durum (TOS), Malondialdehit (MDA), ileri protein oksidasyon ürünü (AOPP) düzeyi ve arilesteraz (PON1-ARE), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, Alanin aminotransferaz (ALT), Aspartat aminotransferaz (AST), Laktat dehidrojenaz (LDH) enzim aktivitesini ölçmek için homojenize edildi. Diğerleri ise karaciğer ortalama glikojen miktarını belirlemek için kullanıldı.

### 3.3. Karaciğer Doku Örneklerinin Homojenize Edilmesi

Karaciğer doku örnekleri derin dondurucudan çıkartıldı, 1/10 oranında (500 mg karaciğer dokusu + 4500 ml Tris-HCL) 50 mM pH=7,4 Tris-HCL tamponunda buz içerisinde homeojenize edildi. Süpernatantlar 3500 rpm'de 1 saat santrifüj edildi ve -80 °C soğutucuda muhafaza edildi.

### 3.4. Metotların Uygulanması

#### 3.4.1. Karaciğer Doku Süpernatant Lowry Yöntemi ile Protein Tayini

##### Kullanılan reaktifler:

A reaktifi: %2'lik  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  içinde 0,1 N'lik NaOH; distile su içinde hazırlandı.

B1 reaktifi: %2'lik Na-K tartarat; distile su içinde hazırlandı.

B2 reaktifi: %1'lik  $\text{CuSO}_4$ ; distile su içinde hazırlandı.

Folin ciocalteu's fenol

Standart: 1 mg/ml bovine serum albümin (BSA)

C solüsyonu: 0,5 ml B1 + 0,5 ml B2 + 16,5 ml A

Folin reaktifi: 1 hacim Folin ciocalteu's fenol + 1 hacim distile su

##### Deneyin yapılışı:

Çizelge 3.1. Karaciğer doku süpernatant Lowry Protein deneyi

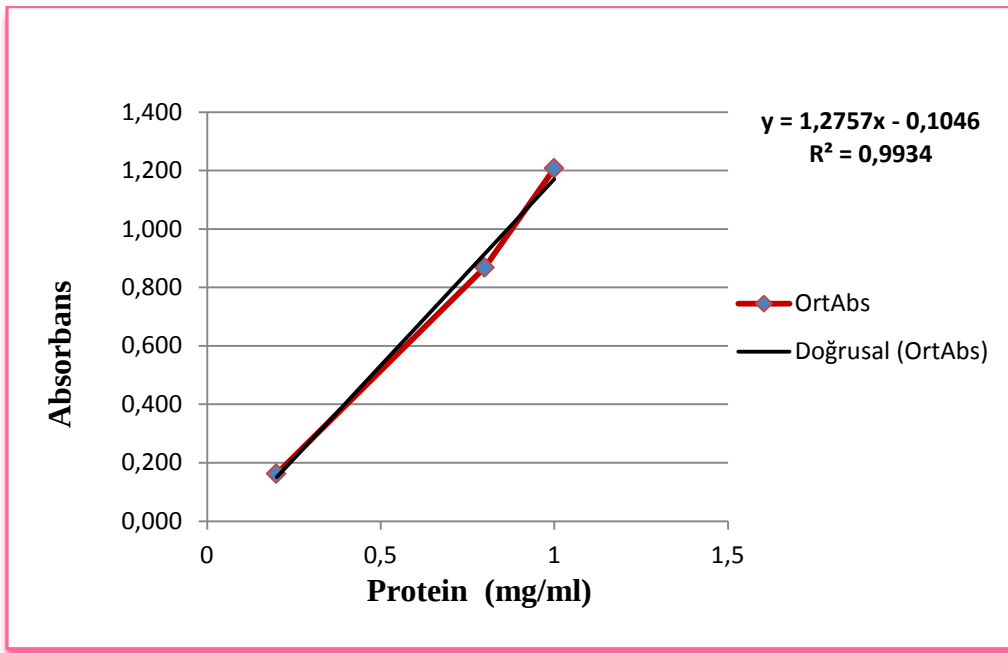
| Tüpler     | BSA              | Numune           | Distile Su        | C solüsyonu |
|------------|------------------|------------------|-------------------|-------------|
| Kör        | -                | -                | 100 $\mu\text{l}$ | 2 ml        |
| Standart-1 | 10 $\mu\text{l}$ | -                | 90 $\mu\text{l}$  | 2 ml        |
| Standart-2 | 20 $\mu\text{l}$ | -                | 80 $\mu\text{l}$  | 2 ml        |
| Standart-3 | 40 $\mu\text{l}$ | -                | 60 $\mu\text{l}$  | 2 ml        |
| Numune     | -                | 20 $\mu\text{l}$ | 80 $\mu\text{l}$  | 2 ml        |

Standartlar, kör ve numune tüplerine Çizelge 3.1.'de gösterildiği üzere eklendi. Deney tüpleri vortekslendikten sonra 15 dakika bekletildi. Daha sonra tüplere 200  $\mu\text{l}$  folin reaktifi

eklenerek tekrar vortekslendikten sonra 1 saat karanlıkta inkübe edildi. Tüpler 750 nm’de köre karşı okundu.

#### Hesaplama:

Doku protein standart absorbans ve protein miktarı ile Şekil 3.1.’de gösterildiği üzere standart eğri grafiği çizildi ve standart eğri denklemi hesaplandı. Denklemden numune konsantrasyonları “mg protein / ml” olarak hesaplandı (Lowry ve diğerleri, 1951).



Şekil 3.1. Karaciğer doku süpernatant protein standart grafiği

#### **3.4.2. Karaciğer Doku Süpernatant Malondialdehit (MDA) Analizi**

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

#### Kullanılan Reaktifler

- % 8,1 Sodyum Dodesil Sülfat (SDS); distile su içinde hazırlandı.
- % 0,8 Tiobarbitürik asit (TBA); distile su içinde hazırlandı.

- %20 Asetik asit ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ); distile su içinde hazırlandı (NaOH ile pH=3,5'a ayarlandı).
- 1,1,3,3-tetraetoksipropan (TEP)
- n-butanol / piridin (15:1 v/v)

#### Standartların hazırlanması

25µL TEP alınıp 100mL'ye tamamlanarak 1mM stok hazırlandı. Bu stoktan 1mL alınıp 50mL'ye %1'lik  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ile tamamlandı. 2 saat oda sıcaklığında bekletildi. 20 nmol/mL'lik standart1 hazırlanarak, bu standarttan seri dilüsyonlarla 10 ve 5 nmol/mL'lik standartlar hazırlandı.

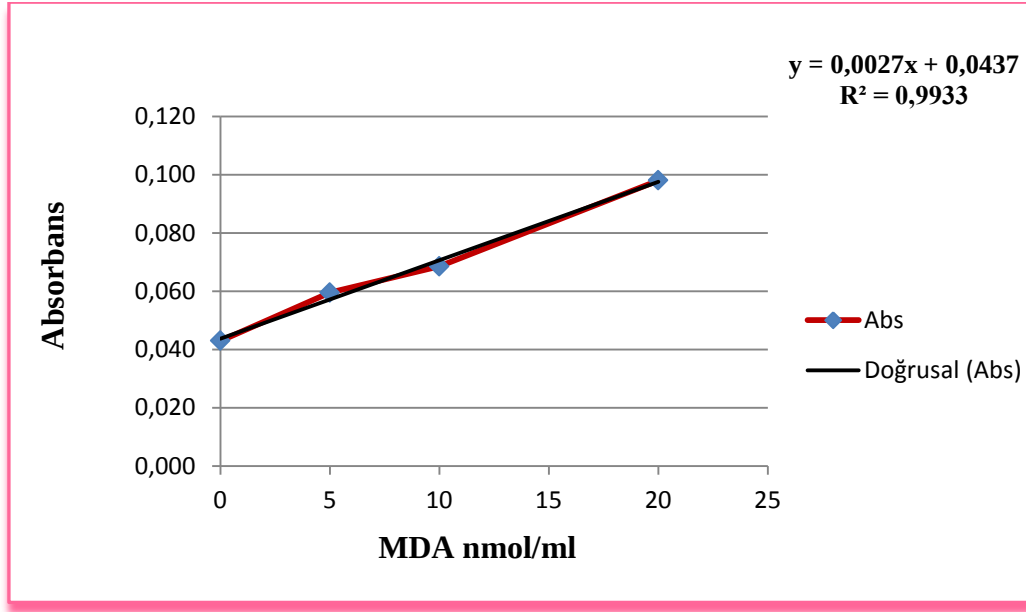
#### Deneyin yapılışı

Çizelge 3.2. Karaciğer doku süpernatant MDA deneyi

|                                  | Numune Tüpleri | Standart Tüpleri |
|----------------------------------|----------------|------------------|
| <b>Standartlar (5-20 nmol/L)</b> | -              | 50 µl            |
| <b>Distile su</b>                | 150 µl         | 150 µl           |
| <b>Doku süpernatanı</b>          | 50 µl          | -                |
| <b>SDS</b>                       | 50 µl          | 50 µl            |
| <b>TBA</b>                       | 375 µl         | 375 µl           |
| <b>Asetik asit</b>               | 375 µl         | 375 µl           |

Numune ve standart tüplere Çizelge 3.2.'de gösterildiği üzere solüsyonlar ve miktarları eklendi. Elde edilen karışım 1 saat, 95 °C su banyosunda kaynatıldı ve hemen soğutularak tüplere 250 µl distile su ve 1,25 ml n-butanol / piridin (15/1 v/v) karışımı eklendi. Daha sonra 400 rpm'de 10 dakika santrifüj edilip üst faz 532 nm'de n-butanole karşı okundu.

MDA standart olarak 1,3,3,3 tetrametoksi propan kullanılarak standart grafik elde edildi (Şekil 3.2.) ve örneklerin absorbans değerlerinin nmol/lit cinsinden karaciğer dokusu MDA düzeyi saptandı. Sonuçlar numune konsantrasyonu ile çarpılarak "nmol/g doku" olarak sonuçlar belirlendi.



Şekil 3.2. Karaciğer doku süpernatant MDA standart grafiği

### 3.4.3. Karaciğer Doku Süpernatant İleri Protein Oksidasyon Ürünü (AOPP) Analizi

Karaciğer doku süpernatant AOPP düzeyleri, AOPP'nin potasyum iyodür ile oluşturduğu renkli kompleksin 340 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümüne dayanarak belirlendi (Witko-Sarsat ve diğerleri, 1996).

#### Kullanılan reaktifler

- Fosfat Tamponlu Salin (PBS) (80 g NaCl, + 2 g KCl + 14,4 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> + 2,4 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>); pH=7,4'te 1 L distile su da çözüldü (800 ml'de HCl ile pH ayarladı, sonra 1000 ml'ye tamamlandı). 1 hacim PBS 10 hacim distile oranında çalışma solüsyonu hazırlandı.
- 1,16 M Potasyum iyodür (KI)
- Kloramin T (Cl T)
- Asetik asit

#### Standartların hazırlanması

- Standart 1: 100 µM için 11 mg Cl T (MA: 227,6 g/mol) tartıldı; 500 ml distile su içinde çözüldü (Stok olarak kullanıldı).
- Standart 2: 75 µM için 300 µl stok + 100 µl distile su karıştırıldı.
- Standart 3: 50 µM için 200 µl stok + 200 µl distile su karıştırıldı.

- Standart 4: 25 µM için 100 µl stok + 300 µl distile su karıştırıldı.
- Standart 5: 12,5 µM için 50 µl stok + 350 µl distile su karıştırıldı.
- Standart 6: 6,25 µM için 25 µl stok + 375 µl distile su karıştırıldı.

#### Numunelerin hazırlanması

- Süpernatant 1/20 dilüsyon oranıyla 10 µL süpernatant + 190 µL PBS çalışma solüsyonu ile karıştırıldı.

#### Deneyin yapılışı:

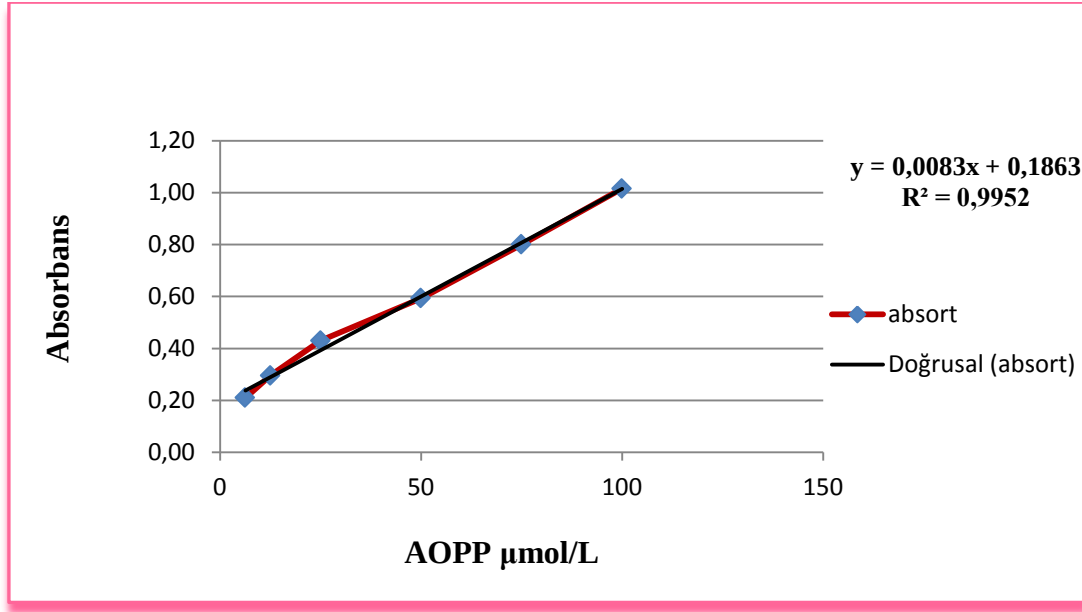
Çizelge 3.3. Karaciğer doku süpernatant AOPP deneyi

|                          | Standart | Kör    | Numune |
|--------------------------|----------|--------|--------|
| Standart (0-100 µl Cl T) | 200 µL   | -      | -      |
| PBS çalışma solüsyonu    | -        | 200 µL | 190 µL |
| Numune                   | -        | -      | 10 µL  |
| KI                       | 10 µL    | 10 µL  | 10 µL  |
| Asetik Asit              | 20 µL    | 20 µL  | 20 µL  |

Çizelge 3.3.'de gösterildiği gibi solüsyon ve miktarları eklendi. Daha sonra numuneler 340 nm'de okundu.

#### Hesaplama

Cl T standartlarıyla standart eğri grafiği çizildi (Şekil 3.3.). Numunelerden elde edilen eğriden denklemin formülü hesaplandı. Doku proteine bölünerek sonuçlar “mmol/mg protein” cinsinden hesaplandı.



Şekil 3.3. Karaciğer doku süpernatant AOPP standart eğri grafiği

#### 3.4.4. Karaciğer Doku Süpernatant Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi Analizi

Karaciğer doku süpernatant SOD aktivitesi ksantin ksantin oksidaz ile  $O_2^{\cdot-}$  oluşturması ve bunun Nitro Blue Tetrazolium Klorür (NBT) ile renkli bir bileşik oluşturarak renk şiddetinin spektrofotometrik ölçümüne dayanarak belirlendi (Sun ve diğerleri, 1988).

##### Kullanılan Reaktifler

Stok ksantin: 3 mmol/L

NBT: 150 µmol/L

$Na_2CO_3$ : 150 µmol/L

N, o- bis( trimetilsilil) asetamid (BSA): 1 mg/ml

$CuCl_2$ : 0.8 mmol/L

Etilendiamin tetraasetik asit (EDTA): 0.6 mmol/L

Ksantin oksidaz (XO) enzim çözeltisi: 25 Ü'lik enzim 1/100 (v/v) 2 M'lık amonyum sülfat çözeltisi ile dilüe edildi.

Kloroform/ etanol: 3/5 (v/v)

Reaktif karışımı: 80 ml 10 kat dilüe edilmiş stok ksantin çözeltisi + 40 ml EDTA + 40 ml NBT + 24 ml  $Na_2CO_3$  + 12 ml BSA karıştırılır.

### Deneyin yapılışı

Süpernatantlar, kloroform/etanol karışımı ile 1/1 (v/v) oranında karıştırıldı. 5000 x g'de +4 0C'de 30 dakika santrifüj edildi.

Çizelge 3.4. Karaciğer doku süpernatant SOD aktivitesi deneyi

|                                                                        | <b>Kör</b> | <b>Numune</b> |
|------------------------------------------------------------------------|------------|---------------|
| <b>Reaktif Karışımı</b>                                                | 2900 µl    | 2850 µl       |
| <b>Numune</b>                                                          | -          | 100 µl        |
| <b>Distile su</b>                                                      | 50 µl      | -             |
| <b>XO çözeltisi</b>                                                    | 50 µl      | 50 µl         |
| Numune vortekslenildi 20 dakika oda ısısında inkübasyon edildi. Sonra; |            |               |
| <b>CuCl<sub>2</sub></b>                                                | 1000 µl    | 1000 µl       |

Çizelge 3.4.'de gösterildiği gibi kör ve numune tüplerine solüsyonlar ve miktarları eklendi. Sonra tüplere 0,8 mM CuCl<sub>2</sub>'den eklenip ve 560 nm dalga boyunda spektrofotometrik absorbans değeri distile suya karşı okundu.

### Hesaplama

$$\% \text{ inhibisyon} = \frac{(\text{Kör abs} - \text{Numune abs})}{\text{Kör abs}} \times 100$$

Metodun prensibine göre, % 50 inhibisyon 1 Ünite (Ü) aktiviteye karşılık gelir. SOD enzim tayini sonucu elde edilen sonuçlar protein miktarına bölünerek "Ü / mg protein" olarak hesaplandı.

### **3.4.5. Karaciğer Doku Süpernatant Katalaz Aktivitesi Analizi**

Karaciğer doku süpernatant katalaz aktivitesi 240 nm dalga boyunda hidrojen peroksidin katalaz tarafından parçalanmasına bağlı olarak değişen absorbans miktarının spektrofotometrik ölçümüne dayanarak belirlendi (Aebi, 1974).

### Kullanılan reaktifler

- Fosfat Tamponu: 50 mM pH = 7'de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  /  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  hazırlandı.
- Tamponlanmış  $\text{H}_2\text{O}_2$  çözeltisi: 50 mM pH = 7 fosfat tamponun içine çözelti absorbansı 0,5 olacak şekilde % 30'luk  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'den katılarak hazırlandı.

### Deneyin yapılışı

Çizelge 3.5. Karaciğer doku süpernatant katalaz aktivitesi deneyi

| Reaktifler                                    | Numune             |
|-----------------------------------------------|--------------------|
| Tamponlanmış $\text{H}_2\text{O}_2$ çözeltisi | 2990 $\mu\text{l}$ |
| Numune                                        | 10 $\mu\text{l}$   |

Kör olarak, içinde  $\text{H}_2\text{O}_2$  olmayan fosfat tamponu kullanıldı. Numune tüpüne tamponlanmış  $\text{H}_2\text{O}_2$  çözeltisi konup üzerine numune eklenildi (Çizelge 3.5.) ve hızla 240 nm'de 1 dakika arayla 2 dakika absorbans değişimi kaydedildi.

### Hesaplama

$$\Delta \text{ absorbans} = \frac{(\text{0.dakika absorbans} - \text{2.dakika absorbans})}{2}$$

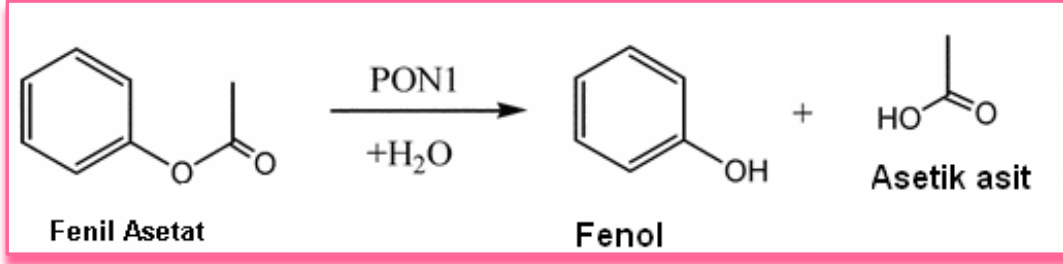
$$\text{H}_2\text{O}_2 \text{ için molar absorbsiyon katsayısı } \epsilon = 0,043 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$

$$\text{Katalaz aktivitesi} = \frac{\Delta \text{ absorbans} \times (\text{Toplam Reaksiyon Hacmi})}{\text{Numune Hacmi} \times \epsilon (\text{H}_2\text{O}_2) \times 1000}$$

Sonuçlar  $\text{Ü} / \text{ml}$  olarak kaydedildi ve doku protein miktarına bölünerek  $\text{Ü} / \text{mg}$  protein olarak sonuçlar hesaplandı.

### 3.4.6. Karaciğer Doku Süpernatant PON1-ARE

Karaciğer doku süpernatant PON1-ARE; 1 ünite PON1 fenil asetatı 1  $\mu\text{mol}$ 'nü her dakikada hidrolize etmesiyle değişen absorbans değerinin spektrofotometrik ölçümüne dayanarak belirlendi (Şekil 3.4.) (Beltowski ve diğerleri, 2005) (Karageçili, 2012).



Şekil 3.4. PON1-ARE yöntemi için kullanılan reaksiyon

#### Kullanılan reaktifler

- 2 mM fenil asetat
- 2 mM CaCl<sub>2</sub>
- 100 mM Tris-HCl (pH = 8)

#### Deneyin Yapılışı

3 ml karışım içerisinde 2 mM fenil asetat, 2 mM CaCl<sub>2</sub> ve 10  $\mu\text{l}$  homejanat 100 mM Tris-HCL (pH = 8) tamponu içerisinde eklendi. Toplam 3 dakika olmak üzere başlangıçtan her 1 dakikalık aralıklarla 270 nm dalga boyunda spektrofotometrik absorbans değerinin değişimi kaydedildi.

#### Hesaplama

- $\Delta A$  (Delta Absorbans) = 3. dakika absorbans değerinden ilk okunan absorbans değeri çıkarıldı ve sonuç 3'e bölündü.
- Sonuçlar  $E_{270} = 1310 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  katsayı ile çarpıldı. Sonuçlar (mol/litre)/dakika olarak belirlendi.
- Çıkan sonucu  $10^6$  ile çarpıldı ve ( $\mu\text{mol/litre}$ )/dakika olarak belirlendi.
- Ardından mililitre çevirmek için  $10^3$  ile bölündü ve sonuç ( $\mu\text{mol/mililitre}$ )/dakika belirlendi.

- Çıkan sonuç seyreltme oranıyla (300X) çarpılarak sonuç  $\bar{U}$  / ml enzim birimine çevrildi.
- Elde edilen sonuçlar doku protein miktarına bölünerek “ $\bar{U}$  / mg protein” olarak hesaplandı.

### 3.4.7. Karaciğer Doku Glikojen Miktarı

Glikojen miktarı ham karaciğer dokusunun KOH parçalanması sonucu oluşan glukozun kuvvetli asidik ortamda anthrone çözeltisi glukozla reaksiyona girmesi ve oluşan renkli bileşiğin spektrometrik ölçümü esasına dayanmaktadır (Seifter ve diğerleri, 1950).

#### Kullanılan reaktifler

- Potasyum hidroksit (KOH)
- % 0,2'lik Anthrone çözeltisi
- Sülfürik asit ( $H_2SO_4$ )
- Glukoz

#### Deney yapılışı

1,5 ml %30'luk KOH çözeltisi içine 500 mg ham karaciğer dokusu konuldu ve  $95^{\circ}C$ 'de 45 dakika kaynatıldı. Tüpler her 10 dakika da bir karıştırıldı ve buharlaşmanın engellenmesi için tüplerin üzeri kapatıldı. Tüpler oda sıcaklığında soğutulduktan sonra 1:100000 dilüsyon oranında glikoz/distile su standartı ve numune/distile su hazırlandı. 1 ml dilüsyon ve 2 ml  $H_2SO_4$  içinde % 0,2'lik anthrone çözeltisi karıştırıldı. Solüsyonlar 620 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümüne dayanarak absorbans değerleri belirlendi.

#### Hesaplama

Hesaplama “1,11” değeri glukozun glikojene çevrimi katsayı faktörü olarak kullanıldı.

$$\text{Glikojen miktarı (mg)} = \frac{100 \times \text{Serum Abs.}}{1,11 \times \text{Glikoz standart Abs.}}$$

Çıkan sonuçlar 5'e bölünerek glikojen miktarı “mg / 100 mg” olarak hesaplandı.

### 3.4.8. Karaciğer Doku Süpernatant TOS Analizi

Karaciğer doku TOS düzeyi Rel Assay Diagnostics Kit (Katalog No: RL0024 ) ile ölçüldü. Bu kit, doku homojenatlarında var olan oksidanların ferröz ( $\text{Fe}^{+2}$ ) iyonları ferrik ( $\text{Fe}^{+3}$ ) iyona dönüştürmesi sonucu  $\text{Fe}^{+2}$ 'nin asidik ortamda kromojen ile renkli bir bileşik oluşturması sonucunda spektrofotometrik olarak ölçüm esasına dayanmaktadır. Assay,  $\text{H}_2\text{O}_2$  ile kalibre edilmektedir ve sonuçlar litre başına mikromolar hidrojen peroksit eşdeğeri cinsinden ifade edilmiştir ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./L}$ ).

#### Kit içeriği

Kit içeriği Çizelge 3.5.' de gösterilmiştir.

Çizelge 3.5. TOS Rel assay diagnostics kit içeriği

| İçerik                                                 |                         | Konsantrasyon                                     |
|--------------------------------------------------------|-------------------------|---------------------------------------------------|
| Reaktif 1 ( Tampon çözeltisi $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) |                         | 25 mM, pH = 1.75                                  |
| Reaktif 2<br>(Substrat çözeltisi)                      | $\text{H}_2\text{SO}_4$ | 25 mM, pH = 1.75                                  |
|                                                        | Ferröz iyon             | 5 mM                                              |
|                                                        | O-dianisidine           | 10 mM                                             |
| SSS ( Stabilize Standart Solüsyonu)                    |                         | 20 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./L}$ |

### Deneyin Yapılışı

Çizelge 3.6. Karaciğer doku süpernatant TOS deneyi

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

Çizelge 3.6.'daki reaktif 2 numune ve standart tüplere eklendikten 5 dakika sonra 530 nm dalga boyunda ikinci absorbens değeri okundu (A2).

### Hesaplama

Standart Konsanstrasyonu (SK) = 20 µmol / L

$$\text{Karaciğer doku TOS Sonuç (µmol / L)} = \frac{\text{Numune absorbens farkı ( A2 – A1)}}{\text{Standart absorbens farkı ( A2 – A1)}} \times \text{SK}$$

### **3.4.9. Karaciğer Doku Süpernatant Asetilkolinesteraz (AChE) Aktivitesi Analizi**

Karaciğer doku süpernatant AChE aktivitesi Shanghai YH Biosearch marka (Katalog No: YHB0033Ra) elisa kit ile çalışıldı. Bu kit, AChE monoklonal antikor yaptığı kompleksin biyotin ile işaretlenmesi yıkama ve inkübasyon sonrası substratlarla rengin maviye sonrasında yeşil renge değişiminin spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanmaktadır.

### Kit içeriği

- ELISA plate
- Standard solution (160U/L)

- Streptomycin-HRP
- Streptavidin-HRP
- Stop solüsyonu
- Kromojenik reaktif A
- Kromojenik reaktif B
- Anti AChE antikor (biyotinle işaretlenmiş)
- Standard dilüsyon
- Yıkama solüsyonu

#### Standartların hazırlanışı

Çizelge 3.7. AChE kit standartlarının hazırlanışı

|            |        |                                            |
|------------|--------|--------------------------------------------|
| Standart 5 | 80 U/L | 120µl Standart + 120µl Standart dilüsyon   |
| Standart 4 | 40 U/L | 120µl Standart 5 + 120µl Standart dilüsyon |
| Standart 3 | 20 U/L | 120µl Standart 4 + 120µl Standart dilüsyon |
| Standard 2 | 10 U/L | 120µl Standart 3 + 120µl Standart dilüsyon |
| Standard 1 | 5 U/L  | 120µl Standart 2 + 120µl Standart dilüsyon |

Çizelge 3.7’de gösterildiği gibi seri dilüsyonlarla standartlar hazırlandı.

#### Yıkama solüsyonu hazırlanışı

Yıkama solüsyonu distile su ile (30X) seyreltildi.

