



**DİMETHOAT'IN SIÇAN BEYİN DOKUSU ÜZERİNE TOKSİK ETKİSİ VE
FERULİK ASİTİN KORUYUCU ROLÜ**

Tuğba KÖKEN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

OCAK 2021

ETİK BEYAN

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

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

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

Tuğba KÖKEN

15/01/2021

DİMETHOAT'IN SIÇAN BEYİN DOKUSU ÜZERİNE TOKSİK ETKİSİ VE FERULİK ASİTİN KORUYUCU ROLÜ

Yüksek Lisans Tezi

Tuğba KÖKEN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2021

ÖZET

Dimethoat (O,O-dimetil-S-N-metilkarbamoylmetil fosforoditioat), zirai mücadelede yaygın olarak kullanılan organofosfatlı bir insektisittir. Ferulik asit (3-metoksi-4-hidroksisünamik asit) çeşitli sebze ve meyvelerde bulunan fenolik bir bileşiktir ve reaktif moleküllerin yok edilmesinde, lipid peroksidasyonun inhibe edilmesinde rol oynamaktadır. Bu çalışmada dimethoat'ın beyin dokusunda meydana getirdiği oksidatif hasar üzerine ferulik asitin koruyucu etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla deney grubu oluşturulmuştur. 1. Grup: Kontrol grubu, 2. Ferulik asit (30 mg/kg gün v.a.) uygulanan grup, 3. Grup: Düşük doz (1/100 LD₅₀) dimethoat uygulanan grup. 4. Grup: Yüksek doz (1/10 LD₅₀) dimethoat uygulanan grup, 5. Grup: Düşük doz dimethoat ve ferulik asit uygulanan grup, 6. Grup: Yüksek doz dimethoat ve ferulik asit uygulanan grup. Deney hayvanlarına maddeler 28 gün boyunca günde bir defa verilmiştir. Deneylerin sonunda sıçanların beyin dokularında, oksidatif stres parametreleri olan süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon-S-transferaz (GST) enzim aktiviteleri ile lipid peroksidasyon son ürünü olan malondialdehit (MDA) miktarları gruplar arasında karşılaştırılmalı olarak araştırılmıştır. Bununla birlikte beyin dokusu histolojik olarak ışık mikroskopunda incelenmiştir. Deneylerimizin sonucunda, kontrol grubu ile düşük ve yüksek doz dimethoat uygulanan ratların beyin dokusundaki MDA miktarları ve antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, CAT, GPx ve GST), istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlenmiştir. Yine düşük ve yüksek doz dimethoat uygulanan gruplar ile düşük ve yüksek doz dimethoat ve ferulik asit verilen gruplar karşılaştırıldığında hem MDA miktarı bakımından hem de SOD, CAT, GPx ve GST enzim aktiviteleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir. Işık mikroskobu bulgularımız, biyokimyasal çalışmaları desteklemektedir. Bu çalışmaya dayanarak, ferulik asitin kısmi olarak dimethoat toksisitesini azalttığını söylemek mümkündür.

Bilim Kodu : 20317
Anahtar Kelimeler : Dimethoat, ferulik asit, oksidatif stres, beyin
Sayfa Adedi : 45
Danışman : Prof. Dr. Yusuf KALENDER

TOXIC EFFECT OF DIMETHOATE ON THE RAT BRAIN TISSUES AND THE PROTECTIVE ROLE OF FERULIC ACID

M. Sc. Thesis

Tuğba KÖKEN

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

January 2021

ABSTRACT

Dimethoate (O, O-dimethyl-S-N-methylcarbamoylmethyl phosphorodithioate) is an organophosphate insecticide widely used in agricultural control. Ferulic acid (3-methoxy-4-hydroxycinnamic acid) is a phenolic compound found in various vegetables and fruits and plays a role in destroying reactive molecules, inhibiting lipid peroxidation. In this study, the protective effects of ferulic acid on oxidative damage caused by dimethoate in brain tissue were investigated. For this purpose, an experimental group was formed. 1. Group: Control group, 2 Group: Ferulic acid (30 mg / kg day etc.) treated group, 3. Group: Low dose (1/100 LD₅₀) dimethoate-treated group. 4. Group: High dose (1/10 LD₅₀) dimethoate-treated group, 5. Group: Low doze dimethoate and ferulic acid treated group, 6. Group: High dose dimethoate and ferulic acid-treated group. The experimental animals were given the substances once a day for 28 days. At the end of the experiments, the oxidative stress parameters superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione-S-transferase (GST) enzyme activities and lipid peroxidation end product malondialdehyde (MDA) levels were found in the brain tissues of rats. It has been studied comparatively. However, brain tissue was examined histologically under light microscope. As a result of our experiments, a statistically significant difference was observed when the MDA amounts and antioxidant enzyme activities (SOD, CAT, GPx and GST) in the brain tissue of the control group and rats treated with low and high doses of dimethoate were compared statistically. When the low and high dose dimethoate groups were compared with the low and high dose dimethoate and ferulic acid groups, a statistically significant difference was observed in terms of both MDA amount and SOD, CAT, GPx and GST enzyme activities. Our light microscope findings support biochemical studies. Based on this study, it is possible to say that ferulic acid partially reduces dimethoate toxicity.

Science Code : 20317

Key Words : Dimethoate, ferulic acid, oxidative stress, brain

Page Number : 45

Supervisor : Prof. Dr.Yusuf KALENDER

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimi boyunca ilminden faydalandığım, insani ve ahlaki değerleri ile de örnek edindiğim, birlikte çalışmaktan onur duyduğum ve ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı değerli danışman hocam Prof. Dr. Yusuf KALENDER'e içtenlikle teşekkür eder ve saygılarımı sunarım.

Tez çalışmalarım sırasında yardımlarını eksik etmeyen değerli hocalarım Doç. Dr. Fatma Gökçe APAYDIN ve Doç. Dr. Hatice BAŞ'a en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca beni bugünlere getiren, maddi manevi destekleriyle her zaman yanımda olan çok değerli annem Serpil ÇAYLAK ve babam Ramazan ÇAYLAK'a ve bütün bu süreci benimle birlikte yaşayan desteğini her daim hissettiğim sevgili eşim Hasan KÖKEN'e çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	ix
RESİMLERİN LİSTESİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. MATERYAL VE YÖNTEM	13
2.1. Hayvanlar	13
2.2. Kimyasallar	13
2.3. Hayvanlara Uygulama Planı	13
2.3.1. Grup: Kontrol grubu	14
2.3.2. Grup: Ferulik asit uygulanacak grup	14
2.3.3. Grup: Düşük doz dimethoat uygulanacak grup	14
2.3.4. Grup: Yüksek doz dimethoat uygulanacak grup	14
2.3.5. Grup: Düşük doz dimethoat ve ferulik asit uygulanacak grup	14
2.3.6. Grup: Yüksek doz dimethoat ve ferulik asit uygulanacak grup	14
2.4. Biyokimyasal İncelemeler.....	15
2.4.1. Malondihaldehit miktarının belirlenmesi	15
2.4.2. Antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi.....	15
2.5. Işık Mikroskobu İçin Dokuların Hazırlanması	17
2.6. İstatistiksel Analizler.....	17
3. ARAŞTIRMA BULGULARI	19

	Sayfa
3.1. Malondialdehit Miktarının Değerlendirilmesi	19
3.2. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Değerlendirilmesi	20
3.2.1. Katalaz enzim aktivitesi	20
3.2.2. Glutasyon peroksidaz enzim aktivitesi	21
3.2.3. Süperoksit dismutaz enzim aktivitesi	22
3.2.4. Glutasyon –S-transferaz enzim aktivitesi	23
3.3. Işık Mikroskobu Bulgularının Değerlendirilmesi	24
4. SONUÇ VE ÖNERİLER	31
KAYNAKLAR	37
ÖZGEÇMİŞ	45

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Pestisitlerin doğadaki hareketleri.....	2
Şekil 1.2. Dimethoatın kimyasal yapısı	5
Şekil 1.3. Kurkuminin tautomerik formları ve ferulik asit	8
Şekil 1.4. Ferulik asitin yapısı.....	8
Şekil 3.1. Dördüncü haftanın sonunda kontrol grubu ve muameleli grupların MDA seviyeleri.....	19
Şekil 3.2. Dördüncü haftanın sonunda kontrol grubu ve muameleli grupların CAT seviyeleri.....	20
Şekil 3.3. Dördüncü haftanın sonunda kontrol grubu ve muameleli grupların GPx seviyeleri.....	21
Şekil 3.4. Dördüncü haftanın sonunda kontrol grubu ve muameleli grupların SOD seviyeleri.....	22
Şekil 3.5. Dördüncü haftanın sonunda kontrol grubu ve muameleli grupların GST seviyeleri.....	23

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Kontrol grubu ratların beyin dokusuna ait histolojik beyin (cerebrum) dokusunun histolojik yapısı, N: Nöronlar, G: Glia hücreleri.....	24
Resim 3.2. Kontrol grubu ratlara ait beyincik (cerebellum) dokusunun histolojik yapısı	25
Resim 3.3. Ferulik asit uygulanan ratların beyin dokusunun histolojik yapısı.....	25
Resim 3.4. Ferulik asit uygulanan ratların beyincik dokusunun histolojik yapısı	26
Resim 3.5. Düşük doz dimethoat uygulanan ratların beyin dokusunun histolojik yapısı	26
Resim 3.6. Düşük doz dimethoat uygulanan ratların beyincik dokusunun histolojik yapısı	27
Resim 3.7. Yüksek doz dimethoat uygulanan ratlara ait beyin dokusunun histolojik yapısı	27
Resim 3.8. Yüksek doz dimethoat uygulanan ratların beyincik dokusunun histolojik yapısı	28
Resim 3.9. Düşük doz dimethoat ve ferulik asit uygulanan ratların beyin dokusunun histolojik yapısı	28
Resim 3.10. Düşük doz dimethoat ve ferulik asit uygulanan ratların beyincik dokusunun histolojik yapısı	29
Resim 3.11. Yüksek doz dimethoat ve ferulik asit uygulanan ratların beyin dokusunun histolojik yapısı	29
Resim 3.12. Yüksek doz dimethoat ve ferulik asit uygulanan ratların beyincik dokusunun histolojik yapısı	30

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler Açıklamalar

μ	Mikron
μg	Mikrogram
μM	Mikromolar
μmol	Mikromol
LD_{50}	Letal doz
M	Molar
Mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
mmol	Milimol
nm	Nanometre
nmol	Nanomol

Kısaltmalar Açıklamalar

BOS	Beyin- omurilik sıvısı
CAT	Katalaz
ETZ	Elektron transport zinciri
FA	Ferulik Asit
g	Gram
G6PD	Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz
GPx	Glutasyon peroksidaz
GR	Glutasyon peroksidaz
GST	Glutasyon-S-transferaz
MDA	Malondialdehit
kg	Kilogram

Kısaltmalar	Açıklamalar
RNS	Reaktif nitrojen türleri
ROS	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
TNBS	Sülfonik asit



1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun hızla artması sonucu besin ihtiyacı da aynı oranda artış göstermektedir. Bu nedenle çeşitli ülkeler tarım politikalarını sıklıkla gözden geçirerek yeni reformlar oluşturmaktadır. Özellikle tarım alanlarından kaliteli ürün alınması, ürünlere zarar veren zararlılarla mücadele ve yeni tarım alanlarının oluşturulması öncelikli politikalar olarak dikkati çekmektedir. Ancak artan nüfusla beraber kentleşmenin hızlı bir şekilde artması ve tarım alanlarının da zaman zaman kentleşme içinde kalması, tarımsal alanların ve bu alanlardan elde edilen ürünlerin miktar ve kalitesinin önemini arttırmaktadır (Güler ve Çobanoğlu, 1997).

Tarım alanlarından daha kaliteli ürün alabilmek için ekili alanlara uygun gübreleme yapılmaktadır. Aynı zamanda tarım zararlılarına karşı da çeşitli ilaçlar kullanılmaktadır. Tarım alanlarında kullanılan bu maddelerin zamanla toprağın kalitesinde azalmaya sebep olduğu da bilinmektedir (Güler ve Çobanoğlu, 1997).

Tarım alanlarından daha fazla ve kaliteli ürün alabilmek için pestisitler yaygın olarak kullanılmaktadır (Kalender ve diğerleri, 2005). Ancak pestisitlerin yaygın olarak kullanılması, zararlılarda birikim ve toksik etkileri nedeniyle çevre ve sağlık için büyük bir tehditler oluşturmaktadır (Kalender ve diğerleri, 2005). Besin maddelerinin üretimi, tüketimi ve depolanmaları sırasında, besin değerini bozan ve besinleri yok eden, zarar veren haşereleri, mikroorganizmaları ve diğer zararlıları yok etmek için kullanılan fiziksel kimyasal veya biyolojik savaş maddelerine pestisit denir (Kalender ve diğerleri, 1999; Vural 1996).

Pestisitler genellikle aktif oldukları etkene göre sınıflandırılırlar (IPCS, 2009).

İnsektisitler : Böceklerle karşı kullanılan pestisitlerdir.

Fungusitler : Mantar ve mantar sporlarına etki eden pestisitlerdir.

Herbisitler : Yabancı otlara karşı kullanılan pestisitlerdir.

Akarasitler : Akarlara karşı kullanılan pestisitlerdir.

Bakterisitler : Bakterilere etki eden pestisit grubudur.

Afisitler : Yaprak bitlerini yok etmek için kullanılan pestisitlerdir.

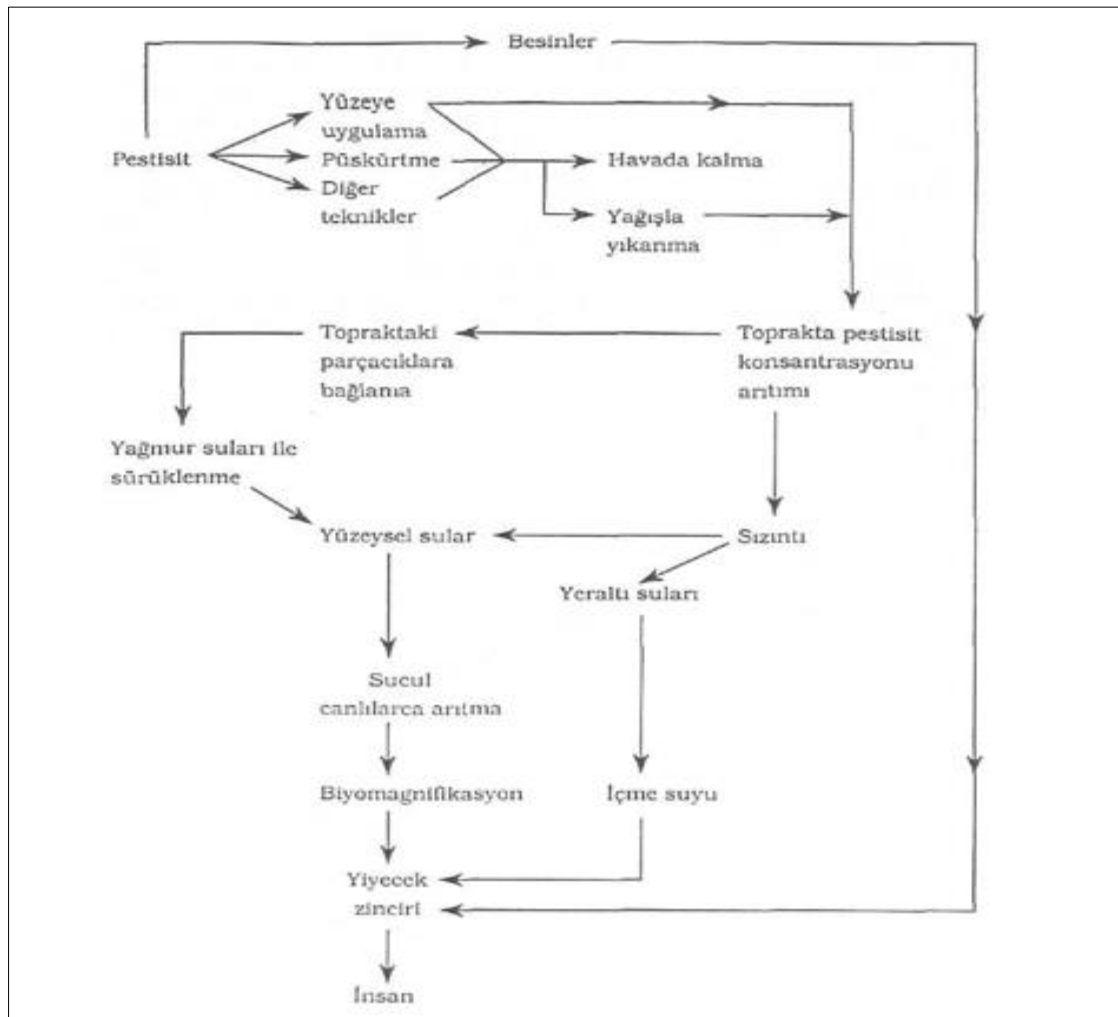
Rodentisitler : Kemirgenlere karşı kullanılan pestisitlerdir.

Nematisitler : Nematodlara karşı kullanılan pestisitlerdir.

