



**FENİTROTIYON’UN RATLARDA TESTİKULAR TOKSİSİTESİ ÜZERİNE
GALLİK ASİT’İN KORUYUCU ROLÜ**

Enis Taha ÖZKAN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

EKİM 2022

ETİK BEYAN

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

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

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

Enis Taha ÖZKAN

24/10/2022

FENİTROİYONUN RATLARDA TESTİKULAR TOKSİSİTESİ ÜZERİNE GALLİK ASİT'İN KORUYUCU ROLÜ

(Yüksek Lisans Tezi)

Enis Taha ÖZKAN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ekim 2022

ÖZET

Fenitrotyon, tarımsal zararlılara karşı sıklıkla kullanılan organofosfatlı bir insektisittir. Gallik asit (3,4,5-trihidroksibenzoik asit), bazı bitkilerde doğal olarak oluşan fenolik bir bileşiktir. Pestisitler, hücrelerde ve dokularda reaktif oksijen türlerinin artmasına ve serbest radikallerin oluşmasına neden olmaktadır. Bu çalışmada, ratlarda fenitrotyonun neden olabileceği testikular toksisite üzerine gallik asidin koruyucu etkisi araştırılmıştır. Çalışmada ratlar dört gruba ayrılmıştır: 1. grup: kontrol grubu, 2. grup: gallik asit (50 mg/kg/gün) muameleli grup, 3. grup: fenitrotyon (32 mg/kg/gün) muameleli grup, 4. grup: fenitrotyon (32 mg/kg/gün) ve gallik asit (50 mg /kg/gün) muameleli grup. 28 günlük uygulamadan sonra ratların testis dokusunda malondialdehit (MDA) düzeyleri ve antioksidan enzim süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon-S-transferaz (GST) aktiviteleri ve testis dokusunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler incelenmiştir. Fenitrotyon, ratların testis dokusundaki MDA miktarında bir artışa neden olurken, antioksidan enzim aktivitelerinde (SOD, CAT, GST, GPx) bir azalmaya neden olmuştur. Gallik asit fenitrotyonun oluşturduğu oksidatif stresi azaltmıştır. Histopatolojik incelemelerde fenitrotyon rat testislerinde spermatojenik hücre sayısında azalmaya, bazal membranın bozulmasına ve bazı seminifer tüpçüklerinde nekroza neden olmuştur. Gallik asit rat testislerindeki patolojik değişiklikleri azaltmıştır.

Bilim Kodu : 20137

Anahtar Kelimeler : Fenitrotyon, Gallik asit, Histopatoloji, Oksidatif stres, Antioksidan enzimler

Sayfa Adedi : 59

Danışman : Prof. Dr.Yusuf KALENDER

PROTECTIVE ROLE OF GALLIC ACID ON FENITROTHION INDUCED
TESTICULAR TOXICITY IN RATS

(M. Sc. Thesis)

Enis Taha ÖZKAN

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

October 2022

ABSTRACT

Fenitrothion is an organophosphate insecticide that is frequently used against agricultural pests. Gallic acid (3,4,5-trihydroxybenzoic acid) is a naturally occurring phenolic compound in some plants. Pesticides cause an increase in reactive oxygen species and the formation of free radicals in cells and tissues. In this study, the protective effects of gallic acid on fenitrothion induced testicular toxicity in rats were investigated. In the study, rats were divided into four groups: The 1st group: control group, the 2nd group: gallic acid (50 mg/kg/day) treated group, the 3rd group of phenitrothione (32 mg/kg/day) treated group, the 4th group of fenitrothion (32 mg/kg/day) and gallic acid (50 mg /kg/day) treated groups. After 28 days of treated, malondialdehyde (MDA) levels and antioxidant enzyme [superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) and glutathione-S-transferase (GST)] activities and histopathological changes in rat testis tissues examined. While fenitrothion caused an increase in the MDA level in testicular tissue of rats, it caused a decrease in antioxidant enzyme activities (SOD, CAT, GST, GPx). Gallic acid reduced the oxidative stress caused by fenitrothion. In histopathological examinations, fenitrothion caused a decrease in the number of spermatogenic cells in rat testes, disruption of the basement membrane, and necrosis in some seminiferous tubules. Gallic acid reduced the pathological changes in rat testes.

Science Code : 20137

Key Words : Fenitrothion, Gallic acid, Histopathology, Oxidative stress, Antioxidant enzymes

Page Number : 59

Supervisor : Prof. Dr.Yusuf KALENDER

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca kıymetli yardım ve bilgileriyle beni yönlendiren tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Yusuf KALENDER'e en içten teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımlarını eksik etmeyen değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Fatma Gökçe APAYDIN ve Sayın Öğr. Gör. Dr. Çağlar ADIGÜZEL'e teşekkür ederim. Bu tez çalışmasının deney hayvanları çalışmalarını destekleyen Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Birimine çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xiv
RESİMLERİN LİSTESİ	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. MATERYAL METOD	27
2.1. Deney Hayvanları	27
2.2. Kimyasal Maddeler.....	27
2.3. Hayvanlara Uygulama Planı	27
2.3.1. Kontrol grubu	28
2.3.2. Fenitrotyon grubu	28
2.3.3. Gallik asit grubu	28
2.3.4. Fenitrotyon + gallik asit grubu	28
2.4. Dokuların Elde Edilmesi.....	28
2.5. Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Ölçülmesi	29
2.6. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	29
2.6.1. Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesinin belirlenmesi.....	29
2.6.2. Katalaz (CAT) enzim aktivitesinin belirlenmesi	29
2.6.3. Glutasyon peroksidaz (GPx) enzim aktivitesinin belirlenmesi.....	29
2.6.4. Glutasyon S transferaz (GST) enzim aktivitesinin belirlenmesi.....	30
2.7. Işık Mikroskobu İncelemeleri.....	30

	Sayfa
2.8. Verilerin Değerlendirilmesi	30
3. ARAŞTIRMA BULGULARI	31
3.1. Malondialdehit (MDA) Düzeyinin Değerlendirilmesi	31
3.2. Antioksidan Enzim Aktivite Düzeylerinin Değerlendirilmesi	31
3.3. Işık Mikroskobu Bulgularının Değerlendirilmesi	34
4. TARTIŞMALAR VE ÖNERİLER	41
KAYNAKLAR	47

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 1.1. Pestisitlerin, Dünya Sağlık Örgütü'ne göre toksik derecelerine göre sınıflandırılması	7
Çizelge 2.1. Çalışmada planlanan gruplar ve bu gruplar verilen kimyasal dozları.....	27

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Organofosfatlı pestisitlerin genel yapısı	8
Şekil 1.2. Fenitrotyon yapısı	12
Şekil 1.3. Gallik asidin yapısı	20
Şekil 1.4. Hidrolize olabilen tanenlerden gallotanen ve gallik asit.....	21
Şekil 1.5. Testis yapısı	22
Şekil 3.1. Kontrol ve muameleli grupların testis dokularındaki MDA seviyeleri	31
Şekil 3.2. Kontrol ve muameleli grupların testis dokularındaki SOD enzim aktiviteleri	32
Şekil 3.3. Kontrol ve muameleli grupların testis dokularındaki CAT enzim aktiviteleri	32
Şekil 3.4 Kontrol ve muameleli grupların testis dokularındaki GPx enzim aktiviteleri	33
Şekil 3.5. Kontrol ve muameleli grupların testis dokularındaki GST enzim aktiviteleri	33

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Kontrol grubu ratların testislerindeki seminifer tüpçüklerinin genel görünüşü	34
Resim 3.2. Gallik asit uygulanan ratların testislerindeki seminifer tüpçüklerinin genel görünüşü.....	35
Resim 3.3. Fenitrotyon uygulanan ratların testislerindeki seminifer tüpçüklerinin bazal laminalarının germinal epitelden ayrılması.....	36
Resim 3.4. Fenitrotyon uygulanan ratların testislerindeki bazı seminifer tüpçüklerinde spermatojenik hücrelerde azalma, germinal epitelde bozulma ve bazal laminanın germinal epitelden ayrılması	36
Resim 3.5. Fenitrotyon uygulanan ratların testislerindeki bazı seminifer tüpçüklerinde germinal epitelde bozulma ve bazal laminada parçalanmalar	37
Resim 3.6. Fenitrotyon uygulanan ratların testislerindeki bazı seminifer tüpçüklerinde germinal epitelin kaybolması	37
Resim 3.7. Fenitrotyon ve gallik asit uygulanan ratların testislerindeki bazı seminifer tüpçüklerinde ve bazal laminanın germinal epitelden ayrılması	38
Resim 3.8. Fenitrotyon ve gallik asit uygulanan ratların testislerindeki bazı seminifer tüpçüklerinde germinal epitelde kısmen düzensizlik ve bazal laminanın germinal epitelden ayrılması, interstisyal alanda ödem.....	39
Resim 3.9. Fenitrotyon ve gallik asit uygulanan ratların testislerindeki bazı seminifer tüpçüklerinde germinal epitelde kısmen düzensizlik ve bazal laminanın germinal epitelden ayrılması	39

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler

Açıklamalar

°c	Santigrat
μmol	Mikromol
gr	Gram
kg	Kilogram
l	Litre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mol	Mol
nm	Nanometre
u	Unit

Kısaltmalar

Açıklamalar

AChE	Asetilkolin esterase enzim
CAT	Katalaz
CDNB	1-chloro- 2,4dinitrobenzen
GPX	Glutasyon peroksidaz
GST	Glutasyon S-transferaz
HSP70	Isı şoku protein-70
İ.M.	İntramuscular
LD	Letal doz
MDA	Malondialdehit
MS	Multiple sclerosis
NADPH	Nikotinamid-adenin-dinükleotid hidrojen fosfat
OP	Organofosfat
ROS	Oksijenden oluşan serbest reaktif tür

Kısaltmalar**Açıklamalar****SOD**

Süperoksit dismutaz

TBA

Tiyobarbitürik asit

UNEP

Birleşmiş Milletler Çevre Programı

WHO

Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) pestisit tanımını; insan ve hayvanlarda hastalık vektörleri, istenmeyen bitki türleri ile beraber ahşap ürünlerinin, hayvan yemlerinin, gıda ürünlerinin ve tarımsal ham maddelerin, üretimi, taşınması ve depolanması esnasında, bu ürünlere müdahale ederek zarara yol açan canlıların yok edilmesini, kontrolünü ya da önlenmesini sağlamak için kullanılan biyolojik ve kimyasal madde veya maddelerin karışımı olarak açıklamıştır (FAO, 2005). Kısaca pestisit, istenmeyen herhangi bir organizmanın çoğalmasına engel olan, öldüren veya uygulanan ortamdan uzaklaşmasını sağlayan bileşikler veya bileşiklerin karışımıdır (Özkaya, Çeliker ve Koçer, 2013).

Tarihte ilk pestisit kullanımının milattan önce 1500’lü yıllarda olduğu bilinmektedir. Pire, bit ve eşek arılarıyla mücadele için hazırlanan pestisitlerin tariflerinin belgeleri vardır. İlk pestisit olarak Mezopotamya’da Sümerler tarafından kükürt tozu kullanılmıştır. 1400’lü yıllarda ise cıva ve kurşun gibi ağır metaller kullanılmaya başlanmıştır. 1800’lü yıllarda krizantem bitkisinden üretilen sentetik olmayan, pire otu kullanılmıştır (Altıkat, Turan, Ekmekyapar ve Bingöl, 2009).

İlk pestisit kullanımı binlerce yıl öncesine dayansa da, ilk kanuni düzenleme girişimleri 1940’lı yıllarda yapılmış, ülkemizde de 1950’li yıllarda başlamıştır. Bu konudaki ilk çalışmalar ise 1972 yılında UNEP (United Nations Environment Program, Birleşmiş Milletler Çevre Programı) konferansında dile getirilmiştir. Günümüze kadar pestisitlerle ilgili araştırmalar artarak devam etmiştir. Son 50 yıldır dünyanın gözde problemlerinden olan; nüfus artışı, küresel açlık ve gıda ihtiyacının karşılanabilmesi için ciddi düzeyde pestisitler kullanılmaktadır (Çolak ve Cengiz, 1989).

Yaklaşık 6000 sentetik pestisit patenti vardır ancak, sadece 600 kadarı ticari olarak kullanılmaktadır. Her yıl Türkiye’de 40 bin ton pestisit kullanılmaktadır (Yeşil, ve Öğür, 2011). Buna rağmen tarımı yapılan bitkilerden çeşitli hastalıklardan dolayı ancak %66 verim alınabilmektedir (Çolak ve Cengiz, 1989). Bu sebeple pestisitler ülkemizde ve dünyada gereklidirler. Modern tarım yapılan bu bölgeler, ülkemizin en fazla nüfus bulunduran kısımlarından olmakla beraber, bütün ülkenin gıda ihtiyacını karşılamaktadır. Özellikle Ege ve Akdeniz Bölgeleri bu bölgelerdendir (Delen ve diğerleri, 2005). Dolayısıyla ülkemizde

pestisit kullanımı aslında büyük kitleleri ilgilendirmektedir.

Pestisitlerin ticari ömürlerini etkileyen en önemli özelliklerden ilki organizmaların pestisitlere direnç kazanmasıdır. Organizmanın pestisite direnç kazanması, söz konusu pestisit etkisini azaltmaktadır. Bu durumla karşılaşan pestisit kullanıcısı kullandığı pestisit dozunu arttırmak durumunda kalmaktadır. Bu da kullanılan pestisitlerin çevreye ve canlılara daha fazla zarar vermesi anlamına gelmektedir (Delen ve diğerleri, 2001).

Pestisitlere karşı organizmalarda gelişen direnç, organizmaların adaptasyonundan veya dayanıklılıklarının artmasından kaynaklanır. Adaptasyon canlıların genetik malzemelerinde değişiklik olmaksızın, bir kimyasala veya ortama uyum sağlamasıdır. Dayanıklılık canlının mutasyona uğraması dolayısıyla genetik malzemesinde değişikliklerin meydana gelmesi anlamına gelmektedir. Sonuç olarak canlı her iki durumda da kimyasal etmene veya ortama uyum sağlamakta, direnç kazanmaktadır (Delen ve diğerleri, 2001).

Adaptasyon ile direnç kazanan canlıların, söz konusu etkenin ortadan kalkması durumunda, eski haline dönmesi ve direncini kaybetmesi söz konusudur. Pestisitlerin bilinçsiz ve kontrolsüz kullanıldığı ülkelerde, istenmeyen organizmalarda direnç hızla ortaya çıkabilmektedir. Direnç, ürünlerin verimini azaltırken, kullanılan dozun artmasından dolayı pestisit kullanıcılarının giderlerini arttırmaktadır. Direncin ortaya çıkmasında en önemli faktör ise kullanılan pestisit doz ve uygulama şeklidir. Yanlış doz ve uygulama şekilleri sonucunda direncin çok hızlı bir şekilde oluşabileceği bilinmektedir (Delen ve diğerleri, 2001).

Bu gereklilik ile beraber pestisitler canlılara ve çevreye ciddi zararlar verme potansiyeline sahiptirler. Bilinçli veya bilinçsiz pestisit kullanımı akut veya kronik zehirlenmelere sebep olmaktadır. Bu durumlar, mesleki olmayan zehirlenmeler olarak adlandırılırlar. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde ise mesleki zehirlenmelere daha sık rastlanılır. Hindistan'da pestisit imalat fabrikasında kaza sonucu sızdırma yaşanmıştır. Bu pestisite maruz kalan çevre halkından 2500 kişinin ölümüne sebep olmuştur (Vural, 2005).

Pestisitlere maruz kalan insanların pestisit uygulayıcısı veya üreticisi olmasına göre etkilenme şekilleri farklıdır. Pestisit uygulayıcılarında deri yoluyla etkilenme yaygınken, üretim çalışanlarında solunum yoluyla etkilenme daha yaygın görülmektedir (Maroni,

Colosio, Ferioli ve Fait, 2000).

2004 yılında, Japonya’da yapılan çalışma, organofosforlu ve piretroid insektisitlere maruz kalan insektisit püskürtücülerinin meni indekslerini incelemiştir. Orta Japonya’da 9 şirkette çalışan 54 erkek ilaçlamacıdan 18’i, aynı yaştaki 18 öğrenci ya da tıp doktoru olan, pestisite maruz kalmamış insanlarla karşılaştırılmıştır. Püskürtücülerdeki eritrosit kolinesteraz aktiviteleri kontrol grubun göre daha düşük çıkmıştır. Ayrıca araştırmacılar, pestisite maruz kalma sıklığındaki artışın anlamlı bir şekilde eritrosit kolinesteraz aktivitelerinde azalmaya sebep olduğunu göstermişlerdir. Püskürtücülerdeki testis hacimlerinin ise kontrol grubundakilere göre daha küçük olma eğiliminde olduğu saptanmıştır. Sperm sayıları ve canlılığı gruplar arasında karşılaştırıldığında püskürtücüler ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılıklar görülmüştür. Püskürtücülerin sperm sayıları ve canlılıkları kontrol grubuna göre az çıkmıştır. Gruplar arasındaki olası doğal farklılıklara rağmen, püskürtücülerde gözlemlenen düşük semen kalitesinin, pestisit püskürtme çalışmasıyla ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Michihiro ve diğerleri, 2004).

Pestisitler insan sağlığını doğrudan ve dolaylı yoldan etkilemektedir. 1998 yılında Preziosi tarafından yapılan bir araştırma birçok memeli hayvanın böbrek, karaciğer, üreme ve sinir sistemlerinde pestisit kalıntıları olduğunu göstermiş, toksik birikimler oluştuğunu belirtmiştir (Preziosi, 1998). Dünya sağlık örgütüne (WHO) göre yılda 1 milyon kadar insan pestisit etkilemesi sonucu zehirlenme yaşamakta ve %2 kadarı zehirlenme sonucunda hayatını kaybetmektedir (Erdoğan, 2010).

Pestisitler hedef canlıyı etkilemek üzere seçici toksisite ilkesine göre tasarlanır ve sentezlenirler. Toksisite ilkesinde hedeflenen canlı üzerindeki toksik etkinin fazla olması ve diğer canlılarda toksik etkinin az olması amaçlanmaktadır (Ündeğer, 2001). Ancak bilinçsiz ve yanlış pestisit kullanımları hedef olmayan canlıları da etkilemektedir.

Pestisitlerin sadece insan sağlığını olumsuz yönde etkilemediği, doğadaki birçok canlının da hayat düzenini olumsuz etkilediği, besin piramidinde dengesizliklere ve bozulmalara sebep olduğu belirtilmiştir (Delen ve diğerleri, 2005).

Pestisitler genel olarak püskürtülerek uygulanmaktadırlar. Püskürtme uygulaması sırasında bu kimyasalların bir kısmı buharlaşma ve dağılmayla çevreye saçılırken, kalanı uygulanan

bitkiler ve uygulama alanındaki toprakta birikmektedir. Buharlaşarak ve dağılarak havaya karışan kimyasallar rüzgâr aracılığı ile taşınmaktadırlar. Yağmur, kar, dolu yağışları ve sis çökmesi gibi hava olayları ile yeryüzüne dönen bu kimyasallar uygulandıkları yerden kilometrelerce uzaklara ulaşabilirler. Bu yolla saçılan pestisitler aslında hedef olmayan canlıları da etkilemektedirler. Bu durum canlılarda birikime ve sonuç olarak toksisiteye sebep olmaktadır. Toprak ve tarım bitkileri üzerinde kalan pestisitler ise yağmur ve sulama ile yer altı veya yer üstü su kütlelerine ulaşmaktadır. Su kütlelerine ulaşan pestisitler, göllerde, nehirlerde ve denizlerdeki çok hücreli kompleks ve tek hücreli canlıların ölümüne sebep olabilmektedirler. Bu durum sadece sucul canlıları etkilemeyip, insanların ve diğer canlıların içme sularına karışabilir veya pestisit birikimine sahip su canlılarının diğer hayvanlar ve insanlar tarafından tüketilmesiyle, diğer canlılarda ve insanlarda pestisit birikimine sebep olabilir (Hansoy, 2010).

Bu şekilde pestisitlerin besin zincirine katılmaları, besin piramidinin en tepesinde bulunan insanlarda birikim yapmakta ve uzun vadede ciddi sağlık problemlerine sebep olmaktadır (Ural, Özgüner, Büyükvanlı, Kuplay, ve Köylü, 2006).

Pestisitlerin insan sağlığına çok sayıda olumsuz etkisi vardır. Bunlar, anne karnı dönemindeki ve bebeklerdeki beyin gelişimine zarar verebilmektedir. Ayrıca fizyolojik bozukluklara, kansere, gen mutasyonuna, üreme bozukluklarına, çeşitli zehirlenmelere, sinir, üreme ve endokrin sisteminin çalışmasında bozulmalara sebep olabilmektedir.