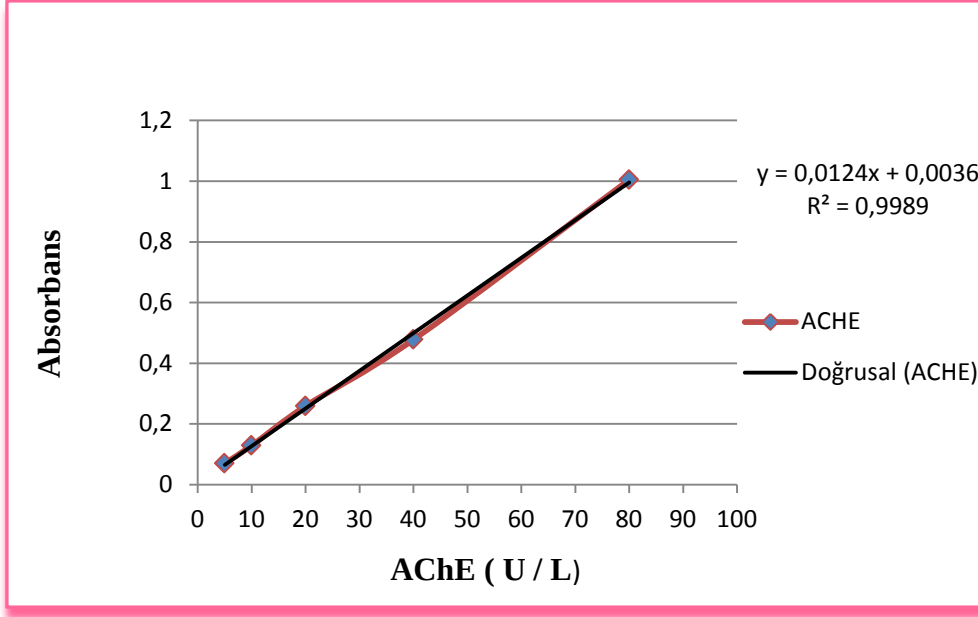
### Deneyin yapılışı

Çizelge 3.8. Karaciğer doku süpernatant AChE aktivitesi analizi

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

### Hesaplama

Çizelge 3.8’deki gibi solüsyonlar kuyucuklara eklendikten 10 dakika içinde 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümüne dayanarak belirlendi. Blank’te okunan absorbands değeri standart ve numunelerde okunan absorbands değerinden çıkarıldı. Şekil 3.5.’de gösterildiği gibi standart eğri grafiği ve denklemi hesaplandı. Bu denklemden numunelerin konsantrasyonu “Ü/L” olarak belirlendi. Sonuçlar “Ü/ml” çevrilerek, elde edilen sonuçlar doku protein miktarına bölünerek “Ü / mg protein” olarak hesaplandı.



Şekil 3.5. Karaciğer süpernatant AChE aktivitesi standart eğri grafiği

#### 3.4.10. Karaciğer Doku Süpernatant AGEs Analizi

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

##### Kit içeriği

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

### Standartların hazırlanışı

Çizelge 3.9. AGEs kit standartlarının hazırlanışı

|                   |          |                                            |
|-------------------|----------|--------------------------------------------|
| <b>Standart 5</b> | 48 ng/ml | 120µl Standart + 120µl Standart dilüsyon   |
| <b>Standart 4</b> | 24 ng/ml | 120µl Standart 5 + 120µl Standart dilüsyon |
| <b>Standart 3</b> | 12 ng/ml | 120µl Standart 4 + 120µl Standart dilüsyon |
| <b>Standart 2</b> | 6 ng/ml  | 120µl Standart 3 + 120µl Standart dilüsyon |
| <b>Standart 1</b> | 3 ng/ml  | 120µl Standart 2 + 120µl Standart dilüsyon |

Çizelge 3.9.'da gösterildiği gibi seri dilüsyonlarla standartlar hazırlandı.

### Yıkama solüsyonu hazırlanışı

Yıkama solüsyonu distile su ile (30X) seyreltilti.

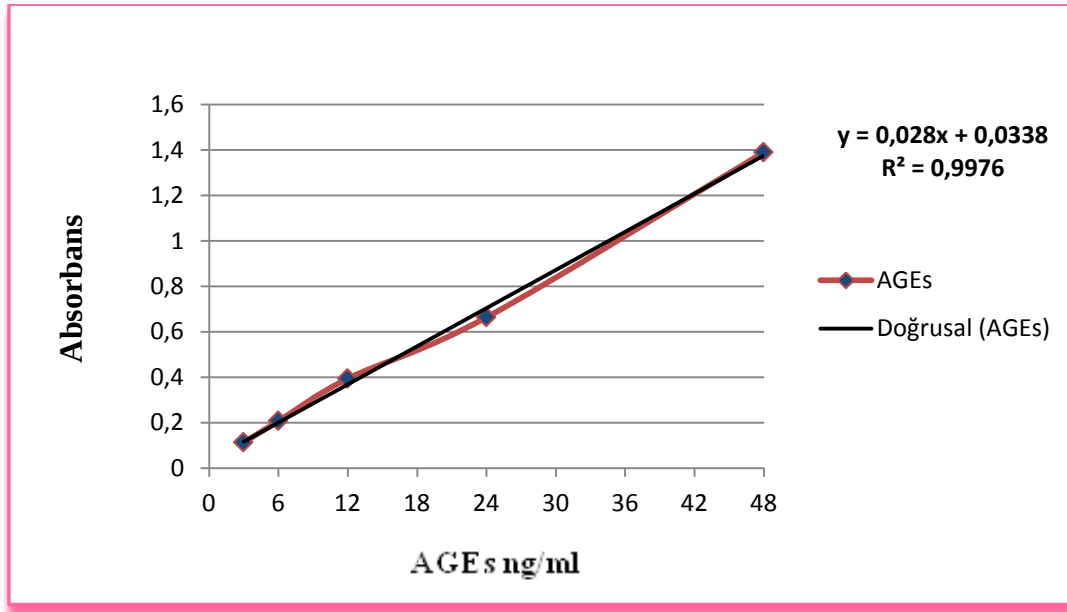
### Deneyin yapılışı

Çizelge 3.10. Karaciğer doku süpernatant AGEs analizi

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

### Hesaplama

Çizelge 3.10.'daki gibi solüsyonlar kuyucuklara eklendikten 10 dakika içinde 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümüne dayanarak belirlendi. Blank'te okunan absorbans değeri standart ve numunelerde okunan absorbans değerinden çıkarıldı. Şekil 3.6.'da gösterildiği gibi standart eğri grafiği ve denklemi hesaplandı ve bu denklemden numunelerin konsantrasyonu “ng/ml” olarak belirlendi.



Şekil 3.6. Karaciğer doku süpernatant AGEs standart eğri grafiği

#### **3.4.11. Karaciğer Doku Süpernatant TNF- $\alpha$ Analizi**

Karaciğer doku süpernatant TNF- $\alpha$  düzeyi Shanghai YH Biosearch marka (Katalog No: YHB1098Ra) elisa kit ile çalışıldı. Bu kit, TNF- $\alpha$  monoklonal antikor yaptığı kompleksin biyotin ile işaretlenmesi yıkama ve inkübasyon sonrası substratlarla rengin maviye sonrasında yeşil renge değişiminin spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanmaktadır.

#### Kit içeriği

- ELISA plate
- Standard solution (1280ng/L)
- Streptomycin-HRP

- Streptavidin-HRP
- Stop solüsyonu
- Kromojenik reaktif A
- Kromojenik reaktif B
- Anti TNF- $\alpha$  antikor (biyotinle işaretlenmiş)
- Standard dilüsyon
- Yıkama solüsyonu

#### Standartların hazırlanışı

Çizelge 3.11. TNF- $\alpha$  kit standartlarının hazırlanışı

|                   |          |                                                        |
|-------------------|----------|--------------------------------------------------------|
| <b>Standart 5</b> | 640 ng/L | 120 $\mu$ l Standart + 120 $\mu$ l Standart dilüsyon   |
| <b>Standart 4</b> | 320 ng/L | 120 $\mu$ l Standart 5 + 120 $\mu$ l Standart dilüsyon |
| <b>Standart 3</b> | 160 ng/L | 120 $\mu$ l Standart 4 + 120 $\mu$ l Standart dilüsyon |
| <b>Standard 2</b> | 80 ng/L  | 120 $\mu$ l Standart 3 + 120 $\mu$ l Standart dilüsyon |
| <b>Standard 1</b> | 40 ng/L  | 120 $\mu$ l Standart 2 + 120 $\mu$ l Standart dilüsyon |

Çizelge 3.11.'de gösterildiği gibi seri dilüsyonlarla standartlar hazırlandı.

#### Yıkama solüsyonu hazırlanışı

Yıkama solüsyonu distile su ile (30X) seyreltildi.

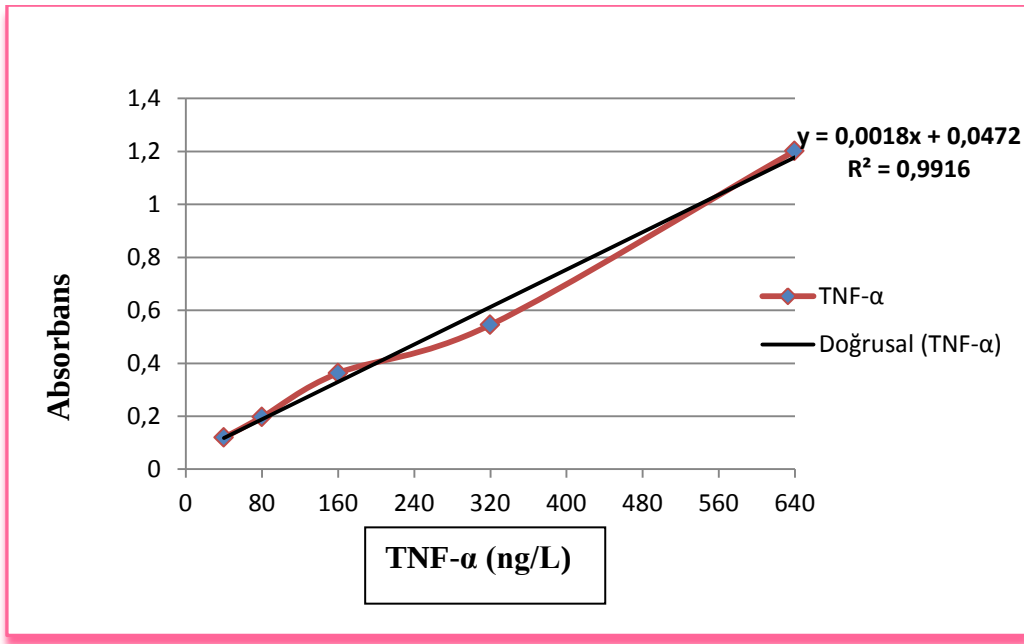
## Deneyin Yapılışı

Çizelge 3.12. Karaciğer doku TNF- $\alpha$  analizi

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

## Hesaplama

Çizelge 3.12.’deki gibi solüsyonlar kuyucuklara eklendikten 10 dakika içinde 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümüne dayanarak belirlendi. Blank’te okunan absorbans değeri standart ve numunelerde okunan absorbans değerinden çıkarıldı. Şekil 3.7.’de gösterildiği gibi standart eğri grafiği ve denklemi hesaplandı ve bu denklemden numunelerin konsantrasyonu “ng / L” olarak belirlendi.

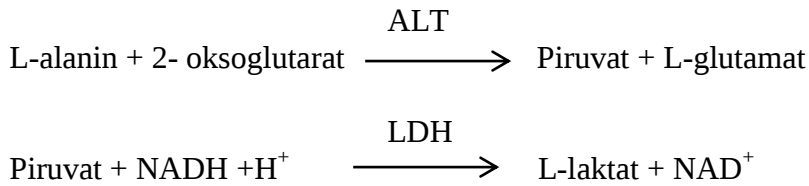


Şekil 3.7. Karaciğer doku süpernatant TNF- $\alpha$  standart eğri grafiği

#### 3.4.12. Karaciğer Doku Süpernatant ALT, AST, LDH Aktivitesi Analizi

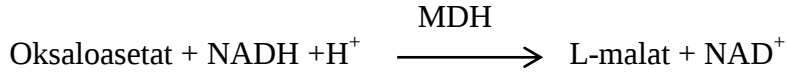
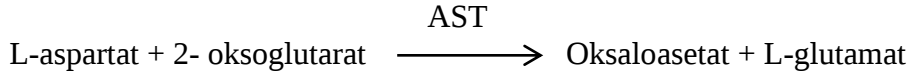
Karaciğer doku süpernatant ALT, AST, LDH aktivitesi Roche Diagnostics marka Cobas E411 model otoanalizör ile 1/50 dilüsyon oranıyla çalışıldı.

Numunedeki ALT, L-alanin ile 2-oksoglutarat arasındaki reaksiyonu katalize etmektedir. Reaksiyon sonucu oluşan piruvat, LDH'nin katalizlediği reaksiyonda NADH tarafından indirgenerek L-laktat ve  $\text{NAD}^+$ 'ı oluşturmaktadır (Bergmeyer ve diğerleri, 1986a).



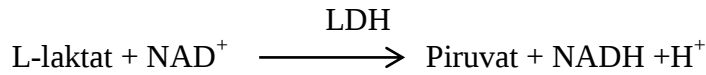
NADH oksidasyonunun hızı, katalitik ALT aktivitesiyle doğru orantılıdır ve cihaz, absorbanstaki azalmanın ölçülmesiyle ALT aktivitesini belirlemektedir.

Numunedeki AST, L-aspartat ve 2-oksoglutarat arasında bir amino grubun taşınarak oksaloasetat ve L-glutamat oluşumunu katalize etmektedir. Ardından oksaloasetat, malat dehidrojenazın (MDH) varlığında NADH ile reaksiyona girerek  $\text{NAD}^+$ 'ı oluşturmaktadır (Bergmeyer ve diğerleri, 1986b).



NADH oksidasyonunun hızı, katalitik AST aktivitesiyle doğru orantılıdır ve cihaz, absorbanstaki azalmanın ölçülmesiyle AST aktivitesini belirlemektedir.

Numunedeki LDH L-laktatın piruvata dönüşümünü katalizlemektedir (van der Heiden ve diğerleri, 1994).



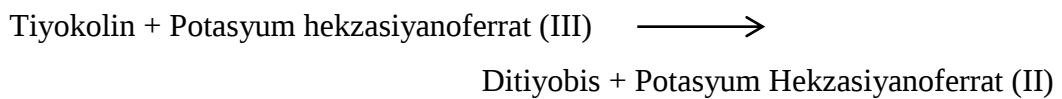
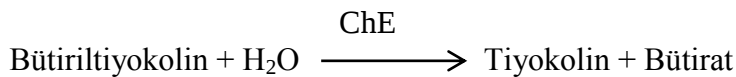
NADH oluşumunun başlangıç hızı katalitik LDH aktivitesiyle doğru orantılıdır ve cihaz, absorbanstaki artışın fotometrik olarak LDH aktivitesini ölçmektedir.

Tüm sonuçlar “Ü/L” olarak belirlendi. Çıkan sonuçlar “Ü/ml” çevrildikten sonra doku protein miktarına bölünerek sonuçlar “Ü/mg protein” olarak hesaplandı.

### 3.4.13. Karaciğer Doku Süpernatant Kolinesteraz Aktivitesi Analizi

Karaciğer doku süpernatant ChE aktivitesi Roche Diagnostics marka Cobas E411 model otoanalizör ile çalışıldı.

Cihaz, Schmidt ve diğerleri (1990) tarafından yayınlanan yöntem prensibiyle çalışmaktadır. Bu yönteme göre;



ChE, bütiriltiyokolini tiyokolin ve bütirat hidrolizini katalizler. Tiyokolin, sarı renkteki (III) hekzasiyanoferrata renksiz hekzasiyanoferrata (II) indirger. Renkteki bu azalma fotometrik olarak ölçülmektedir.

Sonuçlar “Ü/L” olarak belirlendi. Çıkan sonuçlar “Ü/ml” çevrildikten sonra doku protein miktarına bölünerek sonuçlar “Ü/mg protein” olarak hesaplandı.

#### **3.4.14. Karaciğer Dokusu Histopatolojik İncelemeler**

Her karaciğer dokuları %10'luk tamponlanmış formalin içinde fikse edilerek çalışma zamanına kadar bekletildi. Histopatolojik inceleme yapılacağı zaman her doku 4 µm kalınlığında kesildikten sonra hematoxilen ve eozin ile boyandı, Olympus marka Cx30 model binoküler ışık mikroskop ile histopatolojik incelemeler yapıldı ve doku hasarını gösteren fotoğraflar çekildi (Al-Attar, 2010).

#### **3.5. Verilerin Analizi**

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

#### 4. BULGULAR

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

Grup 1: Kontrol grubu

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

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

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

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

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

| GRUP                   | Grup 1 (n=6)                                    | Grup 2 (n=6)                                   | Grup 3 (n=6)                                   | Grup 4 (n=6)                                   |
|------------------------|-------------------------------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------|
|                        | Ort. $\pm$ Sta.H                                | Ort. $\pm$ Sta.H                               | Ort. $\pm$ Sta.H                               | Ort. $\pm$ Sta.H                               |
| MDA (nmol/g doku)      | 252,5 $\pm$ 56,55                               | 303,33 $\pm$ 139,34                            | 314,17 $\pm$ 92,33                             | 255 $\pm$ 80,99                                |
| AOPP (mmol/mg pro.)    | 85,73 $\pm$ 25,55                               | 75,53 $\pm$ 16,37                              | 120,98 $\pm$ 40,72                             | 133,27 $\pm$ 42,51                             |
| Katalaz (Ü/mg protein) | 1,65 $\pm$ 0,29                                 | 2,08 $\pm$ 0,47                                | 2,59 $\pm$ 0,58                                | 2,67 $\pm$ 0,44                                |
| SOD (Ü/mg protein)     | 0,96 $\pm$ 0,29                                 | 0,92 $\pm$ 0,21                                | 1,18 $\pm$ 0,28                                | 1,33 $\pm$ 0,35                                |
| AGEs (ng / ml)         | 21,23 $\pm$ 4,64                                | 24,54 $\pm$ 1,13                               | 23,16 $\pm$ 2,77                               | 20,63 $\pm$ 3,10                               |
| TNF- $\alpha$ (ng / L) | 277,76 $\pm$ 60,80                              | 333,69 $\pm$ 32,16                             | 353,78 $\pm$ 50,62                             | 406,19 $\pm$ 85,74                             |
| PON1 (Ü/mg protein)    | 60,40 $\pm$ 12,26                               | 47,41 $\pm$ 10,18                              | 40,26 $\pm$ 5,14                               | 36,88 $\pm$ 8,25                               |
| TOS ( $\mu$ mol / L)   | 84,80 $\pm$ 8,98                                | 79,13 $\pm$ 10,52                              | 97,61 $\pm$ 7,78                               | 117,97 $\pm$ 17,20                             |
| Glikojen (mg / 100 mg) | 4,25 $\pm$ 0,39                                 | 6,17 $\pm$ 1,45                                | 7,04 $\pm$ 0,77                                | 5,71 $\pm$ 1,02                                |
| AChE (Ü/mg protein)    | 48*10 <sup>-3</sup> $\pm$ 20*10 <sup>-3</sup>   | 67*10 <sup>-3</sup> $\pm$ 27*10 <sup>-3</sup>  | 61*10 <sup>-3</sup> $\pm$ 21*10 <sup>-3</sup>  | 68*10 <sup>-3</sup> $\pm$ 22*10 <sup>-3</sup>  |
| ChE (Ü/mg protein)     | 382*10 <sup>-3</sup> $\pm$ 111*10 <sup>-3</sup> | 179*10 <sup>-3</sup> $\pm$ 33*10 <sup>-3</sup> | 219*10 <sup>-3</sup> $\pm$ 52*10 <sup>-3</sup> | 189*10 <sup>-3</sup> $\pm$ 38*10 <sup>-3</sup> |
| ALT (Ü/mg protein)     | 9,19 $\pm$ 2,39                                 | 9,37 $\pm$ 2,30                                | 15,16 $\pm$ 2,44                               | 15,035 $\pm$ 3,81                              |
| AST (Ü/mg protein)     | 15,82 $\pm$ 2,94                                | 14,96 $\pm$ 2,47                               | 24,39 $\pm$ 6,99                               | 24,54 $\pm$ 7,12                               |
| LDH (Ü/mg protein)     | 26,66 $\pm$ 4,68                                | 23,94 $\pm$ 7,56                               | 41,52 $\pm$ 10,81                              | 41,69 $\pm$ 9,29                               |

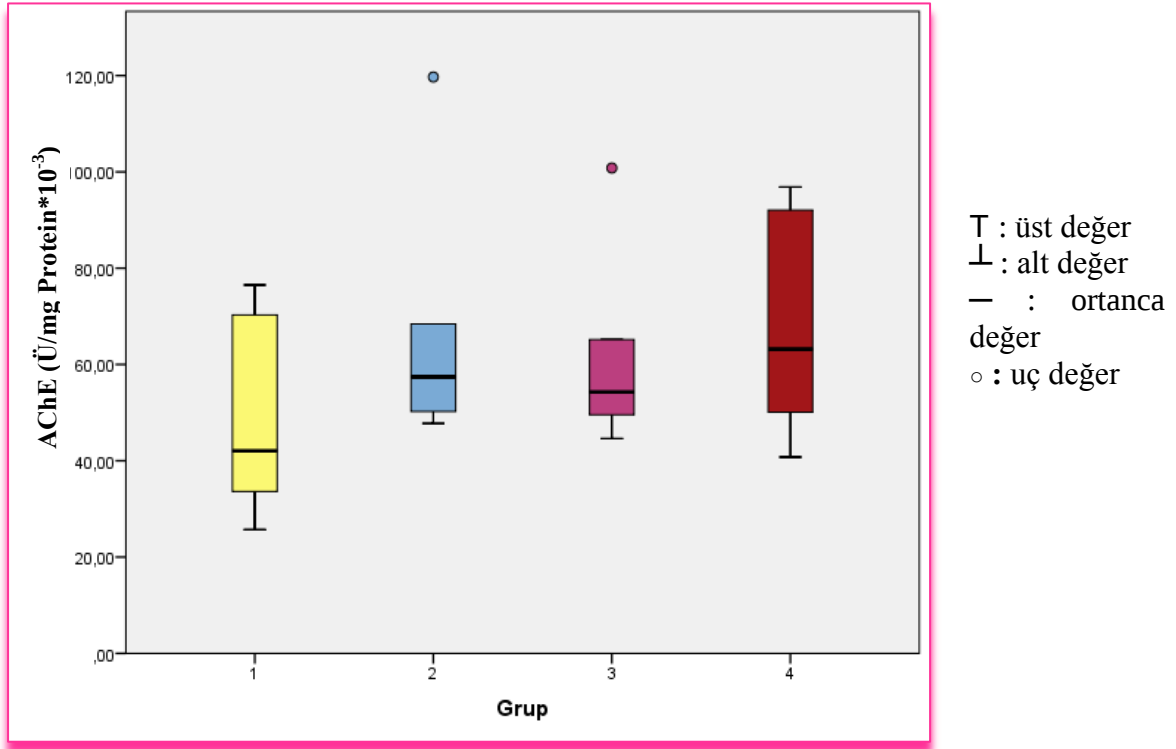
#### 4.1. Kontrol ve Doz Gruplarının Karaciğer AChE Aktivitesi ve İstatistik Bulgular

Kontrol ve doz grupları her biri kendi aralarında karşılaştırıldığında karaciğer AChE aktivitesi gruplar arasında anlamlı fark bulunamamıştır ( $p = 0,384$ ;  $p > 0.05$ ).

Tüm grupların karaciğer AChE aktivitesi için ortalama  $\pm$  standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek seviyeleri Çizelge 4.2.'de ve Şekil 4.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. Kontrol ve doz gruplarının AChE aktivitesi için ortalama  $\pm$  standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek değerleri

| Gruplar      | Ort. $\pm$ Sta.H<br>AChE<br>( $\ddot{U}$ /mg prot.) | Ortanca Değ.<br>AChE<br>( $\ddot{U}$ /mg prot.) | En Düşük Değ.<br>AChE<br>( $\ddot{U}$ /mg prot.) | En Yüksek Değ.<br>AChE<br>( $\ddot{U}$ /mg prot.) |
|--------------|-----------------------------------------------------|-------------------------------------------------|--------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| Grup 1 (n=6) | $48 \cdot 10^{-3} \pm 20 \cdot 10^{-3}$             | $42 \cdot 10^{-3}$                              | $26 \cdot 10^{-3}$                               | $77 \cdot 10^{-3}$                                |
| Grup 2 (n=6) | $67 \cdot 10^{-3} \pm 27 \cdot 10^{-3}$             | $57 \cdot 10^{-3}$                              | $48 \cdot 10^{-3}$                               | $120 \cdot 10^{-3}$                               |
| Grup 3 (n=6) | $61 \cdot 10^{-3} \pm 21 \cdot 10^{-3}$             | $54 \cdot 10^{-3}$                              | $45 \cdot 10^{-3}$                               | $101 \cdot 10^{-3}$                               |
| Grup 4 (n=6) | $68 \cdot 10^{-3} \pm 22 \cdot 10^{-3}$             | $63 \cdot 10^{-3}$                              | $40 \cdot 10^{-3}$                               | $97 \cdot 10^{-3}$                                |



Şekil 4.1. Karaciğer AChE aktivitesi

#### 4.2. Kontrol ve Doz Gruplarının Karaciğer ChE Aktivitesi ve İstatistik Bulgular

Kontrol ve doz grupları her biri kendi aralarında karşılaştırıldığında karaciğer ChE aktivitesi gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ( $p=0,003$ ;  $p<0.05$ ).

Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'ün, Grup 1'e göre karaciğer ChE aktivitesinin anlamlı olarak azaldığı bulunmuştur (sırasıyla  $p=0,002$ ,  $p=0,002$ ,  $p=0,002$ ;  $p<0.013$ ).

Karaciğer ChE aktivitesinin yüzdelik inhibisyon değerleri ise;

- ✓ Grup 2'de ChE aktivitesinin Grup 1 göre %53 inhibisyon,
- ✓ Grup 3'de ChE aktivitesinin Grup 1 göre %43 inhibisyon,
- ✓ Grup 4'te ChE aktivitesinin Grup 1 göre %51 inhibisyon,

olduğu gözlenmiştir.

Tüm grupların karaciğer AChE aktivitesi için ortalama  $\pm$  standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek seviyeleri Çizelge 4.3.'de ve Şekil 4.2.'de gösterilmiştir.

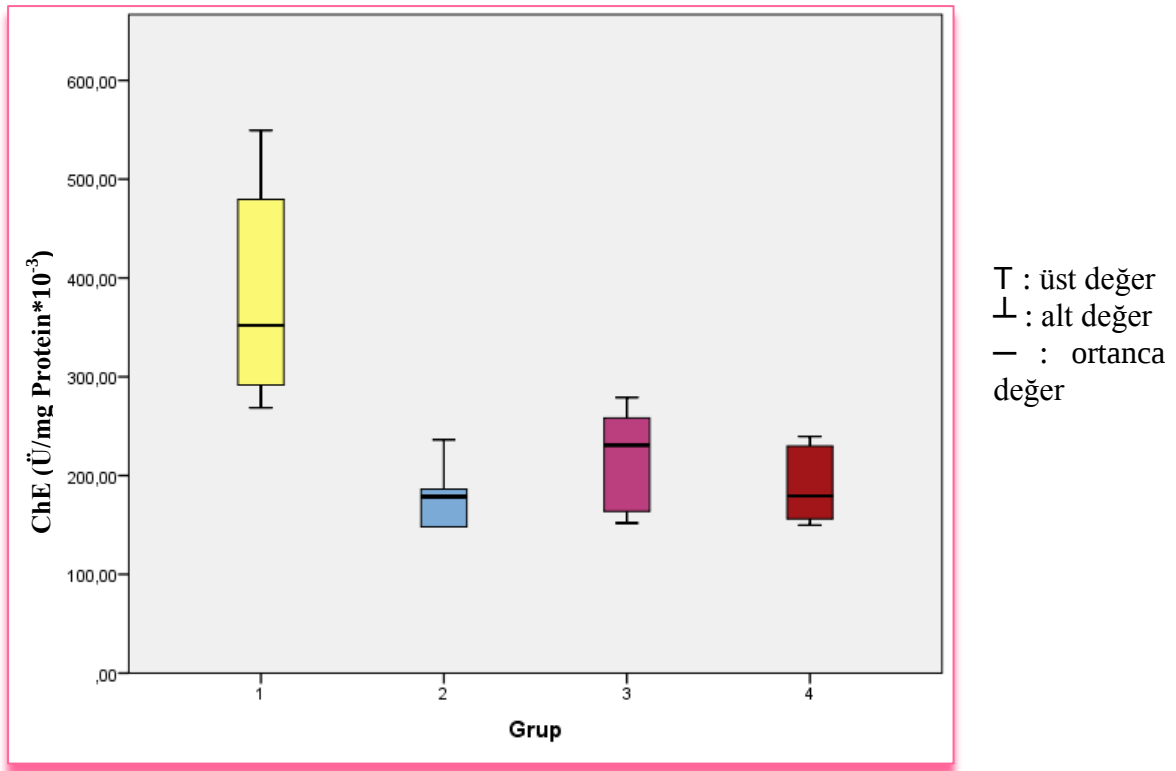
Çizelge 4.3. Kontrol ve doz gruplarının ChE aktivitesi için ortalama  $\pm$  standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek değerleri

| Gruplar      | Ort. $\pm$ Sta.H<br>ChE (Ü/mg prot.)      | Ortanca Değ.<br>ChE<br>(Ü/mg prot.) | En Düşük<br>Değ.<br>ChE (Ü/mg<br>prot.) | En Yüksek<br>Değ.<br>ChE (Ü/mg<br>protein) |
|--------------|-------------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------------------|
| Grup 1 (n=6) | $382 \cdot 10^{-3} \pm 111 \cdot 10^{-3}$ | $352 \cdot 10^{-3}$                 | $269 \cdot 10^{-3}$                     | $549 \cdot 10^{-3}$                        |
| Grup 2 (n=6) | $179 \cdot 10^{-3} \pm 33 \cdot 10^{-3a}$ | $179 \cdot 10^{-3}$                 | $148 \cdot 10^{-3}$                     | $236 \cdot 10^{-3}$                        |
| Grup 3 (n=6) | $219 \cdot 10^{-3} \pm 52 \cdot 10^{-3b}$ | $231 \cdot 10^{-3}$                 | $152 \cdot 10^{-3}$                     | $279 \cdot 10^{-3}$                        |
| Grup 4 (n=6) | $189 \cdot 10^{-3} \pm 38 \cdot 10^{-3c}$ | $179 \cdot 10^{-3}$                 | $150 \cdot 10^{-3}$                     | $240 \cdot 10^{-3}$                        |

a :  $p=0,002$  (Grup 1 ile Grup 2'nin karşılaştırılması)

b :  $p=0,002$  (Grup 1 ile Grup 3'ün karşılaştırılması)

c :  $p=0,002$  (Grup 1 ile Grup 3'ün karşılaştırılması)



Şekil 4.2. Karaciğer ChE aktivitesi

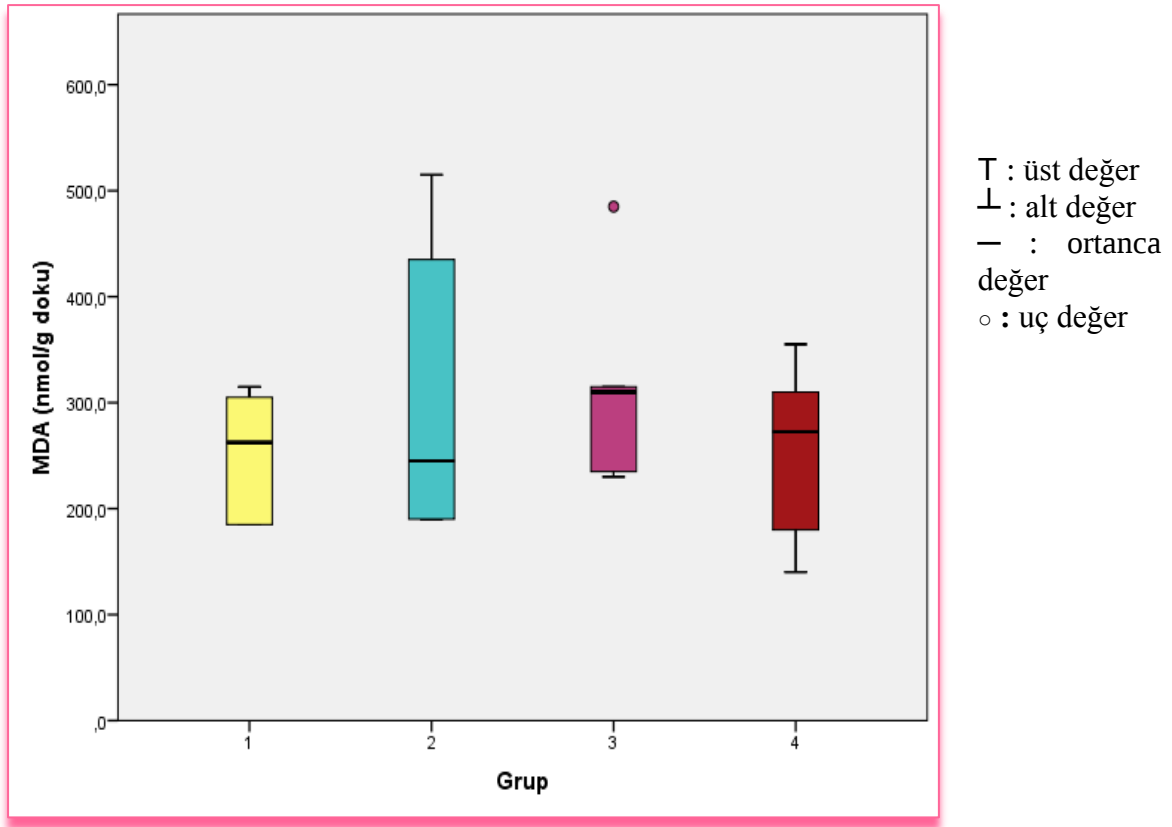
#### 4.3. Kontrol ve Doz Gruplarının Karaciğer MDA Düzeyi ve İstatistik Bulgular

Kontrol ve doz grupları her biri kendi aralarında karşılaştırıldığında karaciğer MDA düzeyinde gruplar arasında anlamlı fark bulunamamıştır ( $p=0,601$ ;  $p>0,05$ ).