Molluskisitler : Yumuşakçalara karşı kullanılan pestisitlerdir.

Virisitler : Tarım ürünlerinde hastalık yapan virüslere karşı kullanılan pestisitlerdir.

Pestisitler toksisite derecelerine göre de, (Ia) aşırı derecede zararlı, (Ib) çok zararlı, (II) orta derecede zararlı ve (III) az zararlı olarak sınıflandırılmaktadır (Ündeğer, 2001). Pestisitlerin doğada dağılımı Şekil 1'de gösterilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi pestisitler yeraltı ve yerüstü sulara karışarak yiyecek zinciri yoluyla insanlara kadar ulaşmaktadır.



Şekil 1.1. Pestisitlerin doğadaki hareketleri (Güler ve Çobanoğlu, 1997)

Böceklere karşı kullanılan insektisitler de kimyasal yapılarına göre 4 gruba ayrılmaktadır.

- Karbamatlı insektisitler
- Organofosfatlı insektisitler

- Organoklorlu insektisitler
- Piretroidli insektisitler

Organofosfatlı insektisitler, en fazla kullanılan insektisitlerdir. Özellikle bilinçsiz bir şekilde kullanılması sonucu bu insektisitlerin kalıntıları toprakta, suda ve su canlılarında tohumlarda ve çeşitli besinlerde tespit edilmiştir (John, Kale, Rathore, Bhatnagar, 2001).

Organofosfatlı insektisitler, yalnızca Çin'de akut pestisit zehirlenme vakalarının % 10'unu aşan bir ölüm oranıyla yılda yaklaşık 70.000 civarında ölüme neden olmaktadır (He, 1996). Bu zehirlenmelerin klinik nörotoksik etkileri arasında akut kolinerjik kriz, organofosfata bağlı gecikmiş polinöropati ve buna ek olarak, orta düzey miyasteni sendromu yer almaktadır (Dongren, Tao, Fengsheng, 1999).

Organofosfatlı insektisitler, solunum, oral ve dermal yollardan kolayca absorbe olarak zehirlenmelere sebep olmaktadır (Zendzian, 2003). Özellikle asetilkolinesterazı (AChE) inhibe ederek akut ya da kronik zehirlenmelere neden olmaktadır (Abu-Qare ve Abou-Donia 2001; Kappers, Edwards, Murray 2001; Vural, 1996). Organofosfatlı insektisitler ile yapılan çalışmalarda plazma, eritrosit ve beyin AChE aktivitelerinin inhibe olduğu gözlenmiştir (De Blaquiére, Waters, Blain, Williams, (2000); Yano ve diğerleri 2000). Bu insektisitlerin sinapslarda asetilkolin birikimine neden olduğu ifade edilmiştir (Senanayake ve Johnson, 1982). Bununla beraber, merkezi sinir sisteminde, otonomik ganglionlarda, parasempatik ve bazı sempatik sinir sonlarında, nöromusküler kavşaklarda kolinerjik geçişlerde de patolojik etkilere sebep olduğu gözlenmiştir (Vishwananthan ve Srivivasan, 1964; Tomokuni ve Hasegava, 1985).

Organofosfatlı insektisit olan methamidophos ve acephate'ın ratlara intraperitoneal olarak enjeksiyonundan 15 dakika sonra kan ve beyin AChE aktivitesinin % 55-75 oranında uygulamadan 60 dakika sonra % 80-95 inhibe olduğunu ifade etmişlerdir (Spasova, White Singh, 2000).

Başka bir çalışmada da acephate'nın 4 hafta boyunca uygulanmasından sonra ratların beyninde AChE seviyesinde azalma olduğunu bildirmişlerdir (Farag, Eweidah, Tayel, El-Sebae, 2000). Organofosfatlı insektisitler pseudokolin esterazı da inhibe etmektedir (Y.Kalender, Uzunhisarcıklı, Ogutucu, Acikgoz, S. Kalender, 2006).

Organofosfatlı bir insektisit olan diazinonun ratlara uygulanmasından 1, 4 ve 7 hafta sonra serum pseudokolin esteraz aktivitesinde önemli bir azalma olduğu gözlenmiştir. Aynı zamanda hematolojik değerlerinde diazinon tarafından baskılandığı tespit edilmiştir (Kalender ve diğerleri, 2006).

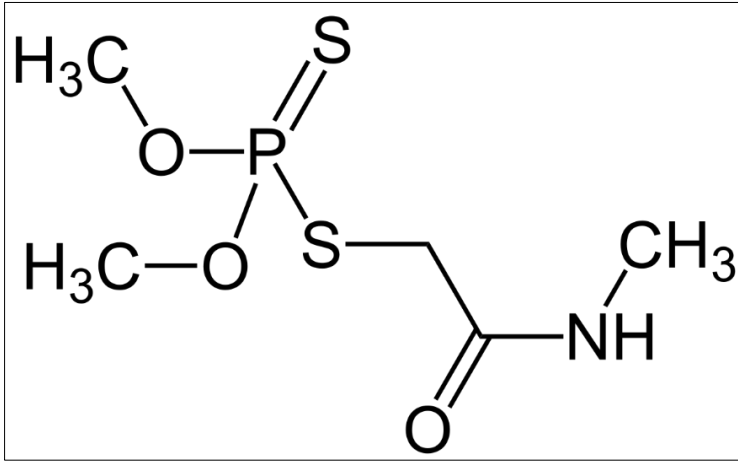
Organofosfatlı insektisitler hem insanlarda hem de hayvanlar da merkezi sinir sistemi (Betrosian ve diğerleri, 1995), immun sistem (Neishabouri, Hassan, Azizi, Ostad, 2004), üriner sistem (Kalender ve diğerleri, 2006), üreme sistemi (Uzunhisarcıklı ve diğerleri, 2007; Uzun, S. Kalender, Durak, Demir, Y.Kalender, 2009), karaciğer (S. Kalender, Uzun, Durak, Demir, Y. Kalender, 2010) ve kardiyovasküler sistem (Yavuz ve diğerleri, 2004) gibi birçok sistemi etkilemektedir.

Organofosfatlı bir insektisit olan malation ratlara oral olarak uygulandıktan 4 hafta sonra LH, FSH ve testosteron seviyelerinde, sperm sayısında ve hareketliliğinde azalmaya neden olurken anormal sperm sayısında bir artışa neden olmuştur (Uzun ve diğerleri, 2009). Başka bir çalışmada da malation karaciğerdeki enzim miktarlarında ciddi değişikliklere sebep olurken, hepatositlerde de patolojik değişikliklere sebep olmuştur (Kalender ve diğerleri 2010).

Organofosfatlı insektisitler sadece memelilerde değil aynı zamanda diğer canlı türlerinde de olumsuz etkilere sebep olmaktadır. Bal arıları üzerinde yapılan bir çalışmada, dimethoatın başta beyin dokusu olmak üzere fizyolojik parametreler üzerine de olumsuz etkiler yaptığı ifade edilmiştir (Christen, Joho, Vogel, Fent, 2019).

Bu tez çalışmasında organofosfatlı bir insektisit olan dimethoat, ratlara oral yol ile verilmiştir. Dimethoatın moleküler formülü $C_5H_{12}NO_3PS_2$ 'dir (Şekil 1). Moleküler ağırlığı 229,25 gr/ mol'dür. Renksiz kristal haldedir. Isıtıldığına zehirli buharlar çıkarırlar. Erime noktası 43-45 °C dir (Kidd ve James, 1991).

Dimethoat bileşiğinin topraktaki kalıcılığı yüksek değildir ve yarılanma ömrü 4-16 gündür. Topraktaki mikroorganizmalar tarafından hızlıca yıkılırlar. Sularda çok fazla bulunur ve bundan dolayı su canlılarında birikme eğilimi gösterirler (Kidd ve James, 1991).



Şekil 1.2. Dimethoatın kimyasal yapısı (www.wikimedia.org)

Dimethoat tarım arazilerinde çok yaygın kullanılmaktadır. Dimethoat asetilkolinesteraz inhibitörü olduğu ifade edilmektedir (Arnal, Morel, Marra, Astiz, 2019) Buna bağlı olarak organ yetmezliğine, hipertansiyona, kardiyak aritmilere, akut pulmoner ödeme, testis atrofisine, kronik böbrek hastalıklarına, paratiroid hiperplazisine, endokrin bozukluklarına, lenfatik sistem ve karaciğer bozuklukları gibi çeşitli patolojilere neden olmaktadır (Reuber, 1984).

Düşük doz dimethoatın ratlara uygulanmasından 5 hafta sonra beyin dokusunda çeşitli patolojik değişikliklere neden olurken, apoptozda rol oynayan bazı enzimlerin üzerine de olumsuz etki yaptığı gösterilmiştir (Arnal ve diğerleri, 2019).

Dimethoat yetişkin sıçanların ve yavrularının böbreklerinde oksidatif stres üzerine etkisi araştırılmıştır. Dişi sıçanlara, doğumdan sonraki 10. güne kadar 40 mg/kg vücut ağırlığına eşdeğer 0.2 g/L içme suyuna günlük dimethoat katılmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, kreatinin ve üre seviyelerinde anlamlı bir farklılık meydana gelirken, glomerular filtrasyonu da olumsuz yönde etkilediği gözlenmiştir. Bununla beraber dimethoat uygulanan annelerin ve yavruların böbreklerinde Bowman kapsülünde daralma, tübüler epitel hücrelerinde dejenerasyon ve tübüler lümende genişlemelerin olduğu çeşitli histopatolojik bulgular izlenmiştir. Ayrıca annelerde yaygın damar tıkanıklığı gözlenmiştir.

Organofosfatlı insektisitlerin kronik maruziyet sonucunda fizyolojik fonksiyon kayıpları ve davranış bozuklukları meydana getirdikleri tespit edilmiştir. (Bazylewic-Walczak Majczakowa, Szymczak, 1999; Kedzierski, 1990)

Pestisit zehirlenmelerinde, oksidatif stres sonucu serbest radikaller oluşmaktadır. Aynı zamanda lipid peroksidasyonunda artış gözlenmektedir (Hazarika, Sarkar, Hajare, Kataria Malik, 2003; Oruç ve Üner, 2000). Malondialdehit (MDA) lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve reaktif oksijen türlerinin hücrel membranlarla etkileşmesinden kaynaklanan membran lipid peroksidasyonunun bir belirteçidir. Hücrelerde meydana gelen bu değişim hücrel hemostazı olumsuz yönde etkilemektedir (Stephen ve diğerleri, 1997). Serbest radikal düzeylerini ve bunların meydana getirdiği hasarı yok etmek için vücutta savunma mekanizması bulunmaktadır. Bu savunma sistemine “antioksidan savunma sistemi” denilmektedir. Antioksidanlar, oluşan serbest radikalleri yok etmek için hücreler tarafından oluşturulmuş bir sistemdir (Özcan, Erdal, Çakır ve Yönden 1994).

Antioksidanlar, enzim ve enzim olmayanlar olarak sınıflandırılabilir (D.Bagchi, M. Bagchi Hassoun, Stohs, 1995). Enzimatik antioksidanların başlıcaları; glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GSH), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD)'dır. Vitamin C ve vitamin E gibi bazı antioksidanlar ise enzimatik olmayan antioksidanlardır. Serbest oksijen radikalleri (ROS), dış yörüngelerinde bir veya daha fazla çiftleşmemiş elektron bulunduran kararlı bileşiklerdir. Hızlı elektron alıp vererek, başka moleküllerle reaksiyona girebilirler. Serbest radikallerin, metabolik bozukluklara ve hücre hasarına yol açtıkları bilinmektedir (Uzunhisarcıklı ve diğerleri, 2007; Uzunhisarcıklı ve Kalender, 2011).

Serbest radikal oluşumu, hücrelerde antioksidanlar üzerine olumsuz etki yaratır ve lipitler nükleik asitler ve proteinler gibi moleküllerin hasar görmesine neden olurlar (El-Gendy, Aly Mahmoud, Kenawy, El-Sebae, 2010).

Yapılan çalışmalarda antioksidanların pestisit toksisitesini azalttığı veya önlediği gözlenmiştir. Organofosfatlı bir insektisit olan diazinon ratlara oral yol ile uygulandıktan 1 4 ve 7 hafta sonra vitamin E'nin ratların hematolojik değerlerinde, karaciğer fonksiyon parametrelerinde ve hepatositlerde görülen patolojik değişikliklerde düzelmeye sebep olduğu gösterilmiştir (Kalender ve diğerleri, 2005; Kalender ve diğerleri, 2006).

Başka bir çalışmada ise organofosfatlı bir insektisit olan metil paratyonun nefrotosik etkisi üzerine vitamin C ve E'nin koruyucu rolü araştırılmıştır (Kalender ve diğerleri, 2007).

Vitamin C ve E, böbrekte meydana gelen lipid peroksidasyonun son ürünü olan malondialdehit seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düzelmeye neden olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda böbrek dokusunda metil paratasyonun sebep olduğu patolojik değişiklikleri de azalttığı gözlenmiştir (Kalender ve diğerleri, 2007).

Sharma ve ark., organofosfatlı bir pestisit olan dimethoat'a akut olarak maruz kalan erkek sıçanlarda hepatik sitokrom P450'de, beyin ve karaciğer lipid peroksidasyonunda, CAT, SOD, GPx, glutasyon redüktaz (GR) aktivitesinde artış tespit etmişler aynı zamanda eritrosit AChE'nin inhibe olduğunu bildirmişlerdir (Sharma ve ark., 2005a).

Organofosfatlı bir insektisit olan malathion'un in vitro şartlarda insan fetuslarından elde edilen karaciğer ve beyin dokusundaki SOD ve CAT aktivitelerinde önemli derecede inhibisyona neden olduğu, MDA miktarında da artışa neden olduğu tespit edilmiştir (Gupta, Data, Sarkar, Sengupta, 1992).

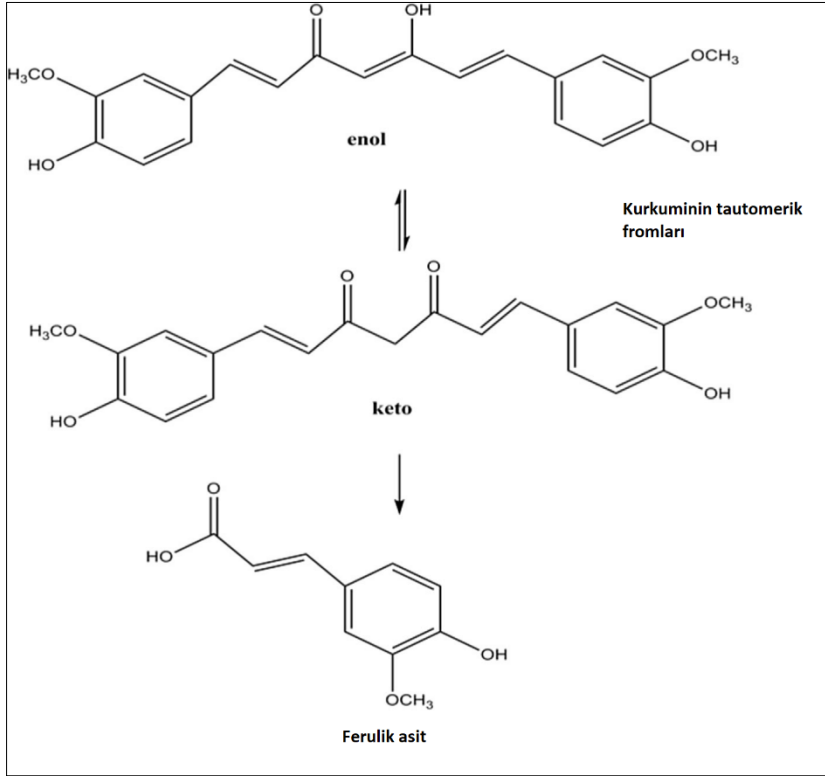
Organofosfatlı bir insektisit olan chlorpyrifos, eritrositlerde MDA seviyesinde ve GPx aktivitesinde artış ile SOD ve CAT aktivitesinde ise azalmaya neden olmuştur (Gültekin, Öztürk, Akdoğan, 2000).

Antioksidanlar, oksidasyonu engelleyen veya geciktiren maddelerdir. Antioksidanların hücrel oksidasyonu önleme, durdurma ve tamir etme gibi savunma mekanizmaları vardır. Güçlü bir antioksidan olan ferulik asit (FA, 3-methoxy, 4-hydroxy cinnamic acid); turunçgillerde, mısır, buğday, pirinç yulaf, çavdar gibi tahılların kepeklerinde, kavrulmuş kahve ve domates de bulunmaktadır.