Pestisitler dermal yol, solunum yolu veya pestisit kalıntılarının biriktiği besin ürünlerinin tüketilmesiyle sindirim yolu aracılığıyla vücuda girmektedir. Pestisitlerin zehirlenme ihtimali, maruz kalınan kimyasalın ne kadar zehirli olduğu ve ne kadar maruz kalındığıyla orantılıdır (Tiryaki, Can Hilal, ve Horuz, 2010). Pestisitler zamanla canlı vücudunda birikerek, sinir hücrelerinde zarara neden olarak akut olumsuz etkiler gösterebilirler (Zeren ve Yaşarbaş, 1989). Pestisitler mutajenik, alerjik, kanserojenik ve tahriş edicidirler. Pestisitler bitkiler üzerinde kullanılsa da saçılma ile küçükbaş, büyükbaş, kümes ve balık çiftliklerindeki canlılar üzerinde ani zehirlenmelere veya birikime sebep olabilirler. Bu hayvanlardan elde edilen ürünlerde de (süt, yumurta, vb.) pestisit birikimi söz konusudur (Zeren ve Yaşarbaş, 1989).

Bir araştırma pestisitlerin kandaki eritrosit ve lökositlere toksik etki yaptığı, eritrositlerde

zar bozulmalarına sebep olduğunu bildirmiştir (Weizman ve Sofer, 1992).

1991 yılında, Blasiak tarafından yürütülen bir çalışma pestisitlerin canlılardaki antioksidan enzim sistemlerini bozduğu ve etkisiz hale getirdiğini göstermiştir (Blasiak, Walter ve Bawronska, 1991).

Bir yıl sonrasında, 1992 yılında, Datta tarafından yapılan çalışmada, pestisitlerin asetilkolinesteraz aktivitesini olumsuz yönde etkileyerek, sinir sistemi üzerinden ölümlere sebebiyet verebileceği belirtilmiştir (Datta, Gupta, Sarkar ve Sengupta, 1992).

Başka bir pestisit çalışması, 1990 yılında, Izushi ve Ogata tarafından yapılmış olup pestisitlerin kas sistemine olumsuz yönde etkisi olduğu gösterilmiştir (Izushi ve Ogata, 1990).

1991 yılında, Brovwer ve arkadaşları, pestisitlerin insanlarda böbrek ve karaciğer toksisitesi meydana getirdiğini belirtmiştir (Brovwer, Evelo, Verplanke, Welie ve Wolf, 1991).

1999 yılında, pestisit uygulayıcılarının kan örneklerinin incelendiği bir çalışmada, araştırmacılar pestisit uygulayıcılarının karaciğer enzim aktivitelerinde yükseliş olduğunu dile getirirken, karaciğerde toksik etkiler meydana geldiğini belirtmiştir (Çömelekoğlu, Mazmancı ve Arpacı, 1999).

2015 yılında, Blair ve arkadaşları yaptığı çalışmayla, pestisitlerin canlılarda karsinojen ve endokrin bozucu etkileri olduğunu göstermişlerdir (Blair, Ritz, Wesseling ve Freeman, 2015).

Endokrin sistem dışında, sinir sisteminin de pestisitlere hassas olduğu, anne karnı ve bebeklik döneminde, pestisite maruz kalmanın nöron gelişimini negatif etkilediği 2013 yılında yapılan çalışmalarla belirtilmiştir (Munoz ve diğerleri 2013).

2017’de yapılan deneysel çalışmalar da, pestisitlerin kansere sebep olduğunu (Petrakis ve diğerleri, 2017) ve prostat, akciğer ve lenfatik sistemler gibi sistemlerde çeşitli kanser tiplerine sebebiyet verdiğini belirtmektedir (Bonner ve diğerleri, 2017).

2018 yılında, Neghab dâhil olduğu araştırmada, meslek gereği pestisitlere maruz kalan insanların kan ve idrar örneklerini incelemiştir. Yapılan incelemeler, kontrol ile

karşılaştırıldığında, pestisit maruzu grubun, hematokrit değerlerinin ve alyuvar düzeylerinin düştüğünü, ayrıca üre düzeylerinin arttığını gözlemlemiştir (Neghab, Jalilan, Taheri, Tatar ve Zadeh, 2018).

Pestisitlerin su kütlelerine karışması, suda yaşayan canlıları kitleler halinde öldürebilmekte veya yaşam alanlarından uzaklaşmalarına sebep olabilmektedir. Bunların sonucunda da ciddi çevresel problemler oluşabilmektedir (Erdoğan, 2010).

Bir maddenin tek seferde verilen dozu gruptaki hayvanların yarısını öldürüyor ise bu doz söz konusu maddenin letal dozu (LD₅₀) olarak belirlenmektedir. Kimyasal maddelere kısa süreli maruz kalmaya bağlı akut toksisiteyi gözlemlemek ve değerlendirmek için letal doz LD₅₀ önemlidir. Letal doz belirtilirken, kullanılan deney hayvanı ve maruz kalma şekli de belirtilmelidir.

Pestisitler kaliteli gıdaların üretimi ve çeşitli vektörlerle mücadele için tarım sektöründe olmazsa olmaz iken, doğada artan pestisit kalıntıları insan ve çevre sağlığı üzerinde ciddi riskleri beraberinde getirmektedir.

Pestisit sınıfları

Pestisitleri, etkili oldukları canlıya, kimyasal yapılarına ve kalıcılıklarına göre sınıflandırmak mümkündür.

Etkili oldukları canlıya göre;

- Herbisitler istenmeyen bitkilere karşı,
- İnsektisitler istenmeyen böceklere karşı,
- Fungusitler istenmeyen mantarlara mücadelede,
- Akarisitler akarlara karşı,
- Larvasitler karasinek ve sivrisineklere karşı,
- Nemositler istenmeyen nematodlara karşı,
- Mollusisitler istenmeyen yumuşakçalara karşı,
- Bakteriositler istenmeyen bakterilere karşı,
- Afisitler yaprak bitlerine karşı,
- Ixodisitler kenelere karşı ve

- Rodentisitler istenmeyen kemirgenlere karşı kullanılan pestisitlerdir (WHO, 2009).

Pestisitlerin alt sınıfı olan insektisitler; istenmeyen böceklerle karşı kullanılırlar (Aydın ve Mammadov, 2017), tarımsal üretimde verimi arttırma ve halk sağlığının korunması açısından önemli yer teşkil etmektedirler. İnsektisitlerin yaygın kullanılmaları ve bu yüzden üretimi ve uygulaması sırasında oluşan maruz kalmaya ek olarak koruyucu donanım kullanılmaması, yetersiz eğitim ve bilinçsiz kullanım gibi etmenlerden dolayı insektisit zehirlenmeleri meydana gelebilmektedir (Özkaya ve diğerleri, 2013). Kimyasal insektisitler nörotoksik olup hedef organizmanın sinir sistemini inhibe etmektedirler (Vural, 2005).

İnsektisitler kimyasal yapılarına göre 4 grupta incelenebilir (WHO, 2009);

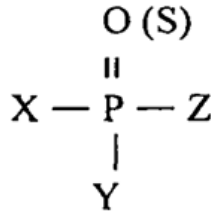
- Organoklorlu
- Karbamatlı
- Piretroidli
- Organofosfatlı

Dünya Sağlık Örgütü tarafından yapılan pestisitlerin toksisite derecelerinin sınıflandırılması Çizelge 1.1’de görülmektedir.

Çizelge 1.1. Pestisitlerin, Dünya Sağlık Örgütü’ne göre toksik derecelerine göre Sınıflandırılması (Ündeğer, 2001)

Toksosite düzeyi	Rat LD ₅₀ (mg/kg)			
	Oral yolla		Dermal yolla	
	Katı hal	Sıvı hal	Katı hal	Sıvı hal
Ia- Aşırı derecede zararlı	< 5	≤ 20	< 10	< 40
Ib- Çok zararlı	5 - 50	20 - 200	10 - 100	40 - 400
II- Orta derecede zararlı	50 - 500	200 - 2000	100 - 1000	400 - 4000
III- Az zararlı	>500	>2000	>1000	>4000

Organofosfatlı pestisitler, asetilkolinesterazı inhibe ederek organizmaların sinir sistemi üzerinde olumsuz etki göstermektedirler (Şekil 1.1). Organofosfatın, canlılarda kolinesterazın inhibisyonu ve kolinerjik etkilerin varlığı dışında, oksidatif stres ve hiperglisemi etkileri de bulunmaktadır. Organofosfatın neden olduğu oksidatif stres, farklı organ ve dokuların işlevlerinde bozulmalara yol açmaktadır. Subkronik veya kronik organofosfat maruziyetinde oksidatif stresin indüksiyonu, toksisitesinin ana mekanizmasıdır. Organofosfat zehirlenmesinde doğal veya sentetik antioksidan ile takviye faydalı olabilmektedir. Bu nedenle, OP toksisitesine karşı korumada bu antioksidanların etkinliğini araştırmak için klinik deneylere ihtiyaç duyulmaktadır (Lukaszewicz-Hussain, 2010).



Şekil 1.1. Organofosfatlı pestisitlerin genel yapısı (Pakizer, 2013)

Organofosfatlar ilk olarak İkinci Dünya Savaşı'ndan önce Almanya'da sentezlenmişlerdir. Organofosfatlar, diğer pestisitler arasında, omurgalılar için en zehirli olanlardır (Rahimi, Nikfar ve Abdollahi, 2006; Shadnia ve diğerleri, 2005). Günümüzde organofosfatlı insektisitlerin halk sağlığı ve tarımda yaygın olarak kullanılması çevre kirliliğine ve bir takım akut ve kronik zehirlenme olaylarına neden olmaktadır. Bu nedenle, gıda ürünlerinde ve su kaynaklarında bu insektisitlerin birikmesi konusunda artan bir kamuoyu endişesi bulunmaktadır (Costa, 2006; Rahimi, Nikfar ve Abdollahi, 2006). Organofosfatlı insektisitlere maruz kalma gastrointestinal, inhalasyon ve dermal yollarla olmaktadır. Zehirlenmeler, tarımsal kullanım, intihar veya kazara maruz kalma sonucu oluşmaktadır (Yurumez, Cemek, Yavuz ve Birdane, 2007). Organofosfatlar, birincil hedefi önemli bir nörotransmitter olan asetilkolini hidrolize eden asetilkolinesteraz (AChE) enzimidir (Lotti, 2001; Sharma, Bashir, Irshad, Gupta ve Dogra, 2005). Organofosfatlı insektisitlerle akut intoksikasyonun ana klinik etkisi, bu enzimin kan ve sinir sistemindeki aktivitesinin geri dönüşümsüz inhibisyonu, asetilkolin birikmesi ve ölüme yol açabilecek muskarinik ve nikotinik reseptörlerin aktivasyonudur (Aygün, Erenler, Karataz ve Baydin, 2007; Savolainen, 2001; Sharma ve diğerleri, 2005). ACh birikiminin hızı insektisit dozuna

bağlıdır. Akut toksisite, aşırı glandüler sekresyon ve zayıflık, miyozis ve kas fasikülasyonu ile kolinerjik kriz olarak kendini göstermektedir (Rahimi, Nikfar ve Abdollahi, 2006). Bu nedenle, hem akut hem de kronik zehirlenmede, bu bileşiklerin redoks süreçlerini bozduğu, antioksidan enzimlerin aktivitelerini değiştirdiği ve birçok hastada lipid peroksidasyonunun artmasına neden olduğu öne sürülmesine rağmen, OP etkisinin ana hedefi, merkezi ve periferik sinir sistemidir (Sharma ve diğerleri, 2005; Soltatinejad ve Abdollahi, 2009; Zhang, Qiao ve Lan, 2004). Bu bileşiklerden etkilenebilecek sistem ve organlar karaciğer, böbrek, kaslar, bağışıklık sistemi, hematolojik sistem ve diğerleridir (Possamai ve diğerleri, 2007; Teimouri ve diğerleri, 2006). Subkronik veya kronik OP etkisi durumunda oksidatif stresin indüksiyonu, toksisitesinin ana mekanizması olarak rapor edilmiştir (Ranjbar ve diğerleri, 2005). Bu grup ismini kimyasal açıdan karbon-fosfat bağı içerdiği için almıştır (Agrawal ve Sharma, 2010). Organofosfatlı pestisitlerin kullanılmasının temel sebebi organoklorlu pestisitlerin yağ dokuda birikmesi, kullanımının kısıtlanması ve böcek toksisitesinin daha düşük olmasıdır. Organofosfatlı pestisitlerin etken maddeleri çok çeşitlidir, bu yüzden birçok çeşit istenmeyen canlıya karşı kullanılabilirler (Ünal ve Gürkan, 2001). Organofosfatlı pestisit yapısı, fosfata çift bağla bağlanan sülfür ve oksijene göre tiyofosfatlar veya fosfatlar olarak isimlendirilmektedir (Pakizer, 2013).

Organofosfatlı pestisitlere maruz kalmaya bağlı zehirlenmeler yüksek oranda görülmektedir. Organofosfatların toksisitesi karbamatlı pestisitler gibi sinir sisteminde nöronlar arası boşlukta impuls iletimini sağlayan elzem bir nörotransmitter olan asetilkolinin görevini tamamladıktan sonra yıkımını sağlayan asetilkolin esteraz enzimini inhibe etmektedir. Organofosfatlı pestisitlere örnek olarak dimethoate, parathion, chlorothion, fenitrotyon verilebilir (Pakizer, 2013).

Hava, güneş ışığı ve toprağa maruz kalmaları durumunda organofosfatlı pestisitler hızlı bir şekilde hidrolize olmaktadır (Agrawal ve Sharma, 2010).

Organofosfatlı pestisitlerin akut toksisitede bir uzun zamanlı etkisi olmadığı ancak kronik toksisitede etkilerinin uzun olduğu gözlemlenmiştir. Sık görülen semptomlar gözyaşı, salya, idrar tutamama, diare ve göz bebeği büzülmesidir (Agrawal ve Sharma, 2010).

Antioksidan düzeyindeki değişikliklerin artık birçok hastalığın nedenlerinden biri olarak kabul edildiği gerçeği göz önüne alındığında, organofosfat bileşiklerinin vücutta oksidatif stres indüksiyonu üzerindeki etkisinin daha fazla araştırılması son derece önemli

görülmektedir.

2005 yılında, Mashali ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışma, organofosfatlıların antioksidan enzim düzeylerinde düşmeye, lipid peroksidasyonunda artmaya ayrıca asetilkolinesterazın etkinliğinde düşmeye sebep olduğunu göstermiştir (Mashali, Nounou, Sharara, Manal ve Azizi, 2005).

İngiltere’de, 2002 yılında yapılan bir çalışma, kronik yorgunluk ile organofosfat kullanımı arasındaki ilişkiyi incelemiştir. Organofosfat kullanan küçükbaş hayvan yetiştiricilerinde kronik yorgunluk sendromu gelişiminin olduğu tespit edilmiş, bu durum az da olsa organofosfat kullanımıyla kronik yorgunluk arasında ilişki olabileceğini ortaya koymuştur (İstanbuluoğlu, Oğur ve Güleç, 2009; Slotkin, Oliver ve Seidler, 2005).

Benzer şekilde ilk körfez harekâtında bulunan askerlerde ortaya çıkan, Körfez Harekâtı Sendromu’nun kronik yorgunluk sendromu ile benzerliği akıllara harekât sırasında kullanılan organofosfatlı sinek ilaçlarını getirmiştir. Birden fazla araştırmacı Körfez Harekâtı Sendromu’nu sinek kovuculara bağlamıştır (İstanbuluoğlu ve diğerleri, 2009; Nisenbaum, Barret, Reyes ve Reeves, 2000).

Bir çalışmada, organofosfatlı pestisitlerin küçük çocuklar üzerindeki nörodavranışsal etkileri incelenmiştir. Organofosfatlı pestisitlere maruz kalan çocuklar ile maruz kalmayan çocuklar nörodavranışsal açıdan incelendiği zaman, pestisite maruz kalan çocukların motor becerilerinde ve sosyal bireyselliğinin gelişiminde yavaşlamalar görülmüştür (Handal, Lozoff, Breilh ve Harlow, 2007; İstanbuluoğlu ve diğerleri, 2009).

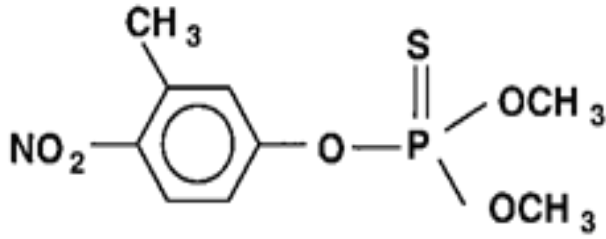
2007 yılında, Verma ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, sub-letal dozda chloropyrifos verilen sıçanların beyin, dalak, böbrek ve karaciğerinde toksisite oluşturduğunu ve dokulardaki biyokimyasal parametrelerde değişikliğe neden olduğunu gözlemlemiştir (Verma, Mehta ve Srivastava, 2007).

2010 ve 2016 yıllarında, chlorpyrifos ile yapılan deneyler farelerin böbrek dokusunda infiltrasyon, hemoraji ve ödem dolayısıyla toksisiteye neden olduğunu göstermiştir. Ayrıca vücut ağırlığında azalmaya sebep olduğu ve oksidatif stresi arttırdığı dille getirilmiştir (Deng, Zhang, Lu, Zhao ve Ren, 2016; Tripathi ve Srivastav, 2010).

Klorfenvinfos organafosfatlı bir pestisittir. Bu pestisit ile yapılan çalışmada, akut intoksikasyonun karaciğer üzerindeki etkisine odaklanılmıştır, laktat hepatosit sitozol düzeyinde ve laktat/piruvat oranında artış (doza bağlı olarak) saptanmış ve muhtemelen hepatik glikojenoliz ve glukoneogenez yolunun uyarılmasıyla glukoz metabolizması bozulmuştur (Lukaszewicz-Hussain ve Moniuszko-Jakoniuk, 1997). Laktat/piruvat oranı, hücre redoks durumu ve doku hipoksisinin bir göstergesidir. Bu, klorfenvinfos ile akut zehirlenmenin oksidatif fosforilasyon sürecinin inhibisyonuna ve bunun sonucunda ROS oluşumunun artmasına yol açtığı anlamına gelmektedir. Bu süreç karaciğer mitokondriyal hasarına yol açmaktadır. Deneysel kanıtlar, klorfenvinfos ile akut zehirlenmede sıçan karaciğer mitokondrilerinde aşırı süperoksit anyon ve hidrojen peroksit üretiminin olduğunu göstermiştir (Lukaszewicz-Hussain ve Moniuszko-Jakoniuk, 2003, 2004). Mitokondriyal akonitaz, artan süperoksit anyon seviyesi tarafından inhibe edilen enzimdir ve bu nedenle, azalmış mitokondriyal akonitaz aktivitesinin, süperoksit anyon oluşumunda artış anlamına geldiği varsayılmaktadır (Vasquez-Vivar, Kalyanaraman ve Kennedy 2000). Bu enzim aktivitesinin inhibisyonu ve artan hidrojen peroksit seviyesi, akut olarak klorfenvinfos ile zehirlenen sıçanların karaciğer mitokondrilerinde gözlenmiştir (Lukaszewicz-Hussain ve Moniuszko-Jakoniuk, 2004).

Bir organafosfatlı pestisit fenitrotiyon

Bu çalışmada kullanılan fenitrotiyon (Şekil 1.2) [CAS Numarası: 122-14-5, O,O–dimetil O–(3–metil–4–nitrofenil) fosforotiyoat], asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesini inhibe ederek sinir sistemini bozan bir organofosfatlı pestisittir. Geniş spektrumlu etkisi göz önüne alındığında, böcek zararlılarına ve akarlar karşı yaygın olarak kullanılmaktadır. Avrupa’da uygulanan çoğu fenitrotiyon tarımda kullanılmaktadır, ancak depolanmış tahıl böcek hasarına karşı korumak için piretroidlerle birlikte ve bir dizi karınca ve sinek öldürücüde de kullanılmaktadır. Tahıllar, pamuk, meyve bahçesi, pirinç, sebzeler, depolanmış ürünler, işlenmiş ürünler üzerindeki çok çeşitli zararlılara (örneğin, kahve yaprak madencileri, çekirgeler, pirinç sapı kurdu, buğday böcekleri, un böcekleri, tahıl böcekleri, tahıl bitleri) karşı etkilidir. Çiftlikler ve halk sağlığı için sinek, sivrisinek ve hamam böceği kalıntı temas spreyi olarak da kullanılabilir (Sarıkaya, Selvi ve Erkoc, 2004).