Grupların karaciğer MDA düzeyi için ortalama  $\pm$  standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek seviyeleri Çizelge 4.4. ve Şekil 4.3.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. Kontrol ve doz gruplarının karaciğer MDA düzeyi için ortalama  $\pm$  standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek değerleri

| Gruplar      | Ort. $\pm$ Sta.H<br>MDA<br>(nmol/g doku) | Ortanca Değer<br>(MDA nmol/g<br>doku) | En Düşük Değ.<br>(MDA nmol/g<br>doku) | En Yüksek Değ.<br>(MDA nmol/g<br>doku) |
|--------------|------------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------|
| Grup 1 (n=6) | 252,5 $\pm$ 56,55                        | 262,5                                 | 185                                   | 315                                    |
| Grup 2 (n=6) | 303,33 $\pm$ 139,34                      | 245                                   | 190                                   | 515                                    |
| Grup 3 (n=6) | 314,17 $\pm$ 92,33                       | 310                                   | 230                                   | 485                                    |
| Grup 4 (n=6) | 255 $\pm$ 80,99                          | 272,5                                 | 140                                   | 355                                    |



Şekil 4.3. Karaciğer MDA düzeyi

#### 4.4. Kontrol ve Doz Gruplarının Karaciğer AOPP Düzeyi ve İstatistik Bulgular

Kontrol ve doz grupları her biri kendi aralarında karşılaştırıldığında karaciğer AOPP düzeyinde gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ( $p=0,014$ ;  $p<0,05$ ).

Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında Grup 3'ün, Grup 2'ye göre karaciğer AOPP düzeyinin anlamlı olarak arttığı ( $p=0,012$ ;  $p<0,013$ ), aynı zamanda Grup 4'ün, Grup 2'ye göre karaciğer AOPP düzeyinin anlamlı olarak arttığı bulunmuştur ( $p=0,009$ ;  $p<0,013$ ).

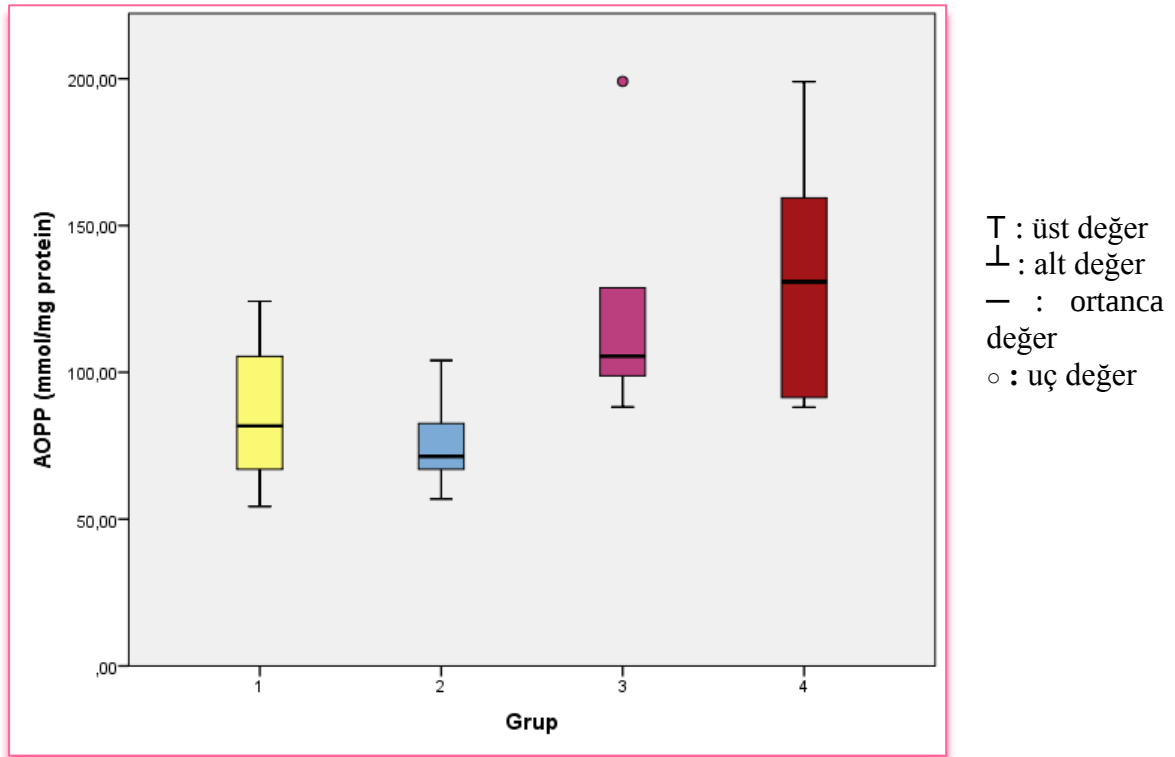
Grupların karaciğer AOPP düzeyi için ortalama  $\pm$  standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek seviyeleri Çizelge 4.5.'de ve Şekil 4.4.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.5. Kontrol ve doz gruplarının karaciğer AOPP düzeyi için ortalama, standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek değerleri

| Gruplar      | Ort. $\pm$ Sta.H<br>AOPP<br>(mmol/mg prot.) | Ortanca Değ.<br>AOPP<br>(mmol/mg prot.) | En Düşük Değ.<br>AOPP<br>(mmol/mg prot.) | En Yüksek Değ.<br>AOPP<br>(mmol/mg prot.) |
|--------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|-------------------------------------------|
| Grup 1 (n=6) | 85,73 $\pm$ 25,55                           | 81,75                                   | 54,3                                     | 124,2                                     |
| Grup 2 (n=6) | 75,53 $\pm$ 16,37                           | 71,35                                   | 56,9                                     | 104                                       |
| Grup 3 (n=6) | 120,98 $\pm$ 40,72 <sup>a</sup>             | 105,5                                   | 88,2                                     | 199,1                                     |
| Grup 4 (n=6) | 133,27 $\pm$ 42,51 <sup>b</sup>             | 130,85                                  | 88,1                                     | 199                                       |

a : p=0,012 (Grup 2 ile Grup 3'ün karşılaştırılması)

b : p=0,009 (Grup 2 ile Grup 4'ün karşılaştırılması)



Şekil 4.4. Karaciğer AOPP düzeyi

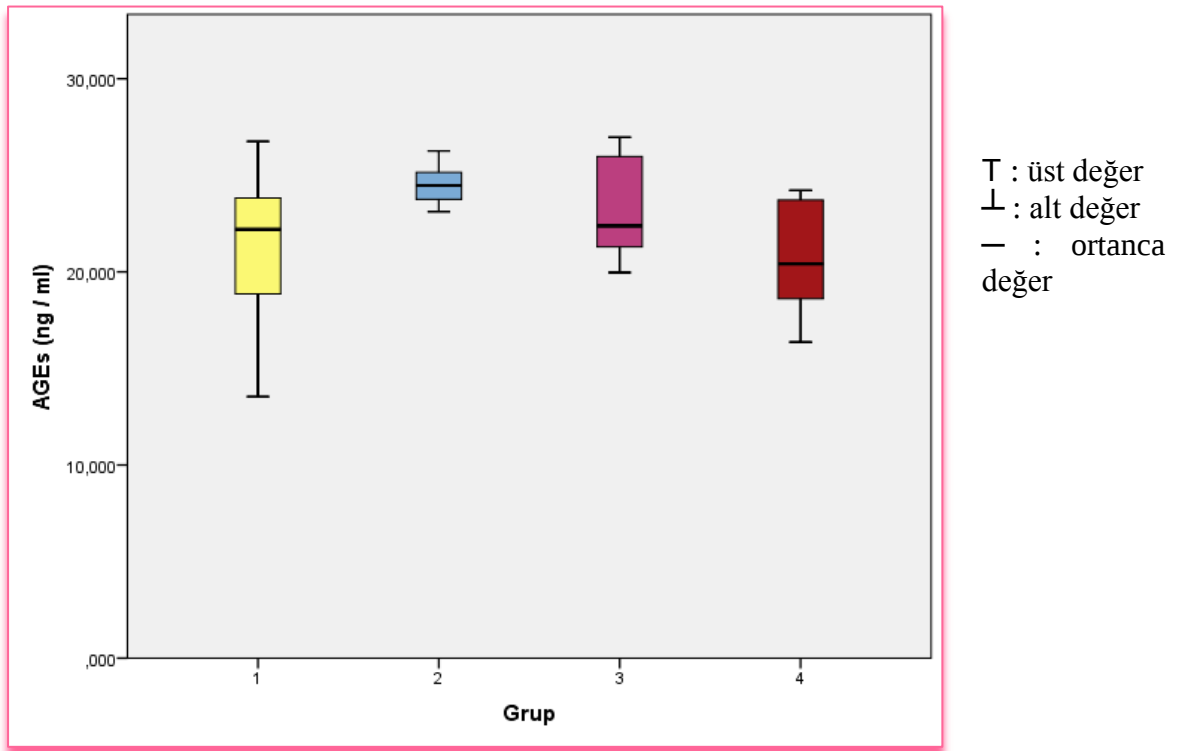
#### 4.5. Kontrol ve Doz Gruplarının Karaciğer AGEs Düzeyi ve İstatistik Bulgular

Kontrol ve doz grupları her biri kendi aralarında karşılaştırıldığında karaciğer AGEs düzeyi gruplar arasında anlamlı fark bulunamamıştır (p= 0,162; p>0.05).

Tüm grupların karaciğer AGEs düzeyi için ortalama  $\pm$  standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek seviyeleri Çizelge 4.6.'de ve Şekil 4.5.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.6. Kontrol ve doz gruplarının karaciğer AGEs düzeyi için ortalama, standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek değerleri

| Gruplar      | Ort. $\pm$ Sta.H AGEs (ng/ml) | Ortanca Değ. AGEs (ng/ml) | En Düşük Değ. AGEs (ng/ml) | En Yüksek Değ. AGEs (ng/ml) |
|--------------|-------------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| Grup 1 (n=6) | 21,23 $\pm$ 4,64              | 22,20                     | 13,54                      | 26,76                       |
| Grup 2 (n=6) | 24,54 $\pm$ 1,13              | 24,47                     | 23,11                      | 26,26                       |
| Grup 3 (n=6) | 23,16 $\pm$ 2,77              | 22,38                     | 19,97                      | 26,97                       |
| Grup 4 (n=6) | 20,63 $\pm$ 3,10              | 20,42                     | 16,36                      | 24,22                       |



Şekil 4.5. Karaciğer AGEs düzeyi

#### 4.6. Kontrol ve Doz Gruplarının Karaciğer TOS Düzeyi ve İstatistik Bulgular

Kontrol ve doz grupları her biri kendi aralarında karşılaştırıldığında karaciğer TOS düzeyinin gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ( $p=0,001$ ;  $p<0,05$ ).

Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında Grup 4'ün, Grup 1'e ve Grup 2'ye göre karaciğer TOS düzeyinin anlamlı olarak arttığı ( $p= 0,002$ ,  $p= 0,002$ ;  $p<0.013$ ), aynı zamanda Grup 3'ün; Grup 2'ye göre karaciğer TOS düzeyinin anlamlı olarak arttığı bulunmuştur ( $p= 0,009$ ;  $p<0.013$ ).

Grupların karaciğer TOS düzeyi için ortalama  $\pm$  standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek seviyeleri Çizelge 4.7.'de ve Şekil 4.6.'de gösterilmiştir.

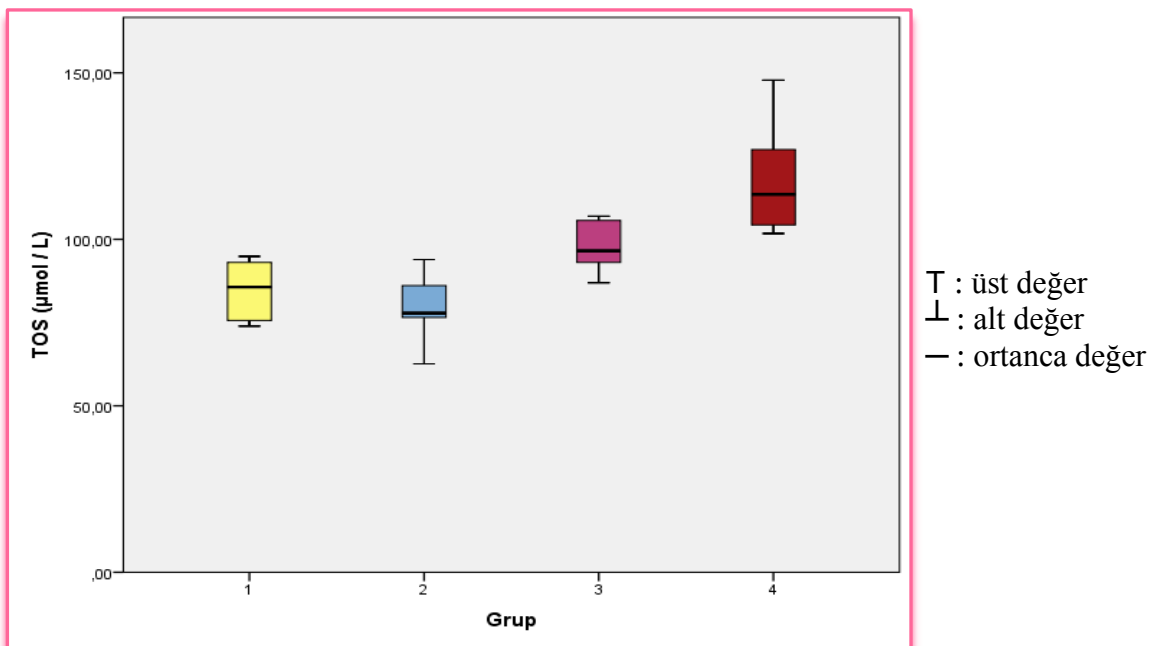
Çizelge 4.7. Kontrol ve doz gruplarının karaciğer TOS düzeyi için ortalama  $\pm$  standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek değerleri

| Gruplar         | Ort. $\pm$ Sta.H<br>TOS ( $\mu\text{mol/L}$ ) | Ortanca Değ.<br>TOS ( $\mu\text{mol/L}$ ) | En Düşük Değ.<br>TOS ( $\mu\text{mol/L}$ ) | En Yüksek Değ.<br>TOS ( $\mu\text{mol/L}$ ) |
|-----------------|-----------------------------------------------|-------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------|
| Grup 1<br>(n=6) | 84,80 $\pm$ 8,98                              | 85,65                                     | 73,91                                      | 94,87                                       |
| Grup 2<br>(n=6) | 79,13 $\pm$ 10,52                             | 77,83                                     | 62,61                                      | 93,91                                       |
| Grup 3<br>(n=6) | 97,61 $\pm$ 7,78 <sup>a</sup>                 | 96,52                                     | 86,96                                      | 106,96                                      |
| Grup 4<br>(n=6) | 117,97 $\pm$ 17,20 <sup>b,c</sup>             | 113,48                                    | 101,74                                     | 147,83                                      |

a :  $p=0,009$  (Grup 2 ile Grup 3'ün karşılaştırılması)

b :  $p=0,002$  (Grup 1 ile Grup 4'ün karşılaştırılması)

c :  $p=0,002$  (Grup 2 ile Grup 4'ün karşılaştırılması)



Şekil 4.6. Karaciğer TOS düzeyi

#### 4.7. Kontrol ve Doz Gruplarının Karaciğer Katalaz Aktivitesi ve İstatistik Bulgular

Kontrol ve doz grupları her biri kendi aralarında karşılaştırıldığında karaciğer katalaz aktivitesinde gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ( $p= 0,002$ ;  $p<0.05$ ).

Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında Grup 3 ve Grup 4'ün, Grup 1'e göre karaciğer katalaz enzim aktivitesinin anlamlı olarak arttığı bulunmuştur ( $p= 0,002$ ,  $p= 0,002$ ;  $p<0.013$ ).

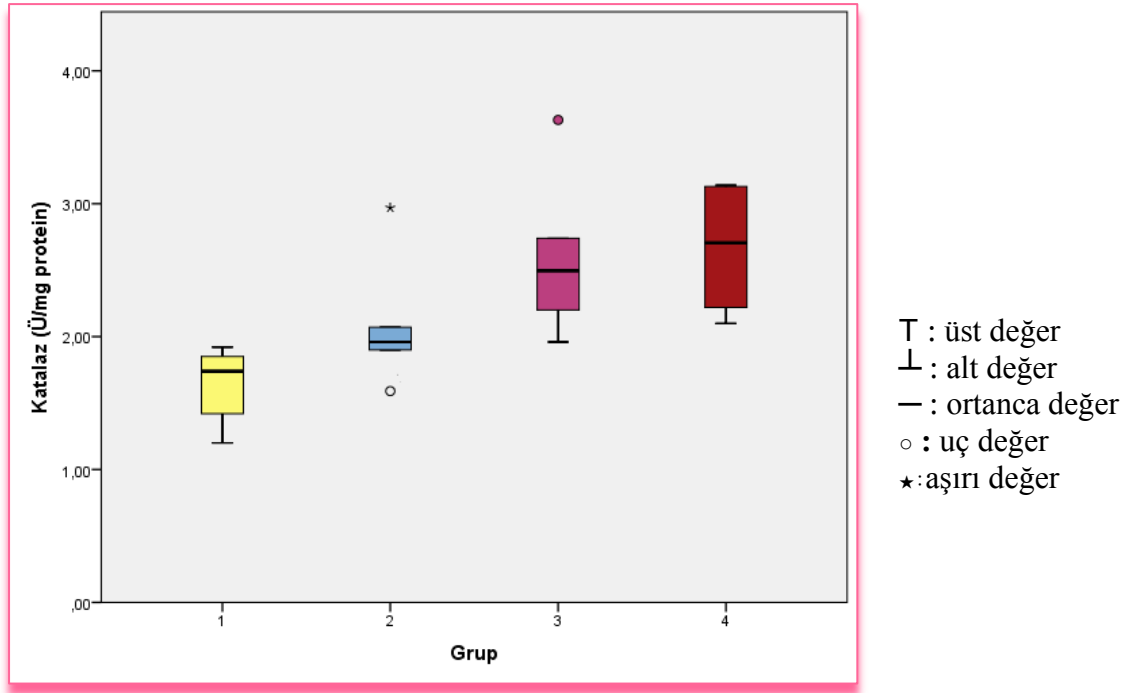
Grupların karaciğer katalaz aktivitesi için ortalama  $\pm$  standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek seviyeleri Çizelge 4.8.'de ve Şekil 4.7.'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.8. Kontrol ve doz gruplarının karaciğer katalaz aktivitesi için ortalama  $\pm$  standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek değerleri

| Gruplar         | Ort. $\pm$ Sta.H<br>Katalaz<br>(Ü/mg protein) | Ortanca Değ.<br>Katalaz<br>(Ü/mg protein) | En Düşük Değ.<br>Katalaz<br>(Ü/mg protein) | En Yüksek Değ.<br>Katalaz<br>(Ü/mg protein) |
|-----------------|-----------------------------------------------|-------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------|
| Grup 1<br>(n=6) | 1,65 $\pm$ 0,29                               | 1,74                                      | 1,20                                       | 1,92                                        |
| Grup 2<br>(n=6) | 2,08 $\pm$ 0,47                               | 1,96                                      | 1,59                                       | 2,97                                        |
| Grup 3<br>(n=6) | 2,59 $\pm$ 0,58 <sup>a</sup>                  | 2,50                                      | 1,96                                       | 3,63                                        |
| Grup 4<br>(n=6) | 2,67 $\pm$ 0,44 <sup>b</sup>                  | 2,71                                      | 2,10                                       | 3,14                                        |

**a** :  $p=0,002$  (Grup 1 ile Grup 3'ün karşılaştırılması)

**b** :  $p=0,002$  (Grup 1 ile Grup 4'ün karşılaştırılması)



Şekil 4.7. Karaciğer Katalaz aktivitesi

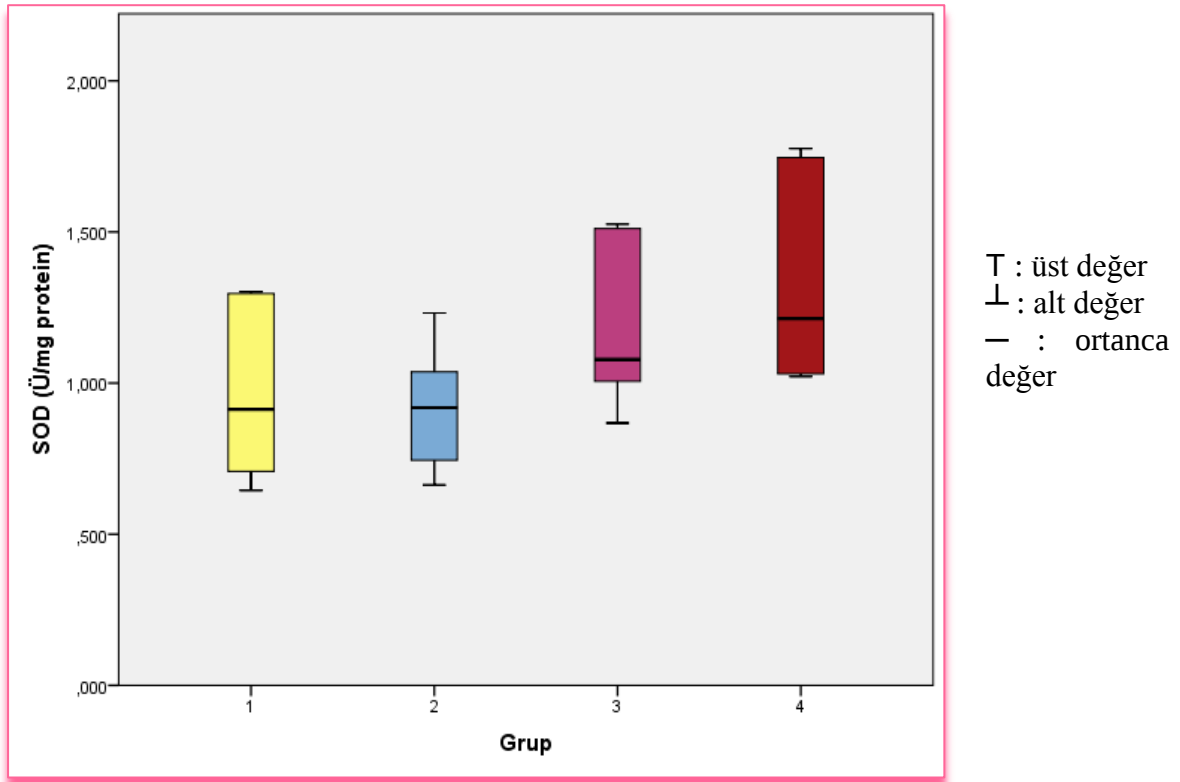
#### 4.8. Kontrol ve Doz Gruplarının Karaciğer SOD Aktivitesi ve İstatistik Bulgular

Kontrol ve doz grupları her biri kendi aralarında karşılaştırıldığında karaciğer SOD aktivitesinde gruplar arasında anlamlı fark bulunamamıştır ( $p=0,131$ ;  $p>0,05$ ).

Tüm grupların karaciğer SOD aktivitesi için ortalama  $\pm$  standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek seviyeleri Çizelge 4.9.'de ve Şekil 4.8.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.9. Kontrol ve doz gruplarının karaciğer SOD aktivitesi için ortalama  $\pm$  standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek değerleri

| Gruplar         | Ort. $\pm$ Sta.H<br>SOD<br>(Ü/mg protein) | Ortanca Değ.<br>SOD<br>(Ü/mg protein) | En Düşük Değ.<br>SOD<br>(Ü/mg protein) | En Yüksek Değ.<br>SOD<br>(Ü/mg protein) |
|-----------------|-------------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------|
| Grup 1<br>(n=6) | 0,96 $\pm$ 0,29                           | 0,91                                  | 0,65                                   | 1,3                                     |
| Grup 2<br>(n=6) | 0,92 $\pm$ 0,21                           | 0,92                                  | 0,66                                   | 1,23                                    |
| Grup 3<br>(n=6) | 1,18 $\pm$ 0,28                           | 1,08                                  | 0,87                                   | 1,53                                    |
| Grup 4<br>(n=6) | 1,33 $\pm$ 0,35                           | 1,21                                  | 1,02                                   | 1,78                                    |



Şekil 4.8. Karaciğer SOD aktivitesi

#### 4.9. Kontrol ve Doz Gruplarının Karaciğer PON1-ARE Aktivitesi ve İstatistik Bulgular

Kontrol ve doz grupları her biri kendi aralarında karşılaştırıldığında karaciğer PON1-ARE aktivitesinde gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ( $p=0,009$ ;  $p<0,05$ ).

Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında Grup 3 ve Grup 4'ün, Grup 1'e göre karaciğer PON1-ARE enzim aktivitesinin anlamlı olarak azaldığı bulunmuştur ( $p=0,002$ ,  $p=0,002$ ;  $p<0,013$ ).