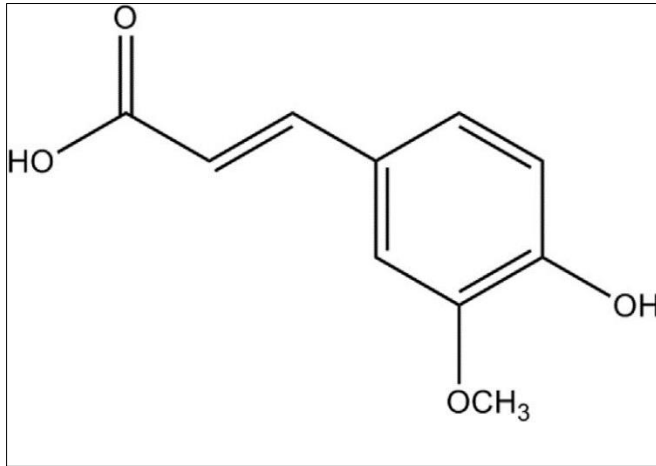
Günlük alınması gereken miktar yaklaşık 1-20 mg'dır (Hollman ve Katan, 1998). Sıçanlarda ise günlük alınması gereken miktar 150-250 mg/kg'dır (Zhao, Egashira ve Sanada, 2004)

Fenolikler; antibakteriyel, anti-enflamatuar, anti-alerjik, karaciğer koruyucu, anti-viral, anti-kanserojen ve damar genişletici gibi geniş biyolojik etki yelpazesine sahiptir (Middleton, Kandaswami, Theoharides, 2000). Ferulik asit kurkumine benzer bir maddedir (Şekil 1.3) (Kikuzaki, Hisamoto, Hirose, Akiyama, Taniguchi, 2002).

Ferulik asitin, kimyasal formülü Şekil 1.4'de gösterilmiştir.



Şekil 1.3. Kurkuminin tautomerik formları ve ferulik asit (www.wikimedia.org)



Şekil 1.4. Ferulik asitin yapısı (www.wikimedia.org)

Yapılan çalışmalarda FA'nın süperoksit ve hidroksil radikalleri gibi serbest oksijen radikallerini baskıladığı ve peroksit radikallerinin uzaklaştırılması üzerine etkilerinin olduğu ve hücre apoptozunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Cao ve diğerleri, 2015).

Bazı ülkelerde lipit peroksidasyonunu engellemek için gıda katkı maddesi olarak da kullanılırlar (Adam, Crespy, Levrat-vermy, 2002).

Ferulik asit insanlarda, güçlü bir membran antioksidanıdır böylece deri kanseri, soğuk algınlığı, grip, influenza, yaşlanma, yorgunluğa karşı çok etkilidirler (Rukkumani, Aruna Varma, Menon, 2004).

Ferulik asit ile ilgili yapılan çalışmalarda sinir sistemine olan etkileri de çok fazla araştırılmıştır. Örneğin; nöroprotektif etkisi için uygulanan ferulik asit, fareleri β -amiloid peptid toksisitesine karşı koruduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca anti-inflamatuar ve antioksidan özelliklerinden kaynaklı uzun süre uygulanması sonucunda Alzheimer hastalığının ilerlemesini geciktirdiği görülmektedir. Nörolojik hastalıklar bakımından değerlendirdiğimizde ise intravenöz ferulik sinir hücresi ölümüne karşı koruyucu olduğu gözlenmiştir (Liu ve diğerleri, 2017; Trombino ve diğerleri, 2013). Ferulik asitin, anti-inflamatuar, anti-apoptotik ve anti-kanserojenik, hepatoprotektif, kardiyoprotektif ve nöroprotektif etkileri bulunmaktadır (Ghosh, Basak, Dutta, Chowdhury, Sil, 2017).

Ferulik asit, IL-6 gibi proinflamatuar sitokinleri azaltarak çeşitli patofizyolojik durumlarda anti-enflamatuar ajan olarak hayati bir rol oynamaktadır (Lampiasi ve Montana, 2016).

Anti-enflamatuar sitokinlerin ve strese yanıt veren belirli genlerin yanı sıra metalotiyoninler gibi bazı antioksidan moleküllerin ekspresyonunu artırır (Lampiasi ve Montana, 2016). Ferulik asitin çeşitli organlar üzerindeki önleyici etkileri iyi bir şekilde belgelenmiştir. Ferulik asit, formaldehit (Gerin ve diğerleri, 2016), asetaminofen (Yuan ve diğerleri, 2016) diosbulbin B (Niu, Sheng, Zhu, Ji, Wong, 2016), karbon tetraklorür (Kim ve diğerleri, 2011) TNF-a'nın indüklediği aort enflamasyonu (Zhao, Suyama, Tanaka, Matsui, 2014), monosodyum kristali kaynaklı inflamasyon (Doss, Dey, Sudandiradoss, Rasool, 2016) ve trinitrobenzen sülfonik asit (TNBS) kaynaklı ülseratif kolit (Sadar, Vyawahare, Bodhankar 2016) gibi bazı vakaları önlediği belirtilmektedir.

Ayrıca radyasyonun neden olduğu olumsuz etkileri, yani iyonizasyon radyasyonunun neden olduğu iltihaplanmayı da önlemektedir (Das ve diğerleri, 2014).

Histopatolojik çalışmalar, ferulik asitin hem metilglioksal hem de streptozotosin kaynaklı diyabetik sıçanlarda pankreatik B hücrelerinde apoptozu önlediğini ve ayrıca IL-1b ve TGFb1 ekspresyonunu düşürdüğünü göstermiştir (Sompong, Cheng, Adisakwattana 2016).

Sinir dokusu, entegre bir iletişim ağı halinde vücuda dağılmıştır. Anatomik olarak sinir sistemi, beyin ve spinal korddan oluşan santral sinir sistemi ile sinir lifleri ve sinir hücrelerinin küçük kümeleri olan sinir gangliyonlarından oluşan periferik sinir sistemi olarak sınıflandırılır (Jonqueira ve Carneiro, 2006).

Yapısal olarak sinir dokusu 2 hücre tipi içerir. Uzun sinir lifleri içeren sinir hücreleri ya da nöronlar ve nöronları koruyan ve destekleyen, nöral aktiviteye katılan, nöral beslenme ve santral sinir sisteminin savunmasını sağlayan glial hücreler ya da nöroglialardır (Jonqueira ve Carneiro, 2006).

Merkezi sinir sisteminde sinir hücrelerinin gövdeleri gruplar halinde toplanır ve bunlar uç noktalara belli bir uzaklıkta lokalize olurlar. Beyin ve spinal kordon gri madde ve beyaz maddelerden oluşur. Gri madde, sinir hücre gövdeleri ve nöroglia hücrelerini kapsayan komplike bir ağ halinde izlenir. Beyaz madde ise sinir hücre gövdesi içermez; nöronal uzantıların çoğunu bir zarf gibi çevreleyen beyaz bir yapı olan miyelinden alır. Beyaz madde miyelinli ve miyelinsiz lifler oligodendrositler, fibröz astrositler ve mikroglia hücreleri içerir. Karakteristik olan beyaz rengini miyelinli sinir liflerinden alır.

Gri madde daha çok miyelinsiz ve miyelinli lifler, perikaryonlar, protoplazmik astrositler, oligodendrositler ve mikroglia hücreleri içerir. Beyincik korteksinde 3 tabaka bulunur. Dış moleküler tabaka, Purkinje hücrelerinin oluşturduğu tabaka ve iç granüler tabaka (Jonqueira ve Carneiro, 2006).

Nöronlar çevresel değişikliklere, membranlarının iç ve dış yüzeyleri arasında mevcut olan elektriksel potansiyel farklarını değiştirerek tepki gösterirler. Bu özelliğe sahip olan hücreler (nöronlar, kas hücreleri, bazı bez hücreleri gibi) uyarılabilir olarak adlandırılırlar.

Sinir sisteminin 2 temel fonksiyonu vardır. 1. Isı ve ışık gibi duygusal uyarılarınca ve iç ve dış çevrede yer alan kimyasal ve mekanik değişimlerle üretilen tüm bilgileri algılamak analiz etmek, birleştirmek ve iletmek. 2. Vücudun birçok fonksiyonu, özellikle motor, visceral endokrin ve mental aktivitelerini direkt ve indirekt olarak organize ve koordine etmek (Jonqueira ve Carneiro, 2006).

Kan-beyin bariyeri, belli maddelerin sinir dokusuna geçişini önleyen fonksiyonel

bariyerlerdir. Suda çözülen maddelerin kandan merkezi sinir sistemine geçişini, serebral parankime penetrasyonunu kısıtlayan kan-beyin bariyeridir. Koroid pleksus epitel hücreleri arasında penetrasyonu kısıtlayan kan-beyin omurilik sıvısı (BOS) serebral endotel hücreleri arasında bulunan zonula okludens denilen birleşme yerleri tarafından sınırlanır. Ancak bazı özelleşmiş transport sistemleri glukoz, aminoasit ve özellikle nörotransmitterlerin geçişine imkân sağlar (Yılmaz, 2006).

Bu tezin amacı organofosfatlı bir pestisit olan dimethoat'ın ratların beyin dokusundaki etkisi üzerine antioksidan özelliğe sahip olan ferulik asitin potansiyel koruyucu rolünün araştırmaktır. Bu amaçla bu çalışmada dimethoat'ın ratların beyin dokusunda oluşturabileceği patolojik ve ferulik asitin koruyucu etkisi ışık mikroskobu ile araştırılmıştır. Ayrıca beyin dokusunda, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon-S-transferaz (GST) ve glutatyon peroksidaz (GPx) ve lipit peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA) seviyeleri de spektrofotometrik yöntemlerle araştırılmıştır.



2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Hayvanlar

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

2.2. Kimyasallar

Dimethoat ve Ferulik asit kullanıldı. Tüm kimyasallar ratlara oral gavaj yoluyla uygulandı.

2.3. Hayvanlara Uygulama Planı

Bu tez çalışmasında deney hayvanı olarak rat kullanıldı. Bu çalışmanın amacına uygun yapılabilmesi için toplam 6 grup oluşturuldu. Her grupta 6 rat olmak üzere toplamda 36 adet rat kullanıldı. Ratlar, kontrol grubu (n=6) ve uygulama grubu (n=30) olarak ikiye ayrıldı. Deney hayvanlarına uygulama işlemi 4 hafta (28) gün sürdü.

Gruplar aşağıda sıralanmıştır.

- 1. Grup: Kontrol grubu
- 2. Grup: Ferulik asit grubu
- 3. Grup: Düşük doz dimethoat uygulanan grup (3 mg/kg vücutağırlığı (v.a. 1/100 LD₅₀))
- 4. Grup: Yüksek doz dimethoat uygulanan grup (30 mg/kg v.a.1/10 LD₅₀)
- 5. Grup: Ferulik asit ve düşük doz dimethoat uygulanan grup
- 6. Grup: Ferulik asit ve yüksek doz dimethoat uygulanan grup

Uygulamalar sabah saatlerinde (09:00–11:00 arasında) aç olmayan ratlara yapıldı. Kimyasalların uygulanacağı ilk gün deneyin 0. günü olarak kabul edildi.

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

2.3.1. Grup: Kontrol grubu

Kontrol grubu ratlara herhangi bir işlem uygulanmadı, ratlar normal besin ve serbest su (ad libitum) ile beslendi.

2.3.2. Grup: Ferulik asit uygulanacak grup

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

2.3.3. Grup: Düşük doz dimethoat uygulanacak grup

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

2.3.4. Grup: Yüksek doz dimethoat uygulanacak grup

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

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

Her bir rata günlük 30 mg/kg vücut ağırlığı (v.a) ferulik asit distile su içinde (1 ml/kg v.a.) çözülerek oral gavaj yoluyla verildi. Uygulamadan yarım saat sonra ratlara 3 mg/kg v.a dimethoat distile su içinde (1 ml/kg v.a.) çözülerek oral gavaj yoluyla verildi.

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

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

su içinde (1 ml/kg v.a.) çözülerek oral gavaj yoluyla verildi.

2.4. Biyokimyasal İncelemeler

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

2.4.1. Malondihaldehit miktarının belirlenmesi

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

2.4.2. Antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi

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

Süperoksit dismutaz (SOD) enzimi

Beyin dokularındaki toplam SOD miktarının tayini için Marklund ve Marklund (1974) metodu kullanıldı. Spektrofotometrede 440 nm'de Pyrogallol'un 3 dakikada alkali ortamda otooksidasyonu ile yükselen absorbans ve pyrogallol'un otooksidasyonunun %50 inhibisyonuna neden olan protein miktarı bir ünite toplam SOD mikarı olarak hesaplandı. Homojenattaki 1 mg protein başına toplam SOD aktivitesi U/mg protein olarak verildi.

Katalaz (CAT) enzimi

CAT enziminin tayini Aebi (1984) tarafından belirlenen yönteme göre yapıldı. %1'lik Triton X-100 eklenerek katalazı aıĝa çıkarmak amaçlandı. Enzimatik reaksiyonun başlatılması için hidrojen peroksit eklendi. . Quartz küvetlerde 240 nm'de 3 dakika boyunca H₂O₂'in parçalanmasını gösteren absorbans ölçümleri yapıldı. Enzim aktivitesi mmol/mg protein birimiyle verildi.

Glutasyon peroksidaz (GPx) enzimi

Paglia ve Valentine (1987) tarafından belirtilen yöntem ile GPx enzimi tayininde okside (GS-SG) ve Nikotinamid-adenin-dinükleotid hidrojen fosfat (NADPH)'ı substrat olarak kullanan glutasyon redüktazın 340 nm'de NADPH'ı okside etmesi ile aıĝa çıkan absorbansın ölçülmesi esasına dayanan yöntem kullanıldı. Okside glutasyon, glutasyon peroksidaz tarafından oluřturulduĝu için NADPH'ın azalması GPx aktivitesi ile doĝru orantılıdır NADPH'ın Nikotainamid-adenin-dinükleotid fosfat (NADP)'a yükseltgenmesi 340 nm'de absorbansın azalmasına sebep olur. Böylece dolaylı olarak GPx'in aktivitesinin tespitinde kullanılmaktadır. Enzimatik reaksiyonun başlatılması için cam kvetlerdeki karışımın üzerine hidrojen peroksit eklendi. Eklendikten sonra 3 dakika boyunca 340 nm'de azalan absorbanslar okundu. GPx aktivitesi için 1 mg protein tarafından, 1 dakikada harcanan NADPH miktarı ile bu enzim aktivitesi hesaplandı. GPx enzimin spesifik aktivitesi nmol/mg protein olarak verildi.

Glutasyon-S-Transferaz (GST) enzimi

Glutasyon S-transferaz'ın bütün izozimleri için 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) substrat olarak kullanılmaktadır. GST enzimi tarafından CDNB, indirgenmiş glutasyon (GSH) ile konjuge edilerek glutasyonun oksidasyonuna baĝlı olarak 340 nm'de yükselen absorbanslar okundu. Enzim aktivitesi 340 nm'de 1 dakikada süpernatantta bulunan 1 mg toplam protein başına oluşturulan miktar olarak hesaplandı ve enzimin aktivitesi nmol/mg protein olarak verildi.

2.5. Işık Mikroskobu İçin Dokuların Hazırlanması

Formaldehit içerisinde 24 saat tespit için beyin dokuları, ışık mikroskobik incelemeleri için bekletildi. Dokular yıkama ve dehidrasyon işlemleri yapılarak parafin blokların içerisine gömüldü. Bloklardan 5-7 μ kalınlığında Mikrotom (Microm marka) cihazı aracılığıyla kesitler alındı. Alınan kesitlerin mikroskopta incelenmesi için hemotoksilen-eozin boyası ile boyandı. Her bir hayvandan alınan beyin dokusu örneklerinden 10 preparat incelemeye alındı. Fotoğraf makinesi ilaveli (Olympus E-330, Tokyo, Japan) mikroskopta kesitler incelenip fotoğrafları çekildi.

2.6. İstatistiksel Analizler

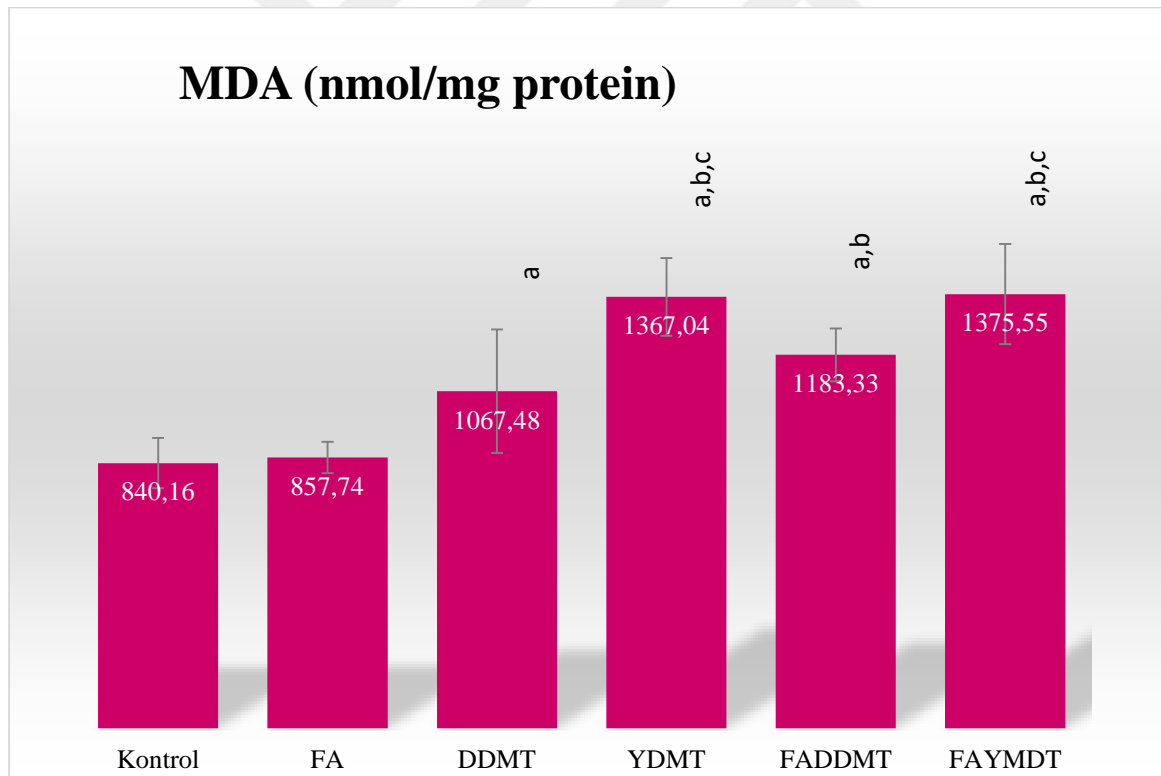
Windows SPSS 23 bilgisayar programında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey testi kullanılarak tezde kullanılan istatistiksel veriler yorumlandı. İstatistiksel olarak $P < 0.05$ değeri anlamlı kabul edilip, çıkan sonuçlara göre yorumlar yapıldı.



3. ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1. Malondialdehit Miktarının Değerlendirilmesi

Dört hafta süren deneyin sonunda tüm grupların beyin dokularındaki malondialdehit miktarları ölçüldü. Kontrol grubu ve ferulik asit grupları arasında MDA seviyesi bakımından istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmedi. Düşük dimethoat ve yüksek dimethoat grupları kontrol grubuyla karşılaştırılınca bu grupların malondialdehit miktarında istatistiksel bakımından anlamlı bir artış olduğu gözlemlendi ($P<0,05$). Ferulik asit ve düşük dimethoatın birlikte kullanıldığı grup ile düşük dimethoat grubu karşılaştırıldığında MDA miktarı bakımından anlamlı bir artış olduğu gözlemlendi. Ferulik asit ve yüksek dimethoatın birlikte uygulandığı grup ile yüksek dimethoat grubu MDA miktarı bakımından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlenmedi ($P<0,05$) (Şekil 3.1)

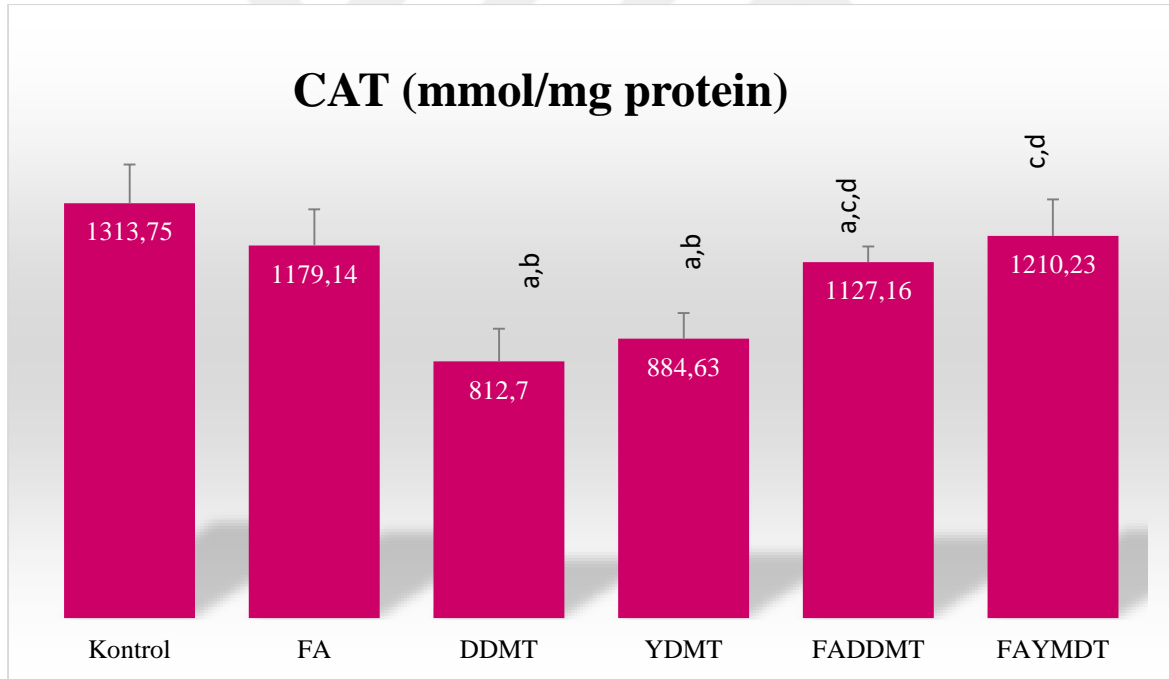


Şekil 3.1. Dördüncü haftanın sonunda kontrol grubu ve muameleli grupların MDA seviyeleri. a. Kontrol grubu ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması. b. Ferulik asit muameleli grup ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması. c. Düşük doz dimethoat muameleli grup ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması. Yüksek doz dimethoat muameleli grup ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması. $n=6$, Ortalama \pm Standart Sapma ($P<0,05$).

3.2. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

3.2.1. Katalaz enzim aktivitesi

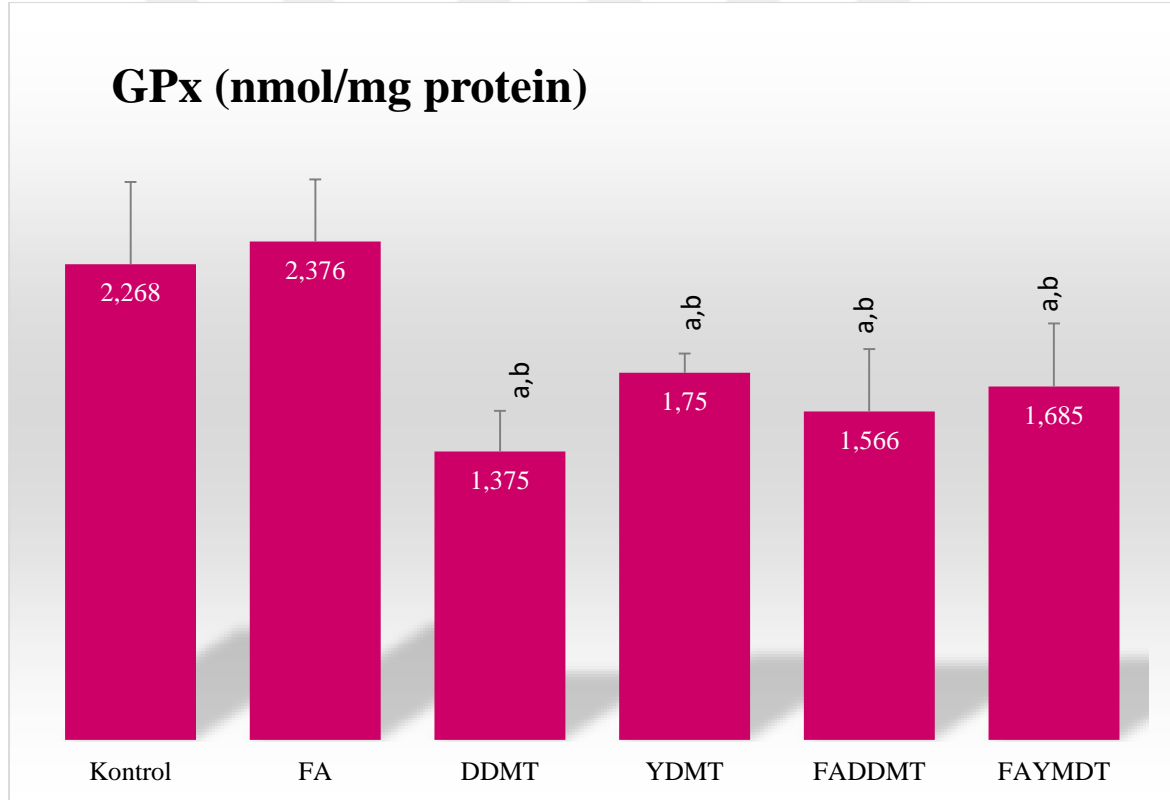
Deney sonunda beyin dokularını içeren tüm grupların Katalaz enzim aktivitelerine bakılmış olup kontrol ve ferulik asit grupları karşılaştırıldığında ferulik asit grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmüştür. Düşük dimethoat ve yüksek dimethoat grupları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir. İkili uygulanan gruplardan ferulik asit düşük dimethoat grubu ile düşük dimethoat grubuyla karşılaştırıldığında ferulik asit düşük dimethoat grubunda anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir. Yüksek dimethoat ferulik asitin uygulandığı grup ile sadece yüksek dimethoatın uygulandığı grup karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Dördüncü haftanın sonunda kontrol grubu ve muameleli grupların CAT seviyeleri. a. Kontrol grubu ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması. b. Ferulik asit muameleli grup ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması. c. Düşük doz dimethoat muameleli grup ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması, d. Yüksek doz dimethoat muameleli grup ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması. n=6, Ortalama \pm Standart Sapma ($P < 0,05$).

3.2.2. Glutasyon peroksidaz enzim aktivitesi

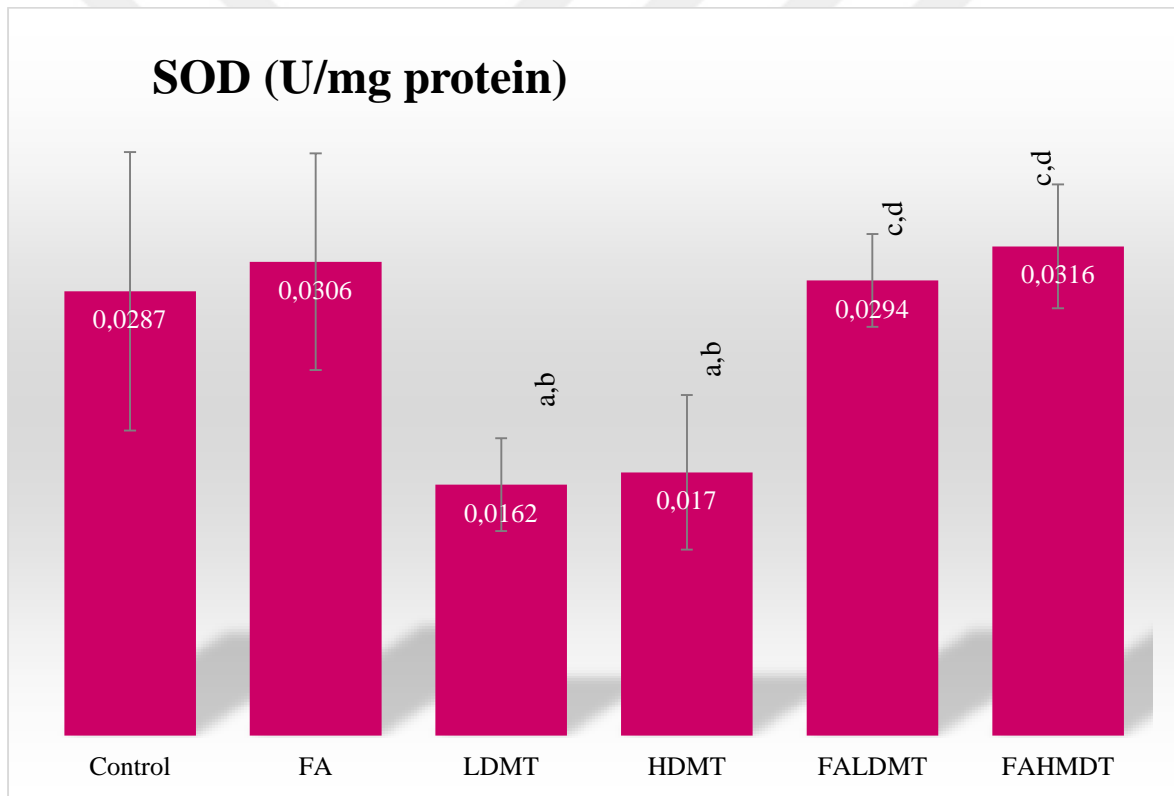
Beyin dokusunda glutasyon peroksidaz enzim aktiviteleri bakımından kontrol ve ferulik asit grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi. Dimethoat grubunun düşük doz uygulandığı grup ile yüksek doz uygulanan gruplar, kontrol grubuyla karşılaştırılınca kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu gözlendi. Ferulik asit düşük dimethoat grubu ile düşük dimethoat grubuyla karşılaştırıldığında GPx enzim aktivitesinde anlamlı bir artış olduğu gözlenildi. Ferulik asitin yüksek dimethoat ile uygulandığı grupla yüksek dimethoat karşılaştırılınca, ferulik asit ve yüksek dimethoat grubunun GPx enzim aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Dördüncü haftanın sonunda kontrol grubu ve muameleli grupların GPx seviyeleri. a. Kontrol grubu ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması. b. Ferulik asit muameleli grup ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması. c. Düşük doz dimethoat muameleli grup ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması. d. Yüksek doz dimethoat muameleli grup ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması. n=6, Ortalama \pm Standart Sapma (P<0,05).

3.2.3. Süperoksit dismutaz enzim aktivitesi

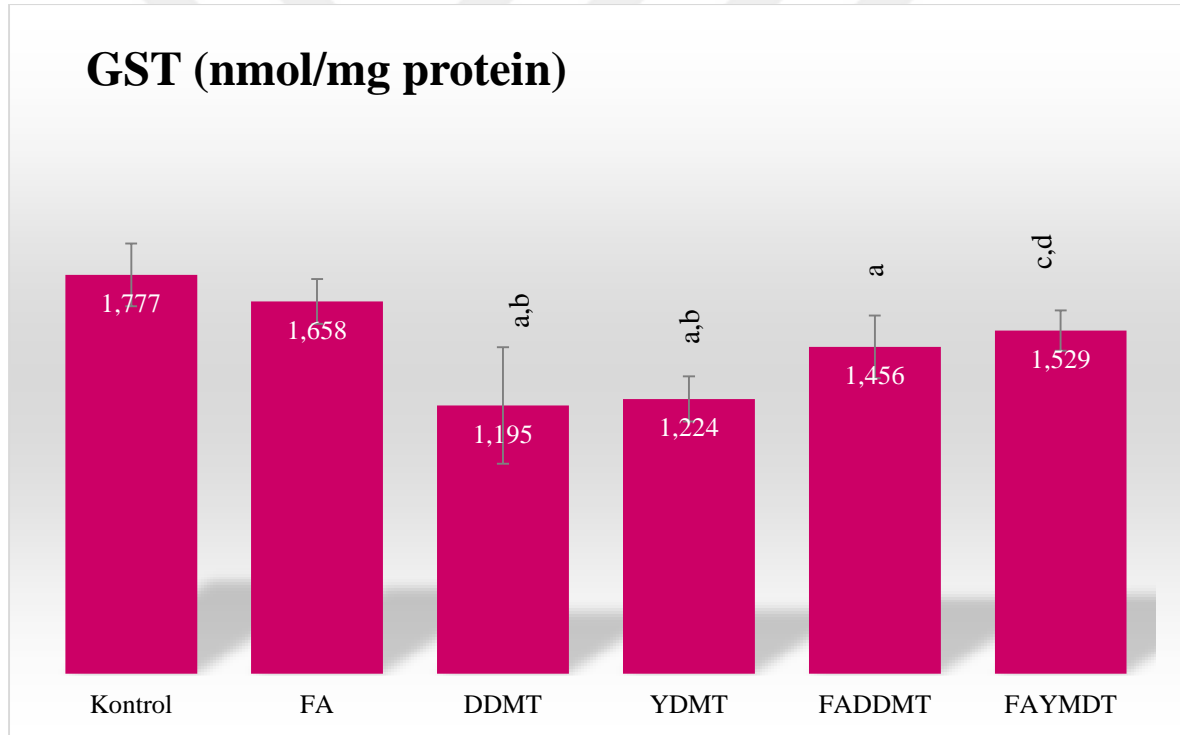
Beyin dokularında SOD aktiviteleri bakımından kontrol, ferulik asit grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Düşük dimethoat ve yüksek dimethoat grupları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmüştür. Ferulik asit düşük dimethoat grubu ile tek uygulanan düşük dimethoate grubu karşılaştırıldığında SOD enzim aktivitesinde anlamlı bir artış olduğu gözlendi. Yüksek dimethoat grubu ile Ferulik asit yüksek dimethoat grupları karşılaştırıldığında, yüksek dimethoat grubuna göre SOD enzim aktivitesinde artış olduğu gözlenmiştir ($P<0,05$) (Şekil 3. 4).



Şekil 3.4. Dördüncü haftanın sonunda kontrol grubu ve muameleli grupların SOD seviyeleri. a. Kontrol grubu ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması. b. Ferulik asit muameleli grup ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması. c. Düşük doz dimethoat muameleli grup ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması, d. Yüksek doz dimethoat muameleli grup ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması. n=6, Ortalama \pm Standart Sapma ($P<0,05$).