Fenitrothion

Şekil 1.2. Fenitrotiyon yapısı (Tamura ve diğerleri, 2001)

Fenitrotiyon, evdeki böceklerle ve Dünya Sağlık Örgütü tarafından listelenen tüm rahatsız edici böceklerle karşı da etkilidir ve ayrıca sıtma için etkili bir vektör kontrol maddesidir. Paratiyonun yasaklandığı bazı ülkelerde tercih edilmektedir. Fenitrotiyon içeren ürünler, etiketlerinde “Dikkat” işaretini taşımalıdır (Sarıkaya ve diğerleri, 2004). Fenitrotiyon, 1959’da hem Sumitomo Chemical Company ve Bayer Leverkusen hem de daha sonra American Cyanamid Company tarafından tanıtılmıştır. Fenitrotiyon, kısa yağışlı mevsimlerde önemli hasara neden olan çekirge ve çekirgeleri kontrol etmek için geleneksel bir kimyasal insektisit olarak kullanılmaktadır (Arthur, Thomas ve Langewald, 2003). Madagaskar’da bir çekirge kontrol ajanı olarak kullanılan fenitrotiyonun, saha toksisitesi incelendiğinde bitki örtüsünde yaşayan ve uçan böceklerin fenitrotiyondan orta derecede etkilendiğini göstermiştir (Peveling, Rafanomezantsoa, Razafinirina, Tovonkery ve Zafimaniry, 1999). Fenitrotiyon, yaygın bir su kirleticisi olarak onaylanmakta ve Japonya’nın hemen hemen her yerinde nehir suyunda yüksek sıklıkla tespit edilmektedir (Derbalah, Nakatani ve Sakugawa, 2003; Numabe, Inoue ve Ebise, 1992; Sudo, Kunimatsu ve Okubo, 2002; Tanabe, Mitobe, Kawata, Yasuhara ve Shibamoto, 2001). Ayrıca, doğal sudaki fenitrotiyon kalıntıları, suda yaşayan organizmaları bazıları ana bileşikten daha toksik olan birçok toksik metabolitin salınmasıyla sonuçlanan fotodegradasyona uğratmaktadır (Amoros, Connon, Garelick, Alonso ve Carrasco, 2000; Derbalah, Wakatsuki, Yamazaki ve Sakugawa, 2004). Birleşik Krallık Çevre Ajansı tarafından su ortamı için en tehlikeli maddelerden biri olarak “kırmızı liste”de sınıflandırılmıştır (Crathorne ve Dobbs, 1990). Fenitrotiyon toprak, su ve gıda ürünleri gibi çevrede bulunması da hedef olmayan organizmalar üzerinde toksik etkilere neden olabilmektedir (Derbalah, Nakatani ve Sakugawa, 2004; Galal, Ramadana, Metwally ve El-Sheikha, 2019). İnsanlar potansiyel

olarak fenitrotiyona doğrudan mesleki maruz kalma veya dolaylı olarak gıda tüketimi yoluyla maruz kalmaktadır.

2007 yılında, Kerem ve arkadaşları tarafından yapılan çalışma, ratlara uygulanan fenitrotiyonun böbrekte biyokimyasal ve histopatolojik değişiklikler meydana getirdiğini gözler önüne sermiştir. Fenitrotiyon tarafından asetilkoliesterazın inhibe olduğu, kreatin, ürik asit ve ürenin yükseldiği belirtilirken, histopatolojik olarak tübüllerde dilatasyona, atrofiye neden olurken, hücrelerde infiltrasyonuna sebep olduğu belirtilmiştir (Kerem ve diğerleri 2007).

2008 yılında, Wistar ratlarla yapılan çalışmada, fenitrotiyonun rat böbreğinde toksikolojik etkisi olduğunu ortaya koymuştur. Histopatolojik olarak, renal tübüllerde hücre dejenerasyonu gözlemlenmiştir. Bununla beraber medulla ve korteks bölgesinde hemorajiye, tübüler dilatasyona ve konjesyona sebep olduğu gözlemlenmiştir (Afshar, Farshid, Heidari ve Ilkhanipour, 2008).

Fenitrotiyon, depolanmış tahıldaki böcekleri kontrol etmek için yaygın olarak kullanılan organofosforlu insektisitlerdendir. Fenitrotiyon memeliler için orta derecede toksik olduğundan (LD50 503 mg/kg) yalnızca depolama kaplarının yüzeylerini işlemek için kullanılmaktadır (Uygun, Koksel ve Atli, 2005). Ancak bazı çalışmalarda, insektisit kalıntılarının da depolama sırasında kaplara nüfuz ettiği ve zamanla kapların içinde birikime sebep olduğu tespit edilmiştir (Desmarchelier, 1978; Holland, Hamilton, Ohlin ve Skidmore, 1994).

2005 yılında, Uygun ve arkadaşları tarafından yapılan çalışma, yerel depolama koşulları altında buğdayda fenitrotiyon kalıntılarını ve büyüklüğünü araştırmıştır. En yüksek miktarda insektisit ve metabolit kepek ekmekte; en az ise beyaz ekmekte bulunmuştur. Kepekli ekmeklerin fenitrotiyon seviyesi dışında genellikle maksimum kalıntı limitlerinin aşılmadığı görülmüştür (Uygun ve diğerleri, 2005).

Yapılan bir çalışmada, fenitrotiyona akut ve kronik maruz kalma, sıçanların karaciğer ve böbrek hücrelerinde nükleer membranın tamamen bozulmasına, nükleer bütünlüğün tamamen kaybına ve anormal şekilde genişlemiş düz endoplazmik retikulum ile yapısal değişikliklere sebep olduğu belirtilmiştir (Elhalwagy, Nevine, Darwish, Enass, Zaher, 2008).

2004 yılında, fenitrotyonun balıklar üzerindeki etkilerini araştıran Sarıkaya ve arkadaşları, kontrol grubu dışında 5 farklı grup oluşturmuş ve her gruba farklı konsantrasyonda fenitrotyon uygulamışlardır. Grupları 96 saate kadar inceleyen Sarıkaya ve arkadaşları, en düşük doza sahip grupta (2.5 mg/l) kontrole göre bir farklılık görmezken, diğer gruplarda davranışsal değişimler ve ölümler gerçekleşmiştir. En yüksek gruptaki (4.5 mg/l) tüm canlılar 48 saat içerisinde ölmüştür (Sarıkaya ve diğerleri, 2004).

2013 yılında, Taib ve arkadaşları tarafından yürütülen çalışmada, 20 mg/kg fenitrotyon dozunu art arda 28 gün boyunca oral yoldan Sprague-Dawley sıçanlarına uygulanmıştır. Kan örnekleri ve sperm örnekleri alınan çalışma, fenitrotyonun vücut ve organ ağırlığı, biyokimyasal ve oksidatif stres, sperm özellikleri, testislerdeki histoloji ve ultrastrüktürel değişikliklere sebep olduğunu göstermiştir. Fenitrotyon, kontrol grubuna kıyasla vücut ağırlığı artışı ve epididim ağırlığını önemli ölçüde azaltmıştır. Ayrıca kontrol grubu ile karşılaştırıldığında plazma kolinesteraz aktivitesinin azaldığı gözlemlenmiştir. Fenitrotyona maruz kalan gruplarda sperm konsantrasyonu, sperm canlılığı ve normal sperm morfolojisi gibi sperm özellikleri değişmiştir. Fenitrotyon ile tedavi edilen grubun testislerinin histopatolojik ve ultrastrüktürel incelemesi, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında biyokimyasal değişiklikler gözlemlenmiştir. 20 mg/kg fenitrotyon dozu Sprague-Dawley sıçanlarının sperm ve testislerinde zararlı etkilere neden olduğu dile getirilmiştir (Taib ve diğerleri, 2013).

2015 yılında yapılan araştırma, bir antioksidan tokotrienolün fenitrotyon kaynaklı testis hasarını önleyip önleyemeyeceğini göstermeye çalışmıştır. 40 adet olgun erkek Sprague-Dawley sıçanlarına art arda 28 gün boyunca gavaj yoluyla fenitrotyon, tokotrienol ve tokotrienol + fenitrotyon verilmiştir. Testiste ısı şoku protein-70 (HSP70) ekspresyonu ve apoptotik germ hücre sayısı tokotrienol + fenitrotyon grubunda sadece fenitrotyon grubuna göre önemli ölçüde azaldığı gözlemlenmiştir. Tokotrienol ayrıca sialik asit, toplam kolesterol ve toplam proteini azaltarak sıçan testisindeki biyokimyasal değişiklikleri iyileştirdiği dile getirilmiştir. Histolojik ve ultrastrüktürel gözlemler, tokotrienol + fenitrotyon grubunda tokotrienol takviyesinin testisteki morfolojik değişiklikleri iyileştirdiği gözlemlenmiştir (Taib ve diğerleri, 2015).

Yapılan başka çalışmalar, çeşitli fenitrotyon konsantrasyonlarının sıçanların karaciğer ve böbreklerinde histopatolojik etkilere, sıçanların akciğerlerinde sitotoksik etkilere ve

sıçanlarda immünosupresif etkilere neden olduğunu göstermiştir. Oral uygulama ile 20 mg/kg vücut ağırlığı dozunda fenitrotyon, erkek albino sıçanlarda karaciğer ve böbreklerde önemli hasara ve akciğerlerin histolojisinde değişikliklere neden olmuştur (Elhalwagy ve diğerleri, 2008; Hayes ve Laws, 1991).

Bir çalışma, 15 ve 30 mg/kg dozlarında FNT'ye yedi günlük maruz kaldıktan sonra, sıçanlarda androjene bağımlı dokuların büyümesinin azaldığını göstermiştir (Tamura ve diğerleri, 2001).

Pestisitlerin toksisitesinde serbest radikaller önemli rol oynamaktadır. Serbest radikaller antioksidan mekanizmalarında bozulmalar dolayısıyla oksidatif strese yol açmaktadır (Kehrer, 1993).

Serbest radikaller hücrelerin normal işleyişleri sırasında oluşurlar ve aslında savunmasında önemli rol oynarlar ancak yüksek seviyelere çıkan serbest radikaller dokularda hasar, hücrelerde ise ölüme neden olabilmektedir (Ozbek, 2012).

Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektronludur. Bu özellikleri onları kısa ömürlü, kararsız ve çok aktif moleküller yapmaktadır. Araştırmalarda serbest radikal miktarının artmış olması, patoloji olduğu anlamına yorumlanmaktadır (Abdollahi, Rainba., Shadnia, Nikfar ve Rezaie, 2004). Serbest radikaller elektron transfer zincirindeki elektronların transferi, iyonize edici radyasyon veya moleküldeki bağların homolitik olarak parçalanması sonucu ile meydana gelebilmektedir (Cherubini, Ruggiero, Polidori ve Mecocci, 2005).

Serbest radikaller lipid, protein, genetik metarial ve organel gibi biyomoleküllerle veya yapılarla reaksiyona girerek elektron çalmakta, bu durum fonksiyonel ve yapısal bozukluklara yol açmaktadır (Mansour ve Mossa, 2009).

Hücrelerde önemli serbest radikallerin birçoğu oksijen içermektedir. Hücreler hastalandıklarında veya yaşlandıklarında yüksek oranda serbest radikal sentezlemekte ve kendilerini apoptoza itmektedirler (McCord, 1993). Oksijenden oluşan serbest reaktif türleri (ROS) en etkili serbest radikallerin büyük çoğunluğunu oluşturmaktadır (Ozbek, 2012).

Süperoksit Anyon ($O_2^{\cdot-}$) radikali, moleküler oksijenin indirgenmesi sırasında ortaya çıkan ara ürünlerdendir. Aslen süperoksit anyon çok zararlı değildir ancak hidrojen peroksit (H_2O_2) kaynağı ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olması ikincil olarak radikal ürettiği anlamına gelmektedir. İkincil olarak üretilen bu radikaller zararlıdır (Memişoğulları, Taysi, Bakan ve Çapoğlu, 2003).

Hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit anyonun aksine zarları geçerek sitoplazmada yayılabilir ve uzun zamanlı bir oksidan olarak davranabilir. Zarlardan geçebilir olması hidrojen peroksitin zarlarla korunan yapılara ulaşabilmesi ve onlara zarar verebilmesi veya süperoksit anyonla tepkimeye girerek hidroksil radikalini oluşturabilmesi anlamına gelmektedir. Hidroksil ($OH^{\cdot}$) radikali, en reaktif radikaldir dolayısıyla en zarar verici radikaldir (Vincent, Russell, Low ve Feldman, 2004).

Hidroksil ($OH^{\cdot}$) radikalinin yarı ömrü çok kısadır ancak son derece reaktif bir oksidan radikaldir. Kısa ömründe bile büyük hasara yol açmaktadır. Nükleik asitler, aminoasitler, şekerler ve fosfolipitler gibi biyokimyasal maddelerle kolayca tepkimeye girerek ve onların yapılarını, işlevlerini bozmaktadır (Cherubini ve diğerleri, 2005; Young ve Woodside, 2001).

Oksidan ve antioksidanların arasındaki dengenin bozulması oksidatif stresi tetikleyip oksidanların antioksidanlardan fazla olması durumunda lipid peroksidasyonu ve serbest radikal ürünlerinin oluşması sonucunda hücrel hasar meydana gelmesi olarak tanımlanabilmektedir. Oksidatif strese karşı canlıdaki savunma sistemlerinin yetersiz kalması hücrelerdeki oksidatif stresten kaynaklı zararların artmasına ve hücrelerdeki işleyişlerin azalmasına sebep olmaktadır. Oksidatif stresin, karaciğer hastalıkları, yaşlanma, böbrek yetmezliği ve kanser gibi birçok rahatsızlığın sebebi olduğu bilinmektedir (Gutteridge, 1993).

Serbest oksijen radikalleri hücrelerde metabolik bozukluklara sebep olarak oksidatif hasar oluşumuna neden olmaktadır. Çoğu enzimin aktivitesini negatif yönde etkilemektedir. Reaktif oksijen türlerinin sayısındaki aşırı artış hücrenin yapılarında istenmeyen değişikliklere yol açmaktadır. Zarda bulunan poliansatüre yağ asitlerinde lipid peroksidasyonuna sebep olarak, DNA, RNA ve proteinlerde modifikasyonlar meydana getirip ayrıca antioksidan savunma sisteminde baskı oluşturduğu bilinmektedir (Baş, Kara, Kara ve Pandır, 2013).

Serbest radikaller hücredeki proteinlerin sülfidril yapılarıyla tepkimeye girme özellikleri yüksektir. İyonize edici radyasyon kaynaklı serbest radikallerin DNA, lipid ve karbonhidrat gibi bileşiklerde hasara yol açtığı bildirilmiştir. Mitokondrilerdeki aerobik solunuma ve kapiller permeabiliteye hasar verdikleri ayrıca hücrede potasyum kaybına sebep verdikleri belirtilmiştir (Akkuş, 1995).

Zar lipidlerinde oluşan bu peroksidasyon genel doku hasarını tetiklemektedir (Possamai ve diğerleri, 2007). Zardaki kolestrol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle reaksiyona girerek, bu reaksiyonun sonucunda peroksidasyon ürünleri meydana gelmektedir. Poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif yıkımı hücre için çok zararlıdır. Bu yıkım lipid peroksidasyonu olarak adlandırılmaktadır. Pozitif geribeslemeli olarak zincir tepkime şeklinde devam etmekte ve bu tarz zar hasarları onarılamamaktadır (Akkuş, 1995).

Üç veya daha fazla çift bağ içeren çoklu doymamış yağ asitlerinin parçalanmasıyla lipid üç karbonlu malondialdehit (MDA) oluşmaktadır. MDA peroksidasyonun göstergelerinden biridir (Freeman ve Crapo, 1982).

MDA, hücre zarında iyon alışverişine müdahale ederek hücre zarındaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına ve enzim aktivitesinin bozulmasına sebep olmaktadır. MDA bu özelliğiyle, DNA'nın nitrojen bazları ile tepkimeye girebilmekte, dolayısıyla MDA mutajenik ve karsinojeniktir (Niki, 1987).

Hücredeki MDA'nın, tiyobarbutirik asit reaktif maddesi olarak ölçülebildiği belirtilmiştir. Bu metot, lipid peroksit seviyesini, diğer bir deyişle oksidatif stresi ölçmede sıklıkla kullanılmaktadır (Akkuş, 1995).

Reaktif oksijen türlerinin yararlı ve zararlı etkileri arasındaki denge önemlidir. Hücrelerde serbest radikallerin oluşumunu ve bu radikallerin sebep olduğu zararları engellemek için savunma mekanizmaları bulunmaktadır. Bu savunma mekanizmaları antioksidan olarak isimlendirilmektedir. Antioksidanlar, oksidan maddelerin tepkimelerini yavaşlatır ya da tamamen oksidanları inhibe etmektedirler (Valko ve diğerleri, 2007).

Antioksidanlar, oksidanlara dört farklı şekilde müdahale edebilirler. Bunlar; scavenging (temizleme), quencher (baskılama), onarım ve zincir koparmadır. Scavenging (temizleme) etkisi; antioksidanların oksidanları enzimler sayesinde zayıf bir moleküle çevirmesidir.

Quencher (baskılama); antioksidan olan vitaminler ve flavonoidler tarafından oksidanlara bir hidrojen eklenir, bunun sonucunda oksidan kararlı hale gelerek, etkisiz hale getirilir. Zincir koparma ise; antioksidan olan Vitamin E, oksidanları bağlar ve bu sayede oksidanların zararlı davranışları engellenmektedir (Sözmen, 2002; Taysi, Polat, Gul, Sari ve Bakan, 2002).

Antioksidanlar, enzimatik antioksidanlar ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılırlar. Enzimatik antioksidanlara, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT) ve glutatyon S-transferaz (GST) örnektir. Enzimatik antioksidanlar, varolan serbest radikallerin lipid peroksidasyonunun meydana gelmesini engellemektedir. Enzimatik olmayan antioksidanlara, alfa tokoferol (Vitamin E), askorbik asit (Vitamin C), Vitamin A, glutatyon (GSH), gallik asit vb. örnektir. Canlıda antioksidanların miktarları ve aktiviteleri arasındaki denge, canlının sağlıklı bir şekilde hayatını sürdürmesi açısından elzemdir (Gutteridge, 1995; Halliwell ve Gutteridge, 1999; Kleczkowski, Klucinski, Sikora, Zdanowicz ve Dziekan, 2003).

2015 yılında, Kalender ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, antioksidan enzimlerin hücredeki reaktif oksijen türlerini temizlemede mühim bir yerleri olduğu gösterilmiştir (Kalender S., Apaydin, Baş, Kalender Y., 2015).

SOD, süperoksitin hidrojen peroksit ve oksijene dönüşümünü katalizleyerek antioksidan savunmasının birinci aşamasını oluşturmaktadır. Bu özelliği ile SOD hücre içindeki süperoksit seviyesinin artmasını engelleyerek toksisiteyi önlemektedir (Akkuş, 1995).

CAT, dört hem grubundan oluşan ve her hem grubunda bir prostetik grup ve Fe^{+3} içeren bir hemoproteindir. Peroksizomlarda bulunur ve süperoksit dismutazın oluşturduğu hidrojen peroksiti parçalıyarak su ve oksijen oluştururlar. Katalaz (CAT) çoğunlukla eritrositler, karaciğer ve böbreklerde bulunmaktadır (Cherubini ve diğerleri, 2005; Young ve Woodside, 2001).

GPx, bütün molekülerinde dört adet selenyum barındıran sitozolik bir enzimdir. Hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. GPx redükte glutatyonu (GSH) yükseltir bu esnada H_2O_2 'yi de H_2O 'ya çevrilmiş olur. Böylece zar lipidleri, oksidatif stresin kaynağı H_2O_2 'ye karşı korunmaktadır (Akkuş ve diğerleri, 1996). Hücrede GPx seviyesindeki azalma H_2O_2 'nin seviyesinde yükselme anlamına dolayısı ile oksidatif streste

yükselme anlamına gelmektedir (Chao ve diğerleri, 2002).

GST, lipid peroksitlerine karşı bir savunmadır. Hücre içinde bağlayıcı ve taşıyıcı rollerinin yanında detoksifikasyon görevleri de vardır. Oksidanları glutatyondaki sisteine ait –SH grubu ile bağlayarak, oksidanların elektrofilik özelliklerini ortadan kaldırırlar. Oluşan bu yapı suda daha kolay çözünmekte ve canlıdan daha kolay atılmaktadır (Akkuş, 1995).

2002 yılında, karbamatlı pestisitlerin kullanıldığı sanayide çalışan işçiler üzerinde yapılan bir çalışmada, karbamatlı pestisitlere maruz kalan çalışanların antioksidan kapasitelerinde azalma, MDA düzeylerinde ise artma gözlemlenmiştir (Ranjbar, Pasalar ve Abdollahi, 2002).

Propoxur tarafından zehirlenen insanlarla yapılan bir çalışmada, kan serumlarındaki lipid peroksidasyonunun yükseldiği, lökosit ve eritrositlerindeki antioksidan enzim aktivitesinin arttığı, asetilkolinesteraz aktivitelerinin azaldığı gözlemlenmiştir (Banerjee, Seth, Bhattacharya, Pasha ve Chakraborty, 1999).

1999 yılında, Yarsan ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, karbamatlı insektisit aldicarba ratların maruz bırakılması sonucu eritrosit hücrelerindeki SOD, CAT ve GPx aktivitelerini düşürdüğü, kan plazmasındaki malondialdehit (MDA) seviyesini arttırdığı gözlemlenmiştir (Yarsan, Tanyuksel, Celik ve Aydın 1999).

2008 yılında, Elhalwagy ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, organofosfatlı pestisit olan fenitrotiyonun etkisi albino erkek ratlar üzerinde 14 ve 28 gün denenmiştir. Ayrıca yeşil çay özünde bulunan polifenollerin antioksidan olarak fenitrotiyonun etkilerini azaltıp azaltamayacağı incelenmiştir. Araştırmacılar bir kontrol, bir düşük doz fenitrotiyon, bir yüksek doz fenitrotiyon, bir düşük doz fenitrotiyon ve yeşil çay özütü, bir yüksek doz fenitrotiyon ve yeşil çay özütü, bir yeşil çay özütü olmak üzere toplam 6 grup üzerinde çalışmışlardır. MDA, GSH ve GST değerlerini inceleyen araştırmacılar, yeşil çay özütünün fenitrotiyonun sebep olduğu yüksek MDA'yı azaltırken, GSH ve GST değerlerinin fenitrotiyona rağmen arttığını gözlemlemiştir (Elhalwagy ve diğerleri, 2008).