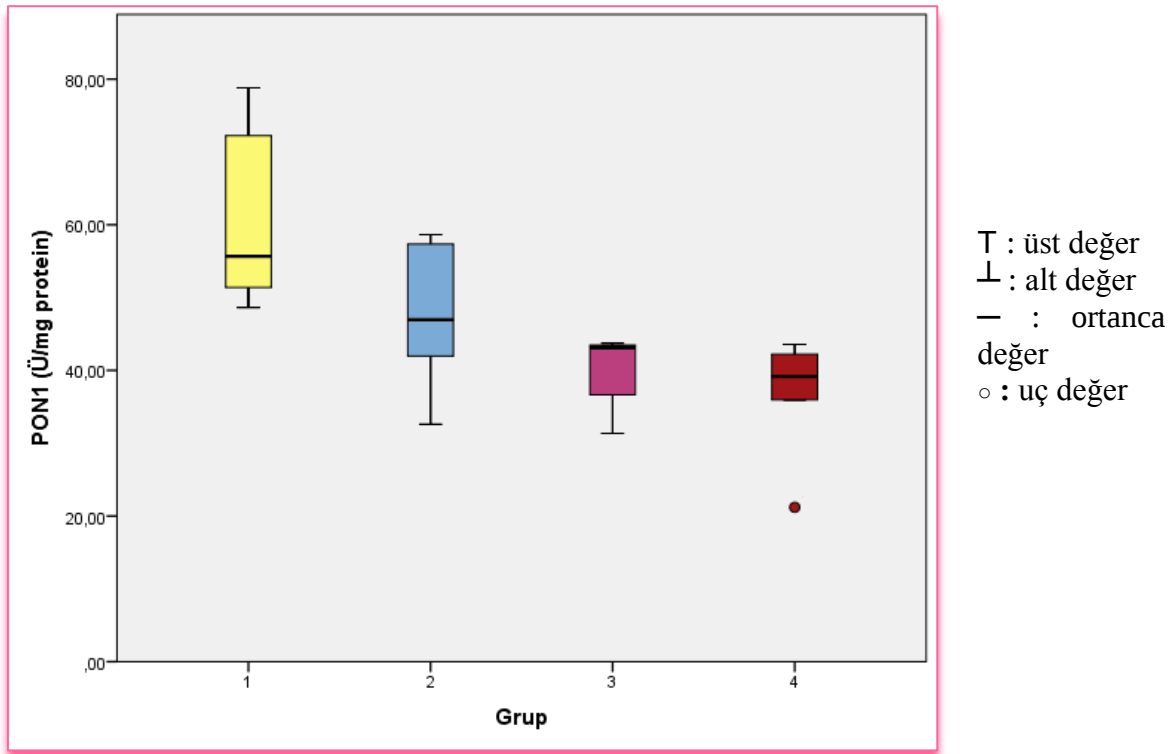
Grupların karaciğer doku PON1-ARE aktivitesi için ortalama  $\pm$  standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek seviyeleri Çizelge 4.10.'da ve Şekil 4.9.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.10. Kontrol ve doz gruplarının karaciğer PON1-ARE için ortalama  $\pm$  standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek değerleri

| Gruplar         | Ort. $\pm$ Sta.H<br>PON1 (Ü/mg<br>protein) | Ortanca Değ.<br>PON1 (Ü/mg<br>protein) | En Düşük Değ.<br>PON1 (Ü/mg<br>protein) | En Yüksek Değ.<br>PON1 (Ü/mg<br>protein) |
|-----------------|--------------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|
| Grup 1<br>(n=6) | 60,40 $\pm$ 12,26                          | 55,6641                                | 48,63                                   | 78,82                                    |
| Grup 2<br>(n=6) | 47,41 $\pm$ 10,18                          | 46,9570                                | 32,61                                   | 58,65                                    |
| Grup 3<br>(n=6) | 40,26 $\pm$ 5,14 <sup>a</sup>              | 43,1765                                | 31,35                                   | 43,74                                    |
| Grup 4<br>(n=6) | 36,88 $\pm$ 8,25 <sup>b</sup>              | 39,1695                                | 21,20                                   | 43,58                                    |

a : p=0,002 (Grup 1 ile Grup 3'ün karşılaştırılması)

b : p=0,002 (Grup 1 ile Grup 4'ün karşılaştırılması)



Şekil 4.9. Karaciğer PON1-ARE

#### 4.10. Kontrol ve Doz Gruplarının Karaciğer TNF- $\alpha$ düzeyi ve İstatistik Bulgular

Kontrol ve doz grupları her biri kendi aralarında karşılaştırıldığında karaciğer TNF- $\alpha$  düzeyinde gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur (p= 0,027; p<0.05).

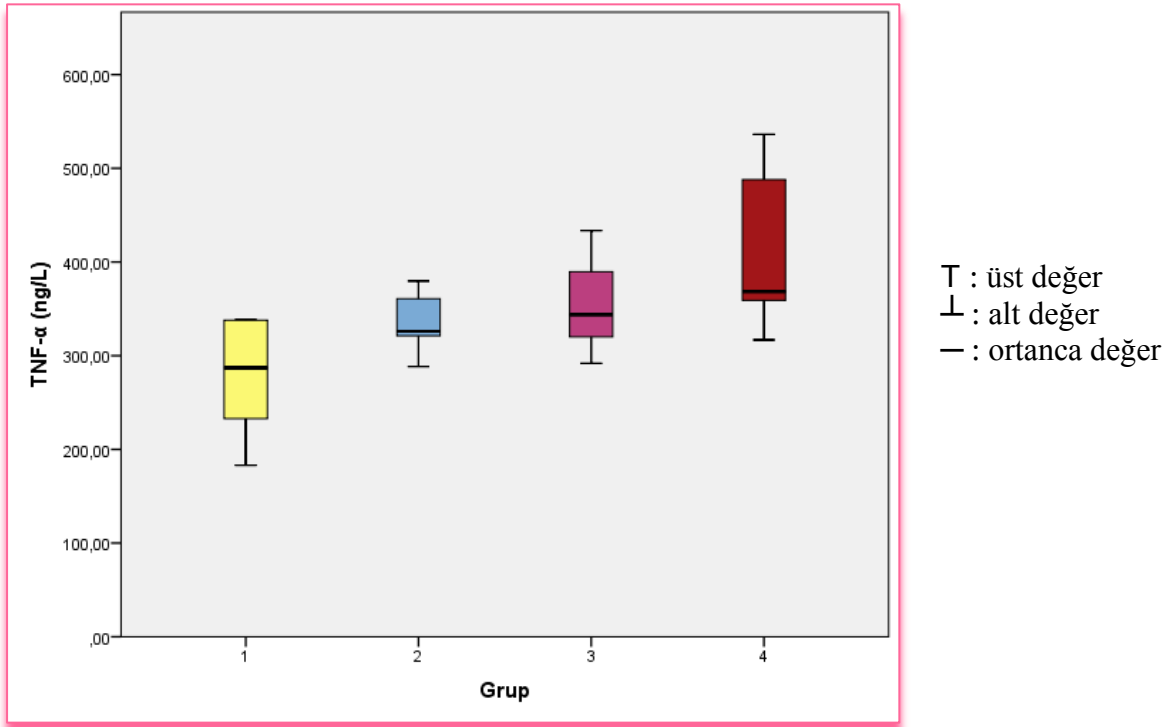
Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında Grup 4'ün, Grup 1'e göre karaciğer TNF- $\alpha$  düzeyinin anlamlı olarak arttığı bulunmuştur ( $p=0,009$ ;  $p<0.013$ ).

Grupların karaciğer TNF- $\alpha$  düzeyinin için ortalama  $\pm$  standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek seviyeleri Çizelge 4.11.'da ve Şekil 4.10.'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.11. Kontrol ve doz gruplarının karaciğer TNF- $\alpha$  düzeyinin için ortalama  $\pm$  standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek değerleri

| Gruplar         | Ort. $\pm$ Sta.H<br>TNF- $\alpha$ (ng/L) | Ortanca Değ.<br>TNF- $\alpha$ (ng/L) | En Düşük Değ.<br>TNF- $\alpha$ (ng/L) | En Yüksek<br>Değ.<br>TNF- $\alpha$ (ng/L) |
|-----------------|------------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------------|
| Grup 1<br>(n=6) | 277,76 $\pm$ 60,80                       | 287,11                               | 182,94                                | 338,50                                    |
| Grup 2<br>(n=6) | 333,69 $\pm$ 32,16                       | 326                                  | 288,50                                | 379,61                                    |
| Grup 3<br>(n=6) | 353,78 $\pm$ 50,62                       | 343,78                               | 291,83                                | 433,50                                    |
| Grup 4<br>(n=6) | 406,19 $\pm$ 85,74 <sup>a</sup>          | 368,5                                | 316,83                                | 536,28                                    |

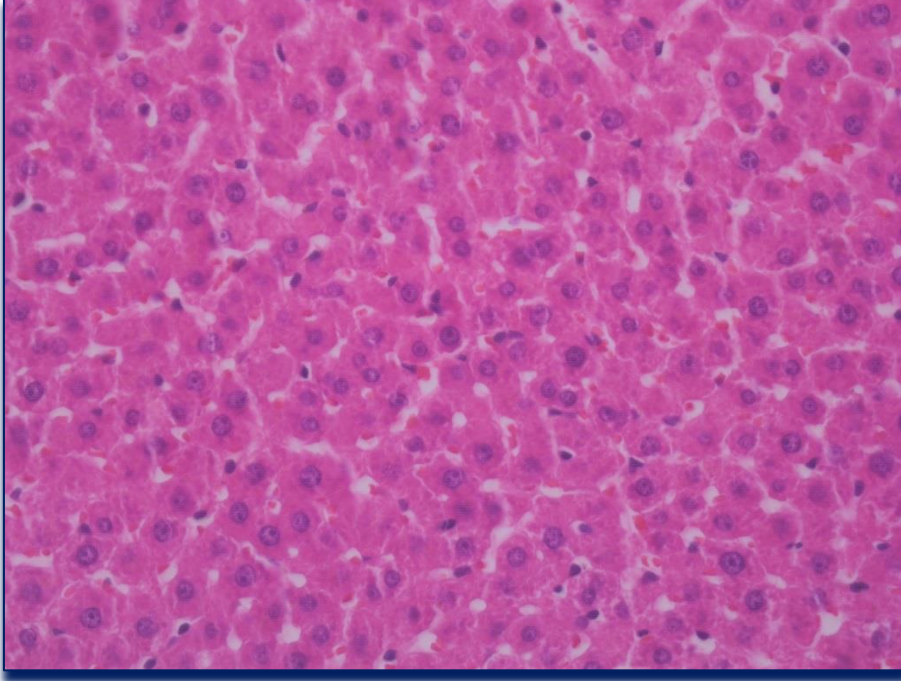
<sup>a</sup> :  $p=0,009$  (Grup 1 ile Grup 4'ün karşılaştırılması)



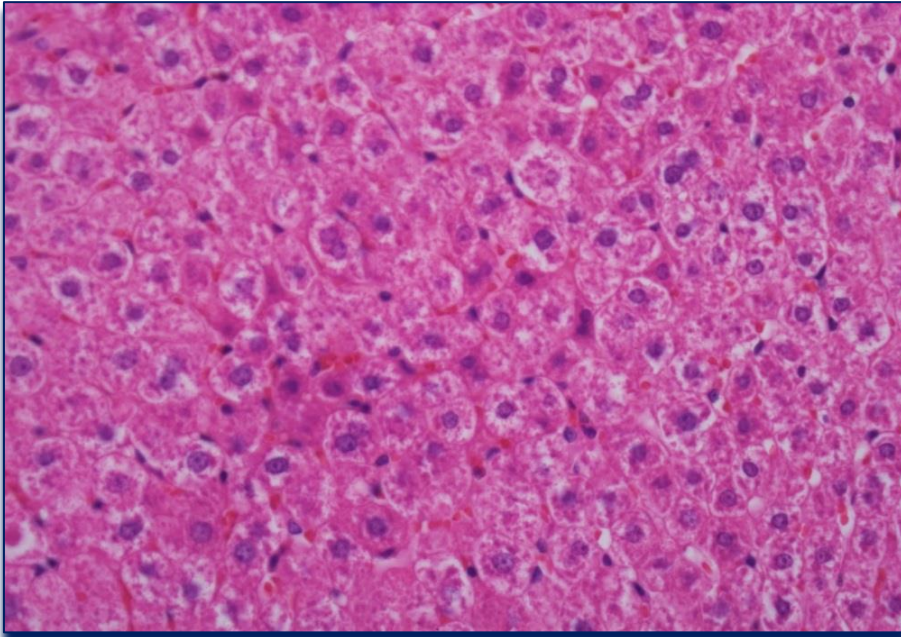
Şekil 4.10. Karaciğer TNF- $\alpha$  düzeyi

#### 4.11. Kontrol ve Doz Gruplarının Karaciğer Doku Histopatolojik Gözlemler

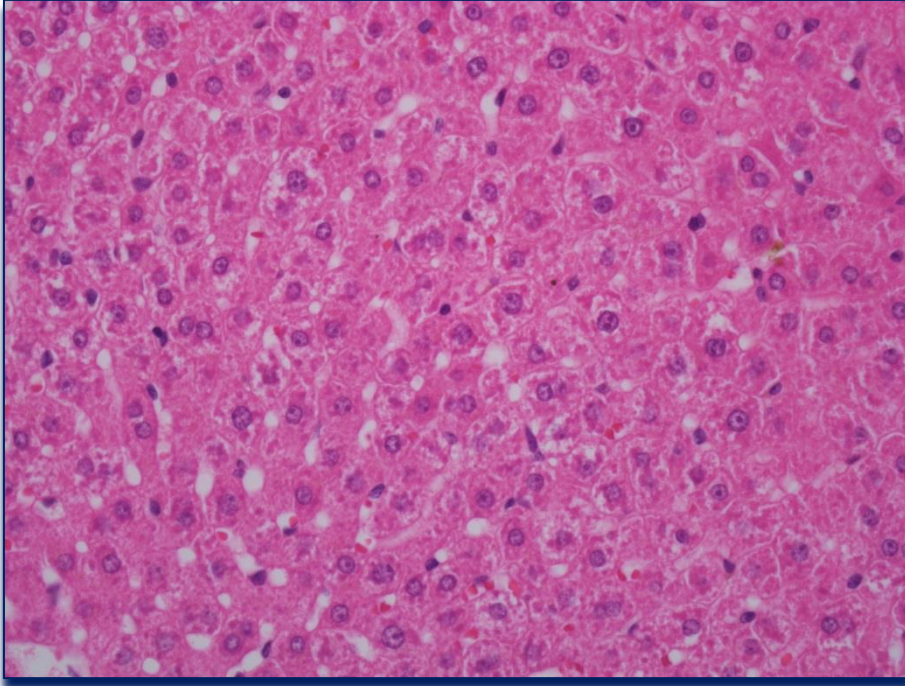
Histopatolojik gözlemler sonucu karaciğer doku hasarı Grup 1, Grup 2 ve Grup 3’de gözlenmezken (Şekil 4.11., Şekil 4.12., Şekil 4.13., Şekil 4.14.,) Grup 4’te vakuoler ve hidropik dejenerasyon gözlemlendi (Şekil 4.12.).



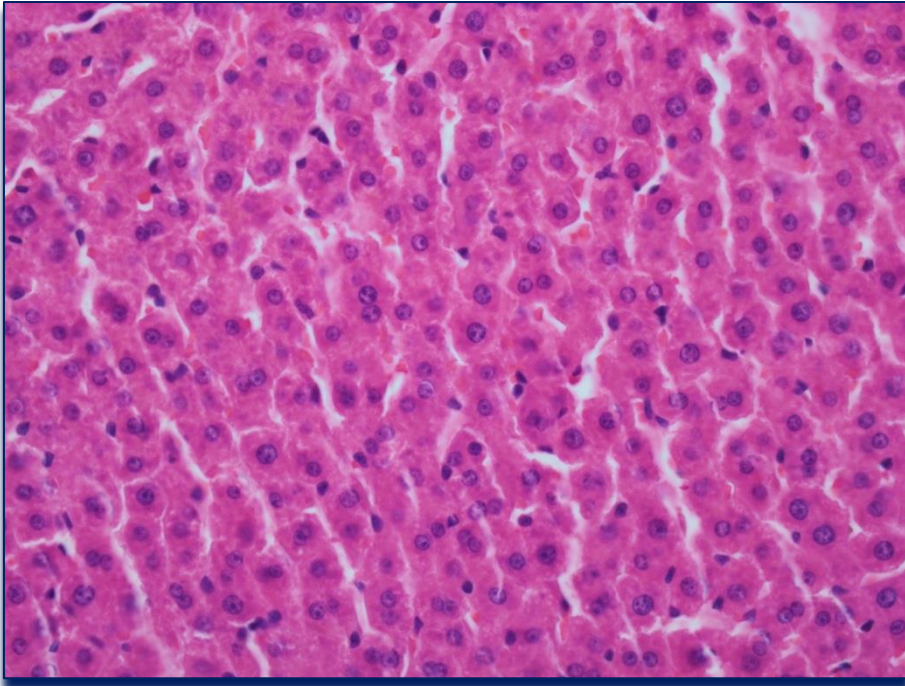
Şekil 4.11. Kontrol Grubu (Grup 1) karaciğer doku histopatolojik görüntüsü



Şekil 4.12. 100 mg/kg Malathion doz grubu (Grup 2) karaciğer doku histopatolojik görüntüsü



Şekil 4.13. 200 mg/kg Malathion doz grubu (Grup 3) karaciğer doku histopatolojik görüntüsü



Şekil 4.14. 400 mg/kg Malathion doz grubu (Grup 3) karaciğer doku histopatolojik görüntüsü

#### 4.12. Kontrol ve Doz Gruplarının Karaciğer Glikojen Miktarı ve İstatistik Bulgular

Kontrol ve doz grupları her biri kendi aralarında karşılaştırıldığında karaciğer glikojen miktarında gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ( $p=0,03$ ;  $p<0,05$ ).

Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında karaciğer glikojen miktarının Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'te Grup 1'e göre anlamlı olarak arttığı bulunmuştur ( $p=0,004$ ,  $p=0,002$ ,  $p=0,004$ ;  $p<0,013$ ).

Grupların karaciğer glikojen miktarının için ortalama  $\pm$  standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek seviyeleri Çizelge 4.12.'de ve Şekil 4.15.'de gösterilmiştir.

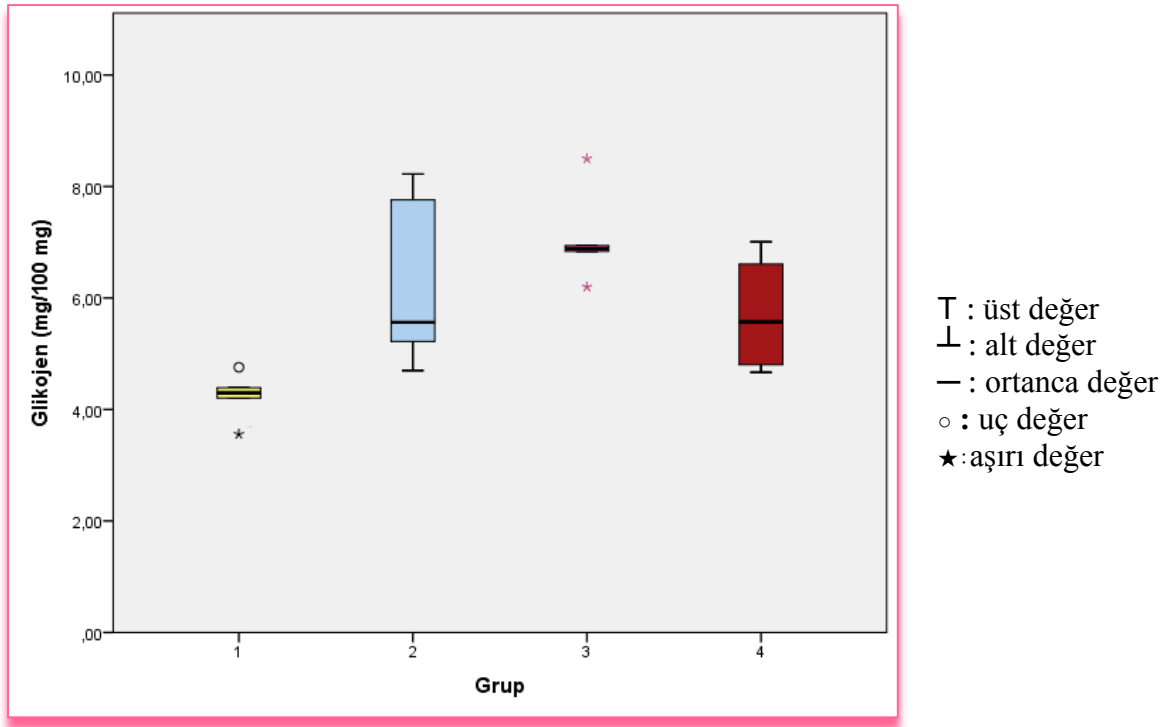
Çizelge 4.12. Kontrol ve doz gruplarının karaciğer glikojen miktarının için ortalama  $\pm$  standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek değerleri

| Gruplar         | Ort. $\pm$ Sta.H<br>Glikojen<br>(mg/100 mg) | Ortanca Değ.<br>Glikojen<br>(mg/100 mg) | En Düşük Değ.<br>Glikojen<br>(mg/100 mg) | En Yüksek Değ.<br>Glikojen<br>(mg/100 mg) |
|-----------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|-------------------------------------------|
| Grup 1<br>(n=6) | 4,25 $\pm$ 0,39                             | 4,30                                    | 3,56                                     | 4,76                                      |
| Grup 2<br>(n=6) | 6,17 $\pm$ 1,45 <sup>a</sup>                | 5,57                                    | 4,70                                     | 8,22                                      |
| Grup 3<br>(n=6) | 7,04 $\pm$ 0,77 <sup>b</sup>                | 6,88                                    | 6,20                                     | 8,50                                      |
| Grup 4<br>(n=6) | 5,71 $\pm$ 1,02 <sup>c</sup>                | 5,57                                    | 4,67                                     | 7,01                                      |

a :  $p=0,004$  (Grup 1 ile Grup 2'nin karşılaştırılması)

b :  $p=0,002$  (Grup 1 ile Grup 3'ün karşılaştırılması)

c :  $p=0,004$  (Grup 1 ile Grup 4'ün karşılaştırılması)



Şekil 4.15. Karaciğer Glikojen miktarı

#### 4.13. Kontrol ve Doz Gruplarının Karaciğer ALT Aktivitesi ve İstatistik Bulgular

Kontrol ve doz grupları her biri kendi aralarında karşılaştırıldığında karaciğer ALT aktivitesinde gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ( $p=0,002$ ;  $p<0,05$ ).

Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında karaciğer ALT aktivitesinin Grup 3 ve Grup 4'te; Grup 1'e göre anlamlı olarak arttığı ( $p=0,002$ ,  $p=0,012$ ;  $p<0,013$ ) aynı zamanda ALT aktivitesinin Grup 3 ve Grup 4'te; Grup 2'ye göre anlamlı olarak arttığı bulunmuştur ( $p=0,002$ ,  $p=0,012$ ;  $p<0,013$ ).

Grupların karaciğer ALT aktivitesinin için ortalama  $\pm$  standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek seviyeleri Çizelge 4.13.'de ve Şekil 4.16.'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.13. Kontrol ve doz gruplarının karaciğer ALT aktivitesinin için ortalama  $\pm$  standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek değerleri

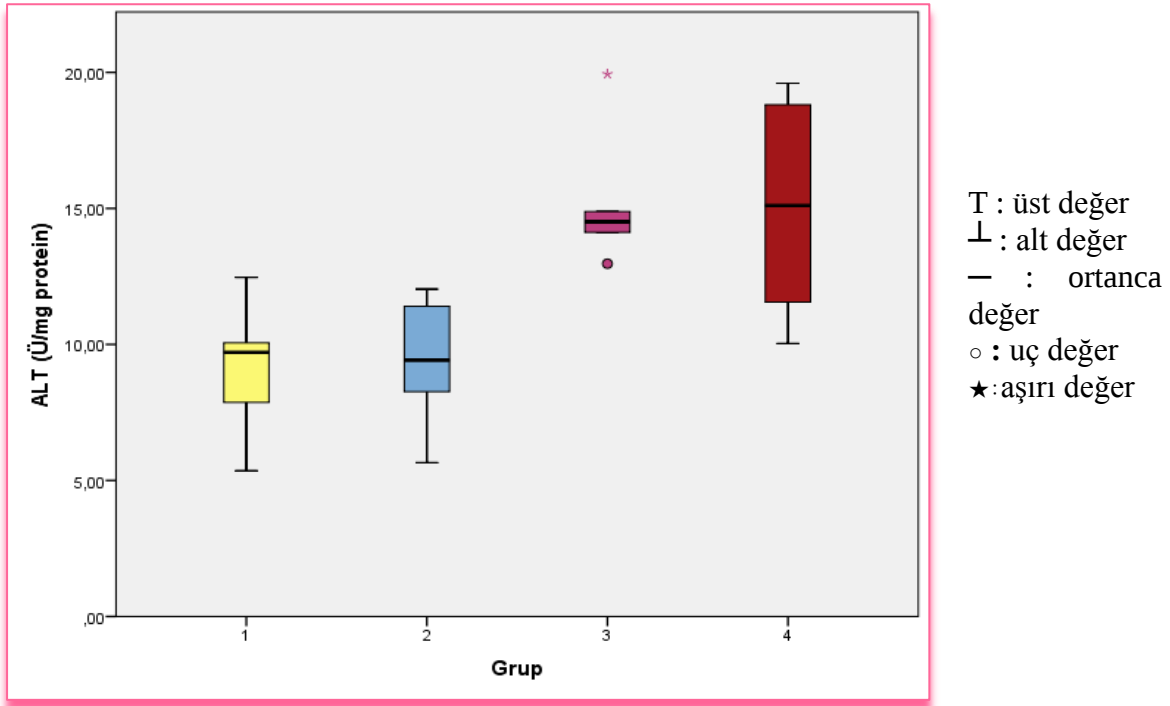
| Gruplar         | Ort. $\pm$ Sta.H<br>ALT<br>(Ü/mg protein) | Ortanca Değ.<br>ALT<br>(Ü/mg protein) | En Düşük Değ.<br>ALT<br>(Ü/mg protein) | En Yüksek Değ.<br>ALT<br>(Ü/mg protein) |
|-----------------|-------------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------|
| Grup 1<br>(n=6) | 9,19 $\pm$ 2,39                           | 9,71                                  | 5,35                                   | 12,46                                   |
| Grup 2<br>(n=6) | 9,37 $\pm$ 2,30                           | 9,42                                  | 5,65                                   | 12,03                                   |
| Grup 3<br>(n=6) | 15,16 $\pm$ 2,44 <sup>a,c</sup>           | 14,51                                 | 12,97                                  | 19,94                                   |
| Grup 4<br>(n=6) | 15,035 $\pm$ 3,81 <sup>b,d</sup>          | 15,11                                 | 10,03                                  | 19,60                                   |

a : p=0,002 (Grup 1 ile Grup 3'ün karşılaştırılması)

b : p=0,0012 (Grup 1 ile Grup 4'ün karşılaştırılması)

c : p=0,002 (Grup 2 ile Grup 3'ün karşılaştırılması)

d : p=0,0012 (Grup 1 ile Grup 4'ün karşılaştırılması)



Şekil 4.16. Karaciğer ALT aktivitesi

#### 4.14. Kontrol ve Doz Gruplarının Karaciğer AST Aktivitesi ve İstatistik Bulgular

Kontrol ve doz grupları her biri kendi aralarında karşılaştırıldığında karaciğer AST aktivitesinde gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur (p= 0,001; p<0.05).

Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında karaciğer AST aktivitesinin Grup 3 ve Grup 4'te; Grup 1'e göre anlamlı olarak arttığı ( $p= 0,002$ ,  $p= 0,012$ ;  $p<0.013$ ) aynı zamanda AST aktivitesinin Grup 3 ve Grup 4'te; Grup 2'ye göre anlamlı olarak arttığı bulunmuştur ( $p= 0,002$ ,  $p= 0,002$ ;  $p<0.013$ ).