3.2.4. Glutasyon –S-transferaz enzim aktivitesi

Dört hafta süren deneyin sonunda tüm grupların beyin dokularında ki GST miktarları ölçüldü. Kontrol grubu ve ferulik asit grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmedi. Düşük dimethoat ve yüksek dimethoat grupları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre GST miktarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu gözlenmiştir. Düşük dimethoat ve Ferulik asit düşük dimethoat grupları karşılaştırıldığında düşük dimethoat grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu gözlenmektedir. Yüksek dimethoat grubu ile ferulik asit yüksek dimethoatın birlikte uygulandığı grup karşılaştırıldığında ferulik asitin yer aldığı grupta istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.5).

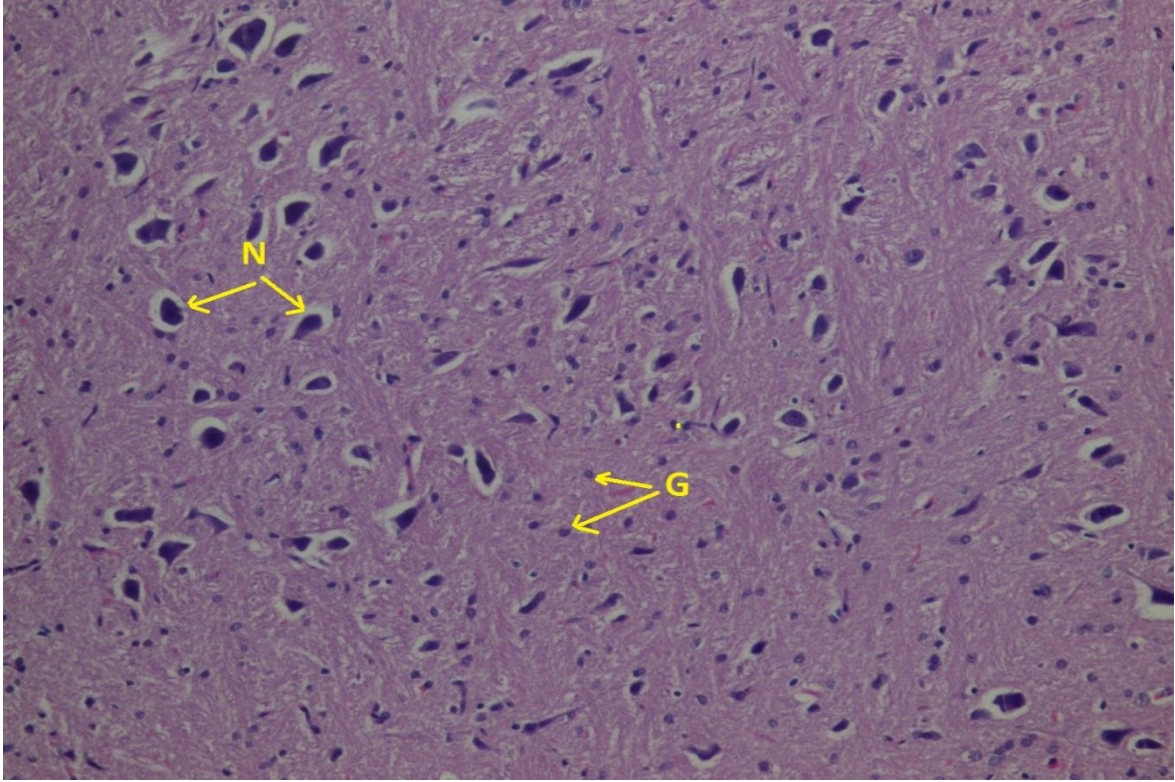


Şekil 3.5. Dördüncü haftanın sonunda kontrol grubu ve muameleli grupların GST seviyeleri. a. Kontrol grubu ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması. b. Ferulik asit muameleli grup ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması. c. Düşük doz dimethoat muameleli grup ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması, d. Yüksek doz dimethoat muameleli grup ile diğer muameleli grupların karşılaştırılması. n=6, Ortalama \pm Standart Sapma ($P < 0,05$)

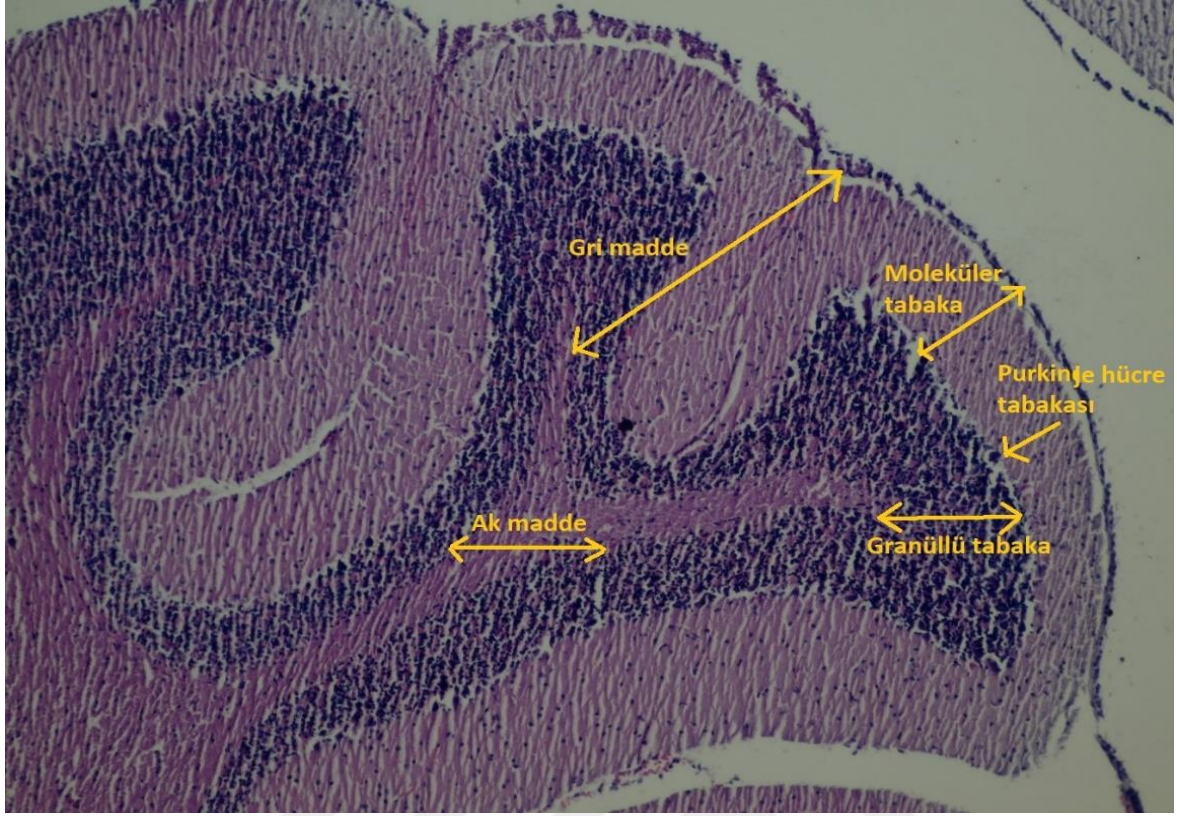
3.3. Işık Mikroskobu Bulgularının Değerlendirilmesi

Işık mikroskobu ile beyin dokuları incelendiğinde kontrol ve ferulik asit grubu ratların beyin dokularında herhangi patolojik bir bulguya rastlanmamıştır. Purkinje hücreleri ve nöronların yapısı normal görünümündedir (Resim 3.1- 3.4).

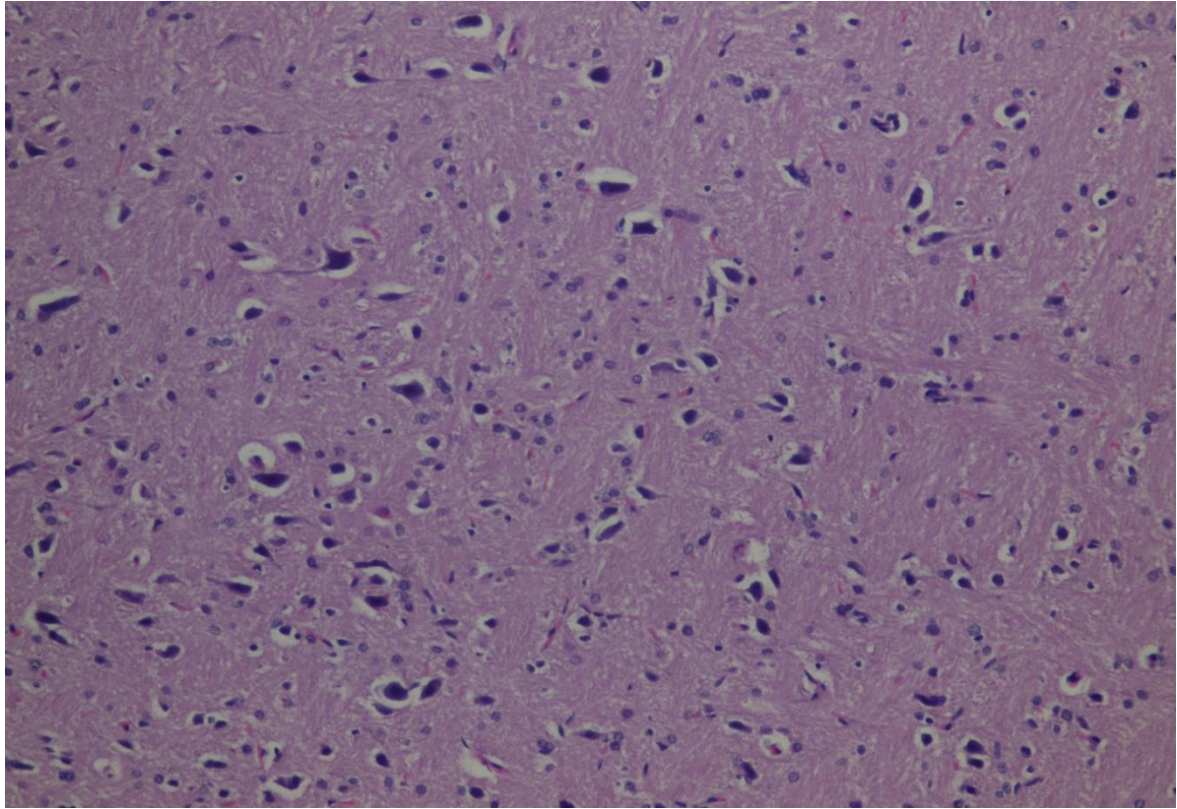
Düşük doz dimethoat uygulanan ratların beyin dokusundaki nöronlarda ve glia hücrelerinde beyincik dokusundaki tabakalarda ve purkinje hücrelerinde patolojik bulgu gözlenmezken (Resim 3.5, 3.6), yüksek doz dimethoat uygulanan ratların beyin ve beyincik dokusunda bazı patolojik bulgular gözlenmiştir. Beyin dokusunda nöronlarda ve beyincik dokusunda purkinje hücrelerde biraz azalma olduğu tespit edilmiştir (Resim 3.7, 3.8). Düşük doz dimethoat ve ferulik asit verilen ratların beyin ve beyincik dokusunda patolojik bir bulguya rastlanmazken (Resim 3.9, 3.10), yüksek doz dimethoat ve ferulik asit verilen ratların beyin ve beyincik dokusundaki hücrelerde kontrol grubuna göre nispeten bir azalma gözlenmiştir (Resim 3.11, 3.12). Yüksek doz dimethoat verilen ratların beyin ve beyincik dokusu yüksek doz dimethoat ve ferulik asitin birlikte verildiği grupla karşılaştırıldığında ferulik asitin de kısmi olarak koruyucu etki yaptığı gözlenmektedir.



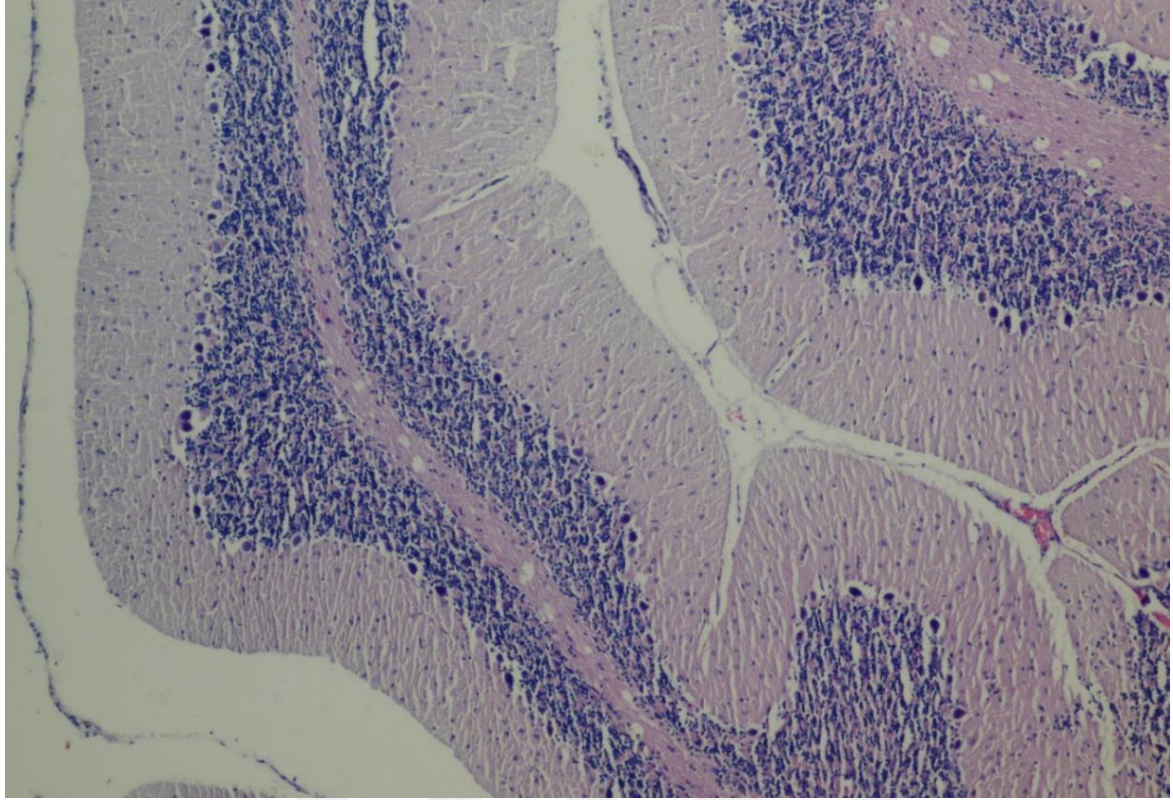
Resim 3.1. Kontrol grubu ratların beyin dokusuna ait histolojik beyin (cerebrum) dokusunun histolojik yapısı, N: Nöronlar, G: Glia hücreleri



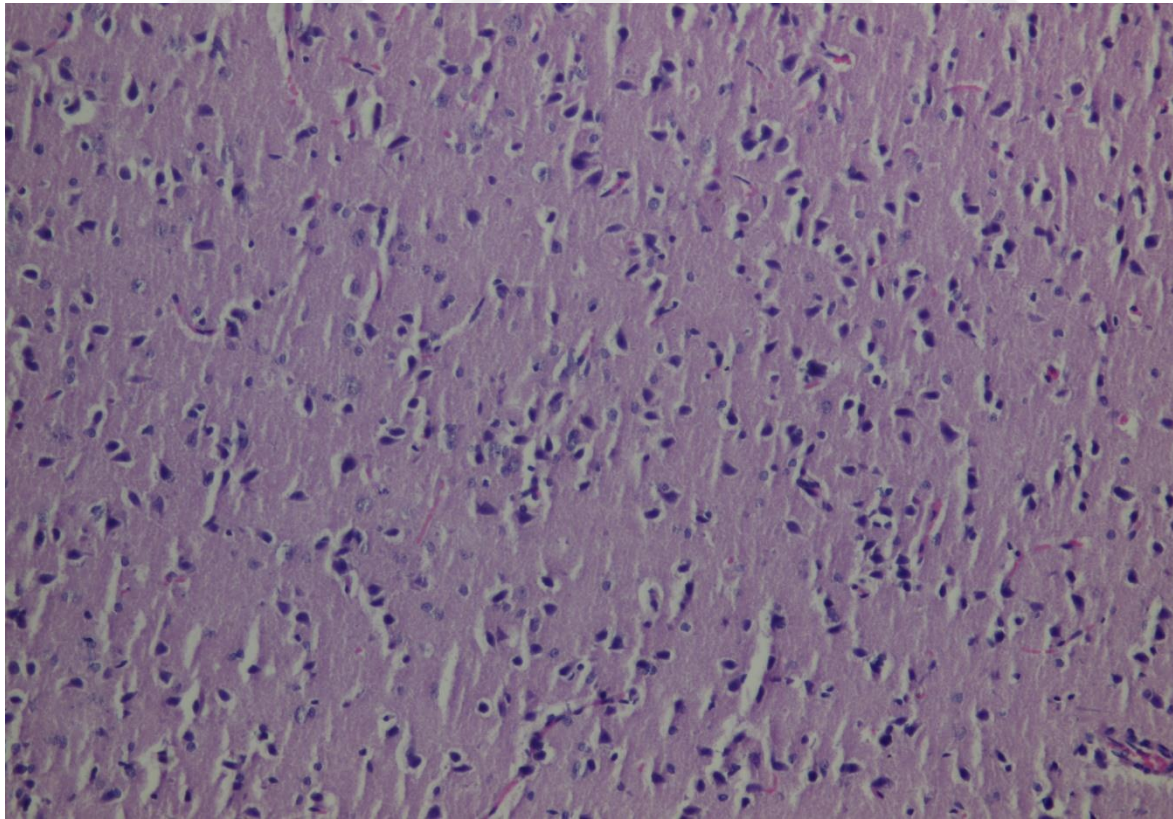
Resim 3.2. Kontrol grubu ratlara ait beyincik (cerebellum) dokusunun histolojik yapısı