2015 yılında, Izatus ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, fenitrotiyonun testis üzerindeki negatif göstergesi ve bu göstergelere karşı palmiye yağının antioksidan etkileri araştırılmıştır. Erkek Sprague-Dawley ratlarından oluşan toplam 4 grup incelenmiştir. İlk

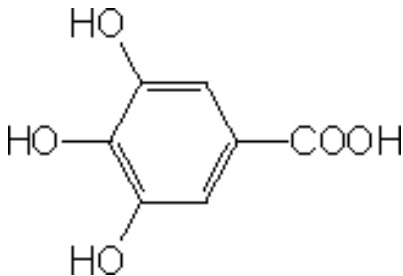
grup kontrol grubu, ikinci grup fenitrotyon, üçüncü grup palmye yağı, son grup ise hem fenitrotyon hem de palmye yağı ile gavaj yoluyla 28 gün beslenmiştir. SOD, CAT, GPX, GST, MDA ve GSH değerlerini inceleyen araştırmacılar, palmye yağının fenitrotyonun olumsuz etkilerini azaltabildiğini ortaya koymuşlardır (Taib ve diğerleri, 2015).

2005 yılında, diyabetik sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışma, aloe vera jel ekstraktının oral yoldan verilmesi, kan şekeri, glikosile edilmiş hemoglobin ve artan hemoglobin düzeylerini önemli ölçüde azalttığını göstermiştir. Diyabetik sıçanların dokularındaki artan lipid peroksidasyon ve hidroperoksit seviyeleri, jel ekstraktı ile tedaviden sonra normale yakın seviyelere geri dönmüştür. Ayrıca aloe vera jel verilen ratlarda diyabetik kontrol grubuna göre daha yüksek SOD, CAT, GPx ve GST değerleri ölçülmüştür (Rajasekaran, Sivagnanam ve Subramanian, 2005).

Gallik asit

Bitkilerin yapısında doğal olarak bulunan bir polifenol olan gallik asit (3, 4, 5-trihidroksibenzoik Asit) $C_6H_2(OH)_3COOH$ formülüne sahip ve mol kütlesi 170,12 g/mol'dür. (Şekil 1.3). Saf gallik asit, renksiz bir kristal organik tozudur.

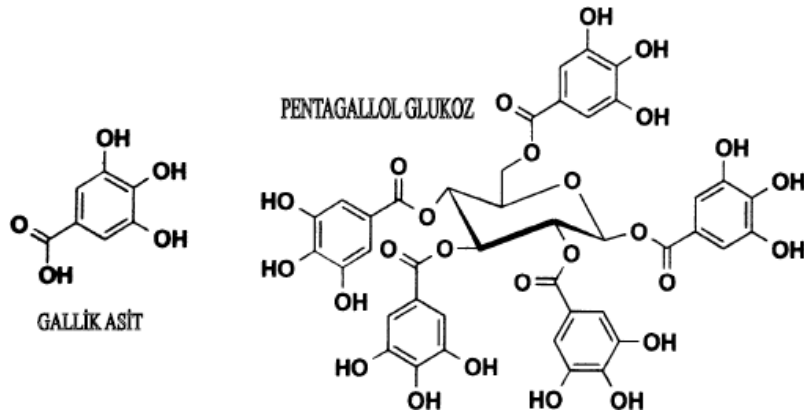
Çay başta olmak üzere, gallik asit; kırmızı şarap, nar, bira, yeşil çay ve diğer bitkisel gıdalarda bolca bulunmaktadır (Gupta, N., Gupta, S., ve Mahmood, 2007; Kim, Lee, B. K., Lee, K. W., ve Lee, H. J., 2009; Niu ve diğerleri, 2004; Sarıkaya, 2005; Stanely, Prince, Priscilla ve Devika, 2009). Ticari amaçlar için ise, gallik asidin elde edilmesinde en çok meşe ağaçları, kestane ve üzüm kullanılmaktadır (Stanely ve diğerleri, 2009).



Şekil 1.3. Gallik asidin yapısı (3, 4, 5-trihidroksibenzoik asit) (Stanely ve diğerleri, 2009).

Çoğunlukla bir molekülün parçası olan gallik asit serbest halde bir molekül olarak da bulunabilmektedir. Ülkemizin çoğu bölgesinde sıklıkla yetişen meşe (*Quercus*) türleri ve

bunların ürünleri olan palamut ve mazi, pirogallik tanen bakımından zengindirler. Pirogallik tanenlerin uğradığı hidrolizler sonucu kimyasal tepkime ürünü olarak gallik asit ortaya çıkmaktadır (Üstün ve Aydın, 2007). Merkezdeki bir şeker molekülü ve bu molekülle ester bağı yapmış gallik asit halkaları, basit tipik bir gallotanen molekülü oluşturmaktadır (Şekil 1.4) (Belmares, Contreras-Esquivel, Rodriguez-Herrera, Coronel ve Aguilar, 2004; Gupta ve diğerleri, 2007; Kim ve diğerleri, 2009; Niu ve diğerleri, 2004; Sarıkaya, 2005; Üstün ve Aydın, 2007).



Şekil 1.4. Hidrolize olabilen tanenlerden gallotanen ve gallik asit (Sarıkaya, 2005)

Gallik asit güçlü, doğal bir antioksidandır. İlaç sanayisinde sülfanamidlerle beraber kullanılan trimetoprim antibakteriyel ajanının üretimi için kullanılmaktadır. Bunun yanında antioksidan bir ajan amacıyla kullanılan propilgallatın (gallik asit esterleri) üretiminde; kozmetik, deri ve fotoğraf boyları içerisinde kullanılan prigallol bileşiklerinin yapımında yer almaktadır (Belmares ve diğerleri, 2004; Gupta ve diğerleri, 2007; Kim ve diğerleri, 2009; Niu ve diğerleri, 2004; Sarıkaya, 2005; Üstün ve Aydın, 2007;). Ayrıca yiyeceklerin raf ömrünü uzatmak için kullanılmaktadır (Yoshino ve diğerleri, 2002). Gallik asitin, süperoksit gibi radikallerin tarafından ortadan kaldırıldığı rapor edilmiştir (Stanely ve diğerleri, 2009). Gallik asidin böbrek ve karaciğerde pestisit toksisitesini azalttığı ifade edilmiştir (Elwakeel ve Rahman, 2021; Galal ve diğerleri, 2019).

Diyabet hastalığı edindirilmiş sıçanlara gallik asit 21 günlük dönemlerde oral şekilde verilmiştir. Gallik asidin koruyuculuk özelliği, gerekli pankreas histopatoloji incelemeleri sırasında görülmüştür. Biyokimyasal parametreler, ise gallik asidin antiglisemik ve antilipid etkileri olduğunu görülmüştür (Punithavathia, Stanely, Prince, Kumara ve Selvakumari, 2010).

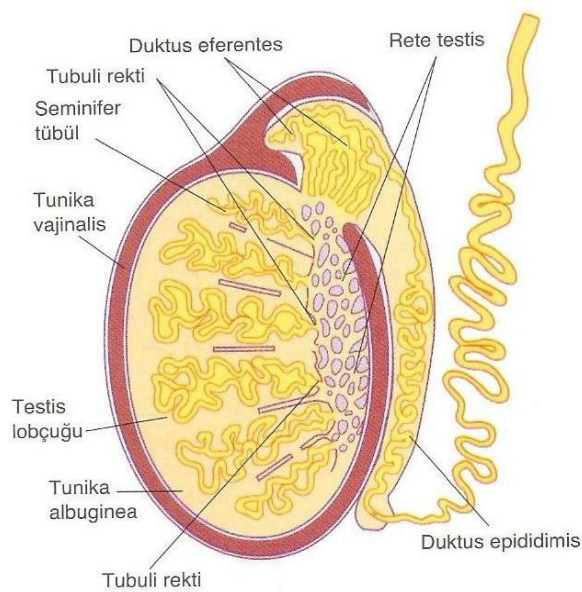
Bir başka çalışmada, organizma ve çevre sağlığına olumsuz etkileriyle bilinen bir organoklorlu pestisit olan Lindan'a maruz bırakılan ratlarda, böbrek ve karaciğer gibi

organlarda oluşan toksisitesiye karşı gallik asidin koruyucu etkileri gözlemlenmiştir. Karaciğer ve böbrek dokularından edinilen histopatolojik sonuçlar; bu pestisitın sebep olduğu oksidatif strese karşı gallik asidin antioksidan etkisini göstermiştir (Padma, Sowmya, Felix, Baskaran ve Poornima, 2010).

Gallik asit, reaktif oksijen türleri olan süperoksit anyon, hidrojen peroksit, hidroksil radikallerine karşı scavenging (temizleme) görevine sahip, güçlü ve doğal bir antioksidandır. Bu özelliğıyle lipid peroksidasyonuna engel olarak oksidatif hasara karşı hücreleri koruduğu belirtilmiştir (Priscilla, Prince ve Devika, 2009).

Soyların sürekliliğı için önemli olan üreme sistemi, pek çok faktörden etkilenmektedir: Başlıca yaşlanma, diyet, yaşam kalitesi, stres ve pestisitler gibi maruz kalınan kimyasal maddeler örnek verilebilir. Üreme sisteminin herhangi bir fonksiyonunda bir aksama, infertilite olarak adlandırılmaktadır. İnfertilite nüfus azalması, hatta soyun tükenmesiyle sonuçlanabilir (Güner ve Kavlak, 2017; Yılmaz ve Dinç, 2013).

Testis, karın boşluğunun dış kısmında birkaç farklı tabaka bağ dokusu tarafından sarmalanmıştır. Bu tabakalar; skrotum ve testiküler kapsüldür. Testiküler kapsül iki kısımda incelenir. Bunlar; tunika vaginalis ve tunika albuginea olarak isimlendirilir. Tunika albuginea kıvrımlı çok sayıda seminifer tübülü yapısında bulundurmaktadır (Şekil 1.5) (Reece ve diğerleri, 2008).



Şekil 1.5. Testis yapısı (Altun, 2013).

Testisler, ekzokrin ve endokrin salgı özelliğine sahip bir bezdir ve bir çift bileşik tübülden meydana gelmektedir. Sperm hücrelerinin salgılanması ekzokrin salgısına örnektir. Endokrin salgısına ise Leydig hücreleri tarafından salgılanan testosteron hormonu örnek verilebilir. Seminifer tübülde bazal lamina üzerinde bulunan iki tip hücre; spermatogenik hücreler ve Sertoli hücreleridir. Spermatogenik hücreler spermatogonyum'lerden spermatozoa'lar oluşana kadar görülen hücre tipleridir. Sertoli hücreleri spermatogenik hücreler arasında bulunmaktadır. Çok sayıda iyi gelişmiş granüler endoplazmik retikulum ve Golgi aygıtına sahip bu hücreler endokrin ve ekzokrin salgılamaktadır. Bu salgılardan bazıları; androjen bağlayan protein, steroid olmayan faktör (inhibin) ve luteinleştirici hormonu salgılatan hormona benzeyen peptittir. Androjen bağlayan protein, FSH sayesinde salgılanır ve seminifer tübüllerde spermatogenez için gerekli testosteron düzeyini ayarlamaktadır. Steroid olmayan faktör, FSH üretimini baskılamakta, böylece spermatogeneze girecek olan spermatogonyumların düzeyinin ayarlanmasını sağlamaktadır. Luteinleştirici hormonu salgılatan hormona benzeyen peptit, Leydig hücrelerinin salgılama fonksiyonunu düzenlemekte ve kontrol etmektedir. Sertoli hücreleri birbirlerine sıkı bağlantılarla bağlıdır. Bu bağlantılar arasında bulunan gap-junctionlar, iyonlar gibi küçük maddelerin geçişine izin verirken büyük moleküllerin geçişine izin vermeyerek kan-testis bariyerini oluşturmaktadırlar. Seminifer tübüllerinin arasını dolduran bağ dokusunda bulunan hücreler arasında Leydig hücreleri bulunmaktadır. Leydig hücreleri toplam testis hacminin %3'ünü oluşturmaktadır. Genelde kan damarları etrafında gruplaşmış bulunan bu hücreler testosteron hormonu üretirler. Leydig hücreleri iyi gelişmiş agranüler endoplazmik retikulum, Golgi cisimcikleri ve mitokondrileri ile bilinmektedirler. Salgıladıkları testosteronun erkek üzerinde üreme ve iskelet kası gibi birçok sistemde önemli rolü olduğu bilinmektedir (Junqueira ve Carneiro, 2009; Ross, 2003). Bunun dışında yapılan bazı araştırmalar testosteron seviyelerinin erkek psikolojisi üzerinde de büyük önem arz ettiğini göstermiştir (Paul ve Bernhardt, 1997).

Yapılan bir çalışma, ülkemizde tarım sanayinde sıklıkla kullanılan 2,4-Diklorofenoksi asetik asidin erkek üreme sistemindeki etkilerini incelemiştir. Araştırmacılar, bu pestisit uygulandığı konumların çevresinde yaşayan erkeklerden sperm ve idrar örnekleri almış ve incelemişlerdir. Alınan örneklerde sperm sayıları düşük olan erkeklerin üre örneklerinde yüksek seviyede bu pestisit kalıntısı olduğu gözlemlenmiştir (Hüdaverdi, 2011). Aynı pestisit ratlar üzerinde çalışan başka bir çalışma, testis dokusunda dejeneratif değişiklikler ve tunika albuginea dokusunda kalınlaşma gözlemlenmiştir (Aydiner, Pul, İnan, Bilgi ve Çakır, 2012).

Bu alışmalar, söz konusu pestisitlerin olgunlaşan sperm miktarında azalma, atrofi ve interstisiyel alanda dejenerasyona sebep olduğunu bildirmiştir (Aydıner ve diğerleri, 2012; Hansoy, 2010; Hüdaverdi, 2011).

2016 yılında yapılan bir araştırma, piretiroid insektisit olan deltametrinin, rat testisi üzerindeki etkilerini incelemiştir. Çalışmada kontrol grubunda, tunika albugenia, seminifer tübül, intersitisiyal bağ dokusu, leydig hücreleri, sertoli hücreleri, spermatogonyumlar ve seminifer tübüllerdeki spermatogenik hücrelerin normal histolojik durum ve konumlarında olduğu gözlemlenirken, diğer taraftan Deltamethrine maruz bırakılmış ratlarda seminifer tübüllerde, spermatogenik hücrelerinde ciddi hasarlar ve seminifer tübüllerde atrofi, tunica albugeniada zayıflamalar gözlemlenmiştir. Doz miktarı artarken, tunika albuginea kalınlığının incelendiğini gözlemleyen araştırmacılar, ayrıca spermatogenik hücrelerde dejenerasyon ve ciddi histopatolojik hasarlar bildirmişlerdir. Seminifer tübüllerde epiteliyal kalınlıkları incelendiğinde ise uygulanan pestisitlerin dozu arttıkça bu dokuda kalınlığın azaldığı gözlemlenmiştir (Kılıç ve diğerleri, 2016).

2011 yılında, Kalender ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, bir pestisit olan klorpirifos olgun erkek Wistar sıçanlarına, lavaj yoluyla günlük olarak 4 hafta boyunca verilmiştir. Dördüncü haftanın sonunda, klorpirifos tek başına MDA miktarı, SOD, CAT enzim aktivitelerini artırırken, GPx ve GST enzim aktivitelerini azalttığı gözlemlenmiştir. Sıçan testis dokularında kontrol grubu ile klorpirifosun testis dokularında çok sayıda histopatolojik değişikliğe neden olduğu bildirilmiştir (Kalender, Kaya, Durak, Uzun ve Demir, 2012).

2012 yılında, fenitrotiyonun rat testis dokusu üzerine etkisi araştırılmıştır. 20 mg/kg fenitrotiyon dozu art arda 28 gün boyunca oral yoldan ratlara verilmiştir. Kan rneği ve sperm örnekleri alınmış ve incelenmiştir. Fenitrotiyonun vücut ve organ ağırlığı, biyokimyasal ve oksidatif stres, sperm özellikleri, testislerdeki histoloji ve ultrastrüktürel değişiklikler üzerine etkilerini değerlendiren araştırmacılar, fenitrotiyon, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, sperm konsantrasyonu, sperm canlılığı ve normal sperm morfolojisi gibi sperm özelliklerinde negatif değişimler görmüşlerdir. Fenitrotiyon ile tedavi edilen grubun testislerinin histopatolojik ve ultrastrüktürel incelemesi, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında biyokimyasal değişikliklere karşılık gelen negatif değişiklikler grlmştir (Taib ve diğerleri, 2015).

Bu tez çalışmasında, organafosfatlı insektisit olan fenitrotyonun erkek Wistar albino rat testis dokusu üzerindeki toksik etkisi ve antioksidan özelliklere sahip gallik asidin koruyucu özelliği araştırılmıştır. Araştırmada testis dokusundaki antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, CAT, GPx, GST) ve lipid peroksidasyonun önemli bir belirleyicisi olan MDA seviyesindeki değişiklikler ve testis dokusunda histopatolojik değişiklikler araştırılmıştır.

2. MATERYAL METOT

2.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmanın gerçekleştirilebilmesi için Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (G.Ü. ET-19.025). Çalışmada yaklaşık 250-300 g ağırlığında 24 tane erkek Wistar rat kullanılmış olup bu ratlar Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden (GÜDAM) sağlanmıştır. Her kafeste altı rat olacak şekilde, dört özel kafes içerisinde, standart laboratuvar diyeti ve su ile beslenmişlerdir. Ratlara oda sıcaklığında, 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık fotoperiyot uygulanmıştır. Çalışmada yapılan tüm hayvan deneyleri Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde, yapılan tüm deneysel çalışmalar ve incelemeler ise Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü laboratuvarlarında tamamlanmıştır.

2.2. Kimyasal Maddeler

Bu çalışmada kullanılan fenitrotiyon ve gallik asit sigma-aldrich tarafından temin edilmiştir.

2.3. Hayvanlara Uygulama Planı

Bu araştırmada planlanan gruplar ve bu gruplara uygulanan maddeler Çizelge 2.1.'de belirtilmiştir (Çizelge 2.1.). Uygulamalar sabah 09.00–11.00 arası aç olmayan ratlara uygulanmıştır. Ratlara uygulama yapılacak ilk gün deneyin 0. günü olarak kabul edilmiştir. Uygulamalar 28 gün (dört hafta) boyunca kesintisiz devam etmiştir. Araştırmada kullanılan kimyasal maddeler ratlara her gün bir defa gavaj yolu ile verilmiştir.

Çizelge 2.1. Çalışmada planlanan gruplar ve bu gruplara verilen kimyasal dozları

Grup numarası	Grup	Rat adeti	Kimyasal dozu	Uygulama süresi
1	Kontrol	6	-	28 gün (4 hafta)
2	Fenitrotiyon	6	32 mg/kg v.a	
3	Gallik asit	6	50 mg/kg v.a	
4	Fenitrotiyon+Gallik asit	6	32 mg/kg v.a.+50 mg/kg v.a	

2.3.1. Kontrol grubu

Kontrol grubunda bulunan ratlara 1 ml/kg vücut ağırlığı (v.a.) distile suya gavaj yoluyla verilmiştir.

2.3.2. Fenitrotyon grubu

Ratlara her gün 32 mg/kg v.a. (1/25 LD₅₀) fenitrotyon distile su (1 ml/kg v.a.) içinde çözülerek gavaj yoluyla verilmiştir.

2.3.3. Gallik asit grubu

Ratlara her gün 50 mg/kg v.a. gallik asit distile su (1 ml/kg v.a.) içinde gavaj yoluyla verilmiştir.

2.3.4. Fenitrotyon + gallik asit grubu

Ratlara hergün fenitrotyon (32 mg/kg v.a.) ve gallik asit (50 mg/kg v.a) distile su (1 ml/kg v.a.) içinde çözülerek gavaj yoluyla verilmiştir.

2.4. Dokuların Elde Edilmesi

28 günün sonunda bütün gruplarda bulunan ratlar, ketamin (45 mg/kg) + xylazin (5 mg/kg) karışımı ile intramuskular (i.m.) olarak anestezi edildikten sonra disekte edilmiştir. Disekte edilen ratlardan alınan testis dokusu ışık mikroskopunda incelemek üzere önce tamponda yıkanmış, sonrasında nötral formalin içine konulmuştur. Malondialdehit (MDA) düzeyinin ve antioksidan enzimleri olan süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutation peroksidaz (GPx) ve glutation S-transferaz (GST) aktivitelerinin gözlemlenmesi için testis dokusundan örnekler alınmıştır. Alınan bu örnekler, -80°C'de muhafaza edilmiştir.