Grupların karaciğer AST aktivitesinin için ortalama  $\pm$  standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek seviyeleri Çizelge 4.14.'de ve Şekil 4.17.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.14. Kontrol ve doz gruplarının karaciğer AST aktivitesinin için ortalama  $\pm$  standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek değerleri

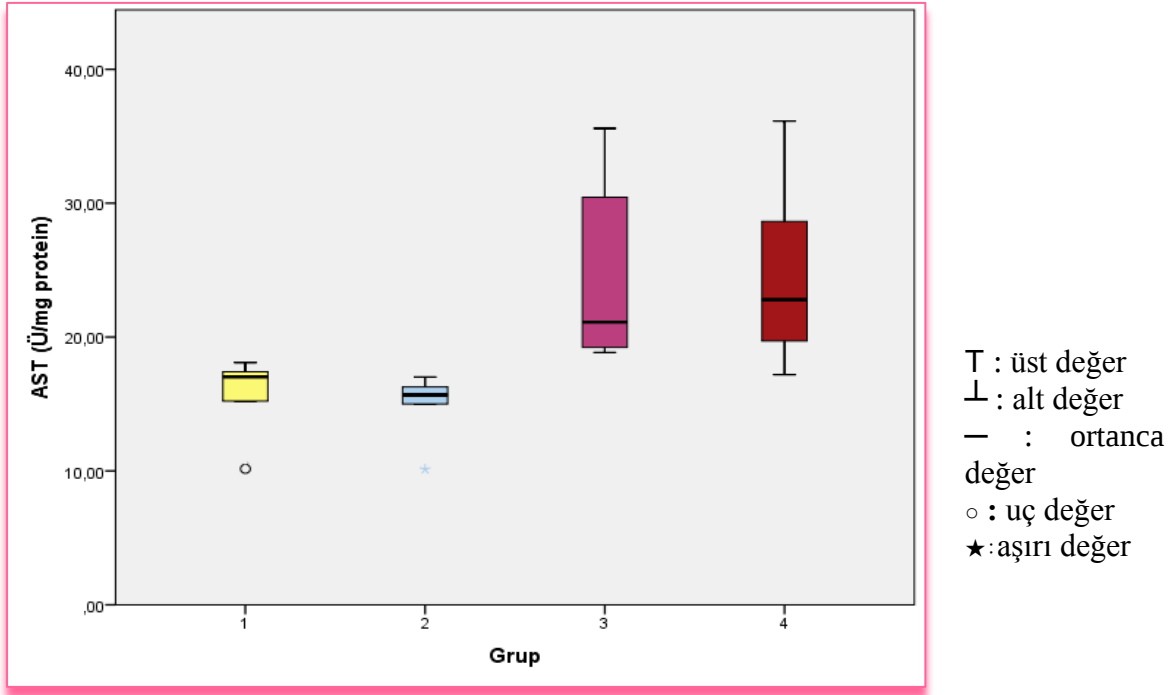
| Gruplar         | Ort. $\pm$ Sta.H.<br>AST<br>(Ü/mg protein) | Ortanca Değ.<br>AST<br>(Ü/mg protein) | En Düşük Değ.<br>AST<br>(Ü/mg protein) | En Yüksek Değ.<br>AST<br>(Ü/mg protein) |
|-----------------|--------------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------|
| Grup 1<br>(n=6) | 15,82 $\pm$ 2,94                           | 17,0314                               | 10,16                                  | 18,10                                   |
| Grup 2<br>(n=6) | 14,96 $\pm$ 2,47                           | 15,6755                               | 10,12                                  | 17,01                                   |
| Grup 3<br>(n=6) | 24,39 $\pm$ 6,99 <sup>a,c</sup>            | 21,1112                               | 18,85                                  | 35,58                                   |
| Grup 4<br>(n=6) | 24,54 $\pm$ 7,12 <sup>b,d</sup>            | 22,7929                               | 17,19                                  | 36,13                                   |

**a** :  $p=0,002$  (Grup 1 ile Grup 3'ün karşılaştırılması)

**b** :  $p=0,0012$  (Grup 1 ile Grup 4'ün karşılaştırılması)

**c** :  $p=0,002$  (Grup 2 ile Grup 3'ün karşılaştırılması)

**d** :  $p=0,002$  (Grup 2 ile Grup 4'ün karşılaştırılması)



Şekil 4.17. Karaciğer AST aktivitesi

#### 4.15. Kontrol ve Doz Gruplarının Karaciğer LDH Aktivitesi ve İstatistik Bulgular

Kontrol ve doz grupları her biri kendi aralarında karşılaştırıldığında karaciğer LDH aktivitesinin gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ( $p=0,002$ ;  $p<0,05$ ).

Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında karaciğer LDH aktivitesinin Grup 3 ve Grup 4'te; Grup 1'e göre anlamlı olarak arttığı ( $p=0,004$ ,  $p=0,002$ ;  $p<0,013$ ) aynı zamanda LDH aktivitesinin Grup 3 ve Grup 4'te; Grup 2'ye göre anlamlı olarak arttığı bulunmuştur ( $p=0,009$ ,  $p=0,009$ ;  $p<0,013$ ).

Grupların karaciğer LDH aktivitesinin için ortalama  $\pm$  standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek seviyeleri Çizelge 4.15.'de ve Şekil 4.18.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.15. Kontrol ve doz gruplarının karaciğer LDH aktivitesinin için ortalama  $\pm$  standart hata, ortanca, en düşük ve en yüksek değerleri

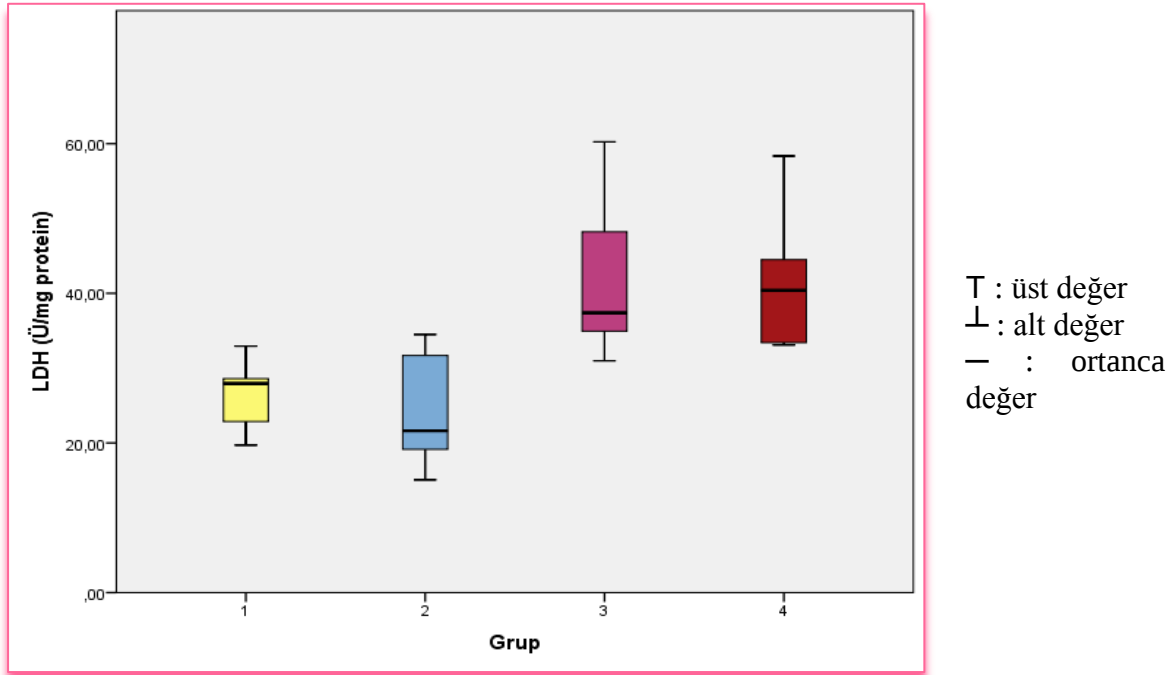
| Gruplar         | Ort. $\pm$ Sta.H.<br>LDH<br>(Ü/mg protein) | Ortanca Değ.<br>LDH<br>(Ü/mg protein) | En Düşük Değ.<br>LDH<br>(Ü/mg protein) | En Yüksek Değ.<br>LDH<br>(Ü/mg protein) |
|-----------------|--------------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------|
| Grup 1<br>(n=6) | 26,66 $\pm$ 4,68                           | 27,95                                 | 19,70                                  | 32,93                                   |
| Grup 2<br>(n=6) | 23,94 $\pm$ 7,56                           | 21,61                                 | 15,08                                  | 34,50                                   |
| Grup 3<br>(n=6) | 41,52 $\pm$ 10,81 <sup>a,c</sup>           | 37,40                                 | 30,97                                  | 60,24                                   |
| Grup 4<br>(n=6) | 41,69 $\pm$ 9,29 <sup>b,d</sup>            | 40,40                                 | 33,09                                  | 58,35                                   |

a : p=0,004 (Grup 1 ile Grup 3'ün karşılaştırılması)

b : p=0,002 (Grup 1 ile Grup 4'ün karşılaştırılması)

c : p=0,009 (Grup 2 ile Grup 3'ün karşılaştırılması)

d : p=0,009 (Grup 1 ile Grup 4'ün karşılaştırılması)



Şekil 4.18. Karaciğer LDH aktivitesi

#### 4.16. Korelasyon Analizi

Parametreler arasındaki korelasyonu incelemek amacıyla yaptığımız spearman korelasyon analizi Çizelge 4.16'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.16. Spearman korelasyon analizi sonuçları (r ve p değerleri).

|               |   | ChE     | AOPP   | Katalaz | TNF- $\alpha$ | PON1    | TOS     | Glikojen | ALT    | AST    | LDH    |
|---------------|---|---------|--------|---------|---------------|---------|---------|----------|--------|--------|--------|
| ChE           | r | 1,000   | ,211   | -,148   | -,254         | ,659**  | -,197   | -,584**  | ,081   | ,153   | ,120   |
|               | p | .       | ,321   | ,489    | ,231          | ,000    | ,356    | ,003     | ,707   | ,475   | ,576   |
| AOPP          | r | ,211    | 1,000  | ,763**  | ,316          | -,244   | ,515**  | ,161     | ,830** | ,775** | ,883** |
|               | p | ,321    | .      | ,000    | ,133          | ,250    | ,010    | ,454     | ,000   | ,000   | ,000   |
| Katalaz       | r | -,148   | ,763** | 1,000   | ,528**        | -,430*  | ,572**  | ,398     | ,851** | ,719** | ,838** |
|               | p | ,489    | ,000   | .       | ,008          | ,036    | ,003    | ,054     | ,000   | ,000   | ,000   |
| TNF- $\alpha$ | r | -,254   | ,316   | ,528**  | 1,000         | -,278   | ,308    | ,204     | ,442*  | ,439*  | ,518** |
|               | p | ,231    | ,133   | ,008    | .             | ,188    | ,143    | ,339     | ,031   | ,032   | ,009   |
| PON1          | r | ,659**  | -,244  | -,430*  | -,278         | 1,000   | -,581** | -,571**  | -,322  | -,319  | -,335  |
|               | p | ,000    | ,250   | ,036    | ,188          | .       | ,003    | ,004     | ,125   | ,129   | ,110   |
| TOS           | r | -,197   | ,515** | ,572**  | ,308          | -,581** | 1,000   | ,323     | ,660** | ,703** | ,612** |
|               | p | ,356    | ,010   | ,003    | ,143          | ,003    | .       | ,124     | ,000   | ,000   | ,001   |
| Glikojen      | r | -,584** | ,161   | ,398    | ,204          | -,571** | ,323    | 1,000    | ,320   | ,220   | ,230   |
|               | p | ,003    | ,454   | ,054    | ,339          | ,004    | ,124    | .        | ,127   | ,302   | ,279   |
| ALT           | r | ,081    | ,830** | ,851**  | ,442*         | -,322   | ,660**  | ,320     | 1,000  | ,875** | ,914** |
|               | p | ,707    | ,000   | ,000    | ,031          | ,125    | ,000    | ,127     | .      | ,000   | ,000   |
| AST           | r | ,153    | ,775** | ,719**  | ,439*         | -,319   | ,703**  | ,220     | ,875** | 1,000  | ,902** |
|               | p | ,475    | ,000   | ,000    | ,032          | ,129    | ,000    | ,302     | ,000   | .      | ,000   |
| LDH           | r | ,120    | ,883** | ,838**  | ,518**        | -,335   | ,612**  | ,230     | ,914** | ,902** | 1,000  |
|               | p | ,576    | ,000   | ,000    | ,009          | ,110    | ,001    | ,279     | ,000   | ,000   | .      |

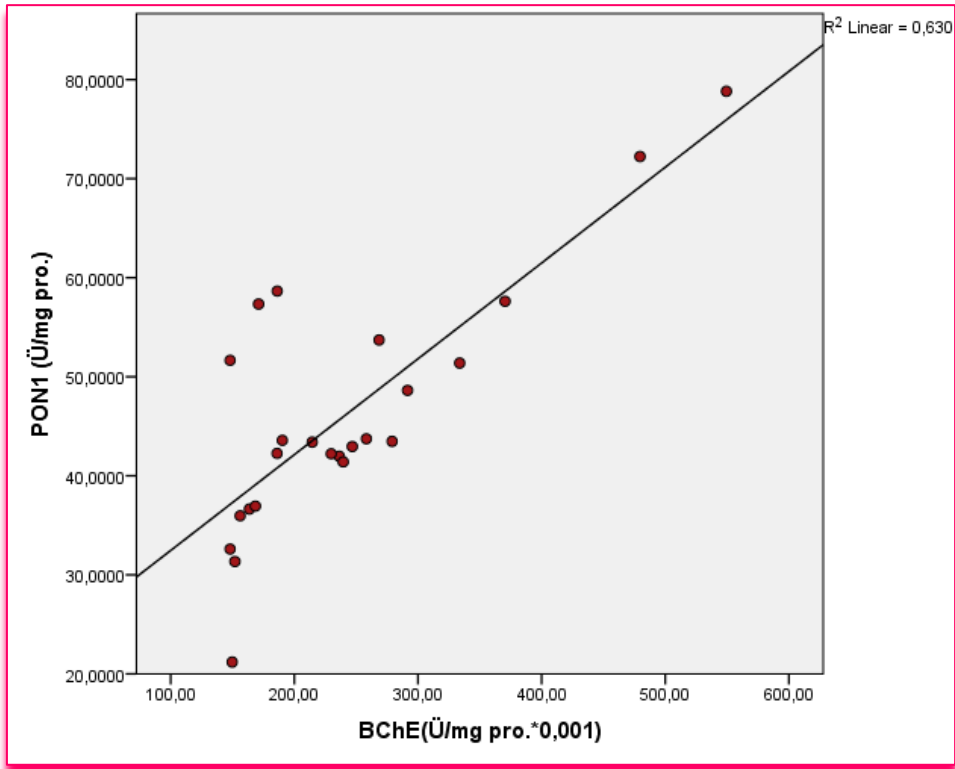
\*\* Güçlü korelasyon

\* Zayıf korelasyon

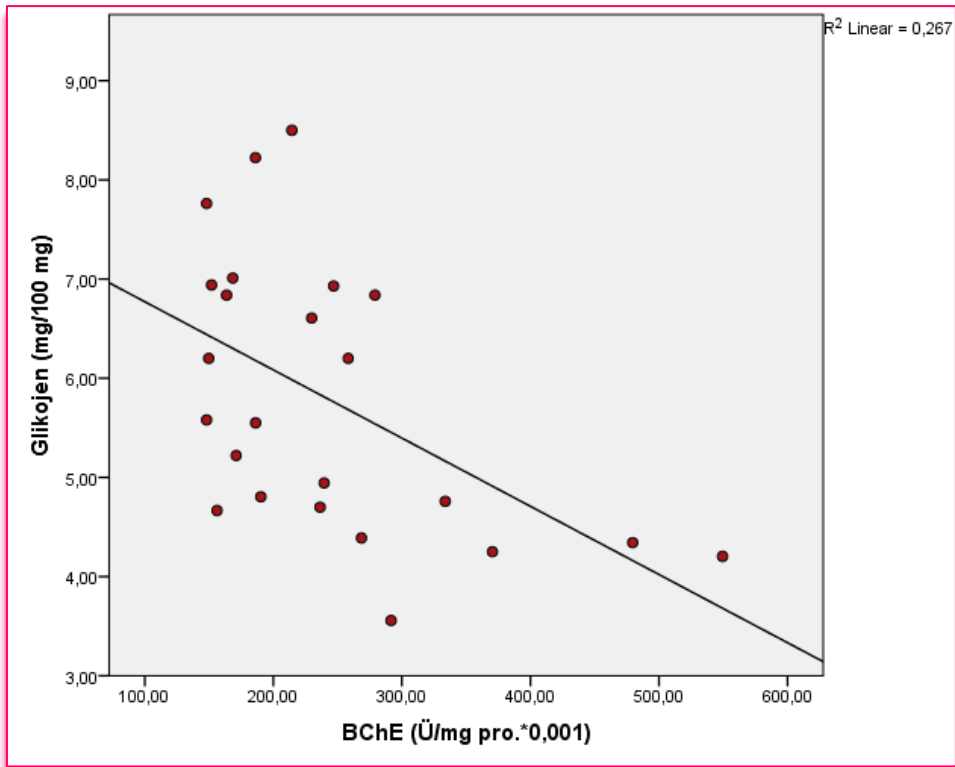
Spearman korelasyon analiz sonuçlarına göre;

- ✓ Karaciğer ChE ve PON1-ARE aktivitesi arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Karaciğer ChE aktivitesi azalırken PON1-ARE aktivitesi de azalmaktadır (r = 0,659 p = 0,00), (Şekil 4.19.).

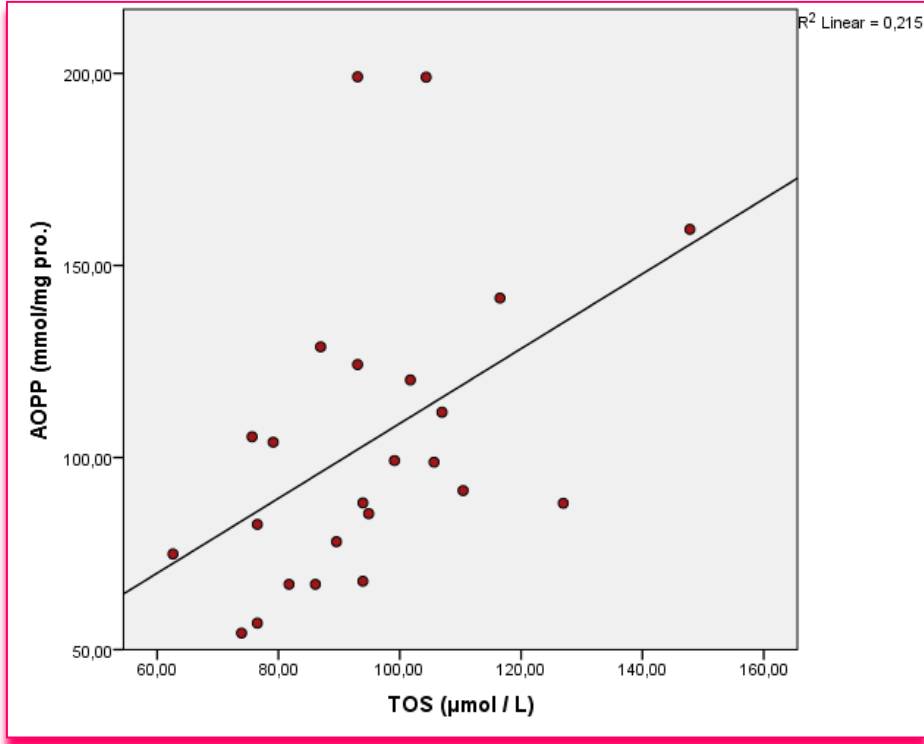
- ✓ Karaciğer ChE aktivitesi glikojen düzeyi arasında negatif korelasyon bulunmuştur. Karaciğer ChE aktivitesi azalırken glikojen düzeyi de artmaktadır ( $r = -0,584$   $p = 0,03$ ), (Şekil 4.20.).
- ✓ Karaciğer TOS ve AOPP düzeyi arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Karaciğer TOS düzeyi artarken AOPP düzeyi de artmaktadır ( $r = 0,515$   $p = 0,01$ ), (Şekil 4.21).
- ✓ Karaciğer TOS düzeyi ve katalaz aktivitesi arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Karaciğer TOS düzeyi artarken katalaz aktivitesi de artmaktadır ( $r = 0,572$   $p = 0,003$ ), (Şekil 4.22).
- ✓ Karaciğer TOS düzeyi ve PON1-ARE arasında negatif korelasyon bulunmuştur. Karaciğer TOS düzeyi artarken PON1-ARE de azalmaktadır ( $r = -0,581$   $p = 0,003$ ), (Şekil 4.23).
- ✓ Karaciğer AOPP düzeyi ve katalaz aktivitesi arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Karaciğer AOPP düzeyi artarken katalaz aktivitesi de artmaktadır ( $r = 0,763$   $p = 0,000$ ), (Şekil 4.24).
- ✓ Karaciğer PON1-ARE ve glikojen miktarı arasında negatif korelasyon bulunmuştur. Karaciğer PON1-ARE azalırken glikojen miktarı da artmaktadır ( $r = -0,571$   $p = 0,003$ ), (Şekil 4.25).
- ✓ Karaciğer TNF- $\alpha$  düzeyi ve katalaz aktivitesi arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Karaciğer TNF- $\alpha$  düzeyi artarken katalaz aktivitesi de artmaktadır ( $r = 0,528$   $p = 0,008$ ), (Şekil 4.26).
- ✓ Karaciğer ALT ve AST aktivitesi arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Karaciğer ALT aktivitesi artarken AST aktivitesi de artmaktadır ( $r = 0,875$   $p = 0,000$ ), (Şekil 4.27).
- ✓ Karaciğer ALT ve LDH aktivitesi arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Karaciğer ALT aktivitesi artarken LDH aktivitesi de artmaktadır ( $r = 0,914$   $p = 0,000$ ), (Şekil 4.28).
- ✓ Karaciğer AST ve LDH aktivitesi arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Karaciğer AST aktivitesi artarken LDH aktivitesi de artmaktadır ( $r = 0,902$   $p = 0,000$ ), (Şekil 4.29).



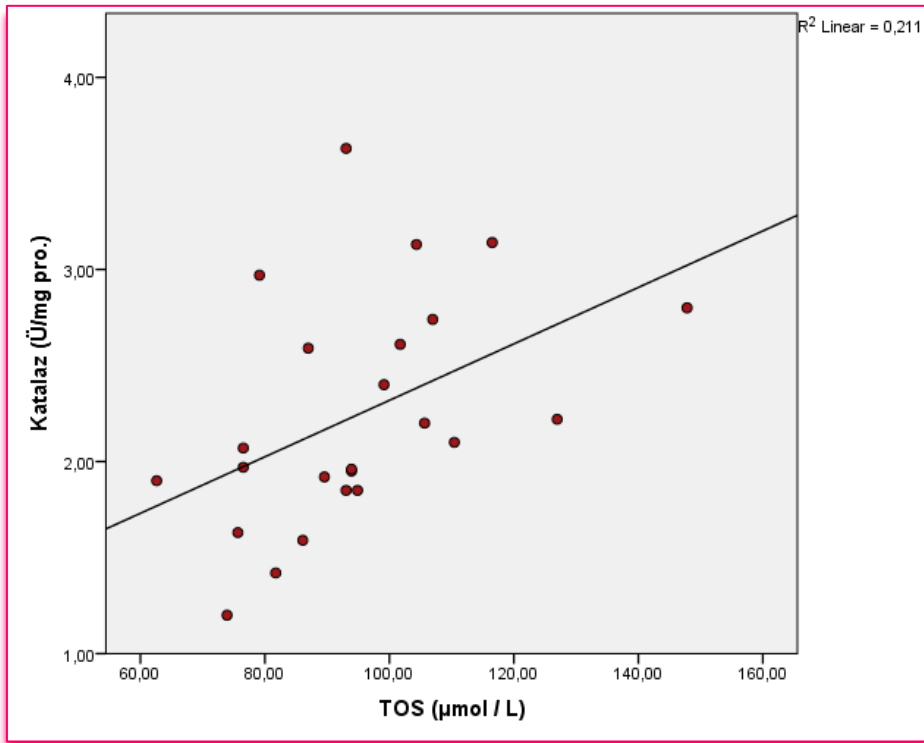
Şekil 4.19. Karaciğer ChE aktivitesi ve PON1-ARE arasındaki korelasyon



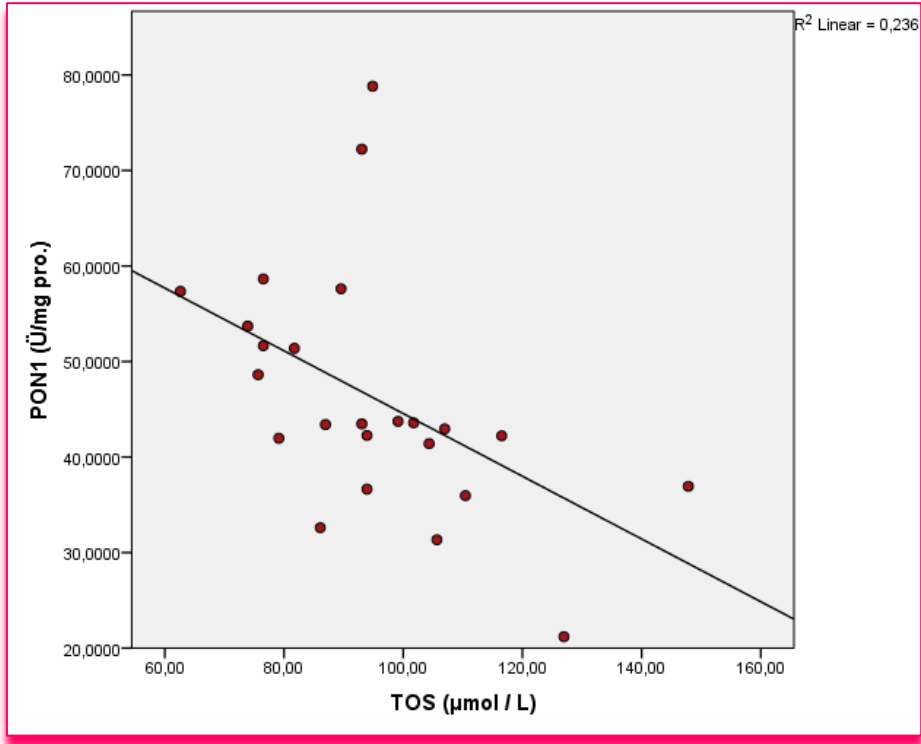
Şekil 4.20. Karaciğer ChE aktivitesi ve glikojen düzeyi arasındaki korelasyon



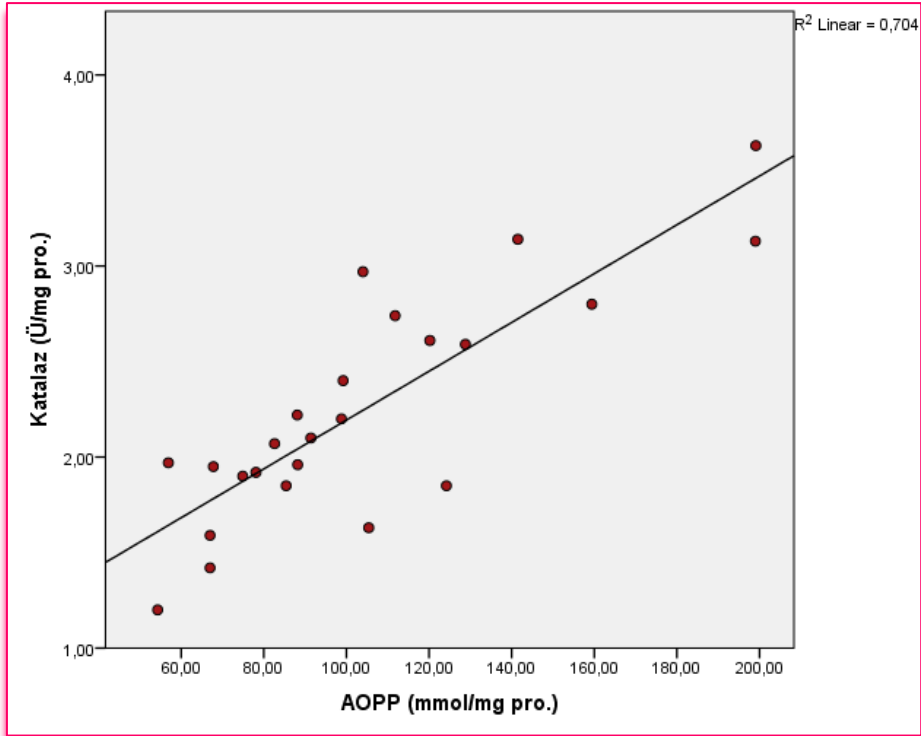
Şekil 4.21. Karaciğer TOS ve AOPP düzeyi arasındaki korelasyon



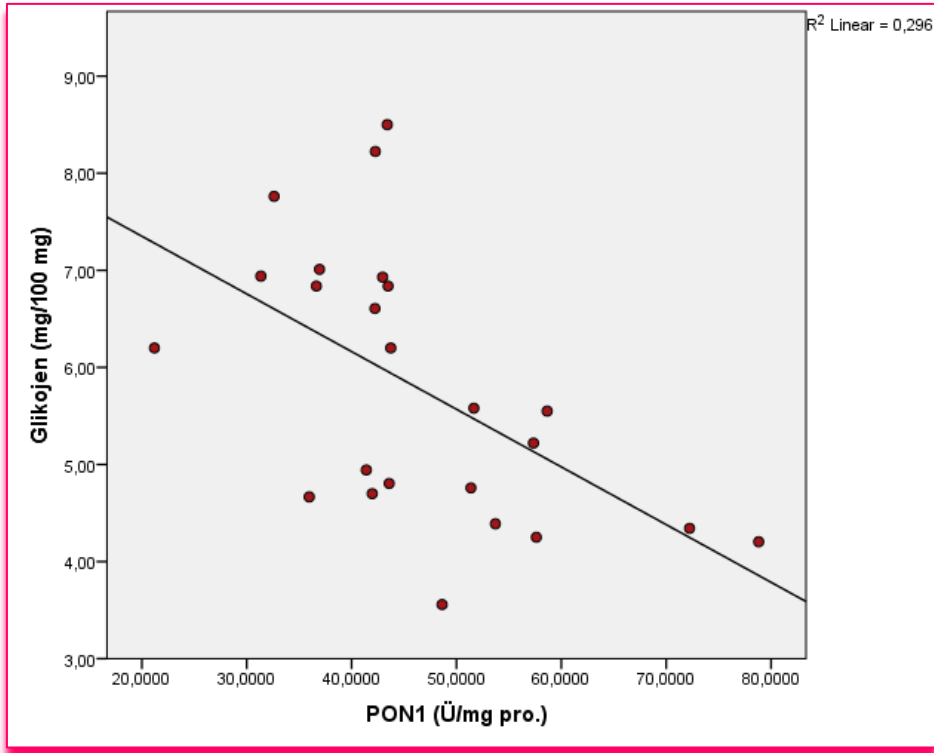
Şekil 4.22. Karaciğer TOS düzeyi ve katalaz aktivitesi arasındaki korelasyon