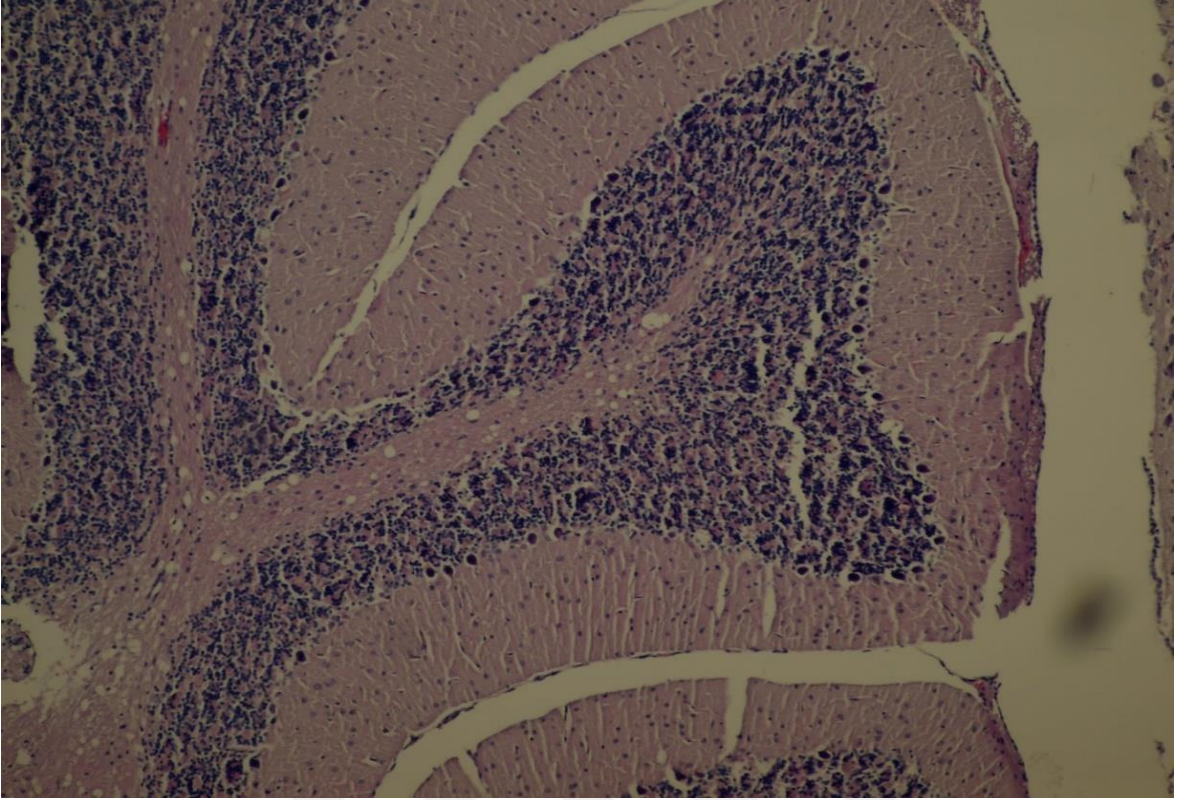
Resim 3.3. Ferulik asit uygulanan ratların beyin dokusunun histolojik yapısı



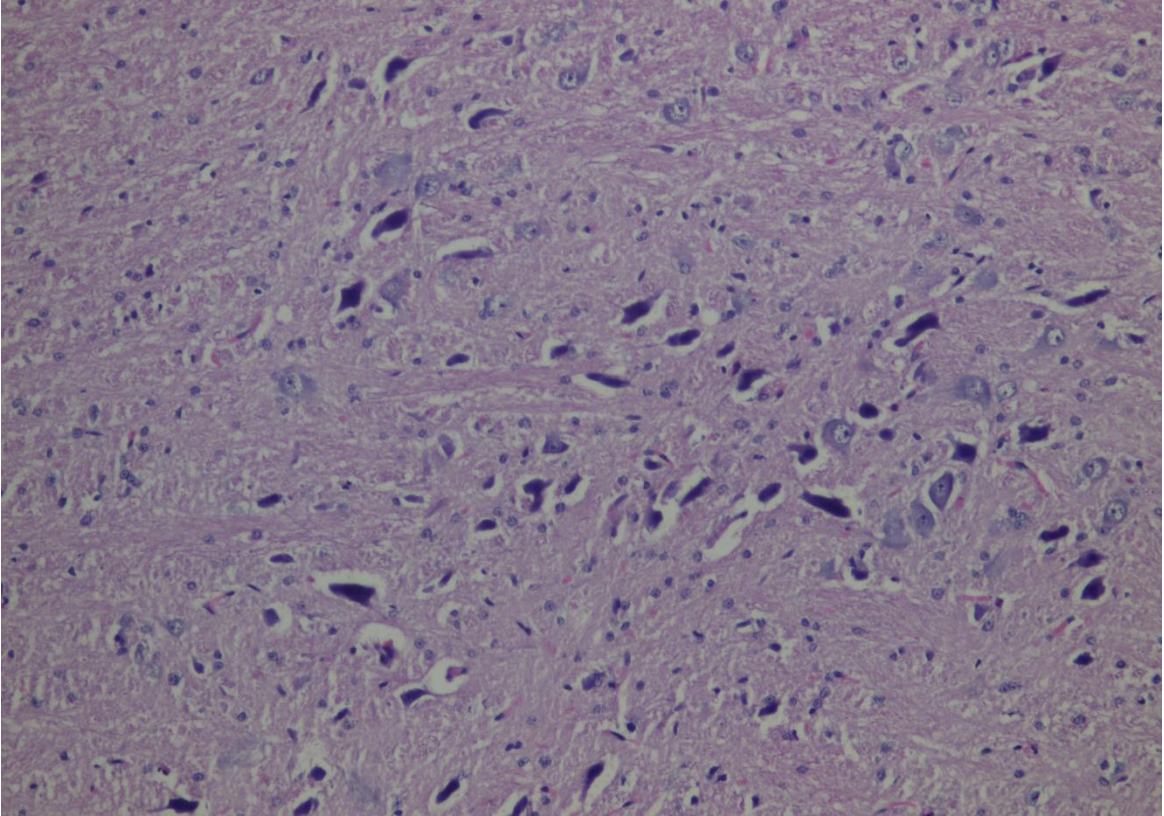
Resim 3.4. Ferulik asit uygulanan ratların beyincik dokusunun histolojik yapısı



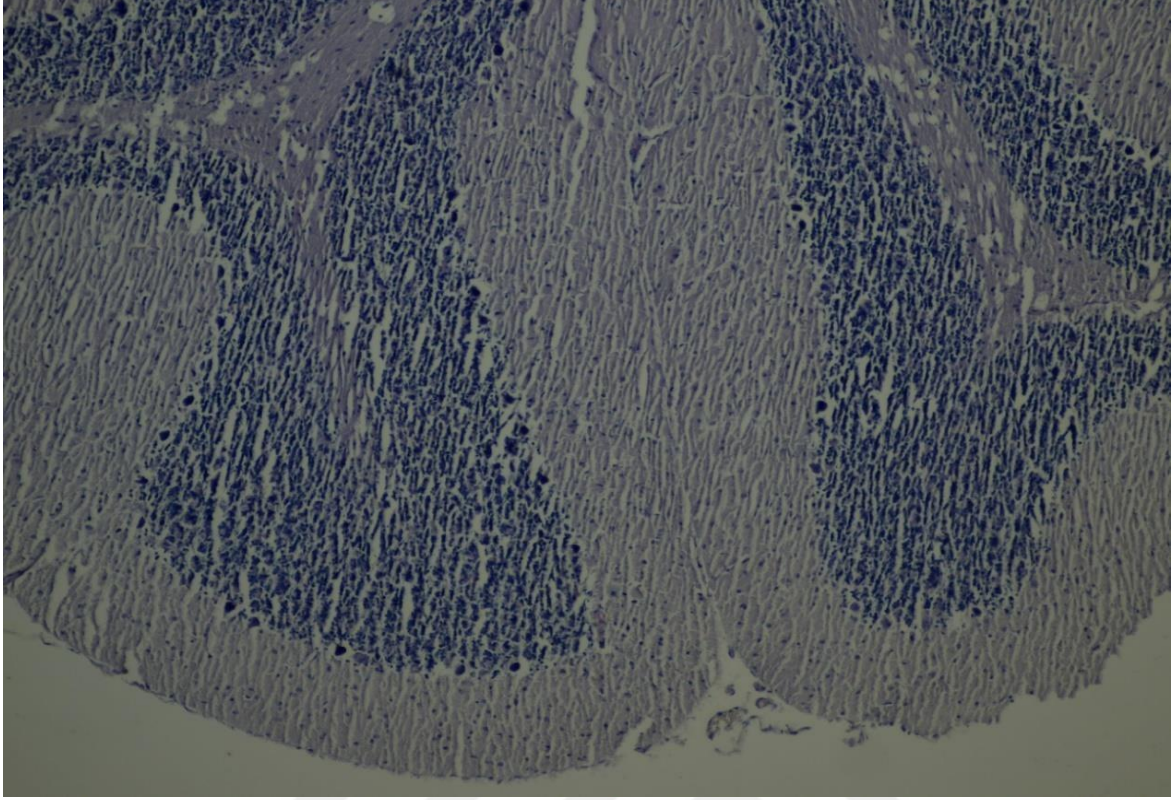
Resim 3.5. Düşük doz dimethoat uygulanan ratların beyin dokusunun histolojik yapısı



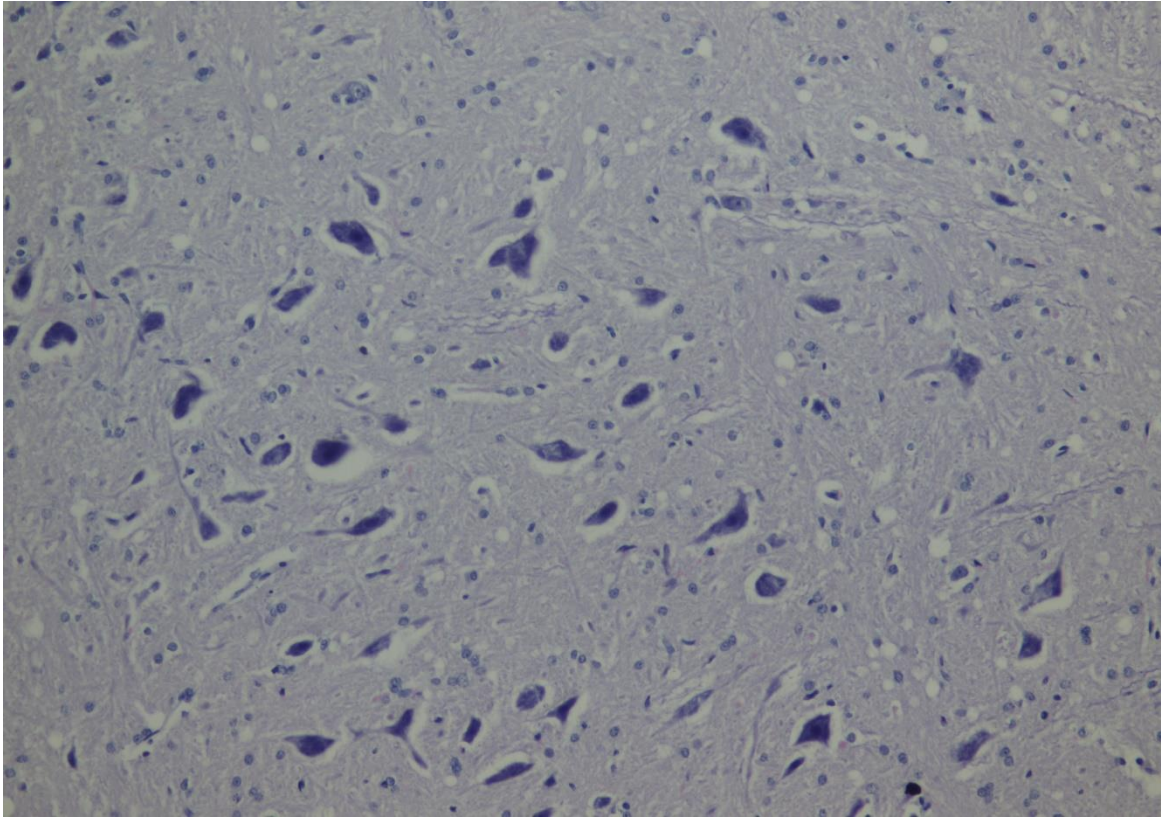
Resim 3.6. Düşük doz dimethoat uygulanan ratların beyincik dokusunun histolojik yapısı



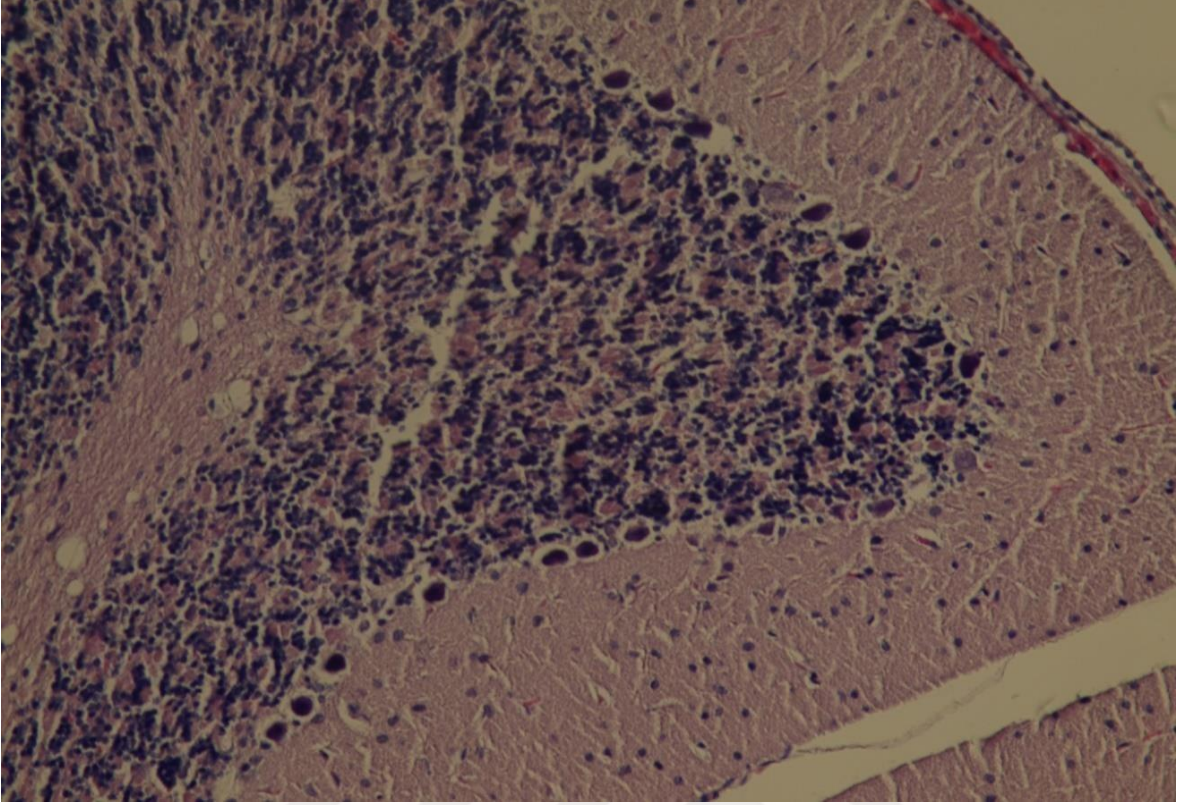
Resim 3.7. Yüksek doz dimethoat uygulanan ratlara ait beyin dokusunun histolojik yapısı