Bu araştırmada MDA düzeyleri ile antioksidan enzim aktivitelerini (SOD, CAT, GPx ve GST) incelemek için elde edilen testis dokuları homejenizasyon tamponunda (pH:7.4) homojenizatör (Heidolph Silent Crusher M) yardımıyla homojenize edilmiştir. MDA düzeyleri ve antioksidan enzimlerin aktiviteleri, spektrofotometre (Shimadzu UV-1700) ile ölçülmüştür. Lowry ve arkadaşları (1951) tarafından belirlenen yöntemle (Lowry, Rosebrough, Farr ve Randall, 1951), 4°C sıcaklıkta protein içeriği tespit edilmiştir.

2.5. Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Ölçülmesi

Testis dokularındaki MDA düzeyleri, Ohkawa, Ohishi ve Yagi (1979) tarafından belirlenen metot kullanılarak ölçülmüştür. Bu metoda göre tiyobarbitürik asit ile lipid peroksidasyonunun tepkimeye girmesi sonucu oluşan MDA düzeyleri ölçülmüştür. Spektrofotometrede 532 nm’de absorbans ölçümü yapılmış ve sonuçlar nmol/mg protein olarak ifade edilmiştir.

2.6. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

2.6.1. Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesinin belirlenmesi

Total SOD aktivitesinin belirlenmesinde Marklund S. ve Marklund, G. (1974) geliştirdiği metot kullanılmıştır. Spektrofotometrede pyrogallol’un 440 nm’de 3 dakikada alkali ortamda otooksidasyonu ile yükselen absorbans ölçülmüş ve pyrogallol’un otooksidasyonun %50 inhibiyonuna neden olan protein miktarı bir ünite toplam SOD aktivitesi olarak hesaplanmıştır. Homojenattaki 1mg protein başına toplam SOD aktivitesi U/mg protein olarak ifade edilmiştir.

2.6.2. Katalaz (CAT) enzim aktivitesinin belirlenmesi

CAT enzim aktivitesi Aebi (1984) tarafından belirlenen metoda göre ölçülmüştür. %1’lik Triton X-100 ilave edilerek peroksizomlardaki katalaz açığa çıkartılmıştır. Enzimatik reaksiyonun başlatılması için hidrojen peroksit kullanılmış ve 1 dakika boyunca 240 nm’de H_2O_2 ’in parçalanmasını gösteren azalan absorbans ölçülmüştür. Enzim aktivitesi mmol/mg protein olarak ifade edilmiştir.

2.6.3. Glutatyon peroksidaz (GPx) enzim aktivitesinin belirlenmesi

GPx aktivitesinin belirlenmesinde Paglia ve Valentine (1987) tarafından belirtilen metot kullanılmıştır. Okside glutatyon (GSSG) ve nikotinamid-adenin-dinükleotid hidrojen fosfat’ı (NADPH) substrat olarak kullanan glutatyon redüktazın 340 nm’de NADPH’ı okside etmesi ile meydana gelen absorbansın ölçülmesi temeline dayanmaktadır. Enziminin spesifik aktivitesi nmol/mg protein olarak ifade edilmiştir.

2.6.4. Glutatyon S transferaz (GST) enzim aktivitesinin belirlenmesi

GST enzim aktivitesinin belirlenmesinde Habig, Pabst ve Jakoby (1974) tarafından geliştirilen metot kullanılmıştır. GST'nin bütün izozimleri için 1-chloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) substrat olarak kullanılmaktadır. GST enzimi tarafından CDNB, indirgenmiş glutatyon (GSH) ile konjuge edilerek GSH'ın oksidasyonuna bağlı olarak 340 nm'de enzim aktivitesi tayini yapılmıştır. Hesaplamalar yapıldıktan sonra spesifik enzim aktivitesi $\mu\text{mol/mg}$ protein olarak ifade edilmiştir.

2.7. Işık Mikroskobu İncelemeleri

Testis dokusunun histopatoloji değerlendirmeleri için ratların diseke edilmesinin ardından alınan testis dokuları %10'luk nötral formalinde tespit edilmiştir. Daha sonra dokular yükselen alkol serilerinde dehidre edilerek parafin blok haline getirilmiştir. Parafin bloklardan 5-7 μ kalınlığında kesitler alınarak hemotoksilen-eozin boyası ile boyanarak entellan ile kapatılmıştır. Boyalı kesitler Olympus BX-51 ışık mikroskobu ile incelenerek Olympus-E-330 kamera ile fotoğrafları çekilmiştir.

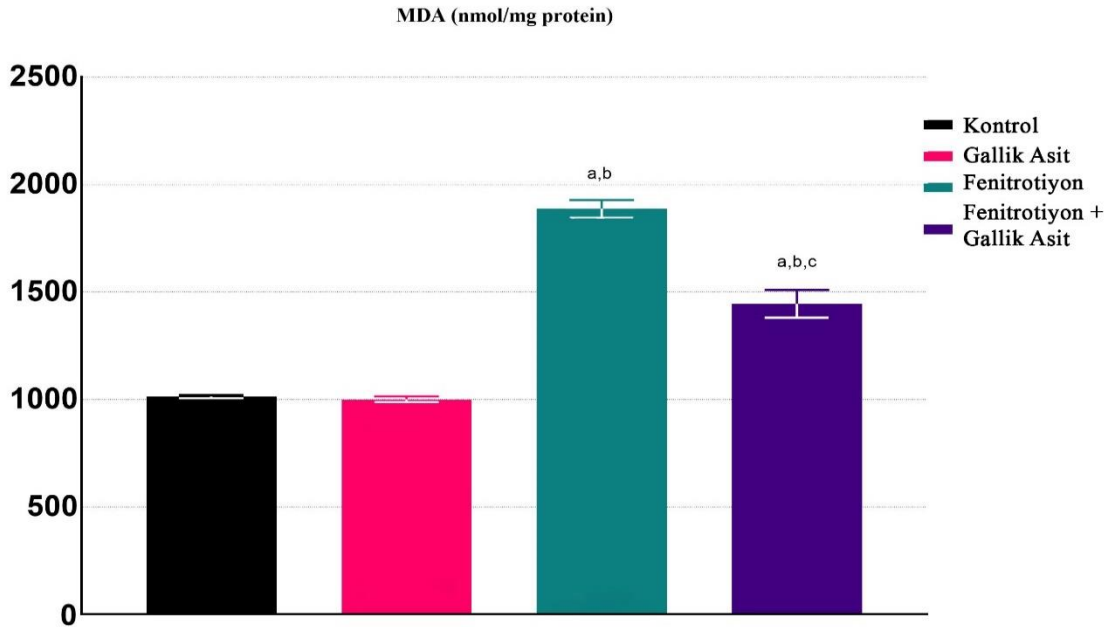
2.8. Verilerin Değerlendirilmesi

Bu çalışmadaki gruplar, IBM SPSS Statistics 23 programıyla karşılaştırılmıştır. Tukey ve Anova testiyle yapılan değerlendirmelerde ortalama, $\pm$ standart hata ortalaması ($P < 0.05$) olarak verilmiştir.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1. Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Değerlendirilmesi

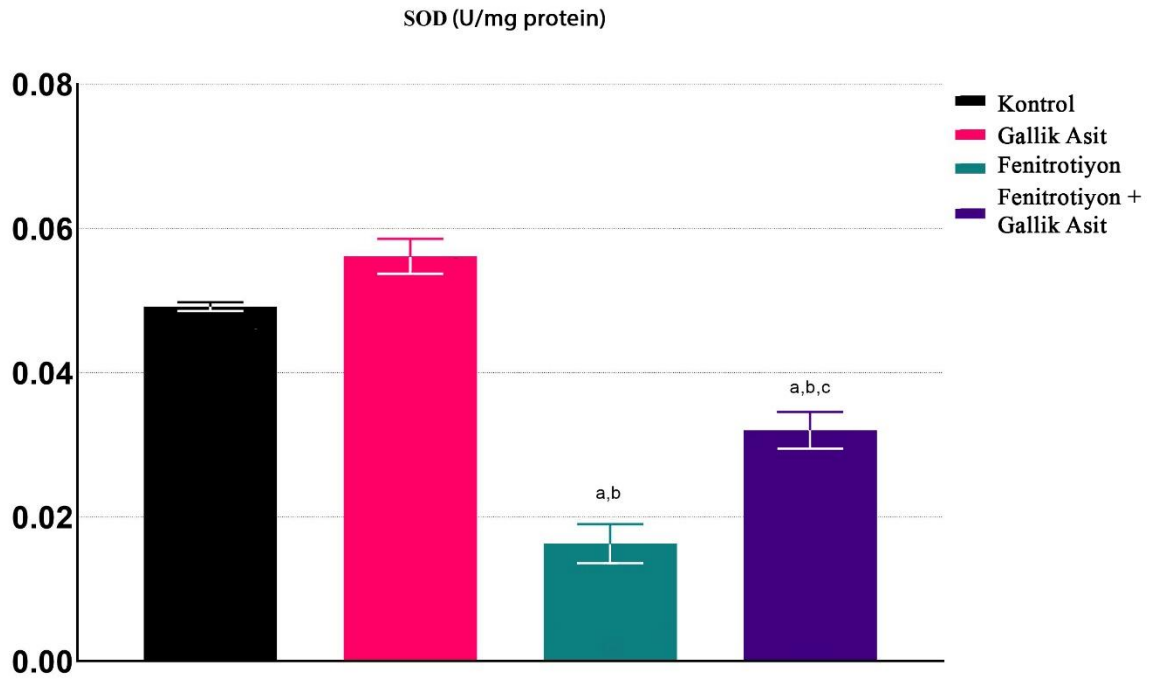
MDA miktarı bakımından, kontrol ve gallik asit muameleli grupların testis dokularında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Kontrol grubu ile fenitrotiyon ve fenitrotiyon + gallik asit muameleli gruplar karşılaştırıldığında, testis dokularındaki MDA miktarlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış meydana gelmiştir. Fenitrotiyon muameleli grup ile fenitrotiyon + gallik asit muameleli grup karşılaştırıldığında MDA miktarlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($P<0.05$) (Şekil 3.1).



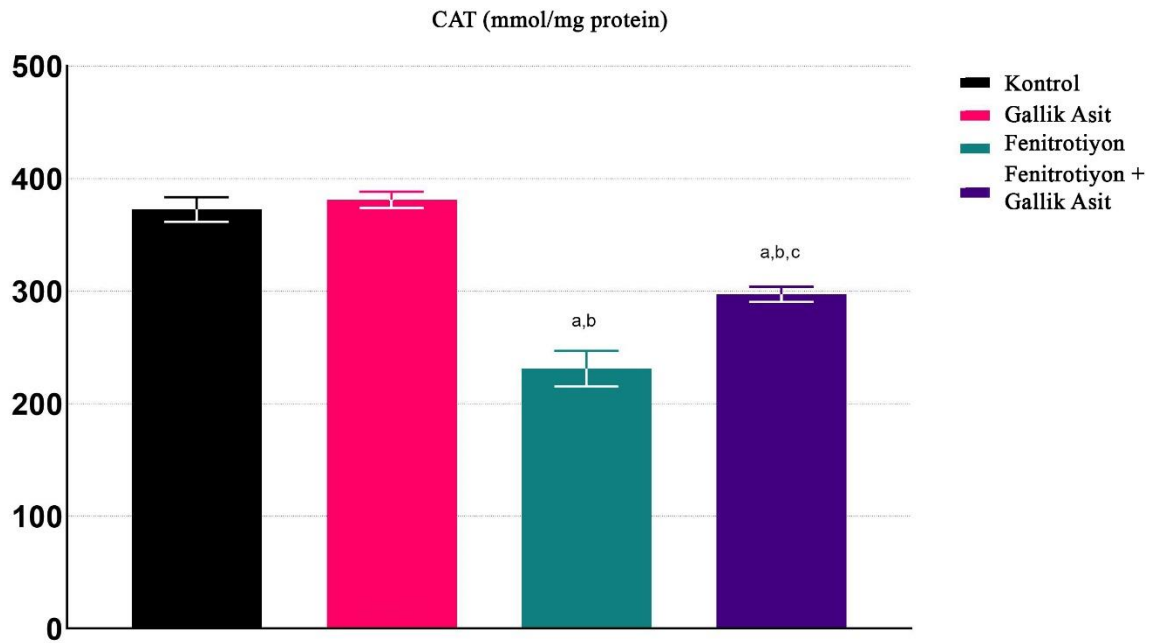
Şekil 3.1. Kontrol ve muameleli grupların testis dokularındaki MDA seviyeleri. Sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

3.2. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

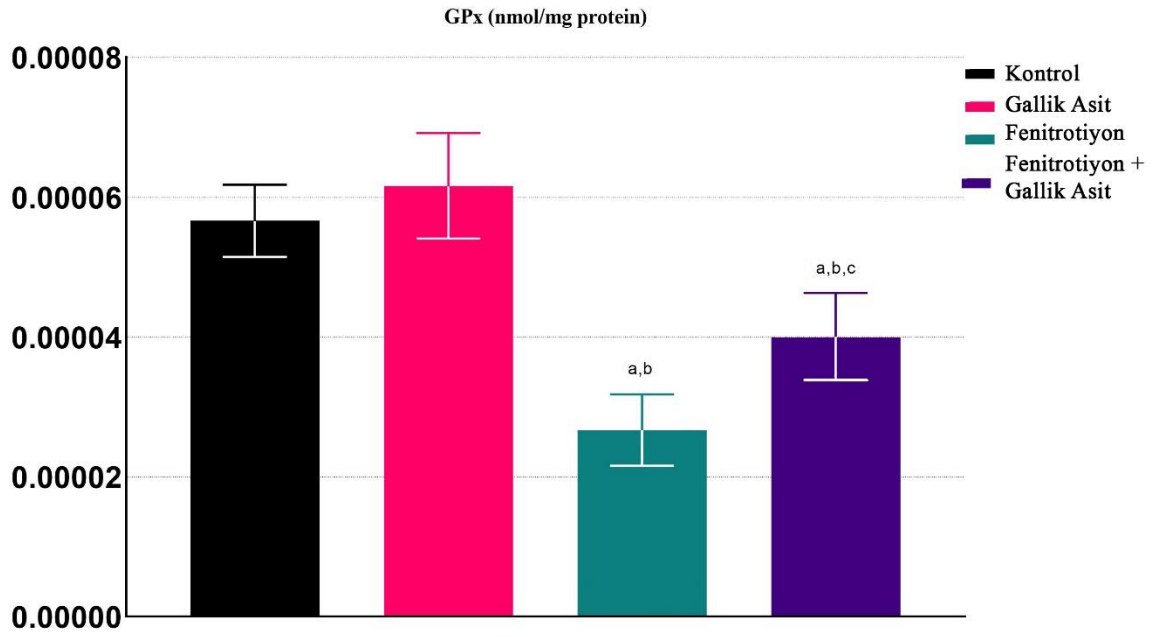
SOD, CAT, GPx ve GST enzim aktiviteleri bakımından, kontrol ve gallik asit muameleli grupların testis dokularında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Kontrol grubu ile fenitrotiyon ve fenitrotiyon+gallik asit muameleli gruplar karşılaştırıldığında, testis dokularındaki SOD, CAT, GPx ve GST enzim aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış meydana gelmiştir. Fenitrotiyon muameleli grup ile fenitrotiyon+gallik asit muameleli grup karşılaştırıldığında SOD, CAT, GPx ve GST enzim aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($P<0.05$) (Şekil 3.2-3.5).



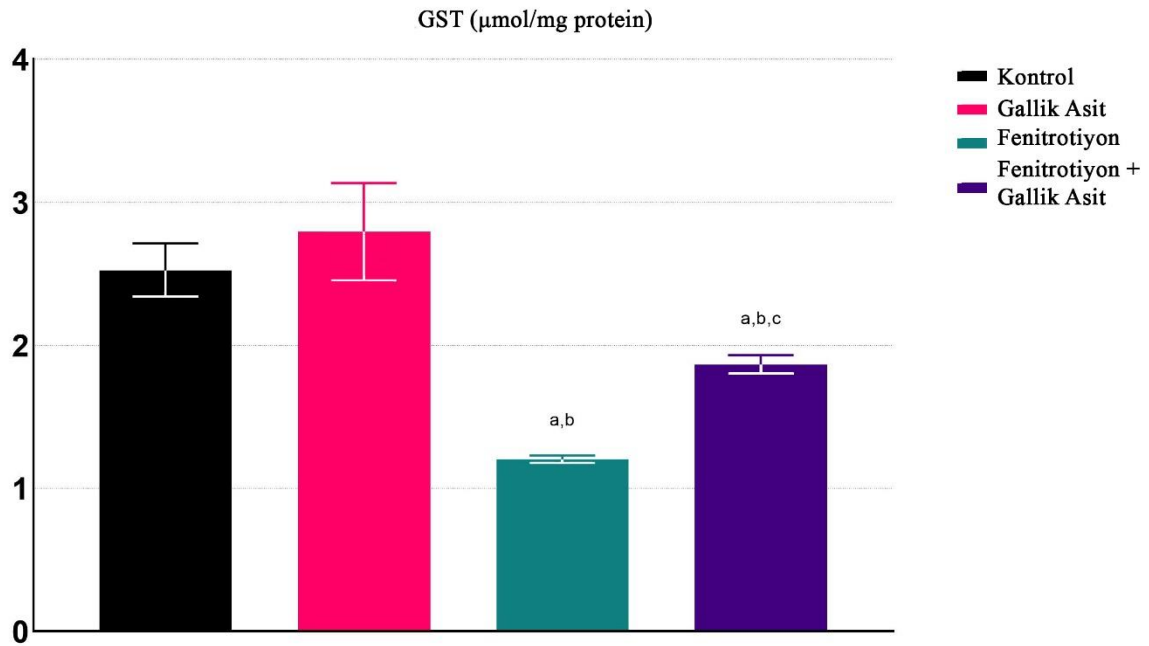
Şekil 3.2. Kontrol ve muameleli grupların testis dokularındaki SOD enzim aktiviteleri. Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.



Şekil 3.3. Kontrol ve muameleli grupların testis dokularındaki CAT enzim aktiviteleri. Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.



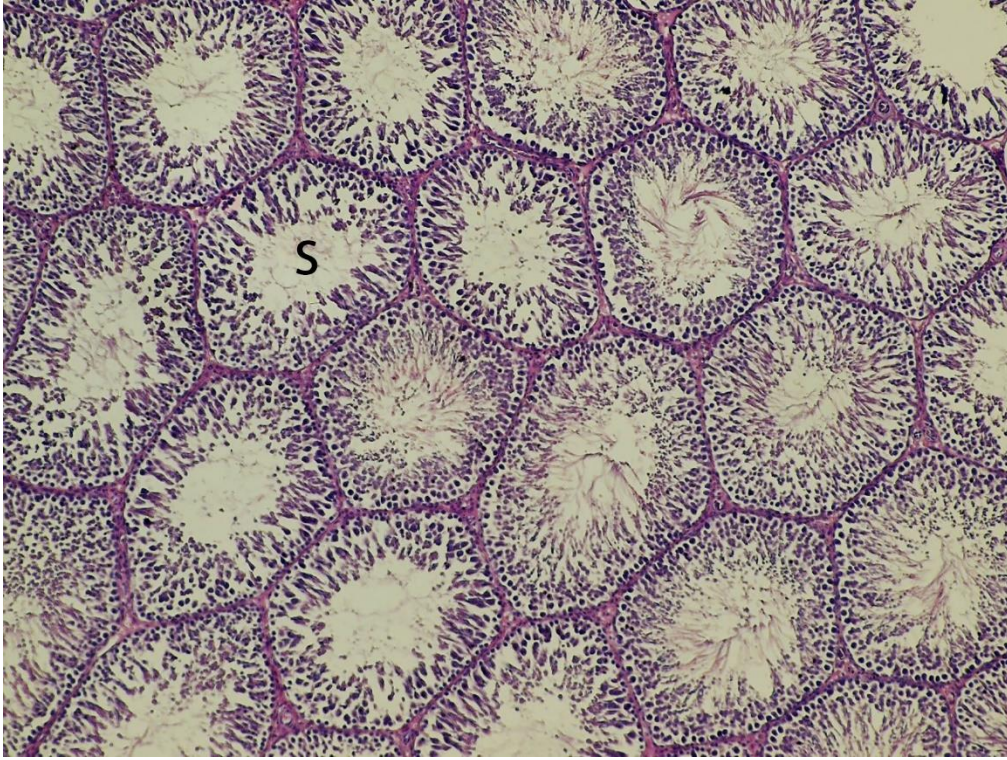
Şekil 3.4. Kontrol ve muameleli grupların testis dokularındaki GPx enzim aktiviteleri. Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.