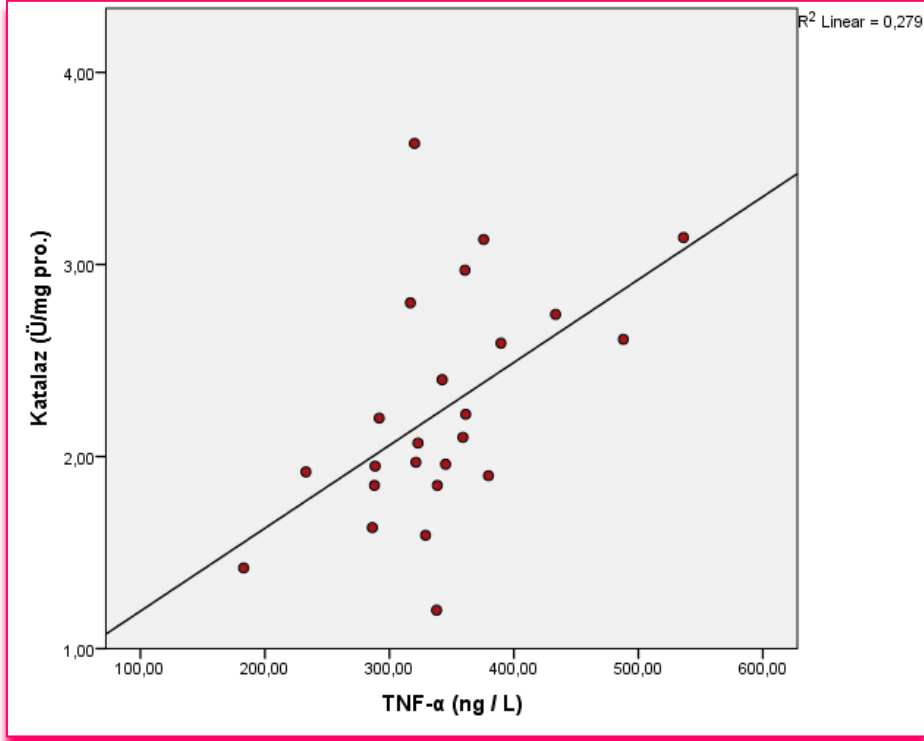
Şekil 4.23. Karaciğer TOS düzeyi ve PON1-ARE arasındaki korelasyon



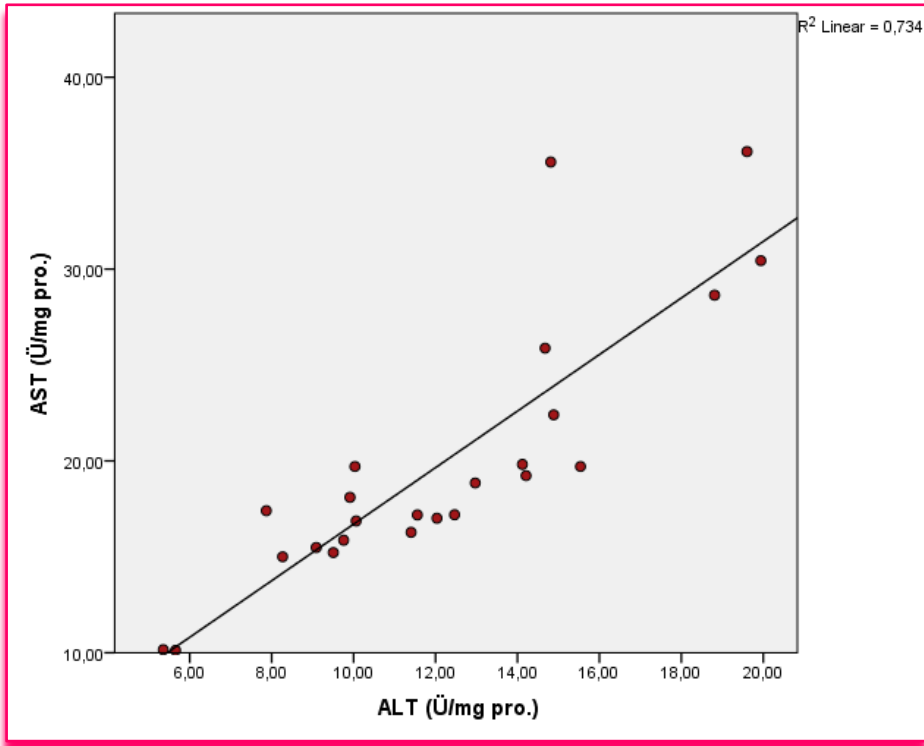
Şekil 4.24. Karaciğer AOPP düzeyi ve katalaz aktivitesi arasındaki korelasyon



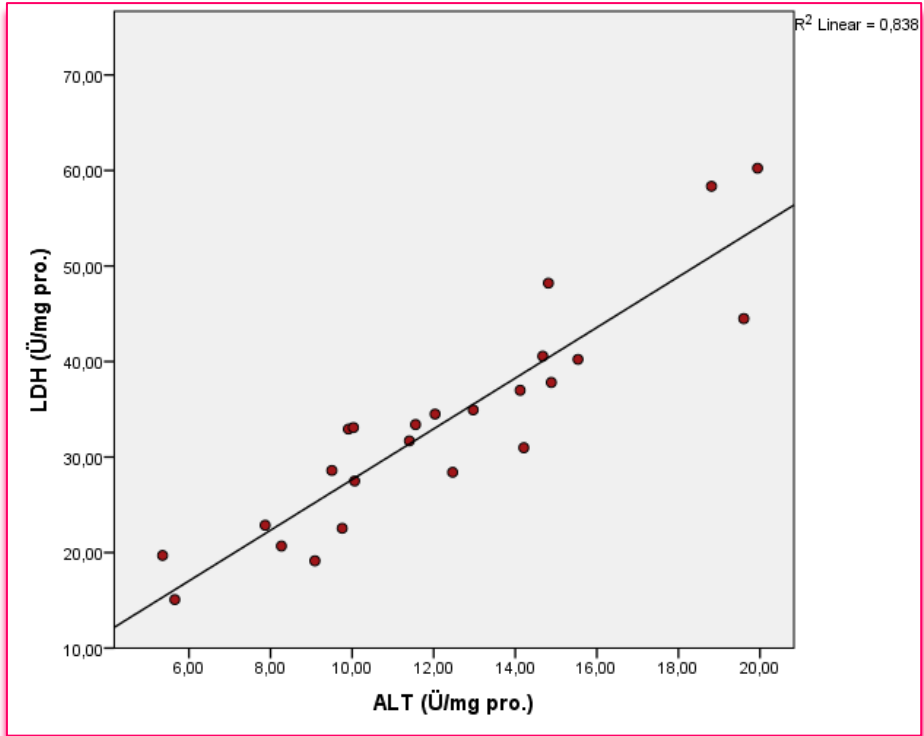
Şekil 4.25. Karaciğer PON1-ARE ve glikojen miktarı arasındaki korelasyon



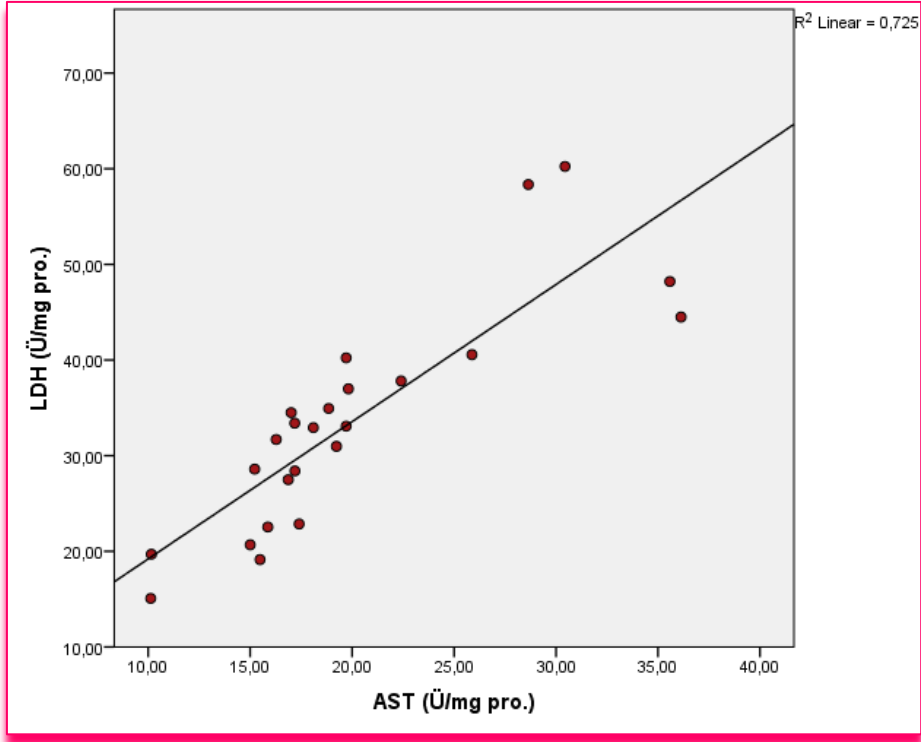
Şekil 4.26. Karaciğer TNF- $\alpha$  düzeyi ve katalaz aktivitesi arasındaki korelasyon



Şekil 4.27. Karaciğer ALT ve AST aktivitesi arasındaki korelasyon



Şekil 4.28. Karaciğer ALT ve LDH aktivitesi arasındaki korelasyon



Şekil 4.29. Karaciğer AST ve LDH aktivitesi arasındaki korelasyon



## 5. TARTIŞMA

Organofosfatlar tarım, ilaç ve diğer endüstri alanlarında yaygın olarak kullanılan pestisitlerdir. Ancak organofosfatların sebze, meyve ve tahıl üzerindeki kalıntıları insanlar ve diğer canlıların sağlığını tehdit etmektedir (El-Demerdash ve Nasr, 2014). Organofosfatlar su ve toprak yoluyla taşınırken ekosistemdeki besin zincirinin alt basamağındaki canlılardan üst basamağındaki canlılara doğru iletilmekte ve bu kalıntıların biyolojik birikimi giderek artmaktadır. Sonuç olarak insan da dahil olmak üzere bütün canlılar organofosfat zehirlenmelerinden direkt ya da dolaylı yollardan etkilenmektedir (Güler ve Çobanoğlu, 1997: 12-14). Epidemiyolojik çalışmalar organofosfatların akut ve uzun süreli toksik etkisinin organ hasarına neden olduğu göstermektedir (Banarjee ve diğerleri, 1988).

Malathion bütün dünyada özellikle gelişmekte olan ülkelerde yaygın olarak kullanılan organofosfat grubuna dahil bir pestisittir. Malathion eklembacaklılar şubesine ait canlıların oluşturduğu zararları ya da hastalıkları ortadan kaldırmak için kullanılmaktadır. Malathion aynı zamanda ektoparazitler ve evdeki böcekler ile mücadelede, ayrıca tahıl ürünlerinin bozulmadan saklanabilmesi için de kullanılmaktadır (Suresh ve diğerleri, 2006). Malathion bu alanlarda yaygın olarak kullanılmasına rağmen insan ve hayvanlarda birçok toksik etkisi bulunmaktadır. Malathion'un başlıca toksik etkilerinden biri kolinesteraz enzimini inhibe etmesidir. Malathion'a akut ve kronik maruz kalan insanlarda ciddi kolinesteraz inhibisyonu görülmüştür (Gosselin ve diğerleri, 1984: 5-45; Gallo, 1991: 3-5). Malathion'un diğer önemli toksik etkisi ise ROT'u artırarak birçok dokuda hücre membranı ve hücre bileşenlerine zarar vermesidir (El-Demerdash, 2011b).

Ancak Malathion'un kronik uygulaması ile ilgili birçok ayrıntılı çalışma bulunurken akut uygulamasında doz artışı ve yüksek doza bağlı olarak karaciğer hasarını ayrıntılı olarak gösteren çalışmalara ihtiyaç vardır. Birçok açıdan farklı doz uygulamaları ve karaciğer hasarı moleküler mekanizmasının aydınlatılması gerekmektedir.

Bu amaçla çalışmamızda, rat karaciğer dokusunda oksidan ve antioksidan sistem, inflamatuvar belirteçler, bazı enzimler ve bazı moleküller üzerinde Malathion'un akut toksik etkisi ile bu parametrelerin birbiri üzerindeki olası etkilerini araştırdık. Karaciğer

dokusunda histolojik görüntüleri de inceleyerek Malathion'un hepatoksik etkilerini ayrıntılı olarak irdeledik.

Çalışmamızda Malathion'un 24 saat sonra (akut) karaciğer hasarını ayrıntılı olarak açıklamak için kontrol grubu (Grup1), 100 mg/kg (Grup 2), 200 mg/kg (Grup 3) ve 400 mg/kg (Grup 4) doz grupları oluşturduk.

Rezg ve diğerlerinin (2008), yaptığı çalışmada akut süreli Malathion'un 100 mg/kg dozunda serum AChE inhibisyonunun arttığı belirtilmiştir. Akhgari ve diğerleri (2003), Hazarika ve diğerleri (2003), Mostafalou ve diğerlerinin (2012) ratlar üzerinde yaptığı çalışmada kronik ve subkronik Malathion uygulamalarının karaciğer ChE aktivesini inhibe ettiğini bildirmiştir.

Literatürü taradığımızda karaciğer AChE ya da akut dozda karaciğer ChE aktivitesini inceleyen bir makaleye rastlamadık. Biz çalışmamızda karaciğer AChE aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlemleyemedik ( $p>0.05$ ) fakat karaciğer ChE aktivitesi için gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ( $p<0.05$ ). Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'ün, Grup 1'e göre karaciğer ChE aktivitesinin anlamlı olarak azaldığını gözlemledik ( $p<0.013$ ). Kontrol grubuna göre ortalama karaciğer ChE aktivitesinin 100, 200, 400 mg/kg değerleri için sırasıyla %53, %43, %51 inhibe olduğunu gösterdik. Bütün gruplarda AChE aktivitesi anlamlı değişmezken ChE aktivitesi yarı yarıya inhibe olmuştur. Gruplar arasında AChE aktivitesinin anlamlı değişmemesinin nedeni ise karaciğer AChE aktivitesinin az olmasına dayandırılabilir. Biz çalışmamızda Malathion'un kronik uygulamalarının yanı sıra akut uygulamada da karaciğer ChE aktivitesinin inhibe olduğunu göstermiş olduk.

Malathion'un ratlar ile yapılan subkronik uygulamasında karaciğer lipit peroksidasyonunun anlamlı olarak arttığı farklı çalışmalarda gösterilmiştir (Rezg ve diğerleri, 2008; Akhgari ve diğerleri, 2003, Possamai ve diğerleri, 2007). Ancak Possamai ve diğerleri (2007), Malathion'un 100 mg/kg ve 150 mg/kg akut uygulamasında ratların karaciğerinde lipit peroksidasyonunda anlamlı bir değişim olmadığını bildirirken Al-Othman ve diğerleri (2011), akut Malathion 27 mg/kg uygulamasında MDA değerinin anlamlı olarak yükseldiğini bildirmiştir. Possamai ve diğerleri (2007), protein oksidasyonunu gösteren protein karbonil içeriğinin 50 mg/kg akut dozda arttığını

belirtmiştir ancak 100 mg/kg ve 150 mg/kg dozlarında herhangi bir değişim bildirilmemiştir.

Biz çalışmamızda, her bir grup kendi aralarında karşılaştırıldığında karaciğer MDA düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamadık ( $p > 0.05$ ). Çalışmamız MDA düzeyinin istatistiksel anlamlı değişim göstermemesi yönüyle Possamai ve diğerleri (2008) ile uyum göstermektedir.

Malathion indüklenmesiyle ilgili, akut ve kronik dozlarda, serum ya da dokularda AGEs düzeyinin çalışıldığı bir makaleye rastlamadık. Hiperglisemi ile birlikte enzimatik olmayan glikasyon reaksiyonunun arttığı ve oksidatif stresin indüklendiği birçok çalışmada gösterilmiştir (Luévano-Contreras ve diğerleri, 2013; Koutroumani ve diğerleri 2013; Uribarri ve diğerleri, 2011). Çalışmamızda her bir grup kendi aralarında karşılaştırıldığında karaciğer AGEs düzeyinde de istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p > 0.05$ ). Karaciğer AGEs düzeyinin değişimi için kronik doz uygulamalarında yapılacak olan ileriki çalışmaların kurgulanması gerektiğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda kontrol ve doz gruplarının her biri kendi aralarında karşılaştırıldığında ileri protein oksidasyonunu gösteren karaciğer AOPP düzeyinde gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Karaciğer AOPP düzeyinin Grup 3 ve Grup 4'te Grup 2'ye göre anlamlı olarak arttığını ( $p < 0.013$ ), Grup 1'e göre de anlamlı olmayan artış olduğunu gözlemledik ( $p > 0.013$ ). 200 ve 400 mg/kg doz grubunun kontrol grubuna göre artış göstermiştir fakat bu değişim istatistiksel olarak anlamlı değildir. İstatistiksel olarak farkın anlamlılığı bulunamamasının nedeni örneklem sayımızın düşük olması olabilir.

Literatür tarandığında bu zamana kadar Malathion indüklenmesiyle ilgili, akut ve kronik dozlarda, serum ya da dokularda direkt TOS düzeyinin çalışıldığı bir makaleye rastlamadık. Total oksidan durumunun bütün oksidasyon ürünlerini göstermesi açısından önemli olduğunu düşündük. Çalışmamızda, her bir grup kendi aralarında karşılaştırıldığında, karaciğer TOS düzeyinde gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında Grup 4'ün, Grup 1'e ve Grup 2'ye göre karaciğer TOS düzeyinin anlamlı olarak arttığı ( $p < 0.013$ ); aynı zamanda Grup 3'ün, Grup 2'ye göre karaciğer TOS düzeyinin anlamlı olarak arttığı bulunmuştur ( $p < 0.013$ ).

Sperman korelasyon analiz sonuçlarına göre karaciğer AOPP düzeyi ve TOS düzeyi arasında güçlü anlamlı korelasyon bulunmuştur ( $p < 0,01$ ). Karaciğer ileri protein ve total oksidasyonun birlikte arttığı göstermektedir. Total oksidasyonun; lipid, protein, nükleik asit ve diğer bazı molekül oksidasyon ürünlerinin bütünü olarak düşünüldüğünde protein oksidasyon ürününün total oksidasyona önemli katkısı olduğunu düşünülebilir.

Malathion'un subkronik uygulamasında Aboul-sould ve diğerlerinin (2011) yaptığı çalışmada ratların karaciğerinde katalaz ve SOD aktivitesinin azaldığı gözlenmiştir. Benzer şekilde, Possamai ve diğerlerinin (2007) yaptığı çalışmada ratların karaciğerinde Malathion'un 25 mg/kg ve 50 mg/kg akut dozlarında SOD aktivitesinin azaldığı gözlenmiştir. Benzer sonuçlar Al-Othman ve diğerlerinin (2011) yaptığı çalışmada da gösterilmiştir. Akut Malathion 27 kg/mg uygulamasında karaciğer katalaz ve SOD aktivitelerinin azaldığı bildirilmiştir. Ancak Malathion'un akut uygulamada daha yüksek doz ile çalışılan oksidatif stres ve birincil antioksidan enzimlerin aktivitesi arasında ilişkiyi araştıran bir araştırmaya literatürde rastlanılmamıştır.

Organofosfatların akut uygulamada antioksidan enzimlerin arttığını gösteren araştırmalara karşın Sharma ve diğerlerinin (2005) yaptığı çalışmada bir organofosfat olan Dimethoate'ın akut uygulamasında karaciğer katalaz ve SOD aktivitesinin arttığını belirtmiştir.

Bizde çalışmamızda SOD enzim aktivitesinin Grup 3 ve Grup 4'te Grup 2 ve Grup 1'e göre anlamlı olmayan bir artış gözlemledik. Buna rağmen gruplar arasında, istatistiksel olarak farkın anlamlılığı açısından herhangi bir ilişki saptamadık ( $p > 0.05$ ). Karaciğer katalaz aktivitesinde ise bütün gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında Grup 3 ve Grup 4'ün, Grup 1'e göre karaciğer katalaz enzim aktivitesinin anlamlı olarak yükseldiği bulunmuştur ( $p < 0.013$ ).

Organofosfatların akut uygulamasında karaciğer sitokrom P450 enzimlerinin aktivitesi artmaktadır (Sharma ve diğerleri, 2005). Sitokrom P450 enzimleri monooksijenazlardır ve artan karaciğer monooksijenazlar aktivitesi organofosfat substratındaki oksijen molekülünün oksidasyonunu katalizleyerek ROT'un artışını tetiklemektedir (Sharma ve diğerleri, 2005; White ve diğerleri, 1991). Łukaszewicz-Hussain ve Moniuszko-Jakoniuk (2003), yaptığı çalışmada bir organofosfat olan Chlorfenvinphos'un akut uygulamasıyla

hepatik  $O_2^{\cdot -}$  artışı ile mitokondriyal akonitaz aktivitesinin azaldığını ve ROT'un artışına katkı sağladığını bildirmiştir. Chlorfenvinphos uygulamasından 24 saat sonra artan süper oksit anyonuna bağlı olarak karaciğer SOD ve katalaz aktivitesinin birlikte arttığını bildirmiştir (Łukaszewicz-Hussain, 2001). Łukaszewicz-Hussain ve Moniuszko-Jakoniuk (2004), chlorfenvinphos uygulamasından 24 saat sonra katalaz aktivitesinin arttığını 48 saat sonra ise azalarak kontrol grubu ile yakın seviyeye geldiğini belirtmiştir. Organofosfat uygulamasından sonra artan  $H_2O_2$  toksik etkisine karşı katalaz ve GSH-Px aktivitesinin birlikte arttığı 48 saat sonra ise azalan  $H_2O_2$  için GSH-Px aktivitesi yeterli olduğu için katalaz aktivitesinin kontrol grubu seviyesine geldiğini belirtmiştir. Sonuç olarak organofosfat uygulamasından 24 saat sonra artan karaciğer ROT'a karşı antioksidan enzimlerden olan katalaz, SOD ve GSH-Px aktivelerinin birlikte arttığı çıkarılabilir. Subkronik uygulamalarda ise sürekli artan ROT'un bu antioksidan enzimlerin aktivesini azaltabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızın korelasyon analizi sonuçlarına göre karaciğer TOS ve katalaz arasında güçlü anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur ( $p<0,01$ ). Aynı şekilde AOPP ve katalaz arasında güçlü anlamlı pozitif korelasyon bulunmuştur ( $p<0,01$ ). Sonuç olarak doz artışı ile birlikte artan karaciğer TOS ve AOPP, karaciğer katalaz aktivesini de artırdığını düşünebiliriz. Yapılan diğer çalışmalar artan ROT'u lipid peroksidasyonu ile ilişkilendirmiştir (Sharma ve diğerleri, 2005; Łukaszewicz-Hussain, 2001; Łukaszewicz-Hussain ve Moniuszko-Jakoniuk, 2003; Łukaszewicz-Hussain ve Moniuszko-Jakoniuk, 2004). Biz çalışmamızda lipid peroksidasyonunun artışı gözleyemedik ancak protein oksidasyonu ve total oksidasyonun artışı 200 ve 400 mg/kg dozda arttığını gözlemledik. Diğer çalışmalarda ROT'un artışı artan lipid peroksidasyonu ile belirtmiş olması bizim çalışmamızda artan TOS ve AOPP düzeyi ile benzerlik kurabiliriz. Bunun sonucu olarak da katalaz aktivitesini indüklediğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızın artan antioksidan enzimlerin sonuçları açısından Sharma ve diğerleri (2005), Łukaszewicz-Hussain (2001), Łukaszewicz-Hussain ve Moniuszko-Jakoniuk (2003), Łukaszewicz-Hussain ve Moniuszko-Jakoniuk (2004) paralellik göstermektedir ancak Possamai ve diğerlerinin (2007) ve Al-Othman ve diğerlerinin (2011) araştırma sonuçları ile uyum göstermemektedir. Üstelik sonuçlarımızla uyumluluk gösteren çalışmalar Malathion'dan farklı organofosfat grubuyla ile yapılmıştır. Bunun nedeni ise bizden önce Malathion'un akut uygulamasıyla yapılan, karaciğer antioksidan enzim aktivitelerini

gösteren çalışmalar, düşük doz uygulamalarıyla yapılmış olması olabilir. Bizim çalışmamızda Malathion'un akut 100 mg/kg doz uygulaması oksidatif stres ve antioksidan enzimlerinin farkın anlamlılığını göstermemektedir. Karaciğer oksidatif stres ve katalaz enzim aktivesinin belirgin olarak artışı 200 mg/kg doz uygulamasından sonra gözlemledik. Sonuç olarak, biz çalışmamızda Malathion'un akut 200 ve 400 mg/kg yüksek doz uygulamasında karaciğer ROT artışı ve buna bağlı olarak antioksidan enzimlerin arttığını göstermiş olduk.

Acker ve Nogueira (2012), yaptığı çalışmada Chlorpyrifos akut uygulamasında serum PON1-PON aktivitesinin anlamlı olarak azaldığını göstermiştir. Łukaszewicz-Hussain (2012), yaptığı Chlorpyrifos subkronik uygulamasından sonra ratların serum lipid peroksidasyonunun artışı ile birlikte PON1-PON aktivitesinin anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir. Literatür tarandığında bu zamana kadar Malathion'un akut uygulamasıyla karaciğer PON1-PON ya da PON1-ARE aktivesini belirleyen çalışmaya rastlamadık.

Karaciğer doku PON1-ARE aktivitesinin bütün gruplar arasında farkın anlamlılığı bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında Grup 3 ve Grup 4'ün, Grup 1'e göre karaciğer doku PON1-ARE aktivitesinin anlamlı olarak azaldığı bulunmuştur ( $p<0.013$ ). Korelasyon analizi sonuçlarına göre karaciğer doku PON1-ARE aktivitesinin, TOS düzeyi ile arasında güçlü anlamlı negatif korelasyon bulunmuştur ( $p<0,01$ ). TOS düzeyi artarken belirgin olarak PON1-ARE enzim aktivitesi azalmıştır ( $p<0.01$ ). Biz çalışmamızda ilk kez Malathion'un 200 mg/kg ve 400 mg/kg akut uygulamasıyla koruyucu bir antioksidan enzim olan PON1-ARE aktivesinin artan TOS ile birlikte belirgin olarak azaldığını belirlemiş olduk.

Akgür ve diğerlerinin (2003) yaptığı çalışmada organofosfat akut zehirlenmesine maruz kalan insanların serumunda PON1-PON aktivesi ve ChE arasında anlamlı korelasyon izlenmiştir. Akgür ve diğerlerinin (1999), daha önceki kronik çalışmasında PON1-PON aktivesi ve AChE arasında anlamlı korelasyon bulunamamıştır. PON1 aktivesinin organofosfatlar ile akut zehirlenmelerde kronik zehirlenmelere göre daha etkin koruyucu rol oynadığı belirtilmiştir (Akgür ve diğerleri, 2003).

Bizde çalışmamızda karaciğer PON1-ARE ve ChE aktivesi arasında güçlü pozitif korelasyon gözlemledik ( $p<0,01$ ). Malathion'un akut uygulamasında artan doz ile birlikte ratların karaciğer ChE ve PON1-ARE aktivesinin birlikte azaldığını göstermiş olduk.

Deneysel çalışmalar organofosfatların kronik uygulamalarında ratların beyin, langerhans adacıkları, makrofaj ve serum TNF- $\alpha$  düzeyinin yükselmesiyle inflamasyonun arttığını göstermiştir (Ahmet ve diğerleri, 2013; Ghafour-Rashidi ve diğerleri, 2007; Ayub ve diğerleri, 2003; Hariri ve diğerleri, 2010). Gordon ve Rowsey (1999), Chlorpyrifosun akut uygulamasında serum TNF- $\alpha$  düzeyinin arttığını bildirmiştir. Paralel olarak Lu ve diğerleri (2010), bir organofosfat olan Omethoate'nın akut uygulamasıyla karaciğer TNF- $\alpha$  düzeyinin arttığını göstermiştir. Mostafalou ve diğerlerinin (2012), yaptığı çalışmada Malathion'un kronik etkisiyle karaciğer TNF- $\alpha$  düzeyinin arttığını bildirilmiştir.

Literatür tarandığında Malathion'un akut uygulamasıyla karaciğer TNF- $\alpha$  düzeyini araştıran bir makaleye rastlanılmamıştır. Bizim çalışmamızda karaciğer TNF- $\alpha$  düzeyi için bütün gruplar arasında farkın anlamlılığı bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında Grup 4'ün, Grup 1'e göre karaciğer doku TNF- $\alpha$  düzeyinin belirgin olarak arttığı bulunmuştur ( $p<0.013$ ). Biz çalışmamızda Malathion'un belirgin olarak 400 mg/kg doz uygulamasında karaciğer TNF- $\alpha$  düzeyinin arttığını göstermiş olduk.

Elsheikhaa ve diğerleri (2008), Malathion'un yüksek kronik doz uygulamasının farelerin karaciğer dokularında vakuoler ve hidropik dejenerasyon, yuvarlak hücreler agregasyonu ve koagülatif nekroz sızıntısı hasarına yol açtığı belirtmiştir. Benzer sonuçları Al-Attar (2010)'da ratlarda gözlemiştir. Kalender ve diğerlerinin (2010), yaptığı çalışmada Malathion'un kronik doz uygulamasında ratların karaciğer hasarını gösteren serum ALT, AST, LDH, ALP yükselişi ile birlikte belirgin sinüzoitler görülmüştür.