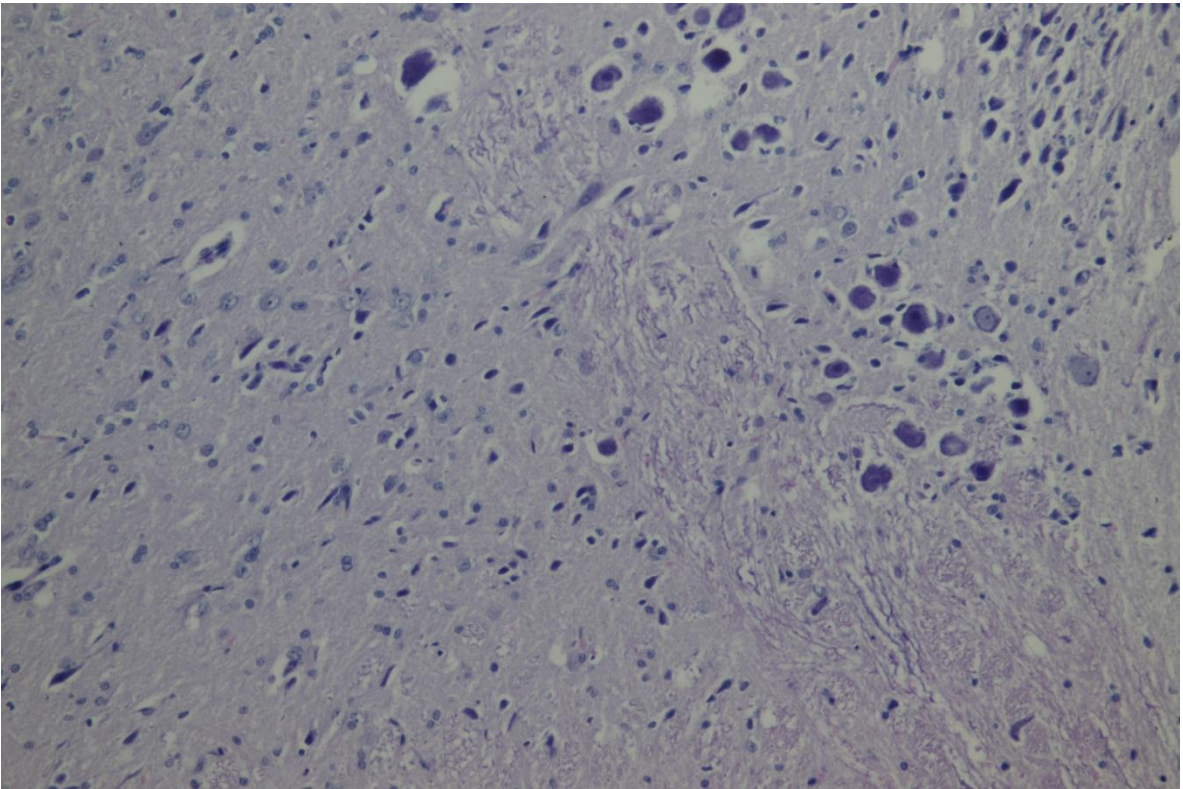
Resim 3.8. Yüksek doz dimethoat uygulanan ratların beyincik dokusunun histolojik yapısı



Resim 3.9. Düşük doz dimethoat ve ferulik asit uygulanan ratların beyin dokusunun histolojik yapısı



Resim 3.10. Düşük doz dimethoat ve ferulik asit uygulanan ratların beyincik dokusunun histolojik yapısı



Resim 3.11. Yüksek doz dimethoat ve ferulik asit uygulanan ratların beyin dokusunun histolojik yapısı



Resim 3.12. Yüksek doz dimethoat ve ferulik asit uygulanan ratların beyincik dokusunun histolojik yapısı

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Zirai mücadelede sıklıkla kullanılan organofosfatlı insektisitler nörotoksik etkiye sahiptir. Bununla beraber bu insektisitler memelilerde diğer sistemler üzerinde de çeşitli patolojik değişikliklere sebep olduğu bilinmektedir. Aynı zamanda plazma proteinleri ve hormonlar üzerinde de olumsuz etkiler meydana getirmektedirler. Sinir sistemi, endokrin sistem ile koordineli bir şekilde hareket ettiği için, sinir sisteminde veya sinir dokusunda görülen patolojik değişiklikler metabolizmayı tamamen olumsuz yönde etkilemektedir (Vural, 1996; Sharma ve diğerleri 2005b). Organofosfatlı insektisitler sadece memelilere değil aynı zamanda kuşlar, balıklar ve hedef olmayan diğer omurgasız hayvanlar üzerinde de toksik etkiye neden olmaktadır (Solecki, Fagi, Pfeil Hilbig, 1996; US EPA, 1999; Fanta ve diğerleri, 2003).

Bu tez çalışmasında organofosfatlı bir insektisit olan dimethoat kullanılmıştır. Dimethoat formülasyonları, tahıllarda, turunçgillerde, kahvede, pamukta, meyvede, üzümde zeytinlerde, otlaklarda, pancarda, Acari, Aphididae, Aleyrodidae, Coccidae, Coleoptera Collembola, Diptera, Lepidoptera, Pseudococcidae ve Thysanoptera'nın tarımsal alanda zararlı olan türlerini kontrol etmek için kullanılır. Bakliyatlar, çay, tütün sebze ve meyvelerin korunmasında ve hayvan barınaklarındaki sineklerin kontrolünde kullanılırlar. Dimethoat temas ve mide etkisi olan sistemik bir insektisit ve akarastittir. (Tomlin, 1997). Dimethoatın ratlardaki LD₅₀ dozu 300 mg/kg'dır. Akut ve kronik çalışmalar dimethoatın memeliler üzerine toksik etkisi olduğunu göstermiştir.

Bu tez çalışmasında dimethoatın iki farklı dozu ratlara uygulanmıştır. Uygulanan doz seçiminde LD₅₀ dozu temel alınarak, düşük doz dimethoat ve yüksek doz dimethoat dozları belirlenmiştir. Düşük doz dimethoat olarak 1/100 LD₅₀ dozu kullanılmıştır ve 3 mg/kg v.a. ratlara gavaj olarak uygulanmıştır. Yüksek doz dimethoat olarak 1/10 LD₅₀ dozu kullanılmıştır ve 30 mg/kg v.a. ratlara gavaj yoluyla verilmiştir. Bu çalışmada iki farklı doz kullanılmasının amacı, düşük ve yüksek konsantrasyonlarda verilen dimethoatın sebep olduğu toksisiteyi karşılaştırabilmek içindir. Merkezi sinir sisteminde bulunan kan-beyin bariyerinin, düşük ve yüksek doz dimethoat uygulamasında koruyucu özelliğinin yapısı hakkında da bilgi elde edilmeye çalışılmıştır.

Tarımsal çalışmalar sırasında yüksek dozda dimethoata maruz kalan tarım işçilerinin

kanında pankreasında, karaciğerinde ve böbreklerinde fonksiyon bozuklukları gözlenmiştir (Astiz Arnal, Alaniz, Marra, 2011).

Dimethoat, nörodejeneratif hastalıklara da sebep olmaktadır (Hayden ve diğerleri, 2010; Narayan, Liew, Bronstein, Ritz, 2017). Diğer OP'ler gibi dimethoat da, asetilkolinesterazı (AChE) inhibe eder. AChE, omurgalılarda ve omurgasızlarda nörotransmitter asetilkolinin (ACh) hidrolize edilmesinden sorumludur (Fukuto, 1990: 245-254). Bu enzimin inaktivasyonu, sinir sinapsında ve nöromüsküler kavşakta ACh birikimini tetikleyerek nikotinik ve muskarinik reseptörlerin hiperaktivasyonu ve bozulmuş nörotransmisyonu neden olur (Colović, Krstić, Lazarević-Pašti, Bondžić, Vasić, 2013). Dimethoat, farklı beyin bölgelerinde, oksidatif stres, patolojik değişiklikler ve mitokondriyal fonksiyonda bozulmalara neden olmaktadır (Astiz, Diz-Chaves, Garcia-Segura, 2013; Sharma ve diğerleri, 2005a, 2005b).

Bu tez çalışmasında, spektrofometrik yöntemlerle beyin dokusundaki oksidatif stres ölçülmüş ve değerlendirilmiş bununla birlikte beyin dokusu, histolojik yöntemlerle hazırlanarak, ışık mikroskopunda histopatolojik olarak değerlendirilmiş ve yorumlanmıştır.

Hücrelerde, süperoksit anyonları ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($\cdot OH$) gibi başlıca reaktif oksijen türleri hücre içi reaksiyonlar sırasında sürekli olarak meydana gelmektedir. Pestisitler gibi bazı ekzojen kaynaklı etkenler de reaktif oksijen türlerinin oluşmasını hızlandırmaktadır. Bunun sonucunda hücre içi moleküller okside olarak hücrel hemostazın bozulmasına neden olur ve serbest radikallerin oluşturduğu bu yapı oksidatif stres olarak isimlendirilir. Etki ilerledikçe hücrel ölüm meydana gelebilir (Kebieche ve diğerleri, 2009).

Oksidatif stres, serbest radikal oluşumu ile antioksidan sistem arasındaki dengenin, serbest radikaller lehine bozulmasıdır. Reaktif oksijen türlerinin hipertansiyon, aritmi, diabet kardiyovasküler hastalıklar gibi birçok hastalıkla ilişkili olduğu ifade edilmektedir (Limón-Pacheco ve Gonsebatt, 2009; Motoyama ve diğerleri, 2009).

Reaktif oksijen türlerinin meydana getirdiği hasarı önlemek hücreler tarafından oluşturulan sisteme antioksidan savunma sistemi denir. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek, lipid peroksidasyonunu inhibe ederler (Özcan, Erdal, Çakırca,

Yönden, 2015;333). Bu tez çalışmasında antioksidan olarak ferulik asit kullanılmıştır. Ferulik asit, lipid peroksidasyonda önemli derecede azalmaya yol açmıştır. SOD, CAT, GPx ve GST önemli antioksidan enzimlerdir (S. Kalender, Apaydın, Baş, Y. Kalender, 2015 Çağlar ve Kalender, 2020).

SOD, detoksifikasyon sürecinde rol alan ilk enzimdir. SOD süperoksit radikallerini parçalayarak, H₂O₂ üretir. Süperoksit radikallerinin dismutasyonu ile ya da direkt olarak oluşan hidrojen peroksit ise GPx ve CAT enzimleri tarafından suya dönüştürülerek detoksifiye edilir (Çavdar, Sifil, Çamsarı, 1997; 92-95; Uzun, 2012).

H₂O₂'in parçalanması ise CAT tarafından peroksizomlarda hızlı bir şekilde ya da GPx tarafından sitozolde GSH'a okside edilme şeklide gerçekleşir (Liu ve diğerleri, 2010). Pestisitler tarafından pek çok türde lipid peroksidasyonu ve oksidatif stres oluşturulduğu rapor edilmiştir (Verma, Mehta, Srivastaya, 2007). Bu tez çalışmasında düşük ve yüksek doz dimethoat beyin dokusunda antioksidan enzim sisteminin baskılanmasına neden olmuştur. Düşük ve yüksek dimethoat uygulanan gruplar, SOD, CAT, GPx ve GST enzim aktiviteleri bakımından kontrol grup ile karşılaştırıldığında beyin dokularındaki enzim aktivitelerinin azaldığı gözlenmiştir. Bu sonuç, dimethoatın antioksidan enzim aktivitesini baskıladığı şeklinde değerlendirilebilir. Düşük ve yüksek doz dimethoat ile birlikte ferulik asit uygulanan gruplar, kontrol ve ferulik asit uygulanan gruplarla karşılaştırıldığında ise antioksidan enzim aktivitelerinde anlamlı bir artışın meydana geldiği gözlenmiştir. Bu sonuç da ferulik asidin, dimethoat toksisitesine karşı beyin dokusunu koruduğu şeklinde yorumlanabilir.

Dimethoatın düşük ve yüksek dozları aynı miktarda verildiğinde akciğer dokusunda da patolojik değişiklikler ve enzim aktivitelerinde anlamlı değişiklikler gözlenmiştir (Şirin, 2020). Dimethoat, akciğer dokusunda antioksidan enzim seviyeleri bakımından, kontrol grupla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir. Ancak bu tez çalışmasında beyin dokusunda bir azalmaya neden olmuştur.

Malondialdehid (MDA), perokside olmuş poliansatüre yağ asitlerinin başlıca oksidasyon ürünüdür ve lipid peroksidasyonunun önemli göstergesidir. Düşük ve yüksek doz dimethoat beyin dokusunda MDA seviyesinde ciddi bir artışa neden olmuştur. Lipid peroksidasyonun son ürünü olan MDA'daki bu artış dimethoatın beyin dokusu üzerine toksik etkili olduğunun

bir göstergesidir. Ferulik asit, MDA'da meydana gelen artışın, anlamlı bir şekilde azalmasına neden olmuştur. Yani zarlarda meydana gelen lipid peroksidasyon üzerine olumlu etki yaratmıştır.

Dimethoat, canlılarda çeşitli histopatolojik değişikliklere de neden olmaktadır (Arnal, Morel, Marra, Astiz, 2019; Christen, Joho, Vogel, Fent, 2019). Yapılan bir çalışmada, dişi ratlara dimethoat verildikten sonra, karaciğer dokusunda selenyum ve vitamin E'nin potansiyel koruyucu rolü araştırılmıştır. Dimethoat verilen grupta, karaciğer dokusunda nekroz, hücre infiltrasyonu, hemoraji ve vakuolizasyon gözlenirken, selenyum ve vitamin E verilen gruplarda bu bulgularda ciddi bir şekilde azalma olduğu ifade edilmiştir.

Başka bir çalışmada da ratlara 15 mg/kg v.a dimethoat, 5 hafta boyunca verilmiş ve beyin dokusunda meydana gelebilecek histopatolojik değişikliklerle beraber apoptotik indeks değerlendirilmiştir. Araştırmacılar sonuç olarak, dimethoatın mitokondrilerden sitokrom C salınımını arttırdığını, Bax/Bcl-2, kaspaz-3 ve kalpainlerin beyin her iki bölgesinde de arttığını ifade etmişlerdir (Arnal ve diğerleri, 2019).

Bu tez çalışmasında, dimethoat merkezi sinir sistemini oluşturan beyin ve beyincik dokusunda patolojik değişikliklere neden olmuştur. Özellikle beyincik bölgesinde bulunan Purkinje hücrelerin sayısında bir azalma ve bazı hücrelerin de atrofiye uğradığı gözlenmiştir. Bu hücrelerin hasarı sonucu, ataksi, titreme, yürüme bozuklukları, konuşma ve yutkunma güçlüğü, refleks azalması gibi çeşitli bulgular gözlenebilmektedir (Sandy, Slocombe, Mitten, Jedwab, 2002).

Ferulik asit, organik bir bileşik olan bir hidroksisinnamik asittir. Bir lignin bileşeni olarak ferulik asit, diğer aromatik bileşiklerin üretiminde öncüdür. Ferulik asit birçok sebze kaynağında bulunur ve özellikle patlamış mısır ve bambu filizlerinde yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Tahıllarda, ferulik asit kepekte bulunur. Doğada birçok ferulik asit kaynağı bulunmasına rağmen, biyoyararlanımı, mevcut olduğu forma bağlıdır: serbest ferulik asit, suda sınırlı çözünürlüğe ve dolayısıyla zayıf biyoyararlanıma sahiptir. Buğday tanesinde ferulik asit, hücre duvarı polisakaritlerine bağlı bulunur ve ince bağırsakta salınmasına ve emilmesine izin verir (Anson, Berg, Havenaar, Bast, Haenen, 2009).

Ferulik asit, birçok ülkede tıbbi bitki olarak kullanılmakta ve çay olarak tüketilmektedir

(Valentão ve diğerleri, 2001). Ferulik asitin koruyucu özelliğinden dolayı üzerinde çok farklı çalışmalar yapılmıştır (Liu ve diğerleri, 2017; Ghosh ve diğerleri, 2017). Ferulik asitin farelerde strese bağlı gelişen nöro-inflamasyonu önlediği tespit edilmiştir (Liu ve diğerleri 2017).

Ferulik asitin, düşük maliyeti ve minimum yan etkileri nedeniyle potansiyel bir terapötik ajan olduğu, antioksidan ve antienflamatuvar, antiapoptotik, antikarsinojenik gibi farklı biyolojik aktivitelere sahip olduğu ifade edilmiştir (Ghosh ve diğerleri, 2017).

Bu tez çalışmasında ratlara 1 ml/kg v.a. olacak şekilde gavaj yoluyla ferulik asit verilmiştir. Beyin dokusunda yapılan araştırmalar sonucunda, antioksidan enzim sistemini güçlendirdiği ve dimethoatın sebep olduğu toksisiteyi azalttığı gözlenmiştir. Dimethoat, düşük ve yüksek dozda toksik etki göstermiştir. Ferulik asit dimethoatın beyin dokusunda oluşturduğu toksisite üzerine koruyucu özellik göstermiştir.

Işık mikroskobu bulgularımız da biyokimyasal çalışmalarımıza paralellik göstermiştir. Dimethoat ile birlikte ferulik asit verilen gruplarda patolojik bulgularda bir iyileşme meydana gelmiştir.

Bu tez çalışmasında elde edilen bulgulara dayanarak, dimethoatın düşük ve yüksek dozları ratların beyin dokusunda toksik etkiye neden olmuştur. Ferulik asit, dimethoatın oluşturduğu nörotoksisiteyi azaltmıştır.