Şekil 3.5. Kontrol ve muameleli grupların testis dokularındaki GST enzim aktiviteleri. Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

3.3. Işık Mikroskobu Bulgularının Değerlendirilmesi

Işık mikroskopuyla yapılan histolojik incelemelerde kontrol grubu ve galilik asit verilen ratların testislerinde patolojik bir bulguya rastlanmamıştır. Spermatojenik hücreler, Sertoli hücreleri ve interstisyel doku normal yapıda gözlenmiştir (Resim 3.1, Resim 3.2)

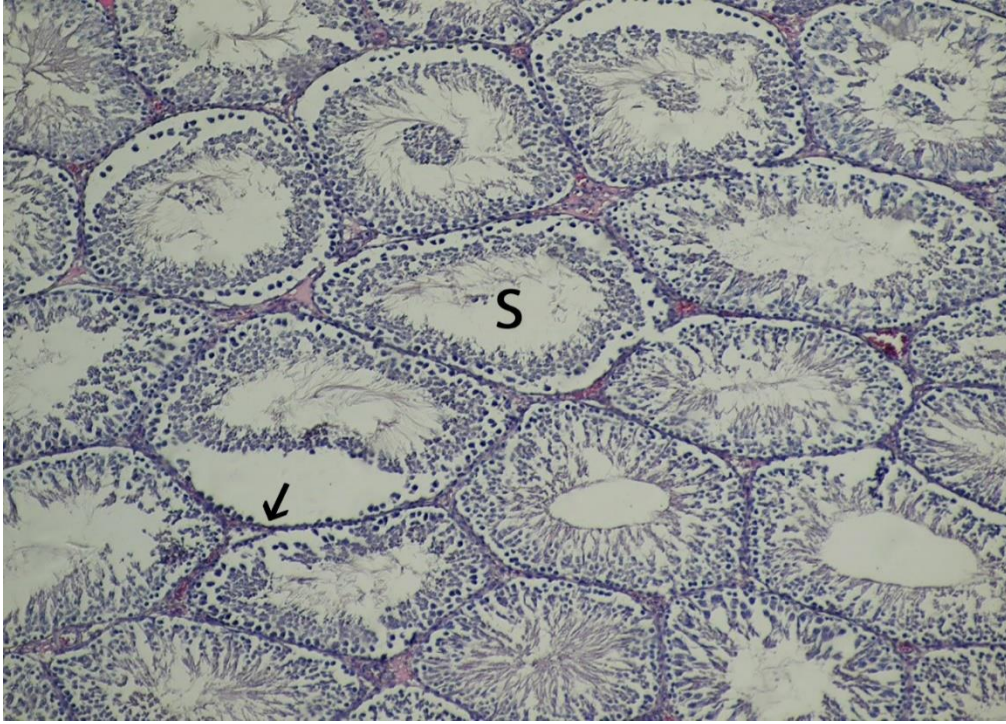


Resim 3.1. Kontrol grubu ratların testislerindeki seminifer tüpçüklerinin (S) genel görünüşü (H&E, 200X)

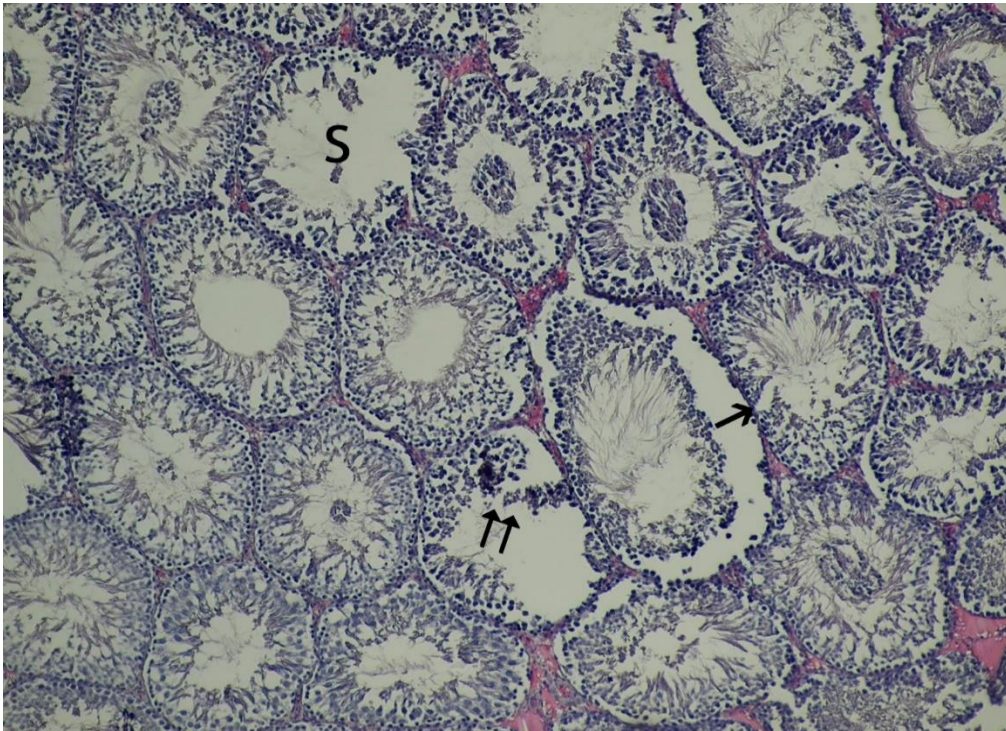


Resim 3.2. Gallik asit uygulanan ratların testislerindeki seminifer tüpçüklerinin (S) genel görünüşü, (H&E, 200X)

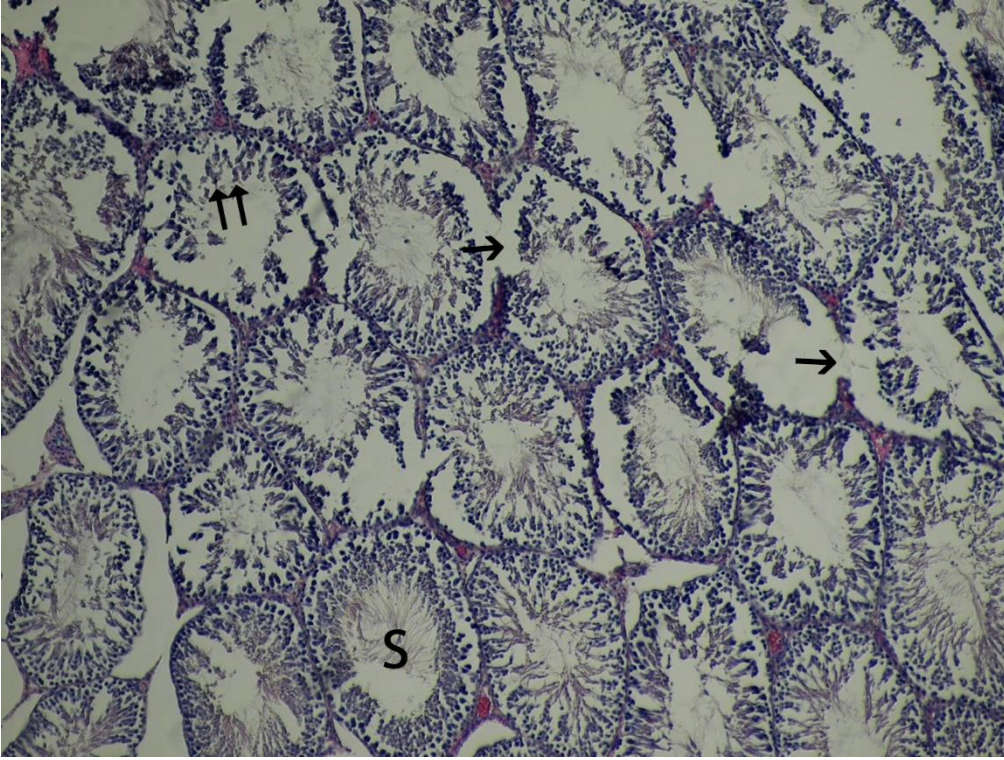
Ratlara fenitrotiyon uygulandıktan 4 hafta sonra, tüm ratların testis dokularında, seminifer tüpçüklerindeki spermatojenik hücre sayısında azalma olduğu gözlenmiştir (Resim 3.3-3.6). Bazı seminifer tüpçüklerinin bazal laminasının, spermatojenik hücrelerden ayrıldığı tespit edilmiştir (Resim 3.3, Resim 3.4). Bazı seminifer tüpçüklerindeki spermatojenik hücrelerin yapısının farklılaştığı, bazal laminanın parçalandığı ve nekrotik alanların oluştuğu gözlenmiştir (Resim 3.5, Resim 3.6).



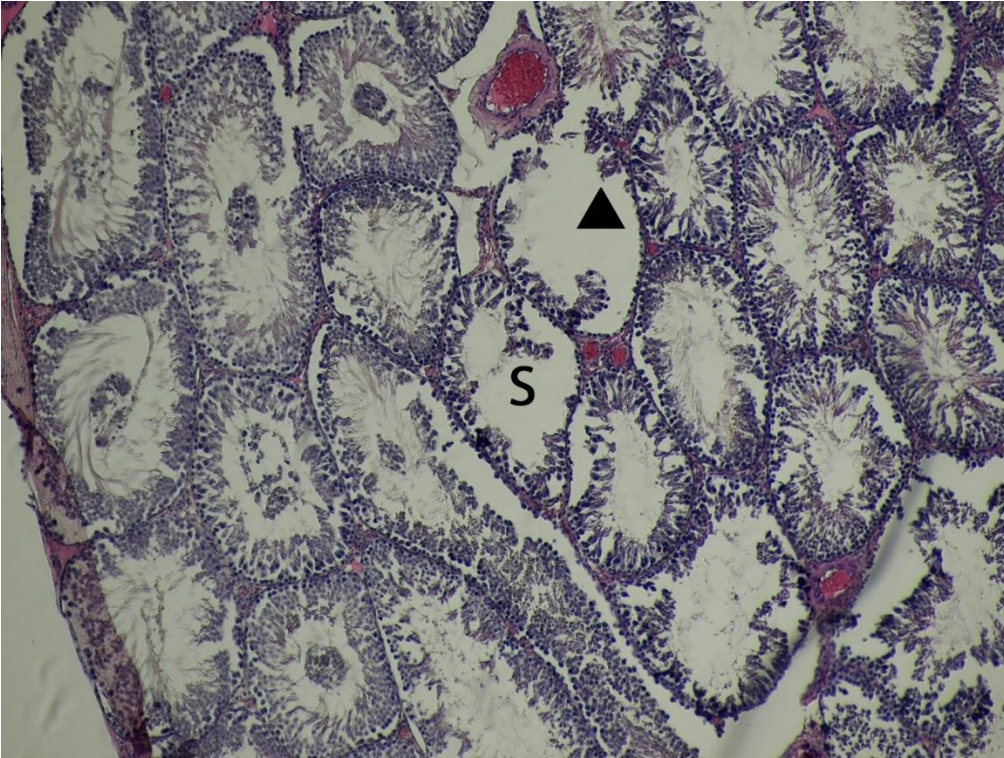
Resim 3.3. Fenitrotiyon uygulanan ratların testislerindeki seminifer tüpçüklerinin (S) bazal laminalarının (→) germinal epitelde ayrılması (H&E, 200X)



Resim 3.4. Fenitrotiyon uygulanan ratların testislerindeki bazı seminifer tüpçüklerinde (S) spermatogonik hücrelerde azalma, germinal epitelde bozulma (⇔) ve bazal laminalarının (→) germinal epitelde ayrılması (H&E, 200X)

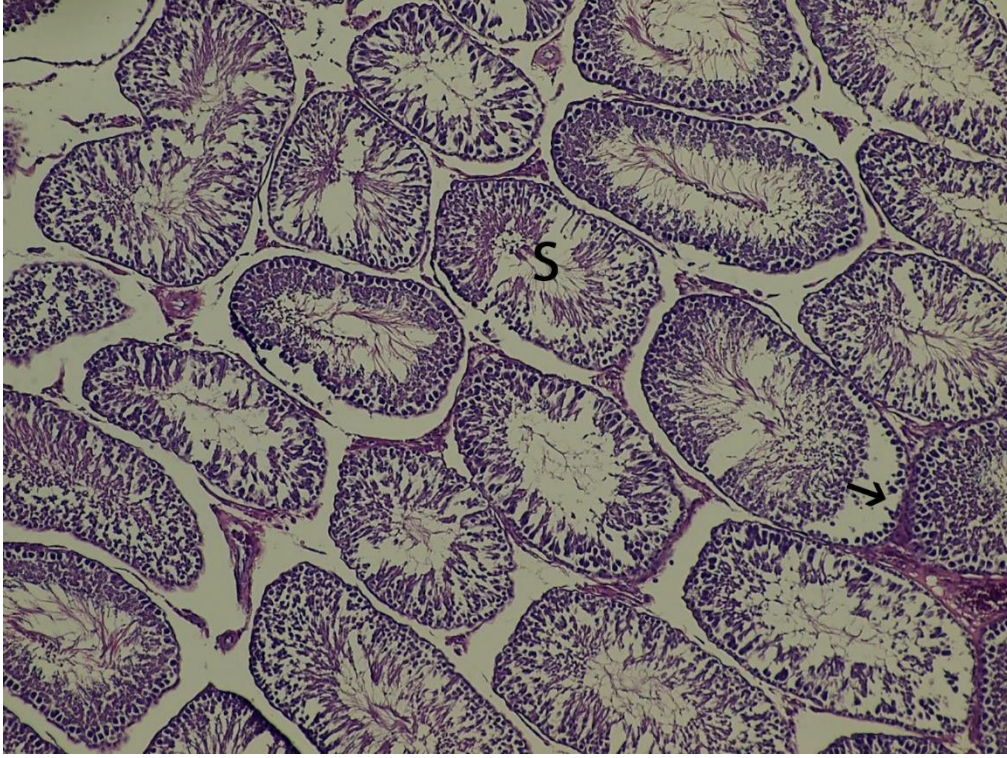


Resim 3.5. Fenitrotiyon uygulanan ratların testislerindeki bazı seminifer tüpçüklerinde (S) germinal epitelde bozulma (⇔) ve bazal laminada parçalanmalar (➔) (H&E, 200X)

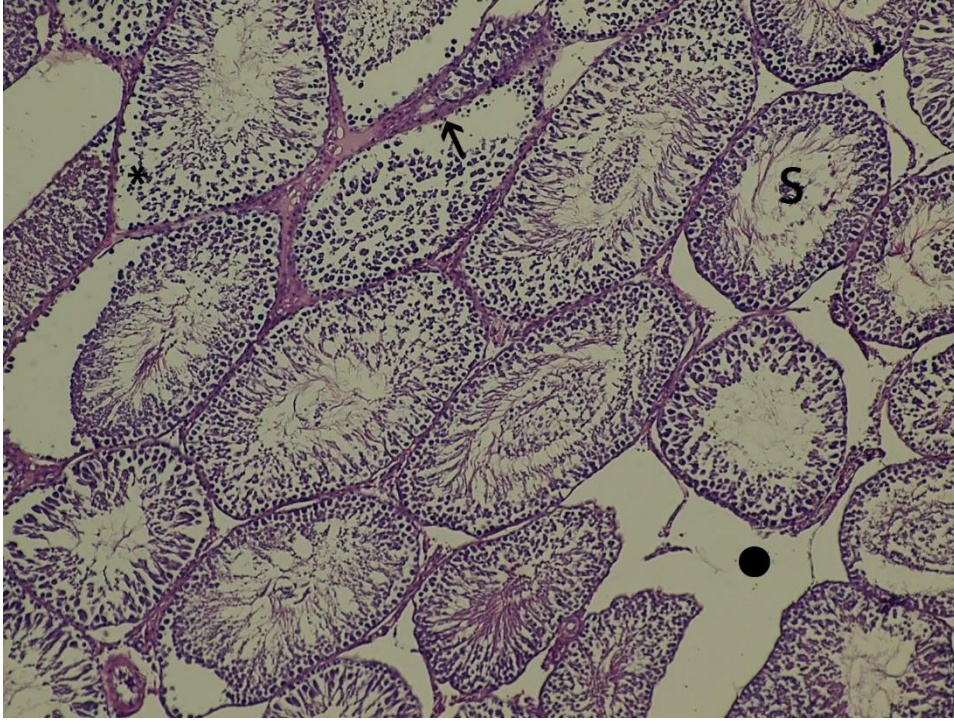


Resim 3.6. Fenitrotiyon uygulanan ratların testislerindeki bazı seminifer tüpçüklerinde (S) germinal epitelin kaybolması (▲) (H&E, 200X)

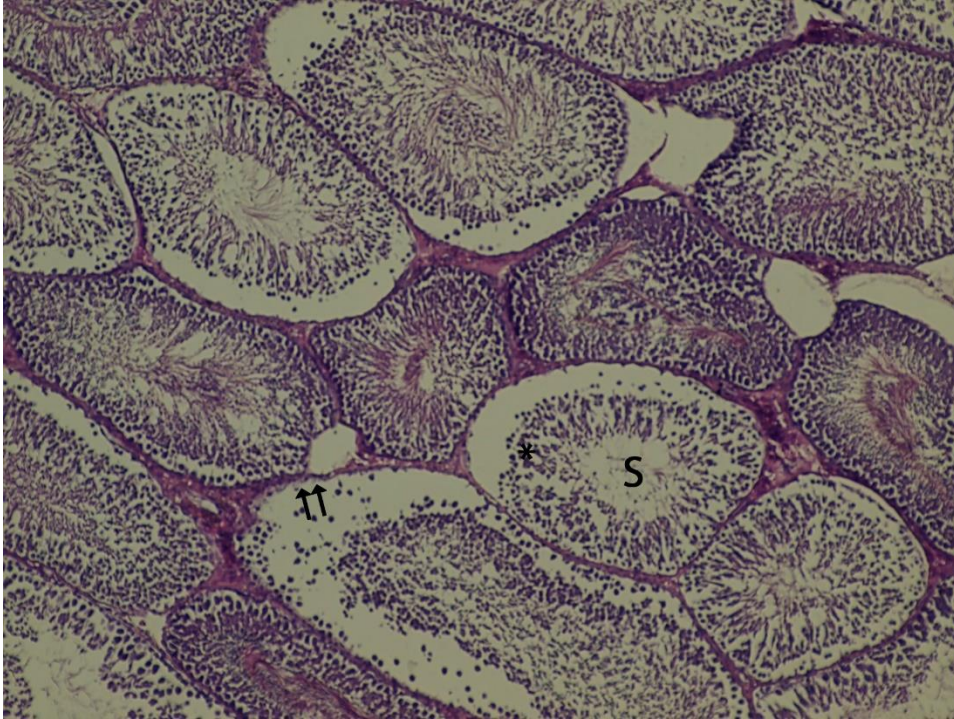
Ratlara fenitrotiyon ve gallik asit uygulandıktan 4 hafta sonra, ratların testis dokularındaki seminifer tüpçüklerinde bazı patolojik bulgulara rastlanmıştır (Resim 3.7-3.9). Bazı seminifer tüpçüklerinin bazal laminasının, spermatojenik hücrelerden ayrıldığı tespit edilmiştir (Resim 3.7, Resim 3.9). İnterstisyal alanda yer yer ödem meydana gelmiştir (Resim 3.8).



Resim 3.7. Fenitrotiyon ve gallik asit uygulanan ratların testislerindeki bazı seminifer tüpçüklerinde (S) ve bazal laminanın (➔) germinal epitelden ayrılması (H&E, 200X)



Resim 3.8. Fenitrotiyon ve gallik asit uygulanan ratların testislerindeki bazı seminifer tüpçüklerinde germinal epitelde kısmen düzensizlik (*) ve bazal laminanın (➔) germinal epitelden ayrılması, interstisyel alanda ödem (•) (H&E, 200X)



Resim 3.9. Fenitrotiyon ve gallik asit uygulanan ratların testislerindeki bazı seminifer tüpçüklerinde germinal epitelde kısmen düzensizlik (*) ve bazal laminanın (➔) germinal epitelden ayrılması (H&E, 400X)

4. TARTIŞMALAR VE ÖNERİLER

Pestisitlerin çevre ve canlı sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri dünyada endişesi verici boyuta ulaşmıştır. Özellikle bu maddelerin doğada ve canlıda birikimleri, biyolojik ve kimyasal aktivitelerinin yüksek olması ciddi sağlık problemlerine sebep olmaktadır. Toksikolojik özellikleri türlere göre farklılık içerse de, pestisitlerin hem insanların hem de yaban hayatına verdiği zararlar inkâr edilemez. Avrupa Birliği'nde bulunan ülkelerin ham ve paketlenmiş gıda ürünlerine uyguladıkları pestisit miktarı yılda 140 000 tonu aşmaktadır. Bunun anlamı, Avrupa kıtasında yaşayan insan başına neredeyse 280 gr pestisit düşmektedir (Bjorling-Poulsen, Andersen ve Grandjean, 2008). Pestisitler birçok organı ve sistemi hedef almakla birlikte genel olarak nörotoksik etki yaparlar. Özellikle astilkolinesterazı (AChE) inhibe ederek etki göstermektedirler. Ancak hedef olmayan canlılar üzerinde birçok ikincil etkileri de mevcuttur. Bu ikincil etkiler arasında en fazla göze çarpan oksidatif stresin artmasıdır (Lukaszewicz-Hussain, 2010). Artan oksidatif stresin, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, kardiyovasküler hastalıklar ve nörolojik bozukluklara sebep verdiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Abdollahi ve diğerleri, 2004; Derbalah ve diğerleri, 2004; Petrovitch ve diğerleri, 2002).

Organofosfatlı ve karbamatlı pestisitler her ne kadar organoklorlu pestisitlere göre daha az zararlı olsa da canlılar üzerinde ciddi toksik etkileri vardır. Organofosfatlı insektisitler en sık kullanılan pestisitlerden biridir (Tamura ve diğerleri, 2001). Bu tez çalışmasında kullanılan fenitrotiyon, organofosfatlı bir insektisittir.