Malathion'un akut uygulamasıyla karaciğer histolojik incelemeler yapan çalışmalara literatürde rastlanamamıştır ancak Malathion'dan farklı akut organofosfatlar uygulamalarında gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Lu ve diğerleri (2010), Omethoate'ın akut uygulamasında karaciğerde şişlik ve şekil bozukluğu gözlemiştir. Gökçimen ve diğerleri (2007), Diazinon'un akut 200 mg/kg doz uygulamasında değişmeyen serum ALT, AST ve artan serum LDH ile birlikte nekrotik boşluklar izlemiş, daha düşük doz uygulamalarında ise histolojik değişimler izlememiştir.

Malathion akut uygulamasıyla karaciğer histolojik değişimini gösteren çalışmalara literatürde rastlanmamıştır. Biz, karaciğerde histolojik incelememizde Malathion'un akut doz uygulamasında Grup 4'te (400 mg/kg) vakuoler ve hidropik dejenerasyon gözlemledik ancak daha düşük doz uygulamalarında histolojik değişimler gözlemedik. Sonuçlara bakıldığında Grup 3'te (200 mg/kg) karaciğer ROT'un artışı gözlemlenirken belirgin olarak karaciğer TNF- $\alpha$  düzeyi değişimi gözlenmemiştir. 400 mg/kg doz uygulamasında artan ROT ile birlikte inflamasyonun da arttığını ve karaciğerde histolojik değişimlere neden olduğunu düşünebilir.

Yapılan deneysel çalışmalar Malathion'un kronik uygulamasının karaciğer karbonhidrat metabolizmasını değiştirdiğini ve karaciğer glikojen oranını arttırdığını göstermiştir (Abdollahi ve diğerleri, 2004; Rezg ve diğerleri, 2006; Rezg ve diğerleri, 2008). P. Gupta (1974), Malathion'un 50 ve 100 mg/kg doz uygulamasından 24 saat sonra kan glukoz düzeyi ile birlikte karaciğer glikojen miktarının arttığını belirtmiştir. Benzer şekilde Lasram ve diğerleri (2008), Malathion'un akut 400 mg/kg doz uygulamasında karaciğer glikojen oranının 2 saat aralıklarla arttığını, 12 saat sonra pik yaptığını ve 24 saat sonra aynı oranda kaldığını belirtmiştir. Malathion'un bu etkinliğinin glikojen fosforilaz enzim aktivitesini inhibe ettiği ve sonrasında glikojen fosforilaz enziminin antagonisti olarak çalışan glikojen sentaz enzimini aktive ederek karaciğer glikojen oranını arttırdığı belirtilmiştir (Rezg ve diğerleri, 2006).

Çalışma sonuçlarımıza göre karaciğer doku glikojen miktarının bütün gruplar arasında farkın anlamlılığı bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'te, Grup 1'e göre karaciğer doku glikojen miktarının belirgin olarak arttığı bulunmuştur ( $p<0.013$ ). Biz çalışmamızda 100, 200 ve 400 mg/kg dozlarında arttığını bir kez daha göstermiş olduk. Çalışmamızın sonuçları Gupta ve diğerleri (1997) ve Lasram ve diğerleri (2008) ile uyumluluk göstermiştir.

Biz aynı zamanda karaciğer ChE aktivitesi ve glikojen miktarı arasında güçlü anlamlı negatif korelasyon ilişkisini saptadık ( $p<0,01$ ). Karaciğer ChE aktivitesi azalırken glikojen miktarı da artmaktadır.

Benzer şekilde karaciğer PON1-ARE ve glikojen arasında da güçlü anlamlı negatif korelasyon ilişkisini saptadık ( $p<0,01$ ). Karaciğer PON1-ARE azalırken glikojen miktarı ise artmaktadır.

El-Shenawy ve diğerleri (2010), Diazinon'un kronik uygulamasında fare karaciğerinde ALT, AST, LDH aktivitelerinin anlamlı olarak azaldığını belirtmiştir. Bu durumun artan lipid peroksidasyonu sonucu hücre membranı bütünlüğünün bozulduğunu ve hücre içeriğinin dışarıya sızması ile açıklamıştır. Jebur ve diğerleri (2014), benzer olarak bir insektisit olarak kullanılan pyrethroid grubuna ait  $\beta$ -Cyfluthrin'nin kronik uygulamalarında rat karaciğerinde ALT, AST, LDH aktivitelerinin azaldığını belirtmiştir. Abdou ve diğerleri (2012), yine pyrethroid grubuna ait Cypermethrin'in kronik uygulamasında artan plazma ALT, AST, LDH aktivitesine karşılık azalan karaciğer ALT, AST, LDH aktivitesini gözlemiştir. Malathion ile karaciğer hasarını gösteren serum ALT, AST, LDH aktivitelerini gösteren çalışmalar bulunmasına karşın (Kalender ve diğerleri, 2010), literatür tarandığında bu zaman kadar Malathion'un kronik ya da akut uygulamalarında karaciğer ALT, AST, LDH aktivitelerini gösteren çalışmaya rastlanılmamıştır.

Çalışmamızda karaciğer ALT, AST, LDH aktivitelerinde bütün gruplar arasında farkın anlamlılığı bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Bizim sonuçlarımız yapılan çalışmaların tersi olarak Grup 3 ve Grup 4'ün karaciğer ALT, AST, LDH aktiviteleri Grup 1 ve Grup 2'ye göre yüksek bulunmuştur ( $p<0.013$ ). Korelasyon analiz sonuçlarına göre bu enzimler kendi aralarında ikili olarak karşılaştırıldığında güçlü anlamlı pozitif korelasyon izlenmiştir ( $p<0.01$ ). Bu durum Malathion'un akut uygulamasında hücre moleküler mekanizmasının değiştiği fakat hücre membran bütünlüğünün bozulmadığı ile açıklanabilir. Karaciğer MDA düzeyinin belirgin olarak değişmemesi de bu durumu desteklemektedir. Sonuçlarımız diğer çalışmalarla kıyaslandığında beklentimiz bu enzimlerin değişmemesi yönünde olabilirdi ancak biz çalışmamızda karaciğerde dokularında bu enzimlerin doz artışı ile birlikte arttığını gözlemledik.

Abdollahi ve diğerleri (2004), Malathion'un kronik uygulamasında artan kan glukozu ile birlikte karaciğer glikojen sentezi yolunda glikojen fosforilaz ve glukoneogenez yolunda fosfoenolpirüvat karboksikinaz (PEPCK) aktivelerinin arttığını belirtmiştir. Acker ve diğerleri (2012), Chlorpyrifos'un 24 saat uygulamasında plazma kortikosteron düzeyi,

karaciğer glikojen miktarı ve glukoneogenez yolunda tirozin aminotransferaz (TAT) ve glikoz-6 fosfataz aktivelerinin arttığını göstermiştir.

Organofosfat uygulamasının hiperglisemiye neden olduğu ve hipergliseminin de hipotalamustan kortikotropin salgılatıcı hormonu (CRH) stimüle ederek adrenokortikotropik hormonun (ACTH) salınmasını ve ACTH'ın da adrenal korteksten glukokortikoidlerin sekresyonunu artırdığı bildirilmiştir (Rahimi and Abdollahi, 2007). Glukokortikoidler ise özellikle kemirgenlerde plazma kortikosteron salınımını artırarak glukoneogenez yolunu indüklediği bildirilmiştir (Acker ve diğerleri, 2012).

Bizim çalışmamızda glukoneogenez yolu enzimleri olan karaciğer ALT, AST, LDH enzim aktivelerinin arttığını gözlemledik. Çalışmamızın sonuçları artan ALT, AST, LDH aktivelerinin glukoneogenez yolunda artan PEPCK (Abdollahi ve diğerleri, 2004) ve TAT (Acker ve diğerleri, 2012) ile benzer olduğunu düşünmekteyiz. Literatürde organofosfatların kronik uygulamasında karaciğer ALT, AST, LDH aktivelerinin arttığını bildirirken, biz çalışmamızda Malathion'un akut uygulamasında karaciğerde ALT, AST, LDH aktivelerinin arttığını ilk kez göstermiş olduk. Glukoneogenezi ile aminoasitlerden ve laktattan piruvata, piruvattan ise glukozu dönüşümünün gerçekleşebileceğini düşünmekteyiz.

Ancak spearman korelasyon sonuçlarına göre karaciğer glikojen miktarı ile ALT, AST, LDH aktiveleri arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır ( $p>0,05$ ). Artan karaciğer ALT, AST, LDH aktivitesi ve artan glikojen miktarının farklı yollardan gerçekleştiği düşünülebilir.

İleriki çalışmalarda bu mekanizmaların aydınlatılması için daha ayrıntılı çalışmalar yapılması gerektiğini düşünmekteyiz. Aynı zamanda Malathion'un akut uygulamasında karaciğer bütün glukojenik enzim aktivelerini ve biyomoleküler düzeyde tasarlanacak farklı araştırmalar ile glukoneogenez yolunun daha iyi aydınlatacağı kanaatindeyiz.

## 6. SONUÇ

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

Karaciğer AChE aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiş, ancak karaciğer ChE aktivitesi için Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'ün, Grup 1'e göre anlamlı olarak azaldığı gözlemlenmiştir. Kontrol grubuna göre ortalama karaciğer ChE aktivitesinin 100, 200, 400 mg/kg değerleri için sırasıyla %53, %43, %51 inhibe olduğu belirlenmiştir.

Oksidatif stres parametreleri incelendiğinde karaciğer MDA ve AGEs düzeyleri gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Karaciğer AOPP düzeyinin Grup 3 ve Grup 4'te Grup 2'ye göre anlamlı olarak arttığı gözlenmiştir. TOS düzeyinin ise Grup 4'ün, Grup 1 ve Grup 2'ye göre anlamlı olarak arttığı ve Grup 3'ün de Grup 2'ye göre anlamlı olarak arttığı bulunmuştur. Doz artışı ile birlikte karaciğer AOPP ve TOS düzeyleri birlikte artmaktadır.

Antioksidan enzim aktiviteleri incelendiğinde, karaciğer SOD aktivitesinde gruplar arasında istatistiksel olarak farkın anlamlılığı bulunamazken, katalaz aktivitesinde Grup 3 ve Grup 4'ün, Grup 1'e göre anlamlı olarak yükseldiği bulunmuştur. Korelasyon analizi sonuçlarına göre karaciğer AOPP ve TOS düzeyi artarken katalaz aktivitesi de artmıştır. Çalışmamız sonuçlarına göre karaciğerde diğer molekül oksidasyonlarının yanı sıra total oksidasyonun da değerlendirilmesinin önemli olduğu belirlenmiştir.

Karaciğer doku PON1-ARE aktivitesinin Grup 3 ve Grup 4'te, Grup 1'e göre azaldığı bulunmuştur. TOS düzeyi artarken PON1-ARE aktivitesi de azalmıştır. Bu sonuçlar karaciğer PON1-ARE'nin ROS artışına karşı koruma sağladığını göstermektedir. Artan doz ile birlikte ratların karaciğer ChE ve PON1-ARE aktivitesinin birlikte azaldığı gözlenmiştir.

İnflamasyonu belirlemek için seçtiğimiz karaciğer TNF- $\alpha$  düzeyinin Grup 4'te, Grup 1'e göre belirgin olarak arttığı bulunmuştur. Karaciğer histolojisi incelendiğinde Grup 4'te

vakuoler ve hidropik dejenerasyon gözlemlenmiştir. Bu durum diğer dozlarda gözlenmemiştir.

Doku glikojeni Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'te, Grup 1'e göre belirgin olarak arttığı bulunmuştur. Korelasyon sonuçlarına göre karaciğer ChE aktivitesi azalırken glikojen miktarı da artmıştır. Aynı zamanda PON1-ARE azalırken glikojen miktarı artmıştır.

Grup 3 ve Grup 4'ün karaciğer ALT, AST, LDH aktiviteleri Grup 1 ve Grup 2'ye göre yüksek bulunmuştur. Korelasyon analiz sonuçlarına göre bu enzimler kendi aralarında ikili olarak karşılaştırıldığında güçlü anlamlı pozitif korelasyon izlenmiştir.

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

Bu perspektif ile Malathion'un karaciğerde hasarına sebep olan akut dozunun insan sağlığı ve çevre üzerine meydana getirdiği olumsuz etkilerinin belirlenip bunun önüne geçilmesi, dış pazarda ve iç tüketimde tarım ürünleri için kullanılan dozu hakkında düzenleme yapılabilmesi için yeni fikirler vereceğini düşünmekteyiz.

## KAYNAKLAR

- Aebi, H. (1974). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105,121-126.
- Ahmed, M. I., Salahy, E. E., Fayed, S. T., El-Hefnawy, N. G., and Khalifa, A., (2001). Human papillomavirus infection among Egyptian females with cervical carcinoma: relationship to spontaneous apoptosis and TNF alpha. *Clinical Biochemistry*, 34(6), 491-498.
- Abdollahi, M. (2001). Poisoning with anticholinesterase insecticides in Iran. In: Anticholinesterase metabolism, neurotoxicity, and epidemiology. Hoboken, NJ: Wiley & Sons, Inc.,433-446.
- Abdollahi, M., Chan, T. S, Subrahmanyam, V., and ÖBrien, P. J.. (2003a). Effects of phosphodiesterase 3, 4, 5 inhibitors on hepatocyte cAMP levels, glycogenolysis, gluconeogenesis and susceptibility to a mitochondrial toxin. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 252, 11-205.
- Abdollahi, M., Soleimani, F. and Kangarlou, S. (2003b). A review on blood glucose variations and affecting parameters. *Middle East Pharmacy*, 11, 6-10.
- Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S. and Rezaie, A. (2004). Pesticides and oxidative stress: a review. *Medical Science Monitor*, 10, 47-141.
- Abdollahi, M., Donyavi, M., Pournourmohammadi, S. and Saadat, M. (2004). Hyperglycemia associated with increased hepatic glycogen phosphorylase and phosphoenolpyruvate carboxykinase in rats following subchronic exposure to malathion. *Comparative Biochemistry and Physiology- Part C Toxicology & Pharmacology*, 137, 47-343.
- Abdou, H. M., Hussien, H. M. and Yousef, M.I. (2012). Deleterious effects of cypermethrin on rat liver and kidney: Protective role of sesame oil. *Journal of Environmental Science and Health*, 47(4), 306-314.
- Aboul-Soud, M. A. M., Al-Othman, A. M., El-Desoky, G. E., Al-Othman, Z. A., Yusuf, K. and Ahmad J. (2011). Hepatoprotective effects of Vitamin E/Selenium against malathion-induced injuries on the antioxidant status and apoptosis-related gene expression in rats. *The Journal of Toxicological Sciences*, 36, 285–296.
- Acker, C. I. and Nogueira, C. W. (2012). Chlorpyrifos acute exposure induces hyperglycemia and hyperlipidemia in rats. *Chemosphere*, 89(5), 602-608.
- Agrawal, D., Sultana, P. and Gupta G. S. D. (1991). Oxidative damage and changes in the glutathione redox system in erythrocytes from rats treated with hexachlorocyclohexane. *Food and Chemical Toxicology*, 29, 459-462.
- Ahmed, M. A., Ahmed, H. I. and El-Morsy EM. (2013). Melatonin protects against diazinon-induced neurobehavioral changes in rats. *Neurochemical Research*, 38(10), 2227-2236.

- Akgür, S. A., Oztürk, P., Sözmen, E. Y., Delen, Y., Tanyalçin, T. and Ege, B. (1999). Paraoxonase and acetylcholinesterase activities in humans exposed to organophosphorous compounds. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 58(8), 469-474.
- Akgür, S. A., Oztürk, P., Solak, I., Moral, A. R. and Ege, B. (2003). Human serum paraoxonase (PON1) activity in acute organophosphorous insecticide poisoning. *Forensic Science International*, 133(1-2), 136-140.
- Akhgari, M., Abdollahi, M., Kebryaezadeh, A., Hosseini, R. and Sabzevari, O. (2003). Biochemical evidence for free radicalinduced 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*. (Birinci Baskı). Konya: Mimoza Yayınları, 75-78.
- Al-Attar, A. M. (2010). Physiological and histopathological investigations on the effects of alpha-lipoic acid in rats exposed to malathion. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2010, 2010, 8.
- Alderman, C. J., Shah, S., Foreman, J. C., Chain, B. M. and Katz, D. R. (2002). The role of advanced oxidation protein products in regulation of dendritic cell function. *Free Radical Biology and Medicine*, 32(5), 377-385.
- Almeida, M. G., Fanini, F., Davino, S. C., Aznar, A. E., Koch, O. R. and Barros S. B. M. (1997). Pro and antiox- idant parameters in rat liver after short term exposure to hexachlorobenzene. *Human and Experimental Toxicology*, 16, 257-261.
- Al-Othman, A. M., Khaled S. Al-Numair, K. S., El-Desoky, G. E., Yusuf, K., Al-Othman Z. A., Aboul-Soud M. A. M. and Giesy J. P. (2011). Protection of  $\alpha$ -tocopherol and selenium against acute effects of malathion on liver and kidney of rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5(10), 1263-1271.
- Alp, H., Aytekin, I., Esen, H., Alp, A., Büyükbaş, S. and Başaralı, K. (2011). Protective effects of caffeic acid phenethyl ester, ellagic acid, sulforaphan 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.
- Alsahhaf, Z. Y. (2006). Toxicity of sumathion on albino rats: Hematological and biochemical studies. *Journal of Applied Science*, 6(14), 2959-2962.
- Ames, J. B., Tanaka, T., Ikura, M. and Stryer, L. (1995). Nuclear magnetic resonance evidence for Ca(2+)-induced extrusion of the myristoyl group of recoverin. *The Journal of Biological Chemistry*, 270(52), 30909-30913.
- Andreoli, S. P. (1991). Reactive oxygen molecules, oxidant injury and renal disease. *Pediatric Nephrology*, 5, 733-742.

- Aviram, M., Rosenblat, M., Bisgaier, C. L., Newton, R. S., Primo-Parmo, S. L. and La Du, B. N. (1998). Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its function. *Journal of Clinical Investigation*, 101, 1581-1590.
- Ayub, S., Verma, J., and Das, N., (2003). Effect of endosulfan and malathion on lipid peroxidation nitrite and TNF-alpha release by rat peritoneal macrophages. *International Immunopharmacology*, 3, 1819-1828.
- Azadbar, M., Ranjbar, A., Hosseini-Tabatabaei, A., Golestani, A., Baeri, M. and Sharifzadeh, M. (2009). Interaction of phosphodiesterase 5 inhibitor with malathion on rat brain mitochondrial-bound hexokinase activity. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 95, 121-125.
- Bagchi, D., Bagchi, M., Hassoun, E. A. and Stohs, S. J. (1995). In vitro and in vivo generation of reactive oxygen species, DNA damage and lactate dehydrogenase leakage by selected pesticides. *Toxicology*, 104, 129-140.
- Banerjee, B. D., Pasha, S. T., Hussain, Q. Z., Koner, B. C. and Ray A. (1998). A comparative evaluation of immunotoxicity of malathion after subchronic exposure in experimental animals. *Indian Journal of Experimental Biology*, 36, 273-282.
- Banerjee, B. D., Seth, V., Bhattacharya, A., Pasha, S. T. and Chakraborty A. K. (1999). Biochemical effects of some pesticides on the lipid peroxidation and free-radical scavengers. *Toxicology Letters*, 107, 33-47.
- Baselt, R. C., and Cravey R. H. (1989). *Malathion*. In *Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man*. Chicago, IL: Year Book Medical, 475-477.
- Bassil K. L, Vakil C., Sanborn M., Cole D. C., Kaur J. S. and Kerr K. J. (2007). Cancer health effects of pesticides: systematic review. *Canadian Family Physician*, 53, 1704-1711.
- Bergmeyer, H. U., Hørder, M. and Rej R. (1986a). International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) Scientific Committee, Analytical Section: approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase (L-alanine: 2-oxoglutarate aminotransferase, EC 2.6.1.2). *Journal of clinical chemistry and clinical biochemistry*, 24(7), 481-495.
- Bergmeyer, H. U., Hørder, M. and Rej R. (1986b). International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) Scientific Committee, Analytical Section: approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase (L-aspartate: 2-oxoglutarate aminotransferase, EC 2.6.1.1). *Journal of clinical chemistry and clinical biochemistry*, 24(7), 497-510.
- Berlett, B. S. and Stadtman, E. R. (1997). Protein oxidation in aging, disease and oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*, 272, 213-216.

- Beltowski, J., Jamroz-Wiśniewska, A., Borkowska, E. and Wójcicka G. (2005). Differential effect of antioxidant treatment on plasma and tissue paraoxonase activity in hyperleptinemic rats. *Pharmacological Research*, 51(6), 523-532.
- Bierhaus, A., Hofmann, M. A., Ziegler R. and Nawroth, P. P. (1998). AGEs and their interaction with AGE-receptors in vascular disease and diabetes mellitus. I. The AGE concept. *Cardiovascular Research*, 37, 586–600.
- Buratti, F. M., D'Aniello, A., Volpe, M. T., Meneguz, A. and Testai, E. (2005). Malathion bioactivation in the human liver: the contribution of different cytochrome P450 isoforms. *Drug Metabolism and Disposition*, 33, 295-302.
- Carlson, G. P. (1987). *Factors modifying toxicity. In Toxic Substances and Human Risk: Principles of Data Interpretation*. New York: Plenum Press, 5-79.
- Cabello, G., Valenzuela, M., Vilaxa, A., Duran, V., Rudolph, I. and Hrepic, N. (2001). A rat mammary tumor model induced by the organophosphorous pesticides parathion and malathion, possibly through acetylcholinesterase inhibition. *Environmental Health Perspectives*, 109, 471-479.
- Chance, B., Schoener, B., Oshino, R., Itshak, F. and Nakase, Y. (1979). Oxidation-reduction ratio studies of mitochondria in freezetrapped samples. NADH and flavoprotein fluorescence signals. *The Journal of Biological Chemistry*, 254, 4764-4771.
- Chatonnet, A. and Lockridge, O. (1989). Comparison of butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase. *Biochemical Journal*, 260(3), 625–634.
- Chen, G. and Goeddel, D. V., (2002). TNF-R1 signaling: a beautiful pathway. *Science*, 296, 1634-1635.
- Chen, S. and Schopfer, P. (1999). Hydroxyl-radical production in physiological reactions a novel function of peroxidase. *European Journal of Biochemistry*, 260, 726-735.
- Cheeseman, K. H. and Slater, T. F. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin*, 149, 481-493.
- Chemnitius, J. M., Losh, H., Losh, K. and Zech, R. (1983). Organophosphate detoxicating hydrolases in different vertebrates species. *Comparative Biochemistry and Physiology- Part C Toxicology & Pharmacology*, 76, 85-93.
- Costa, L.G., Cole, T. B., Vitalone, A. and Furlong C. E. (2005). Measurement of paraoxonase (PON1) status as a potential biomarker of susceptibility to organophosphate toxicity. *Clinica Chimica Acta*, 352(1-2), 37-47.
- Da Silva, A. P., Meotti, F. C., Santos, A. R. and Farina, M. (2006). Lactational exposure to malathion inhibits brain acetylcholinesterase in mice. *Neurotoxicology*, 27(6), 1101-1105.

- De Blaquiere, G. E., Waters, L., Blain, P. G. and Williams, F. M. (2000). Electrophysiological and biochemical effects of single and multiple doses of the organophosphate diazinon in the mouse. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 166(2), 81-91.
- Demirören, K., Doğan, Y., Kocamaz, H., Özercan, I. H., İlhan, S. and Üstündağ, B. (2013). Protective effects of L-carnitine, N-acetylcysteine and genistein in an experimental model of liver fibrosis. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*, 38, 63-72.
- Demirtaş, C. Y. (2009). *Kafeinin Rat Karaciğerinde Oksidan-Antioksidan Mekanizmalara Etkisi*, Uzmanlık Tezi, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, 29.
- Dias, C. G., Batuca, J. R., Marinho, A. T., Caixas, U., Monterio, E. C., Antunes, A. M. M. and Pereira, S. A. (2014). Quantification of the arylesterase activity of paraoxonase-1 in human blood. *Analytical Methods*, 6, 289-294.
- Dressel, T. D., Goodale R. L., Arneson, M. A., and Borner, J. W. (1979). Pancreatitis as a complication of anticholinesterase insecticide intoxication. *Annals of Surgery*, 189, 199-204.
- Dökmeci İ, (2001). *Toksikoloji, akut zehirlenmelerde tanı ve tedavi* (İkinci baskı). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 102-103.
- El-Demerdash, F. M. (2004). Antioxidant effect of vitamin E and selenium on lipid peroxidation, enzyme activities and biochemical parameters in rats exposed to aluminium. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 18,113-122.
- El-Demerdash, F. M. (2011a). Oxidative stress and hepatotoxicity induced by synthetic pyrethroids-organophosphate insecticides mixture in rat. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 29, 145-158.
- El-Demerdash, F. M. (2011b). Lipid peroxidation, oxidative stress and acetylcholinesterase in rat brain exposed to organophosphate and pyrethroid insecticides. *Food and Chemical Toxicology*, 49, 1346–1352.
- El-Demerdash, F. M. and Nasr, H. M. (2014). Antioxidant effect of selenium on lipid peroxidation, hyperlipidemia and biochemical parameters in rats exposed to diazinon. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 28, 89–93.
- El-Sharkawy, A. M., Abdel Rahman, S. Z., Hassan, A. A., Gabr, M. H., El-Zoghby, S. M. and El-Sewedy, S. M. (1994). Biochemical effects of some insecticides on the metabolic enzymes regulating glutathione metabolism. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 52, 505-510.
- El-Shenawy, N. S., Al-Eisa, R. A., El-Salmy, F. and Salah, O. (2009). Prophylactic effect of vitamin E against hepatotoxicity, nephrotoxicity, haematological indices and histopathology induced by diazinon insecticide in mice. *Current Zoology*, 55(3), 219-226.

- El-Shenawy, N. S., El-Salmy, F., Al-Eisa, R. and El-Ahmary, B. (2010). Amelioratory effect of vitamin E on organophosphorus insecticide diazinon-induced oxidative stress in mice liver. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 96, 101–107.
- Elsheikhaa, H. M., Hussein, H. S. and Rahbar MH. (2008). Clinico-pathological effects of *Schistosoma mansoni* infection associated with simultaneous exposure to malathion in Swiss outbred albino mice. *Acta Tropica*, 108, 11-19.
- Exton, J. H. (1987). Mechanisms of hormonal regulation of hepatic glucose metabolism. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 3, 163-183.
- Evans, P. and Halliwell, B. (2001). *Micronutrients: Oxidant/antioxidant status*. British Journal of Nutrition, 85(2), 67-74.
- Evison, D., Hinsley, D. and Rice P. (2002). Chemical weapons. *British Medical Journal*. 324, 235-332.
- Fang, Y.Z., Yang, S. and Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition*, 18, 872-879.
- Ferrajoli, A., Keating, M.J., Manshour, T., Giles, F.J., Dey, A. and Estrov, Z., (2002). The clinical significance of tumor necrosis factor- $\alpha$  plasma level in patients having chronic lymphocytic leukemia. *Blood*, 100(4), 1215-1219.
- Furlong, C. E., Li W. F., Costa L. G., Richter R. J., Shih, D. M. and Lusis, A.J. (1998). Genetically determined susceptibility to organophosphorus insecticides and nerve agents: developing a mouse model for the human PON1 polymorphism. *Neurotoxicology*, 19, 645-650.
- Freidovich, I. (1999). Fundamental aspects of reactive oxygen species or what's the matter with oxygen? *Annals of the New York Academy of Sciences*, 893, 13-18.
- Gallo, M. A. and Lawryk, N. J. (1991). *Organic phosphorus pesticides*. In *Handbook of Pesticide Toxicology*. New York: Academic Press, 3-5.
- Ghafour-Rashidi, Z., Dermenaki-Farahani, E., Aliahmadi, A., Esmaily, H., Mohammadirad, A., Ostad, S. Y. and Abdollahi, M. (2007). Protection by cAMP and cGMP phosphodiesterase inhibitors of diazinon-induced hyperglycemia and oxidative/nitrosative stress in rat Langerhans islets cells: Molecular evidence for involvement of non-cholinergic mechanisms. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 87, 261-270.
- Gilbert, D. L. (2000). Fifty years of radical ideas. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 899, 1-14.
- Gokel, Y., Gulalp, B. and Acikalin, A., (2002). Parotitis due to organophosphate intoxication. *Journal of Toxicology*, 40(5), 563-565.