Pestisitler, canlılarda oksidatif stresin artmasına ve buna bağlı olarak da serbest radikal oluşumunu artırmaktadır (Adıguzel ve Kalender, 2020; Uzun ve Kalender, 2011). Serbest radikallerin birikimi mitokondride hasara ve fonksiyonlarda bozukluklara sebep olmaktadır. Dolayısıyla, ATP üretiminde aksaklıklar ve apoptotik ölüme sebep olan proteolitik enzimlerle DNA'da bozulmalar olmaktadır (Akhgari, Abdollahi, Kebryaezadeh, Hosseini ve Sabzevari, 2003).

Lipid peroksidasyonun ürünlerinden olan MDA, hücre zarında iyon transferine etki ederek zardaki moleküllerin çapraz bağlanmasına sebep olmaktadır. İyon geçirgenliği değişmekte ve enzim aktiviteleri negatif etkilenmektedir (Bas ve Kalender, 2016). MDA, DNA'nın nitrojen bazları ile tepkimeye girebilmektedir. Bunun sonucunda hücrede mutajenik,

genotoksik ve karsinojenik özellikler gözlemlenmektedir. Pestisitler genel olarak MDA seviyelerinde bir artışa neden olmaktadır (Apaydin, Pandir, Kalender S., Baş, Kalender Y., 2018; Milatovic, Gupta ve Aschner 2006). MDA miktarındaki artış, lipid peroksidasyonun önemli bir belirteçidir. MDA miktarındaki artış, oksidatif strese bağlı biyolojik membranların peroksidasyonunun önemli bir belirteçidir ve hücre ve dokularda oluşan hasarı yansıtmaktadır. Bu tez çalışmasında, fenitrotiyon muameleli grupların testis dokularının MDA seviyelerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmuştur. Fenitrotiyon, testis dokusundaki zarlı yapılarda peroksidasyona sebep olmuştur. MDA seviyesindeki bu artış zarlı yapıların kimyasal yapısında olumsuz bir değişikliğin olduğunu göstermektedir. Seminifer tüpçüklerinde başta sertoli hücreleri olmak üzere, spermatojenik hücreler ve leydig hücrelerinde lipidlerin bozulmasına yani lipid peroksidasyona sebep olduğu söylenebilir.

Fenitrotiyonun LD₅₀ dozunun 1/30 ve 1/60'ı 28 gün boyunca ratlara verilmiş ve böbrek ve karaciğer üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Deney sonucunda araştırmacılar, plazma kolinesteraz, plazma alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), albümin, üre ve kreatinin miktarında bir artışın olduğunu tespit etmişlerdir. Yani fenitrotiyon hem karaciğer hem de böbrek fonksiyon parametrelerinde anlamlı artışlara neden olmuştur. Bununla birlikte araştırmacılar aynı çalışmada fenitrotiyon uygulanan ratların karaciğer ve böbrek dokularında MDA seviyelerinde artış gözlerken, glutatyon (GSH) ve GST enzim aktivitelerinde de anlamlı bir azalma olduğunu ifade etmişlerdir (Elhalwagy ve diğerleri, 2008). Bu tez çalışmasında, ratlara fenitrotiyonun 1/25 LD₅₀ dozu gavaj yoluyla 28 gün boyunca verilmiştir. Deney boyunca ratlarda ölüm gözlenmemiştir. Ancak fenitrotiyon ve fenitrotiyon ve gallik asit verilen gruplardaki ratların hareketliliğinde bir azalma ve yalnız kalmayı tercih etme gibi davranışlar gözlenmiştir. Bu davranışların ratlara uygulanan organofosfatlı bir insektisit olan fenitrotiyondan kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu tez çalışmasında sadece fenitrotiyonun testisler üzerine etkisi incelenirse de daha önceki çalışmalar fenitrotiyonun tüm sistemler üzerine etkisi olabileceğini göstermektedir.

Antioksidan enzim sistemi, hücreleri oksidatif strese karşı korumaktadır (Messaraha ve diğerleri, 2012). Antioksidan enzimler, reaktif oksijen türlerinin neden olduğu oksidatif strese karşı hücresel korumada önemli bir rol oynarlar (Apaydin, Kalender, Demir ve Bas, 2014). Süperoksit dismutaz ve katalaz oksijen radikallerini ortadan kaldıran önemli hücresel antioksidan enzimdir (Messerah ve diğerleri, 2013). SOD, serbest radikali daha az zararlı

hidrojen peroksite dönüştürerek yok eder (Stinghen ve diğerleri, 2014). CAT, hidrojen peroksidin moleküler oksijene ve suya indirgenmesini katalizler (Safhi ve diğerleri, 2016). GPx, glutasyonu kullanarak hidrojen peroksidin suya indirgenmesini katalize eder (Bhattacharjee ve diğerleri, 2014). GST, çeşitli elektrofilik substratların glutasyonun tiol grubuna konjugasyonunu katalize ederek toksinlerin detoksifikasyonunda ve atılmasında önemli bir rol oynar (Abdel-Daim ve diğerleri, 2015).

Çeşitli maddeler, birçok dokuda CAT, SOD, GST ve GPx enzim aktivitelerinde azalmaya neden olmaktadır ve bu azalmanın en önemli nedeni olarak da hücrede serbest radikal düzeylerinin artması olarak yorumlanmaktadır (Baş ve Kalender, 2016; Ghany, Mohammed, Anis ve Barakat, 2016; Kalender ve diğerleri, 2015). Reaktif oksijen türevlerinin yüksek düzeyde varlığı, oksidatif strese sebep olmaktadır. Bu durum, testislerde hasara ve sperm fonksiyonlarında azalmalara neden olabilmektedir (Aitken ve Clarkson, 1987). Taib ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, 28 gün boyunca ratlara fenitrotiyon uygulanmış ve deneylerin sonunda testis dokularındaki SOD, CAT, GPx ve GST enzim aktivitelerinde bir azalma meydana gelirken, MDA miktarında da bir artış gözlenmiştir (Taib ve diğerleri, 2013 ve 2015). Bu tez çalışmasında, fenitrotiyon ratların testis dokularında CAT, SOD, GST ve GPx enzim aktivitelerinde bir azalmaya neden olmuştur. Enzim aktivitelerindeki bu azalma, fenitrotiyonun hücrelerdeki antioksidan enzim sisteminin inhibisyonuna neden olduğunun bir göstergesi olarak değerlendirilebilir. Fenitrotiyon toksisitesi sonucu hücrelerde oluşan serbest radikaller, antioksidan enzim sisteminin baskılanması sonucu hücrelerde zedelenme veya hücre hasarı meydana gelmesine neden olmuştur. Histopatolojik bulgularımız, testislerde meydana gelen hücre ve doku hasarını desteklemektedir.

Pestisitlerin hedef aldığı sistemlerden biri de üreme sistemidir. Pestisitler, ratların testislerinde patolojik değişikliklere neden olmaktadır (Kalender ve diğerleri, 2012; Uzun, Kalender S., Durak, Demir, Kalender Y., 2009; Uzunhisarcıklı ve diğerleri, 2007). Metil paratyon, klorpirofos ve malatyon gibi pestisitlerin rat testislerinde nekroza, spermatojenik hücre sayısında azalma, seminifer epitelinde düzensizlik ve hem seminifer tüpçüklerinde hem de interstisyel alanda ödeme sebep olduğu gösterilmiştir (Kalender ve diğerleri, 2012; Uzun ve diğerleri, 2009; Uzunhisarcıklı ve diğerleri, 2007). Bununla beraber organofosfatlı bir insektisit olan metil paratyonun ratların sperm sayısında ve hareketliliğinde bir azalmaya sebep olduğu, anormal sperm sayısında ise bir artışa neden olduğu gösterilmiştir (Uzunhisarcıklı ve diğerleri, 2007). Başka bir çalışmada da, fenitrotiyon (20 mg) ratlara 70

gün boyunca oral yoldan verilmiş ve çalışmanın sonunda ratların sperm sayısında, sperm hareketliliğinde ve hormon seviyelerinde ciddi azalmalar meydana gelmiştir. Anormal sperm sayısında anlamlı bir artış olduğu ifade edilmiştir (Saber, El-Aziz ve Ali, 2016). Fenitrotyonun, ratlarda anormal sperm sayısını beş kat artırdığı gösterilmiştir (Taib ve diğerleri, 2013). Bu tez çalışmasında sperm sayısı, sperm hareketliliği ve anormal sperm sayısı gibi parametreler araştırılmamıştır. Ancak testislerde meydana gelen patolojik değişiklikler sperm sayısında muhtemel bir azalmanın olabileceğini göstermektedir. Çünkü bu tez çalışmasında fenitrotyon muameleli ratların testislerindeki spermatojenik hücre sayısının azaldığı, spermatojenik hücrelerin bazal laminadan ayrıldığı ve interstisyel alanda ödem meydana geldiği gözlenmiştir. Fenitrotyon rat testislerinde ciddi patolojik değişikliklere neden olmuştur.

Gallik asit güçlü, doğal bir antioksidandır. Bitkilerin yapısında doğal olarak bulunan bir polifenol olan gallik asit, çay, nar, yeşil çay ve diğer bitkisel gıdalarda bolca bulunmaktadır (Kim, Lee, B. K., Lee, K. W., ve Lee, H. J., 2009; Stanely, Prince, Priscilla ve Devika, 2009). Gallik asidin ticari olarak elde edilmesinde genel olarak meşe ağaçları, kestane ve üzüm kullanılmaktadır (Stanely ve diğerleri, 2009). Gallik asitin, süperoksit radikallerini ortadan kaldırdığı ifade edilmiştir (Stanely ve diğerleri, 2009). Ayrıca böbrek ve karaciğerde pestisit toksisitesini azalttığı gösterilmiştir (Elwakeel ve Rahman, 2021; Galal ve diğerleri, 2019). Bu tez çalışmasında fenitrotyonun testikular toksisitesi üzerine antioksidan özelliğe sahip gallik asitin koruyucu özelliği araştırılmıştır. Gallik asit, fenitrotyonun testislerde oluşturduğu oksidatif stresi azaltmıştır. Fenitrotyonla birlikte gallik asit uygulanan grup, fenitrotyon muameleli grupla karşılaştırıldığında, ratların testislerinde MDA miktarında anlamlı bir azalma gözlenirken, antioksidan enzim (SOD, CAT, GPx ve GST) aktivitelerinde de anlamlı bir artış gözlenmiştir. Ancak fenitrotyonla birlikte gallik asit uygulanan grup, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında antioksidan enzim aktivitelerinde bir artış olmasına rağmen bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu tez çalışmasındaki verilere dayanarak, gallik asidin fenitrotyonun sebep olduğu testikular toksisiteyi azalttığını söylemek mümkündür. Bu çalışma subakut bir çalışmadır. Çalışmada kullanılan düşük doz fenitrotyon ratların testislerinde ciddi olumsuz değişikliklere neden olmuştur. Gallik asidin koruyucu özelliği olduğu bu tez çalışmasında gösterilmiştir. Ancak gallik asidin koruyucu özelliğini tam olarak göstermesi için belki daha uzun bir zamana ihtiyacı olabilir ya da ratlara uygulanan gallik asit dozunu artırmak gerekebilir. Bu nedenle pestisit toksisitesine karşı gallik asidin antioksidan özelliğini araştırarak bu tez çalışması gallik asitle yapılacak olan

diğer çalışmalar ve özellikle kronik veya subkronik çalışmalara ışık tutacaktır.

KAYNAKLAR

- Abdollahi, M., Rainba, A., Shadnia, S., Nikfar, S. and Rezaie, A. (2004). Pesticide and oxidative stress: a review, *Medical Science Monitor*, 10 (2004), RA141–RA147.
- Adiguzel, Ç. ve Kalender, Y. (2020), Bendiocarb-induced nephrotoxicity in rats and the protective role of vitamins C and E, *Environmental Science and Pollution Research* 27 (6), 6449-6458.
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126.
- Afshar, S., Farshid, A. A., Heidari, R. and Ilkhanipour, M. (2008). Histopathological changes in the liver and kidney tissues of Wistar albino rat exposed to fenitrothion. *Toxicology and Industrial Health*, 24, 581-586.
- Agrawal, A. and Sharma, B. (2010). Pesticides induced oxidative stress in mammalian systems. *International Journal of Biological and Medical Research*, 1(3), 90-104.
- Aitken, R.J. and Clarkson, J.S. (1987). Cellular basis of defective sperm function and its association with the genesis of reactive oxygen species by human spermatozoa. *Journals of Reproduction and Fertility*, 81, 459-465.
- 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, 205-211.
- Akkuş, I. (1995). *Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri*. (Birinci Baskı). Türkiye: Mimoza Yayınevi, 32-73.
- Akkuş, I., Kalak, S., Vural, H., Çağlayan, O., Menekşe, E. and Can, G. (1996). Leukocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and serum and leukocyte vitamin C levels of patients with type II diabetes mellitus. *Clinica Chimica Acta*, 244, 221-227.
- Altıkat, A., Turan, T., Ekmekyapar, T. F. ve Bingül, Z. (2009). Türkiye’de Pestisit Kullanımı ve Çevreye Olan Etkileri. *Ataturk University Journal of the Agricultural Faculty*, 40(2), 87-92.
- Altun, A. (2013). *Azospermik Olgulardan Alınan Tese Dokularının Ultrastrüktürel İncelenmesi Ve Nos İzofomlarının Etkisinin Değerlendirilmesi* Yüksek Lisans Tezi, T.C. İstanbul Bilim Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji Ve Embriyoloji Anabilim Dalı İstanbul.
- Amoros, I., Connon, R., Garelick, H., Alonso, J.L. and Carrasco, J.M. (2000). An assessment of the toxicity of some pesticides and their metabolites affecting a natural aquatic environment using the Microtox™ system. *Water Science and Technology*, 42, 19–24.

- Apaydın, F.G., Pandır, D., Kalender, S., Baş, H. and Kalender, Y. (2018). Hematoprotective effect of vitamins C and E against subchronic toxicity of bendiocarb: Biochemical evidence. *Journal of Food Biochemistry*, 42 (6), e12659.
- Arthur, S., Thomas, M.B. and Langewald, J. (2003). Field observations of the effects of fenitrothion and *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* on non-target ground dwelling arthropods in the Sahel. *Biological Control*, 26, 333–340.
- Aydın, Ç. ve Mammadov, R. (2017). İnsektisit aktivite gösteren bitkisel sekonder metabolitler ve etki mekanizması. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 21, 30-37.
- Aydiner, Ç., Pul, M., İnan, M., Bilgi, S. ve Çakır, E. (2012). Deneyisel testiküler torsiyon modelinde N-asetilsistein doku hasarını önlemede rol oynayabilir mi?. *Cumhuriyet Tıp Dergisi*, 34, 462-471.
- Aygun, D., Erenler, A.K., Karataz, A.D. ve Baydin, A. (2007). Intermediate syndrome following acute organophosphate poisoning: correlation with initial serum levels of muscle enzymes. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 100, 201–204.
- Banerjee, B. D., Seth, V., Bhattacharya, A., Pasha, S. T. and Chakraborty, A. K. (1999). Biochemical effects of some pesticides on lipid peroxidation and free-radical scavengers. *Toxicology Letters*, 107, 33-47.
- Baş, H. and Kalender, Y. (2016). Nephrotoxic effects of lead nitrate exposure in diabetic and nondiabetic rats: involvement of oxidative stress and the protective role of sodium selenite. *Environmental Toxicology*, 31(10), 1229-1240.
- Baş, H., Kara, Ö., Kara, M. and Pandır, D. (2013). Protective effect of vardenafil on ischemiareperfusion injury in rat ovary. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 43, 684-689.
- Belmares, R., Contreras-Esquivel, J.C., Rodriguez-Herrera, R., Coronel, A. R. and Aguilar, C. N. (2004). Microbial production Of tannase: an enzyme with potential use in food industry, *Lebensmittel-Wissenschaft and Technology*, 37, 857-864.
- Bjorling-Poulsen, M., Andersen, H. R. and Grandjean, P. (2008). Potential developmental neurotoxicity of pesticides used in Europe. *Environmental Health*, 7(50), 1-22.
- Blair, A., Ritz, B., Wesseling, C. and Freeman, L.B. (2015). Pesticides and human health. *Occupational and Environmental Medicine*, 72, 81–82.
- Blasiak, J., Walter, Z. and Bawronska, M. (1991). The changes of osmotic fragility of pig organophosphorus insecticides. *Acta Biochimica Polonica*, 38 (1) 75-80.
- Bonner, M. R., Freeman, L. E., Hoppin, J. A., Koutros, S., Sandler, D. P. and Lynch, C. F. (2017). Occupational exposure to pesticides and the incidence of lung cancer in the agricultural health study. *Environmental Health Perspectives*, 125, 544–551.

- Brovwer, E. J., Evelo, C. T., Verplanke, A. J., Van Welie, R. T. and Wolf, F. A. (1991). Biological effect monitoring of occupational exposure to 1,3 dichloropropene effects on liver and renal function and on glutathione conjugation. *British Journal of Industrial Medicine*, 48 (3), 167-172.
- Chao, J. C., Huang, C. H., Wu, S. J., Yang, S. C., Chang, N. C., Shieh, M. J. and Lo, P. N. (2002). Effects of beta-carotene, vitamin C and E on antioxidant status in hyperlipidemic smokers. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 427-434.
- Cherubini, A., Ruggiero, C., Polidori, M. C. and Mecocci, C. (2005). Potential markers of oxidative stres in stroke. *Free Radical Biology and Medicine*, 39, 841-852.
- Costa, L., (2006), Current issues in organophosphate toxicology, *Clinica Chimica Acta*, 306, 1–13.
- Crathorne, B. and Dobbs, A.J. (1990). *Chemical pollution of the aquatic environment by priority pollutants and its control* (Second edition). United Kingdom: Royal Society of Chemistry, 1-18.
- Çolak, A. ve Cengiz, S., (1989). Sivas yöresinde 2,4-D ester adlı herbisit balıklara biyolojik etkisinin incelenmesi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 14(1) 8-14.
- Çömelekoğlu, Ü., Mazmancı, B. ve Arpacı, A. (1999). Pestisitlerin kronik etkisine maruz kalan tarım işçilerinde karaciğer fonksiyonlarının incelenmesi. *Turkish Journal of Biology*, 24, 461-466.
- Datta, C., Gupta, J., Sarkar, A. and Sengupta, D. (1992). Effects of organophosphorus insecticide phosphomidon on antioxidant defence components of human erythrocyte and plasma. *Indian Journal of Experimental Biology*, 30(1) 65- 67.
- Delen, N., Durmuşoğlu, E., Güncan, E., Güngör, N., Turgut, C. ve Burçak, A. (2005). *Türkiye’de pestisit kullanımı kalıntı ve organizmalarda duyarlılık azalışı sorunları*. Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongre. Ankara.
- Delen, N., Tosun, Necip., Alpöz, A.R., Eronat, C. ve Şen, B.H. (2001). Effects of 2,4-dichlorophenoxy acetic acid dimethyl amine salt on dental hard tissue formation in rats. *Environment International*, 8(2), 137-142.
- Deng, Y., Zhang, Y., Lu, Y., Zhao, Y. and Ren, H. (2016). Hepatotoxicity and nephrotoxicity induced by the chlorpyrifos and chlorpyrifos-methyl metabolite, 3, 5, 6-trichloro-2pyridinol, in orally exposed mice. *Science of the Total Environment*, 544, 507–514.
- Derbalah A., Nakatani, N. and Sakugawa, H. (2004). Photocatalytic removal of fenitrothion in pure and natural waters by photo-Fenton reaction *Chemosphere*, 57 635–644.
- Derbalah, A.S.H., Nakatani, N. and Sakugawa, H. (2003). Distribution, seasonal pattern, flux and contamination source of pesticides and nonylphenol residues in Kurose River water, Higashi-Hiroshima, Japan. *Geochemistary Journal* 37, 217–232.

- Derbalah, A.S.H., Wakatsuki, H., Yamazaki, T. and Sakugawa, H. (2004). Photodegradation kinetics of fenitrothion in various aqueous media and its effect on steroid hormone biosynthesis. *Geochemical Journal*, 38, 201–213.
- Desmarchelier, J. M. (1978). Loss of fenitrothion on grains in storage. *Pesticide Science*, 9, 33–38.
- Elhalwagy, M., Nevine, S. and Enass, M. (2008). Prophylactic effect of green tea polyphenols against liver and kidney injury induced by fenitrothion insecticide *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 91, 81–89.
- Elwakeel, S. and Rahman, A.A. (2021). Protective Effect of Gallic Acid on Cyclophosphamide-Induced Nephrotoxicity, Oxidative Stress, Genotoxicity, and Histopathological Alterations in Male Albino Rats, *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences Zoology*, 13(2), 225-244.
- Erdoğan-Yavuz, B. (2010). Samsun’da yaygın olarak kullanılan pestisitlerin sağlığa ve çevreye etkileri. *Dergipak*, 19 (B), 28-35.
- Food and Agriculture Organization. (2005). International Code of Conduct on the Distribution and Use of Pesticides; FAO, Rome, 1-36.
- Freeman, B. A. and Crapo, J. D. (1982). Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Laboratory Investigation*, 47, 412-426.
- Galal, A., Ramadana, R., Metwallyb, M. and El-Sheikha, S. (2019). Protective effect of N-acetylcysteine on fenitrothion-induced toxicity: The antioxidant status and metabolizing enzymes expression in rats, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 171, 502-510.
- Ghany, R. Mohammed, E. Anis, S. and Barakat W. (2016). Impact of Exposure to Fenitrothion on Vital Organs in Rats, *Journal of Toxicology*, 16(12), 1-18.
- Gupta, N., Gupta, S. and Mahmood, A. (2007). Gallic acid inhibits brush border disaccharidases in mammalian intestine, *Nutrition Research*, 27, 230-235.
- Gutteridge, J. M. C. (1993). Free radicals in disease processes: A compilation of cause and consequence. *Free Radical Research Communications*, 19(3), 141-158.
- Gutteridge, J. M. C. (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*, 41, 1819-1828.
- Reece, J., Urry, L., Cain, M., Wasserman, S., Minorsky, T. and Jackson R. (2008). *Biology Campbell*. (Third edition). USA: Pearson 940-980.
- Güner, Ö. ve Kavlak, O. (2017). Kadmiyumun erkek üreme sistemi üzerine etkisi. *Androl Bul*, 19(3), 86-91.