- Gokcimen, A., Güle, K., Demirin, H., Bayram, D., Kocak, A. and Altuntaş, I. (2007). Effects of DZN at different doses on rat liver and pancreas tissues. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 87(2), 103-108.
- Gordon, C. J. and Rowsey P. J. (1999). Are circulating cytokines interleukin-6 and tumor necrosis factor a involved in chlorpyrifos-induced fever? *Toxicology*, 134, 9-17.
- Gosselin, R. E., Smith, R. P. and Hodge, H. C. (1984). *Clinical Toxicology of Commercial Products* (Fifth edition). Baltimore, MD: Williams and Wilkins, 5-45.
- Gupta, N., Gill, K.D. and Singh S. (2012). Paraoxonase 1 (PON1) Activity, Polymorphisms and Coronary Artery Disease. IN A. Squeri (Eds.). *Coronary Artery Disease - New Insights and Novel Approaches*. Shanghai. InTech China, pp. 115-136.
- Gupta, P. K. (1974). Malathion induced biochemical changes in rat. *Acta Pharmacologica et Toxicologica*, 35(3), 191-194.
- Gupta, R. C. (2006). *Toxicology of organophosphates and carbamate compounds*. USA: Elsevier Academic Press, 127-145.
- Gutteridge, J. M. (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*, 41, 1819-1828.
- Güler, Ç. ve Çobanoğlu, Z. (1997). *Pestisitler*. (Birinci Baskı). Ankara: T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü ve Sağlık Projesi Genel Koordinatörlüğü, 12-14.
- Gür, M., Yıldız, A., Demirbağ, R., Yılmaz, R., Aslan, M., Özdoğru, İ. and Erel, Ö. (2007). Paraoxonase and arylesterase activities in patients with cardiac syndrome X, and their relationship with oxidative stress markers. *Coronary Artery Disease*, 18(2), 89-95.
- Hagar, H. H. and Fahmy, A. H. (2002). A biochemical, histochemical, and ultrastructural evaluation of the effect of dimethoate intoxication on rat pancreas. *Toxicology Letters*, 133, 70-161.
- Halliwell, B. (1994). Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *The Lancet*, 344, 24-721.
- Hariri, A. T., Moallem, S.A., Mahmoudi, M., Memar, B. and Hosseinzadeh, H. (2010). Sub-acute effects of diazinon on biochemical indices and specific biomarkersin rats: protective effects of crocin and safranal. *Food and Chemical Toxicology*, 48 (10), 2803–2808.
- Harputluoğlu, M. M., Kantarceken, B., Karıncaoglu, M., Aladag, M., Yildiz, R., Ates, M., Yildirim, B. and Hilmioglu, F. (2003). Acute pancreatitis: an obscure complication of organophosphate intoxication. *Human & Experimental Toxicology*, 22(6), 341-343.

- Hotamisligil, G. S. (2006). Inflammation and metabolic disorders. *Nature*, 444(7121), 7-860.
- Hawkins, C. L., Pattison, D. I. and Davies, M. J.(2003). Hypochlorite-induced oxidation of amino acids, peptides and proteins. *Amino Acids*, 25, 259-274.
- Jakubowski, H. (2000). Calcium-dependent Human Serum Homocysteine Thiolactone Hydrolase. *The Journal of Biological Chemistry*, 275(6), 3957-3962.
- Jebur, A. B., Nasr, H. M. and El-Demerdash F. M. (2014). Selenium Modulates b-Cyfluthrin Induced Liver Oxidative Toxicity in Rats. *Environmental Toxicology*, 29(11), 1323-1329.
- Joseph, P. D. and Mannervik, B. (2006). *Molecular Toxicology* (Second Edition). New York: Oxford University Press, 562-571.
- Joshi, S. C., Mathur, R., Gajraj, A. and Sharma, T. (2003). Influence of methyl parathion on reproductive parameters in male rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 14(3), 91-98.
- Kajbaf, F., Mojtahedzadeh, M. and Abdollahi, M., (2007). Mechanisms underlying stress-induced hyperglycemia in critically ill patients. *Therapy*, 4 (1), 97–106.
- Kale, M., Rathore, N., John, S. and Bhatnagar, D. (1999). Lipid peroxidative damage on pyrethroid exposure and alterations in antioxidant status in rat RBCs: a possible involvement of reactive oxygen species. *Toxicology Letters*, 105, 197-205.
- Kalender, S., Uzun, F. G., Durak, D., Demir, F. and Kalender, Y. (2010). Malathion induced hepatotoxicity in rats: the effects of vitamins C and E. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 8-633.
- Kandalaft, K., Liu, S., Manivel, C., Borner, J. W., Dressel, T. D., Sutherland, D. E. and Goodale, R. L. (1991). Organophosphate increases the sensitivity of human exocrine pancreas to acetylcholine. *Pancreas*, 6(4), 398-403.
- Karageçili, H. (2012). *Kök hücre transplantasyonu hastalarında serum demir parametreleri ile paraoksonaz, arilesteraz ve oksidatif stres belirteçlerinin ilişkisinin incelenmesi*, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 19.
- 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.
- Karami-Mohajeri, S., Hadian, M. R., Fouladdel, S., Azizi, E., Ghahramani, M. H., Hosseini R. and Abdollahi, M. (2013). Mechanisms of muscular electrophysiological and mitochondrial dysfunction following exposure to malathion, an organophosphorus pesticide. *Human & Experimental Toxicology*, 1-13.
- Karmin, M. A. (2000). *Pesticide Profiles*. New York: Lewis Publishers, 202.

- Kesavachandran, C. N., Fareed M., Pathak M. K., Bihari V., Mathur N. and Srivastava A. K. (2009). Adverse health effects of pesticides in agrarian populations of developing countries. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 200, 33-52.
- Koner, B. C., Banerjee, B. D. and Ray, A. (1997). Modulation of gamma glutamyl transpeptidase activity in lymphoid system by organochlorine pesticides in rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, 35, 1132-1134.
- Koner B. C., Banerjee B. D. and Ray A. (1998). Organochlorine pesticide induced oxidative stress and immune suppression in rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, 36, 395-398.
- Kovacic, P. (2003). Mechanism of organophosphates (nerve gases and pesticides) and antidotes: electron transfer and oxidative stress. *Current Medical Chemistry*, 10, 709-2705.
- Kutty, K. M. and Payne, R. H. (1994) Serum pseudocholinesterase and very-low-density lipoprotein metabolism. *Journal of clinical laboratory analysis*, 8, 247–50.
- La Du, B. N., Aviram, M., Billecke, S., Navab, M., Primo-Parmo, S., Sorenson, R. C. and Standiford, T. J. (1999). On the physiological role(s) of the paraoxonases. *Chemico-Biological Interactions*, 119-120, 379-388.
- Lankisch, P. G., Muller, C. H., Niederstadt, H. and Brand, A. (1990). Painless acute pancreatitis subsequent to anticholinesterase insecticide (parathion) intoxication. *The American Journal of Gastroenterology*. 85(7), 872-875.
- 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., 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., Lamine, A.J., Dhouib, I.B., Bouzid, K., Annabi, A., Belhadjhmida, N., Ahmed, M.B., El, Fazaa, S., Abdelmoula, J. and Gharbi, N. (2014). Antioxidant and anti-inflammatory effects of N-acetylcysteine against malathion-induced liver damages and immunotoxicity in rats. *Life Sciences*, 107, 50-58.
- Lawrence, T., McGrath, L. T., Douglas, A. F., McClean, E., Brown, J. H. and Doherty, C. C. (1995). Oxidative stress and erythrocyte membrane fluidity in patients undergoing regular dialysis. *Clinica Chimica Acta*, 235, 88-179.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A.L. and Randall, R.J. (1951). Protein measurements with the folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275.

- Lu, L., Wang, X., Lang, L. and Fu, F. (2010). Protective effect of reduced glutathione on the liver injury induced by acute omethoate poisoning. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 30, 279–283.
- Łukaszewicz-Hussain, A. (2001). Organophosphate Insecticide Chlorfenvinphos Affects Superoxide Dismutase, Catalase and Malondialdehyde in Rat Liver. *Polish Journal of Environmental Studies*, 10(4), 279-282.
- Lukaszewicz-Hussain, A. and Moniuszko-Jakoniuk, J. (2003). Activity of mitochondrial aconitase and liver concentration of hydrogen peroxide in acute intoxication with chlorfenvinphos in rat. *Polish Journal of Environmental Studies*, 12, 177–180.
- Łukaszewicz-Hussain, A. and Moniuszko-Jakoniuk, J. (2004). Liver Catalase, Glutathione Peroxidase and Reductase Activity, Reduced Glutathione and Hydrogen Peroxide Levels in Acute Intoxication with Chlorfenvinphos, an Organophosphate Insecticide. *Polish Journal of Environmental Studies*, 13(3), 303-309.
- Łukaszewicz-Hussain, A. (2012). Paraoxonase activity and lipid peroxides concentration in serum of rats subchronically intoxicated with chlorpyrifos--organophosphate insecticide. *Medycyna Pracy*, 63(5), 559-564.
- Mackness, M. I. (1989). Possible medical significance of human serum paraoxonase. Chichester: *Ellis-Horwood*, 202-213.
- Mackness, M.I., Harty, D., Bhatnagar, D., Winocour, P.H., Arrol, S., Ishola, M. and Durrington, P.H. (1991). Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolaemia and insulin-dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis*, 86, 193–199.
- Mackness, M. I., Mackness, B., Durrington, P. N., Connelly, P. W. and Hegele, R.A. (1996). Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Current Opinion of Lipidology*, 7, 69-76.
- Mackness, B., Mackness, M. I., Arrol, S., Turkie, W., Julier, K., Abuasha, B., Miller, J. E., Boulton, A.J. and Durrington, P.N. (1998). Serum paraoxonase (PON1) 55 and 192 polymorphism and paraoxonase activity and concentration in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis*, 139, 341–349.
- Mackness, M. I., Durrington, P. N., Ayub, A. and Mackness, B. (1999). Low serum paraoxonase: a risk factor for atherosclerotic disease? *Chemico-Biological Interactions*, 119-120, 389-397.
- Mackness, B., Durrington, P. N., Boulton, A. J., Hine, D. and Mackness, M. I. (2002). Serum paraoxonase activity in patients with type 1 diabetes compared to healthy controls. *European Journal of Clinical Investigation*, 32, 259–264.
- Matin, M. A. and Husain, K. (1987). Cerebral glycogenolysis and glycolysis in malathion-treated hyperglycaemic animals. *Biochemical Pharmacology*, 36(11), 1815-1817.

- Matthews, N. and Watkins, J.F., (1978). Tumour-necrosis factor from the rabbit. Model of action, specificity and physicochemical properties. *British Journal of Cancer*, 38(2), 302-309.
- Meller, D., Fraser, I. and Kryger, M. (1981). Hyperglycemia in anticholinesterase poisoning. *Canadian Medical Association Journal*, 124, 48-745.
- Meyera, A., Seidler, F. J., Aldridge, J. E., and Slotkin, T. A. (2005). Developmental exposure to terbutaline alters cell signaling in mature rat brain regions and augments the effects of subsequent neonatal exposure to the organophosphorus insecticide chlorpyrifos. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 203(2), 154-166.
- Mohseni-Salehi-Monfared, S. S., Vahidi, H., Abdolghaffari, A. H., Nikfar, S. and Abdollahi, M., (2009). Antioxidant therapy in the management of acute, chronic and post-ERCP pancreatitis: a systematic review. *World Journal of Gastroenterology*, 15, 4481-4490.
- Moore, P. D., Yedjou, C. G. and Tchounwou, P. B. (2010). Malathion-induced oxidative stress, cytotoxicity, and genotoxicity in human liver carcinoma (HepG2) cells. *Environmental Toxicology*, 25: 6-221.
- Moses V. and Peter J. V. (2010). Acute intentional toxicity: endosulfan and other organochlorines. *Clinical Toxicology (Philadelphia)*, 48, 539-544.
- Moss, D. W., Henderson, A. R. and Kachmar, J. F. (1987). Fundamentals of Clinical Chemistry. In N. W. Tietz (Ed), *Enzymes*. Philadelphia, PA: WB Saunders, pp. 346-421.
- Mostafalou, S., Eghbal, M. A., Nili-Ahmadabadi, A., Baeeri, M. and 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*, 28(9), 840-851.
- 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.
- Nakagawa, Y. and Moore, G. (1999). Role of mitochondrial membrane permeability transition in p-hydroxybenzoate ester-induced cytotoxicity in rat hepatocytes. *Biochemical Pharmacology*, 58, 16-811.
- Nordlie, R. C., Foster, J. D. and Lange, A. J. (1999). Regulation of glucose production by the liver. *Annual Review of Nutrition*, 19, 379-406.
- Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95, 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 in mixture, in rat tissues. *Environmental Toxicology*, 28(10), 543-552.
- Ozols, J. (1999). Isolation and complete covalent structure of liver microsomal paraoxonase. *Biochemical Journal*. 338, 265-272.
- Panahi, P., Vosough-Ghanbari, S., Pournourmohammadi, S., Ostad, S. N., Nikfar, S., Minaie, B. and Abdollahi, M. (2006). Stimulatory effects of malathion on the key enzymes activities of insulin secretion in Langerhans islets, glutamate dehydrogenase and glucokinase. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 16(4), 67-161.
- Panieri, E., Krige, J. E., Bornman, P. C. and Linton, D. M. (1997). Severe necrotizing pancreatitis caused by organophosphate poisoning. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 25, 463-465.
- Pellin, M. C., Moretto, A., Lotti, M. and Vilanova, E. (1990). Distribution and some biochemical properties of rat paraoxonase activity. *Neurotoxicology and Teratology*, 12, 611-614.
- Picco, E. J., Fernández, H. R., David, D. C., San, Andrés, M. I., Boggio, J. C. and Rodríguez, C. (2008). Use of cholinesterase activity in monitoring chlorpyrifos exposure of steer cattle after topical administration. *Journal of Environmental Science and Health*, 43(5), 405-409.
- Pieper, G. M., Siebeneich, W., More-Hilton, M. and Roza, A. M. (1997). Reversal by L-Arginin of a dysfunctional arginine/nitric oxide pathway in the endothelium of the genetic diabetic rat. *Diabetologia*, 40, 910-9155.
- Pitcher, J., Smythe, C. and Cohen, P. (1988). Glycogenin is the priming glucosyltransferase required for the initiation of glycogen biogenesis in rabbit skeletal muscle. *European Journal of Biochemistry*, 176(2), 391-395.
- Pond, A. L., Coyne, C. P., Chambers, H. W. and Chambers, J. E. (1996). Identification and isolation of two rat serum proteins with A-esterase activity toward paraoxon and chlorpyrifos-oxon. *Biochemical Pharmacology*, 52, 63-369.
- Pournourmohammadi, S., Farzami, B., Ostad, S. N., Azizi, E. and Abdollahi M. (2005) Effects of malathion subchronic exposure on rat skeletal muscle glucose metabolism. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 19, 191-96.
- Possamai, F. P., Fortunato, J. J., Feier, G., Agostinho, F. R., Quevedo, J., Wilhelm Filho, D. and Dal-Pizzol, F. (2007). Oxidative stress after acute and sub-chronic malathion intoxication in Wistar rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 23(2), 198-204.
- Quinn, D.M. (1987). Acetylcholinesterase: enzyme structure, reaction dynamics, and virtual transition states. *Chemical Reviews*, 87, 955-979.

- Rahimi, R. and Abdollahi, M. (2007). A review on the mechanisms involved in hyperglycemia induced by organophosphorus pesticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 88(2), 115-121.
- Ray, A. and Banerjee B. D. (1998). Stress, free radicals and the immune response: modulation by drugs. *Archives of Pharmacology*, 358(2), 739.
- Reddy, P. H. and Beal, M. F. (2008). Amyloid beta, mitochondrial dysfunction and synaptic damage: implications for cognitive decline in aging and Alzheimer's disease. *Trends in Molecular Medicine*, 14, 45-53.
- Rezg, R., Mornagui, B., El-Arbi, M., Kamoun, A., El-Fazaa, S. and Gharbi, N. (2006). Effect of subchronic exposure to malathion on glycogen phosphorylase and hexokinase activities in rat liver using native PAGE. *Toxicology*, 223(1-2), 9-14.
- Rezg, R., Mornagui, B., Kamoun, A., El-Fazaa, S. and Gharbi, N. (2007). Effect of subchronic exposure to malathion on metabolic parameters in the rat. *Comptes Rendus Biologies*, 330(2), 143-147.
- Rezg R., Mornagui B., El-Fazaa, S. and Gharbi, N. (2008). Caffeic acid attenuates malathion induced metabolic disruption in rat liver, involvement of acetylcholinesterase activity. *Toxicology*, 250(1), 27-31.
- Rodgers, K. and Xiong, S., (1997a). Effect of administration of malathion for 14 days on macrophage function and mast cell degranulation. *Fundamental and Applied Toxicology*, 37, 95-99.
- Rodgers, K. and Xiong, S., (1997b). Effect of administration of malathion for 90 days on macrophage function and mast cell degranulation. *Toxicology Letters*, 93, 73-82.
- Rodrigo, L., Hernandez, A. F., Lopez-Caballero, J. J., Gil, F. and Pla, A. (2001). Immunohistochemical evidence for the expression and induction of paraoxonase in rat liver, kidney, lung and brain tissue, implications for its physiological role. *Chemico- Biological Interaction*, 137, 37-123.
- Rodrigo, R. (2009). *Oxidative stress and antioxidants: their role in human disease*. New York: Nova Science Publishers, 2-18.
- 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(2), 110-113.
- Rothman, D. L., Magnusson, I., Cline, G., Gerard, D., Kahn, C. R., Shulman, R. G. and Shulman, G. I. (1995). Decreased muscle glucose transport/phosphorylation is an early defect in the pathogenesis of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the U.S.A.*, 92(4), 983-987.
- Saafi, E. B., Louedi, M., Elfeki, A., Zakhama, A., Najjar, M. F. and Hammami, M. (2011). Protective effect of date palm fruit extract (*Phoenix dactylifera* L.) on dimethoate

- induced-oxidative stress in rat liver. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 63, 433–441.
- Schmidt, E., Henkel, E., Klauke, R., Lorentz, K., Sonntag, O., Stein, W., Weidemann, G. and Gerhardt W. (1990). Proposal for standard methods for the determination of enzyme catalytic concentrations in serum and plasma at 37 degrees C. *Journal of clinical chemistry and clinical biochemistry*, 28(10), 805-808.
- Seifter, S., Dayton, S., Novic, B. and Muntwyler, E. (1950). The estimation of glycogen with the anthrone reagent. *Archives of Biochemistry*, 25(1), 191-200.
- Shadnia, S., Azizi, E., Hosseini, R., Khoei, S., Fouladdel, S., Pajoumand, P., Jalali, N. and Abdollahi, M. (2005). Evaluation of oxidative stress and genotoxicity in organophosphorus insecticide formulators. *Human & Experimental Toxicology*, 24, 45-439.
- Smith, G. J. (1993). *Toxicology and Pesticide Use in Relation to Wildlife: Organophosphorus and Carbamate Compounds*. Boca Raton, FL: C.K Smoley, 5-7.
- Spiteller, G. (2003). Are lipid peroxidation processes induced by changes in the cell wall structure and how are these processes connected with diseases? *Medical Hypotheses*, 60(1), 69-83.
- Stadtman, E.R. and Levine, R.L. (2003). Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids*, 25(3-4), 207-218.
- Sun, Y., Oberley, L.W. and Li, Y. (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*, 34(3), 497-500.
- Sun, Y. (1990). Free radicals, antioxidant enzymes, and carcinogenesis. *Free Radical Biology and Medicine*, 8(6), 583-599.
- Suresh, B. N., Malik, J. K., Rao, G. S., Aggarwal, M. and Ranganathan, V. (2006). Effects of subchronic malathion exposure on the pharmacokinetic disposition of pefloxacin. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 22, 167–171.
- Soltaninejad, K. and Abdollahi, M. (2009). Current opinion on the science of organophosphate pesticides and toxic stress: a systematic review. *Medical Science Monitor*, 15, 75-90.
- Sozmen, E.Y., Mackness, B., Sozmen, B., Durrington P., Girgin, F.K., Aslan, L. and Mackness M. (2002). Effect of organophosphate intoxication on human serum paraoxonase. *Human & Experimental Toxicology*, 21, 247–252.
- Teimouri, F., Amirkabirian, N., Esmaily, H., Mohammadirad, A., Aliahmadi, A. and Abdollahi, M. (2006). Alteration of hepatic cells glucose metabolism as a non-cholinergic detoxication mechanism in counteracting diazinon-induced oxidative stress. *Human & Experimental Toxicology*, 25, 697-703.

- TośLuty, S., Obuchowska-Przebirowska, D., Latuszyńska, J., Tokarska-Rodak, M. and Haratym-Maj, A. (2003). Dermal and oral toxicity of malathion in rats. *Annals of Agricultural Environmental Medicine*, 10, 101-106.
- Timbrell, J. A. (1991). *Principles of Biochemical Toxicology*. Washington, DC: Taylor and Francis, 5-8.
- Uchida, K. (2003). 4-Hydroxy-2-Nonenal. A product and mediator of oxidative stress. *Progress in Lipid Research*, 569, 1-26.
- Ulukaya, E. (2007). *Lippincott's illustrated Reviews serisinden Biyokimya*, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 101-249.
- Ulus, N. N., Sahilli, M., Avci, A., Canbolat, O., Ozansoy, G., Ari, N., Bali, M., Stefek, M., Stolc, S., Gajdosik, A. and Karasu, C. (2003). Pentose phosphate pathway, glutathione-dependent enzymes and antioxidant defense during oxidative stress in diabetic rodent brain and peripheral organs: effects of stobadine and vitamin E. *Neurochemical Research*, 28 (6), 815-823.
- Uribarri, J., Woodruff, S., Goodman, S., Cai, W., Chen, X., Pyzik, R., Yong, A., Striker, G.E. and Vlassara, H. (2010). Advanced glycation end products in foods and a practical guide to their reduction in the diet. *Journal of the American Dietetic Association*, 110(6), 911-916.
- Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M. and Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160, 1-40.
- van der Heiden, C., Bais, R., Gerhardt, W., Lorentz, K. and Rosalki, S. (1994). Approved recommendation on IFFCC methods for the measurement of catalytic activity concentration of enzymes. Part 8. IFCC method for lactate dehydrogenase. *Europe Journal of clinical chemistry and clinical biochemistry*, 32, 639-655.
- Videira, R. A., Antunes-Madeira, M. C., Lopes, V. I. and Madeira, V. M. (2001). Changes induced by malathion methylparathion and parathion on membrane lipid physicochemical properties correlate with their toxicity. *Biochemica et Biophysica Acta*, 18(4), 360-368.
- Wagner, S. L. (1989). *The acute health hazards of pesticides. In Chemistry, Biochemistry, and Toxicology of Pesticides*. Corvallis, OR: Oregon State University Cooperative Extension Service, 2-5.
- Ware, G. W. (1986). *Fundamentals of Pesticides: A Self-Instruction Guide*. Fresno, CA: Thompson Publications, 4-5.
- White, R.E. (1991). The involvement of free radicals in the mechanisms of monooxygenases. *Pharmacology & Therapeutics*, 49, 21-42.
- William, N. (1992). *Enviromental and occupational medicine*. (Second edition.). New York. Little Brown, 1158.

Witko-Sarsat, V., Friedlander, M., Capeillère-Blandin, C., Nguyen-Khoa, T., Nguyen, A.T., Zingraff, J., Jungers, P. and Descamps-Latscha, B. (1996). Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney International*, 49, 1304-1313.

## **EKLER**

## EK-1. Yerel Etik Kurul Onayı

  
T.C.  
GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

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

17/03/2014

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

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

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

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

With my best regards.

Prof. Dr. Leyla AÇIK  
Kurul Başkanı

**ASLI GİBİDİR**

EK :  
1 Liste



Adres  
Tel: 0312 212 02 03 - Faks: 0312 212 02 03  
E-Posta: haydetik@gaziusu.tr Web Adresi: http://etik.gaziusu.tr

Fon: 41201

## EK-1. Yerel Etik Kurul Onayı (Devam)

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

ASLI GİBİDİR

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

*L. AÇIK*

EK-2. Temmuz, 2015 Federation of European Biochemical Societies (FEBS) Kongresi'nde (Berlin/Almanya), "Malathion-induced oxidative stress in rat liver" adlı çalışmamızın poster sunumu



Şekil 1.1. Severcan, C., Pasaoglu, H., Ekremoglu, M., Pasaoglu, Ö. T., Şen, B., and Akyurek, N. (2015). Malathion-induced oxidative stress in rat liver. The Febs Journal (Berlin), 282(1), 149.

EK-3. Kasım 2015, XXVII. Ulusal Biyokimya Kongresi'nde (Antalya) kongresinde “Malathionun Farklı Dozlarda, Karaciğer Dokuları Üzerinde Toksik Etkisi” adlı çalışmamızın sözel sunumu



Şekil 2.1. XXVII. Ulusal Biyokimya Kongresi (Antalya) “Malathionun Farklı Dozlarda, Karaciğer Dokuları Üzerinde Toksik Etkisi” adlı çalışmamızın sözel sunumu

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : SEVERCAN Çınar  
 Doğum tarihi ve yeri : 20.01.1981, Ankara  
 Medeni Durumu : Bekâr  
 Telefon : 0505 504 3912  
 e-posta : [cinarsevercan@gmail.com](mailto:cinarsevercan@gmail.com)



| Eğitim derecesi | Okul Program                      | Mezuniyet Yılı |
|-----------------|-----------------------------------|----------------|
| Doktora         | Gazi Üniversitesi/Tıbbi Biyokimya | Devam ediyor   |
| Yüksek Lisans   | Gazi Üniversitesi/Tıbbi Biyokimya | 2011           |
| Lisans          | Anadolu Üniversitesi/Biyoloji     | 2006           |

### Yabancı Dili

İngilizce

### Yayınlar

1. Timm, T., Grabitzki, J., Severcan, C., Muratoglu, S., Ewald, L., Yilmaz, Y. and Lochnit, G. (2016). The PCome of Ascaris suum as a model system for intestinal nematodes: identification of phosphorylcholine-substituted proteins and first characterization of the PC-epitope structures. *Parasitology Research*, 115(3), 1263-1274
2. Gunduztepe, Y., Mit, S., Gecioglu, E., Gurbuz, N., Salkaci, O., Severcan, C. and Cevik, C. (2014). The Impact of Acupuncture Treatment on Nitric Oxide (NO) in Migraine Patients. *Acupuncture & Electro-Therapeutics Research*, 39(3-4), 275-283.
3. Severcan, C., Cevik, C., Acar, H. V., Sivri, A. B., Mit, S. S., Geçioglu, E., Paşaoğlu, O. T. and Gündüztepe Y. (2012). The effects of acupuncture on the levels of blood pressure and nitric oxide in hypertensive patients. *Acupuncture & Electro-Therapeutics Research*, 37(4), 263-275.
4. Severcan, C. and Yamaç E. (2010). The Effect of Flock Size and Human Presence on Vigilance and Feeding Behaviour in The Eurasian Coot (*Fulica atra* L.) During Breeding Season. *Acta Ethologica*, 10, 1007-1012

### Kongre ve Sempozyum

1. Severcan, Ç., Paşaoğlu, H., Ekremoğlu, M., Paşaoğlu, Ö. T. ve Şen, B. (2015). Malathionun Farklı Dozlarda, Karaciğer Dokuları Üzerinde Toksik Etkisi. 27. Ulusal Biyokimya Kongresi (Sözel sunum), 3-6 Kasım 2015, Antalya/Türkiye.
2. Severcan, Ç., Pasaoglu, H., Ekremoglu, M., Pasaoglu, O. T., Sen, B. and Akyurek, N. (2015). Malathion-induced oxidative stress in rat liver. 40. FEBS Congress The Biochemical Basis Of Life July 4-9 2015 FEBS Journal 282 (Suppl. 1) (2015) 56–408 Berlin/ Germany.
3. Ekremoğlu, M., Paşaoğlu, H., Severcan, Ç., Şen, B. ve Paşaoğlu, Ö.T. (2015). Malathionun Farkli Dozlarda Rat Serumunun Oksidan ve Antioksidan Durum Üzerine Etkisi. (2015). 27. Ulusal Biyokimya Kongresi, 3-6 Kasım 2015, Antalya/Türkiye.
4. Paşaoğlu, H., Şen, B., Paşaoğlu, Ö. T., Severcan, Ç. and Ekremoğlu, M. (2015). Malatyonun rat beyin dokularında paraoxonase 1 aktivitesi ve total oksidan durum üzerine etkisi. 27. Ulusal Biyokimya Kongresi, 3-6 Kasım 2015, Antalya/Türkiye.
5. Ekremoglu, M., Pasaoglu, H., Severcan, C., Sen, B. and Pasaoglu, O.T. (2015). The effect of malathion on serum parameters in rat, 51.Congress of European Societies of Toxicology. EUROTOX 13-16 September 2015 Toxicology Letters 238S (2015) S56–S383 Porto/Portugal.
6. Pasaoglu, O.T., Pasaoglu, H., Sen, B., Ekremoglu, M. and Severcan, C. (2015). The effects of acute malathion exposure on renal oxidant & antioxidant balance in rats , 40. FEBS Congress The Biochemical Basis Of Life July 4-9 2015 FEBS Journal 282 (Suppl. 1) (2015) 56–408 Berlin/ Germany.
7. Pasaoglu, H., Sen, B., Pasaoglu, O. T., Severcan, C. and Ekremoglu, M. (2015). The effect of malathion on oxidant & antioxidant status in rat brain tissue, 40. FEBS Congress The Biochemical Basis Of Life July 4-9 2015 FEBS Journal 282 (Suppl. 1) (2015) 56–408 Berlin/ Germany.
8. Çınar Severcan. Akupunktur Tedavisinin Hipertansiyonlu Hastalarda Kan Basıncı Değerlerine ve Nitrik Oksit Düzeyine Etkisi. (2011). 2.Akupunktur ve Tamamlayıcı Tıp Sempozyumu (Sözel sunum), Eylül 23-25, 2011, Ankara/Türkiye.

### Akademik deneyim

| Tarih                  | Program                                                        | Staj Yapılan Üniversite                                                           | Proje Konusu                                                                                            |
|------------------------|----------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Haziran,<br>Eylül 2012 | Gazi Üniversitesi<br>Erasmus Staj<br>Hareketliliği<br>Programı | Justus-Liebig<br>Üniversitesi Tıp<br>Fakültesi, Biyokimya<br>ABD, Giessen/Almanya | Identification of PC-<br>substituted proteins of the<br>pig parasitic nematode<br><i>Ascaris suum</i> . |

### Hobiler

Kuş Gözlemi, Tiyatro, Edebiyat



*GAZİ GELECEKTİR..*