- Habig, W. H., Pabst, M. J. and Jakoby, W. B. (1974). Glutathione-S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *The Journal of Biological Chemistry*, 249, 7130-7139.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. (1999). *Free Radicals in Biology and Medicine* (Third edition). New York: Oxford University Press, 246-351.
- Handal, A., Lozoff, B., Breilh, J. and Harlow, S., (2007). Effect of Community of residence on neurobehavioral development in infants and young children in a flower-growing region of Ecuador. *Environmental Health Perspect*, 115, 128-133.
- Hansoy, Z., (2010). *Bir herbisit olan 2,4-D (Diklorofenoksi Asetik Asit)'nin Poecilia Reticulata (Teleostei, Poeciliidae)'da testis dokusu üzerine etkisi*. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Hayes, W.J. and Laws E.J. (1991). *Fenitrothion. Handbook of Pesticide Toxicology, Classes of Pesticides*. (Third edition) San Diego: Academic Press, 1020-1023.
- Holland, P.T., Hamilton, D., Ohlin, B. and Skidmore, M. W. (1994). Effects of storage and processing on pesticide residues in plant products. *Pure and Applied Chemistry*, 66(2), 335-356.
- Hüdaverdi, S. (2011). *Melanogryllus Desertus (Pallas 1771) (Orthoptera: Gryllidae)'da 2,4-D (Diklorofenoksiasetik Asit)'nin testise etkileri*. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Izushi, F. and Ogata, M. (1990). Hepatic and muscle injuries in mice treated with heptachlor. *Toxicology Letters*, 54 (1), 47-54.
- İstanbuluoğlu, H., Oğur, R. ve Güleç, M. (2009). Pestisit maruziyeti ve nörolojik bozukluk. *Genel Tıp Dergisi*, 19(4), 187-195.
- Junqueira, L.C. and Carneiro J. (2009). *Temel Histoloji*. (Çev: S. Solakoğlu, Y. Aytekin) İstanbul. Nobel Tıp Kitapevi. (Eserin orijinali 2005'de yayınlandı), 52-55.
- Kalender, S., Apaydin, F.G., Baş, H. and Kalender, Y., (2015). Protective effects of sodium selenite on lead nitrate-induced hepatotoxicity in diabetic and non-diabetic rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 40(2), 568-574.
- Kalender, Y., Kaya, S., Durak, D., Uzun, F.G. and Demir F. (2012). Protective effects of catechin and quercetin on antioxidant status, lipid peroxidation and testis-histoarchitecture induced by chlorpyrifos in male rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 33 (2), 141-148.
- Kehrer, J. P. (1993). Free radical as mediator of tissue injury and disease. *Critical Reviews in Toxicology*, 23, 21-48.
- Kerem, M., Bedirli, N., Gürbüz, N., Ekinci, Ö., Bedirli, A., Akkaya, T., Şakrak, Ö. and Paşaoğlu, H. (2007). Effects of acute fenthion toxicity on liver and kidney function and histology in rats. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 37(5), 281-288.

- Kılıç, K.D., Çavuşoğlu, T., Yiğittürk, G., Erbaş, O., Çetin, E.Ö. ve Uyanıkgil, Y. (2016). Sıçan testisinde subakut deltametrin maruziyetinin etkileri. *Florence Nightingale Tıp Dergisi*, 2(4), 266-271.
- Kim, J. H., Lee, B. K., Lee, K. W. and Lee, H. J. (2009). Resveratrol counteracts gallic acid-induced down-regulation of gap-junction intercellular communication. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 20, 149-154.
- Kleczkowski, M., Klucinski, W., Sikora, J., Zdanowicz, M. and Dziekan, P. (2003). Role of antioxidants in the protection against oxidative stress in cattle nonenzymatic mechanism. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 6, 301-308.
- Lotti M. (2001), *Clinical toxicology of anticholinesterase agents in humans. in: Handbook of Pesticide Toxicology*, (Second Edition), USA: Academic Press, 1043–1086.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the folin reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 19, 265-275.
- Lukaszewicz-Hussain, A. (2010) Role of oxidative stress in organophosphate insecticide toxicity. *Poland Pesticide Biochemistry and Physiology*, 98, 145–150.
- Lukaszewicz-Hussain, J. Moniuszko-Jakoniuk J. (1997), Procesy glikolityczne w wątrobie szczurawzatruciu chlorfenwinfossem. *Medycyna pracy* 48, 580–583.
- Lukaszewicz-Hussain, J. 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.
- Lukaszewicz-Hussain, J. Moniuszko-Jakoniuk, J. (2004). Chlorfenvinphos an organophosphate insecticide, affects liver mitochondria antioxidative enzymes, glutathione and hydrogen peroxide concentration. *Polish Journal of Environmental Studies* 13, 397–401.
- Mansour, S. A. and Mossa, A. H. (2009). Lipid peroxidation and oxidative stress in rat erythrocytes induced by chlorpyrifos and protective effect of zinc. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 93, 34-39.
- Marklund, S. and Marklund, G. (1974). Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European Journal of Biochemistry*, 47, 469-474.
- Maroni, M., Colosio, C., Ferioli, A. and Fait, A. (2000). Biological monitoring of pesticide exposure: a review. *Toxicology*, 143(1), 1-118.
- Mashali, A. A., Nounou, H. A., Sharara, G. M., Manal, H. and Azizi A. (2005). Role of oxidative stress and apoptosis in acute organophosphorus intoxicated patients. *Journal of International Medical Research*, 26, 255-263.
- McCord, J. M. (1993). Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance. *Clinical Biochemistry*, 26(5), 351-357.

- Memişoğulları, R., Taysi, S., Bakan, E. and Çapoğlu, I. (2003). Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus. *Cell Biochemistry and Function*, 21, 291-296.
- Messaraha, M., Klibetb, F., Boumendjel, A., Abdenmour, C., Bouzerna, N., Salah, M., Abdelfattah, B. and Fekic, E. (2012). Hepatoprotective Role and Antioxidant Capacity Of Selenium On Arsenic-Induced Liver Injury In Rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64(3), 167-174.
- Michihiro, K., Hatsuki, H., Masahiro, G., Ken-ichi, T., Isao, S., Hailan, W., Seiichiro, I., Tetsuya, Y., Gaku, I., Eiji, S., Tamie, N. and Yasuhiro, T. (2004). A Survey of Semen Indices in Insecticide Sprayers, *Occup Health*, 46, 109–118.
- Milatovic, D., Gupta, R.C. and Aschner, M. (2006). Anticholinesterase Toxicity and Oxidative Stress Review Article. *The Scientific World Journal*, 6, 295–310.
- Munoz-Quezada, M. T., Lucero, B. A., Barr, D. B., Steenland, K., Levy, K. and Ryan, P. B. (2013). Neurodevelopmental effects in children associated with exposure to organophosphate pesticides: a systematic review. *Neurotoxicology* 39, 158–168.
- Neghab, M., Jalilan, H., Taheri, S., Tatar, M. and Zadeh, Z. H. (2018). Evaluation of hematological and biochemical parameters of pesticide retailers pational exposure to a mixture of pesticide. *Life Sciences*, 202, 182-187.
- Niki, E. (1987). Antioxidant in relation to lipid peroxidation. *Chemistry and Physics of Lipids*, 44, 227-253.
- Nisenbaum, R., Barret, D., Reyes, M. and Reeves, W. (2000). Deployment stressors in a chronic multisymptom illness among gulf war veterans. *The Journal Of Nervous And Mental Disease*, 188, 259–66.
- Niu, X., Fan, X., Sun, J., Ting, P., Narula, S. and Lundell, D. (2004). Inhibition of fucosyltransferase VII by gallic acid and its derivatives, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 425, 51-57.
- Numabe, A., Inoue, T. and Ebise, S. (1992). Estimation of runoff amounts of pesticides applied after transplantingof rice plant by Drainage River. *Water and Environment Journal*, 15, 662–671.
- Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95, 351-358.
- Ozbek, E. (2012). Induction of oxidative stress in kidney. *International Journal of Nephrology*, 12(4), 1-10.
- Özkaya, G., Çeliker, A. ve Koçer-Giray, B. (2013). İnsektisit zehirlenmeleri ve Türkiye’deki durumun değeriendirilmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 70(2), 75-102.

- Padma, V. V., Sowmya, P., Felix A.T., Baskaran, R. and Poornima, P. (2010). Protective effect of gallic acid lindane induced toxicity in experimental rats. *Food and Chemical Toxicology*, 49(4), 991-998.
- Paglia, D. E. and Valentine, W. N. (1987). Studies on the quantative and qualitative characterization of glutathione peroxidase. *Journal Laboratory Medicine*, 70, 158-165.
- Pakizer, H. (2013). *Pestisitlerin Vücut Savunma Sistemi Enzimleri Üzerine Etkilerinin in vitro İncelemesi*, Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- Paul, C. (1997). Influences of Serotonin and Testosterone in Aggression and Dominance: Convergence With Social Psychology Current Directions in Psychology Science, 6(2), 65-73.
- Petrakis, D., Vassilopoulou, L., Mamoulakis, C., Psycharakis, C., Anifantaki, A. and Sifakis, S. (2017). Endocrine disruptors leading to obesity and related diseases. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(10), 1282-1299.
- Petrovitch, H., Ross W., Abbott R.D., Sanderson W.T., Sharp D.S., Tanner C.M., Masaki K.H., Blanchette P.L., Popper J.S., Foley D. and Launer L., (2002). White, Plantation work and risk of Parkinson disease in a population-based longitudinal study, *Archives of neurology*, 59, 1787–1792.
- Peveling, R., Rafanomezantsoa, J.-J., Razafinirina, R., Tovonkery, R. and Zafimaniry, G. (1999). Environmental impact of the locust control agents fenitrothion, fenitrothion-esfenvalerate and triflumuron on terrestrial arthropods in Madagascar. *Crop Protection*, 18, 659–676.
- 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, 198–204.
- Preziosi, P. (1998). Natural and antropogenic environmental oestrogens: The scientific basis for risk assessment. Endocrine disruptions as environmental signalers. *Pure and Applied Chemistry*, 70, 1617-1631.
- Priscilla, H., Prince, P.S.M. and Devika, P.T. (2009). Gallic acid prevents lysosomal damage in isoproterenol induced cardiotoxicity in Wistar rats. *European Journal of Pharmacology*, 22, 139-143.
- Punithavathia, V. R., Stanely, P., Prince, M., Kumara, R., and Selvakumari, J., (2010). *Antihyperglycaemic, antilipid peroxidative and antioxidant effects of gallic acid on streptozotocin induced diabetic Wistar rats*. Department of Biochemistry and Biotechnology, 650(1), 65-71.
- Rahimi, R., Nikfar, S. and Abdollahi, M., (2006), Increased morbidity and mortality in acute human organophosphate-poisoned patients treated by oximes: a metaanalysis of clinical trials. *Human Experimental Toxicology*, 25, 157–162.

- Rajasekaran, S., Sivagnanam, K. and Subramanian, S. (2005). Antioxidant effect of Aloe vera gel extract in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Pharmacological Reports*, 57, 90-96.
- Ranjbar, A., Pasalar, P. and Abdollahi, M. (2002). Induction of oxidative stress and acetylcholinesterase inhibition in organophosphorous pesticide manufacturing workers. *Human and Experimental Toxicology*, 21, 179-182.
- Ranjbar, H., Solhi, F.J., Mashayekhi, A., Susanabdi, A. and Rezaiee, M. (2005). Oxidative stress in acute human poisoning with organophosphorus insecticides; a case control study. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 20, 88-91.
- Ross, M. H. (2003). *Histology a Text and Atlas with Cell and Molecular Biology*, (Fourth Edition), USA: Lippincott Williams&Wilkins, 58-97.
- Saber, T. M., El-Aziz, R. M. and Ali, H. A. (2016). Quercetin mitigates fenitrothion-induced testicular toxicity in rats Taghred 2015 *Blackwell Verlag GmbH Andrologia* 48, 491-500.
- Sarikaya, Ö., (2005). *Funguslar ile galik asit üretiminde çeşitli bitkisel atıkların kullanılabilirliğinin araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir.
- Sarikaya, R. Selvi, M. and Erkoc, F. (2004). Investigation of acute toxicity of fenitrothion on peppered corydoras (*Corydoras paleatus*). *Chemosphere*, 56, 697-700.
- Savolainen, K. (2001), *Understanding the toxic action of organophosphates, Handbook of Pesticide Toxicology*. (Second Edition). USA: Academic Press, 1013-1043.
- Shadnia, S., Azizi, E., Hosseini, R., Khoei, S., Fouladdel, S., Pajoumand, A., Jalali, N. and Abdollahi, M. (2005). Evaluation of oxidative stress and genotoxicity in organophosphorus insecticide formulators. *Human Experimental Toxicology*, 24, 439-445.
- Sharma, Y., Bashir, S., Irshad, M., Gupta, S.D. and Dogra, T.D. (2005). Effects of acute dimethoate administration on antioxidant status of liver and brain of experimental rats. *Toxicology*, 206, 49-54.
- Slotkin, T., Oliver, C. and Seidler, F. (2005). Critical periods for the role of oxidative stress in the developmental neurotoxicity of chlorpyrifos and terbutaline, alone or in combination. *Developmental Brain Research*, 157, 172-80.
- 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.
- Sözmen, E. Y. (2002). *Yaşlanma biyokimyası*. Türkiye: Palme yayıncılık, 665-674.

- Stanely, P., Prince, M., Priscilla, H. and Devika, P. T. (2009). Gallic acid prevents lysosomal damage in isoproterenol induced cardiotoxicity in Wistar rats, *European Journal of Pharmacology*, 139, 139-143.
- Sudo, M., Kunimatsu, T. and Okubo, T. (2002). Concentration and loading of pesticide residues in Lake Biwa basin. *Water Research*, 36, 315–329.
- Taib, I.S., Budin, S.B., Ghazali, A.R., Jayusman, P.A., Louis, S.R. and Mohamed, J. (2013). Fenitrothion induced oxidative stress and morphological alterations of sperm and testes in male sprague-dawley rats. *Clinics*, 68(1), 93-100.
- Taib, I.S., Budin, S.B., Ghazali, A.R., Jayusman, P.A., Louis, S.R. and Mohamed, J. (2015). Palm oil tocotrienol-rich fraction attenuates testicular toxicity induced by fenitrothion via an oxidative stress mechanism. *Toxicology Research*, 4, 132–142.
- Tamura, H., Maness, S.C., Reischmann K., Dorman D.C., Gray L.E. and Gaido K.W. (2001). Androgen receptor antagonism by the organophosphate insecticide fenitrothion. *Toxicological Sciences*. 60(1), 56-62.
- Tanabe, A., Mitobe, H., Kawata, K., Yasuhara, A. and Shibamoto, T. (2001). Seasonal and spatial studies on pesticide residues in surface waters of the Shinano River in Japan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 3847–3852.
- Taysi, S., Polat, F., Gul, M., Sari, R. A. and Bakan, E. (2002). Lipid peroxidation, some extracellular antioxidants and enzymes in serum of patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology International*, 21(5), 200-204.
- Teimouri, F., Amirkabirian, N., Esmaily, H., Mohammadirad, A. Aliahmadi, A. and Abdollah, 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.
- Tiryaki, O., Can Hilal, R. ve Horuz, S. (2010). Tarım ilaçları kullanımı ve riskleri. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. 26(2), 154-169.
- Tripathi, S. and Srivastav, A. K. (2010). Nephrotoxicity induced by long term oral administration of different doses of chlorpyrifos. *Toxicology and Industrial Health*, 26, 439–447.
- Ural, M., Özgüner, M., Büyükvanlı, B., Kuplay, H. ve Köylü, H. (2006). Akut diazinon toksisitesinin testis dokusunda oluşturduğu histolojik değişiklikler ve bu değişikliklere C vitamini ve E vitaminin etkisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Dergisi*, 13(2), 22-25.
- Uygun, U. Koksel, H. Atli, A. (2005). Residue levels of malathion and its metabolites and fenitrothion in post-harvest treated wheat during storage, milling and baking. *Food Chemistry*, 92, 643–647.
- Uzun, F. and Kalender, Y. (2011). Protective effect of vitamins c and e on malathion-induced nephrotoxicity in male rats. *Gazi University Journal of Science* 24 (2), 193-201.

- Uzun, F.G, Kalender, S., Durak, D., Demir, F. and Kalender, Y. (2009). Malathion-induced testicular toxicity in male rats and the protective effect of vitamins C and E. *Food and chemical toxicology* 47 (8), 1903-1908.
- Uzunhisarcikli, M., Kalender, Y., Dirican, K., Kalender, S. and Ogutcu A. (2007). Acute, subacute and subchronic administration of methyl parathion-induced testicular damage in male rats and protective role of vitamins C and E. *Pesticide biochemistry and physiology* 87 (2), 115-122.
- Ünal, G. ve Gürkan, M., O. (2001). *İnsektisitler*. (Birinci Baskı). Türkiye: Ethemoglu Ofset matbaacılık, 130-154.
- Ündeğer, Ü. (2001). *Pestisitlerin olası genotoksik ve immünotoksik etkilerinin değerlendirilmesi*. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Üstün, F., ve Aydın, A. S. (2007). Tanenler 2, toksisiteleri, beslenme üzerine etkileri, detannifikasyon, *İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 33 (1), 33- 41.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M., Mazur, M. and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39, 44-84.
- Vasquez-Vivar J., Kalyanaraman B. and Kennedy M.C., (2000), Mitochondrial aconitase is a source of hydroxyl radical. An electron spin resonance investigation, *Journal of Biological Chemistry* 275, 14064–14069.
- Verma, R. S., Mehta, A. and Srivastava, N. (2007). In vivo chlorpyrifos induced oxidative stres. Attenuation by antioxidant vitamins. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 88, 191-196.
- Vincent, A. M., Russell, J. W., Low, P. and Feldman, E. L. (2004). Oxidative stres in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocrine Reviews*, 25, 612-628.
- Vural, N. (2005). *Toksikoloji*. Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 73, 342-390.
- Weizman, Z. and Sofer, S. (1992) Acute pancreatitis in children with anticholinesterase insecticide intoxication. *Pediatrics*, 204-206.
- World Health Organization. (2009). The WHO Recommended Classification of Pesticides By Hazard and Guidelines To Classification, WHO, *Geneva*, 1-92.
- Yarsan, E., Tanyuksel, M., Celik, S. and Aydın, A. (1999). Effects of aldicarb and malathion on lipid peroxidation. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 63, 575-581.
- Yeşil, S. ve Öğür, E. (2011). *Zirai Mücadelede Pestisit Kullanımının Türkiye’de ve Konya İlçeğinde Değerlendirilmesi ve Pestisit Kullanımının Olası Sakıncaları*. TMMOB, Konya İl Koordinasyon Kurulu, I. Konya Kent Sempozyumunda sunuldu. Konya.

- Yılmaz, O. ve Dinç, H. (2013). Ağır metallerin üreme sistemi üzerine etkileri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 24(2), 91-94.
- Yoshino, M., Haneda, M., Naruse, M., Htay, H., Iwata, S., Tsubouchi, R. (2002). Prooxidant action of gallic acid compounds: copper-dependent strand breaks and the formation of 8- hydroxy-20-deoxyguanosine in DNA. *Toxicology in Vitro*, 16, 705-709.
- Young, I. S. and Woodside, J. V. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology*, 54(3), 176-186.
- Yurumez Y., Cemek M., Yavuz Y. and Brdane Y.O. (2007). Beneficial effect of Nacetylcysteine against organophosphate toxicity in mice. *Biology and Pharmacology Bulletin*, 30, 490–494.
- Zeren, O.M. ve Yaşarbaş, M. (1989). *Tarım ilaçlarının insan sağlığı üzerindeki etkisi*, II. Ulusal Ergonomi Kongresinde sunudu. İstanbul.
- Zhang J.L., Qiao C.L. and Lan W.S. (2004). Detoxification of organophosphorus compounds by recombinant carboxylesterase from an insecticide-resistant mosquito and oxime-induced amplification of enzyme activity, *Environment Toxicology*, 19, 154–159.



ĞAZİ GELECEKTİR...