KAYNAKLAR

- Abu-Qare, A. W. and Abou-Donia, M. B. (2001). Inhibition and recovery of maternal and fetal cholinesterase enzyme activity following a single cutaneous dose of methyl parathion and diazinon, alone and in combination, in pregnant rats. *Journal of Applied Toxicology*, 21, 307-316.
- Adam, A., Crespy, V. and Levrat-vermy, M. A. (2002). The bioavailability of ferulic acid is governed primarily by the food matrix rather than its metabolism in intestine and liver in rats, *American Society for Nutrition Research Science*, 132, 1962-1968.
- Adıgüzel, 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 Enzymol* 105,121–126.
- Anson, N. M., Van Den Berg, R., Havenaar R., Bast, A. and Haenen, G. R. M. M. (2009). Bioavailability of ferulic acid is determined by its bioaccessibility. *Journal of Cereal Science*. 49 (2), 296–300.
- Arnal, N., Morel, G., Marra, C. A. and Astiz, M. (2019). Pro-apoptotic effects of low doses of dimethoate in rat brain. *Toxicology and Applied Pharmacology* 363, 57–63.
- Astiz, M., Arnal, N., de Alaniz, M. J. T. and Marra, C. A. (2011). Occupational exposure characterization in professional sprayers: *clinical utility of oxidative stress biomarkers*. *Environ. Toxicology and Applied Pharmacology*, 32, 249–258.
- Astiz, M., Diz-Chaves, Y. and Garcia-Segura, L. M. (2013). Sub-chronic exposure to the insecticide dimethoate induces a proinflammatory status and enhances the neuroinflammatory response to bacterial lipopolysaccharide in the hippocampus and striatum of male mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 272, 263–271.
- Bagchi, D., Bagchi, M., Hassoun, E. A. and Stohs, S. J. (1995). In vitro and in vivo generation of reactive oxygen species, DNA damage and lactate dehydrogenase leakage by selected pesticides, *Toxicology*, 104 (1-3), 129-140.
- Bazylewicz-Walczak, B., Majczakowa, W. and Szymczak, M. (1999). Behavioral effects of occupational exposure to organophosphorus pesticides in female green house planting workers, *NeuroToxicology*, 20 (5), 819-826.
- Betrosian, A., Balla, M., Kafiri, M., Kofinas, G., Marki, R. and Kakouri, A. (1995). Multiple systems organ failure from organophosphate poisoning, *Journal of Toxicology-Clinical Toxicology*, 33 (3), 257-260.
- Cao YJ., Zhang YM., Qi JP., Liu R., Zhang H. and He LC. (2015). Ferulic acid inhibits H₂O₂-induced oxidative stress and inflammation in rat vascular smooth muscle cells via inhibition of the NADPH oxidase and NF- κ B pathway. *International Immunopharmacology*. 28 (2), 1018-25.

- Christen, V., Joho, Y., Vogel, M. and Fent, K. (2019). Transcriptional and physiological effects of the pyrethroid deltamethrin and the organophosphate dimethoate in the brain of honey bees (*Apis mellifera*). *Environmental Pollution* 244, 247-256.
- Colović, M. B., Krstić, D. Z., Lazarević-Pašti, T. D., Bondžić, A. M. and Vasić, V. M. (2013). Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology. *Curr. Neuropharmacol.* 11, 315–335.
- Çavdar, C., Sifil, A. ve Çamsarı, T. (1997). Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma, *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 3-4, 92-95.
- Çaylak, E. (2011). Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tip Araştırmaları Dergisi*, 9 (1), 73-8
- Das, U., Manna, K., Sinha, M., Datta, S., Das, D. K., Chakraborty, A., Ghosh, M., Saha, K.D. and Dey, S. (2014). Role of ferulic acid in the amelioration of ionizing radiation induced inflammation: *A Murine Model*, 97599.
- De Blaquiere, G. E., Waters, L., Blain, P. G. and Williams, F. M. (2000). Electrophysiological and biochemical effects of single and multiple doses of the organophosphate diazinon in the Mous, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 166, 81-91.
- Dongren, Y., Tao, L. and Fengsheng, He. (2005). Electroneurophysiological studies in rats of acute dimethoate poisoning. *Toxicology Letters*, 107, 249-254.
- Doss, H. M., Dey, C., Sudandiradoss, C. and Rasool, M. K. (2016). Targeting inflammatory mediators with ferulic acid, a dietary polyphenol, for the suppression of monosodium urate crystal-induced inflammation in rats. *Life Sciences*, 148, 201-210.
- El-Gendy, K. S., Aly, N. M., Mahmoud, F. H., Kenawy, A. and El-Sebae, A. K. (2010). The role of vitamin C as antioxidant in prodection of oxidative stress induced by imidacloprid, *Food and Chemical Toxicology*, 48, 215-221.
- Fanta, E., Rios, F. S. A., Romao, S., Vianna, A. C. C. and Freiburger, S. (2003). Histopathology of the fish *Corydoras paleatus* contaminated with sublethal levels of organophosphorus in water and food. *Ecotoxicology and Environment Safety*, 54, 119-130.
- Farag, A. T., Eweidah, M. H., Tayel, S. M. and El-Sebae, A. H. (2000). Developmental toxicity of acephate by gavage in mice, *Reproductive Toxicology*, 14, 241-245.
- Fukuto, T. R. (1990). Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. *Environ Health Perspect.* 245–254.
- Gerin, F., Erman, H., Erboga, M., Sener, U., Yilmaz, A., Seyhan, H., Gurel, A. (2016). The effects of ferulic acid against oxidative stress and inflammation in formaldehyde-induced hepatotoxicity. *Inflammation* 39, 1377-1386.
- Ghosh, S., Basak, P., Dutta, S., Chowdhury, S. and Sil, P. C. (2017). New insights into the ameliorative effects of ferulic acid in pathophysiological conditions. *Food and Chemical Toxicology* 103, 41-55.

- Gultekin, F., Ozturk, M. ve Akdogan, M. (2000). The effect of organophosphate insecticide chlorpyrifos-ethyl on lipid peroxidation and antioxidant enzymes (in vitro), *Molecular Toxicology*, 74, 533-538.
- Gupta, J., Data, C., Sarkar, A. and Sengupta, D. (1992). Effects of malathion on antioxidant defence system in human foetus an in vitro study, *Indian Journal of Experimental Biology*, 30, 352-354.
- Güler, Ç. ve Çobanoğlu, Z. (1997). *Pestisitler*. Ankara: T.C. Sağlık Bakanlığı Yayınları. No: 52, 239-318
- Hayden, K. M., Norton, M. C., Darcey, D., Østbye, T., Zandi, P. P., Breitner, J. C. S. and Welsh-Bohmer, K. A. (2010). Occupational exposure to pesticides increases the risk of incident AD. The Cache County Study, *Neurology*, 74, 1524–1530.
- Hazarika, A., Sarkar, S. N., Hajare, S., Kataria, M. and Malik, J. K. (2003). Influence of malathion pretreatment an the toxicity of anilofos in male rats: a biochemical interaction study, *Toxicology*, 185, 1-8.
- He, F. S., (1996). Acute organophosphate poisoning induced 'Intermediate myasthenia syndrome'. *Chinese Journal of Industrial Hygiene and Occupational Diseases*, 14, 257-258.
- Hollman P. C. (1998). Katan M. B. Bioavailability and health effects of dietary flavonols in man. *Archives of Toxicology*, 20, 237–248.
- İnternet: Dimethoatın kimyasal yapısı URL: www.wikimedia.org, Son Erişim Tarihi: 13.05.2019.
- İnternet: Ferulik asitin yapısı URL: www.wikimedia.org, Son Erişim Tarihi: 13.05.2019.
- İnternet: Kurkuminin tautomerik formları ve ferulik asit URL: www.wikimedia.org, Son Erişim Tarihi: 13.05.2019.
- John, S., Kale, M., Rathore, N. and Bhatnagar, D. (2001). Protective effect of vitamin E in dimethoate and malathion induced oxidative stress in rat erythrocytes, *Journal of Nutritional Biochemistry*, 12, 500–504.
- Jonqueira, L. C. and Carneiro, J. (2006). *Temel Histoloji* (Çeviri Ed. Aytekin Y., Solakoğlu S.), Nobel Tıp Kitabevleri.
- Kalender S., Apaydin, F. G., Baş, H. ve 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, S., Kalender, Y., Durak, D., Ögütçü, A., Uzunhisarcıklı, M., Çevrimli, B.S. ve Yıldırım, M. (2007). Methyl parathion induced nephrotoxicity in male rats and protective role of vitamins C and E. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 88, 213–218.

- Kalender, S., Ögütçü, A., Uzunhisarcıklı, M., Açıkgoz F., Durak D., Ulusoy, Y. ve Kalender, Y. (2005). Diazinon-induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes. *Toxicology*, 211, 197-206.
- Kalender, S., Uzun, F. G., Durak, D., Demir, F. ve Kalender, Y. (2010). Malathion-induced hepatotoxicity in rats: the effects of vitamins C and E. *Food and Chemical Toxicology* 48 (2), 633-638.
- Kalender, Y., Olcay, E. ve Başar, K. (1999). Biyolojik mücadelede kullanılan kimyasal ve mikrobiyal insektisitler hakkında genel bir değerlendirme. *Türk Hijyen Deneysel Biyoloji Dergisi*, 56(3), 135-139.
- Kalender, Y., Uzunhisarcikli, M., Ogutcu, A., Acikgoz, F ve Kalender, S. (2006). Effects of diazinon on pseudocholinesterase activity and haematological indices in rats: The protective role of vitamin E, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 22, (1), 46-51.
- Kappers, W. A., Edwards, R. J., Murray, S. and Boobis, A. R. (2001). Diazinon is activated by CYP2C19 in human liver, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 177, 68-76.
- Kebieche, M., Lakroun, Z., Lahouel, M., Bouayed, J., Meraihi, Z. and Soulimani, R. (2009). Evaluation of epirubicin-induced acute oxidative stress toxicity in rat liver cells and mitochondria, and the prevention of toxicity through quercetin administration, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 61, 161-167.
- Kedzierski, A. (1990). Psychological effects of chronic exposure to organophosphate pesticides-review of the literature, *Medycina Pracy*, 41 (2), 92-94.
- Kidd H. and James DR. (1991). Organophosphates. Eds. The Agrochemicals Handbook, *Royal Society of Chemistry Information Services, Cambridge, UK*, (3)5-14.
- Kikuzaki, H., Hisamoto, M., Hirose, K., Akiyama, K. and Taniguchi, H. (2002). Antioxidant properties of ferulic acid and its related compounds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (7), 2161-2168
- Kim, H. Y., Park, J., Lee, K. H., Lee, D. U., Kwak, J. H., Kim, Y. S. and Lee, S. M. (2019). Ferulic acid protects against carbon tetrachloride-induced liver injury in mice. *Toxicology* 282, 104-111.
- Lampiasi, N. and Montana, G. (2016). The molecular events behind ferulic acid mediated modulation of IL-6 expression in LPS-activated Raw 264.7 cells. *Immunobiology* 221, 486-493.
- Limón-Pacheco, J. and Gonsebatt, M. E. (2009). The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress, *Mutation Research*, 674, 137-147.
- Liu, Y. M., Hu, C. Y., Shen, J. D., Wu, S. H., Li, Y. C. and Yi, L. T. (2017). Elevation of synaptic protein is associated with the antidepressant-like effects of ferulic acid in a chronic model of depression. *Physiology and Behavior* 169, 184-188.

- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent, *Journal of Biological Chemistry*, 19, 265.
- Mahjoubi-Samet, A., Fetoui, H. and Zeghal, N. (2008). Nephrotoxicity induced by dimethoate in adult rats and their suckling pups. *Pesticides Biochemistry and Physiology*. 91, 96-103.
- 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.
- Middleton, E., Jr., Kandaswami, C. and Theoharides, T. C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52, 673-751.
- Motoyama, K., Koyama, H., Moriwaki, M., Emura, K., Okuyama, S., Sato, E., Inoue, M., Shioi, A. and Nishizawa, Y. (2009). Atheroprotective and plaque-stabilizing effects of enzymatically modified isoquercitrin in atherogenic apoE-deficient mice, *Nutrition*, 25, 421-427.
- Narayan, S., Liew, Z., Bronstein, J. M. and Ritz, B. (2017). Occupational pesticide use and Parkinson's disease in the Parkinson environment gene (PEG) study. *Environment International* 107, 266–273.
- Neishabouri, E. Z., Hassan, Z. M., Azizi, E. and Ostad, S. N. (2004). Evaluation of immunotoxicity induced by diazinon in mice, *Toxicology*, 196, 173-179.
- Niu, C., Sheng, Y., Zhu, E., Ji, L. and Wang, Z. (2016). Ferulic acid prevents liver injury induced by Diosbulbin B and its mechanism. *Bioscience Trends* 10, 386-391.
- Ohkawa H., Ohishi N. and Yagi K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues bythiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95, 351–358.
- Oruç, E. Ö. ve Üner, N. (2000). Combined effects of 2,4-d and azinphosmethyl on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in liver of *Orochromis niloticus*, *Comparative Biochemistry and Physiology*, 127, 291–296.
- Özcan O., Erdal H., Çakırca G. ve Yönden Z. (2015). Oksidatif stres ve hücre içi lipit, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations* 6, (3), 331 - 336.
- Paglia D. E. and Valentine W. N. (1987). Studies on the quantitative and qualitative characterization of glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 7, 158–165.
- Reuber M. D. (1984). Carcinogenicity of dimethoate. *Environmental Research*, 34, 193–211.
- Rukkumani, R., Aruna, K., Varma, P. S. and Menon, V. P. (2004). Ferulic acid, a natural phenolic antioxidant modulates altered lipid profiles during alcohol and thermally oxidized sunflower oil induced toxicity, *Neutraceutical. Funct. Med. Foods*, 4, 119–132.

- Sadar, S. S., Vyawahare, N. S. and Bodhankar, S. L., (2016). Ferulic acid ameliorates TNBS-induced ulcerative colitis through modulation of cytokines, oxidative stress, iNOs, COX-2, and apoptosis in laboratory rats. *About the Journal*, 15, 482-499.
- Sandy J., Slocombe R., Mitten R. and Jedwab D. (2002). *Cerebellar abiotrophy in a family of Border Collie dogs. Veterinary Pathology*. 39 (6), 736–738.
- Senanayake, N. and Johnson, M. K. (1982). Acute polyneuropathy after poisoning by a new organophosphate insecticide, *The New England Journal of Medicine*, 306, 155-157.
- 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, 49–57.
- Sharma, Y., Bashir, S., Irshad, M., Nag, T. C. and Dogra, T. D. (2005). Dimethoate-induced effects on antioxidant status of liver and brain of rats following subchronic exposure. *Toxicology*, 215, 173–181.
- Solecki, R., Fagi, A. S., Pfeil, R. and Hilbig, V. (1996). Effects of methyl parathion on reproduction in the Japanese quail, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 57, 902-908.
- Sompong, W., Cheng, H. and Adisakwattana, S. (2016). Ferulic acid prevents methylglyoxal-induced protein glycation, DNA damage, and apoptosis in pancreatic beta-cells. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 73, 121-131.
- Spassova, D., White, T. and Singh, A. K. (2000). Acute effects of acephate and methamidophos on acetylcholinesterase activity, endocrine system and amino acid concentrations in rats, *Comparative Biochemistry and Physiology*, 126, 79-89.
- Stephen, B., Kyle, L., Yong, X., Cynthia, A., Donald, E., Earl, F. and James, E. (1997). Role of oxidative stress in the mechanism of dieldrin's hepatotoxicity, *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 27 (3): 196-208.
- Şirin, B. (2020). *Dimethoatın rat akciğer dokusu üzerine toksik etkisi ve ferulik asitin koruyucu rolü*. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Tomlin, C. D. S. (1997). The Pesticide Manual, 11th edition. *British Crop Protection Council*.
- Tomokuni, K. and Hasegawa, T. (1985). Diazinon concentrations and blood cholinesterase activities in rats exposed to diazinon, *Toxicology Letters*, 25, 7-10.
- Trombino, S., Cassano, R., Ferrarelli, T., Barone, E., Picci, N. and Mancuso, C. (2013). Trans-ferulic acid-based solid lipid nanoparticles and their antioxidant effect in rat brain microsomes. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 109, 273– 279.
- U.S. (1999). Environmental Protection Agency, Interim reregistration eligibility decision for Methyl parathion Case No.0153, *Washington, DC, U.S.EPA*.
- Uzun, F. G. (2012). *Ratlarda klorprifos'un hepatotoksik etkisi ve kuersetin ve kateşin'in koruyucu rolü*. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.

- Uzun, F. G., Kalender, S., Durak, D., Demir, F. ve 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., Ogutcu, A. ve Buyukkomurcu, F. (2007). Acute, subacute and subchronic administration of methyl parathion-induced testicular damage in male rats and protective role of vitamins C and E, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 87, 115–122.
- Uzunhisarcikli, M. ve Kalender, Y. (2011). Protective effects of vitamins C and E against hepatotoxicity induced by methyl parathion in rats. *Ecotoxicology and environmental safety* 74 (7), 2112-2118.
- Ündeger, Ü., Institoris, L., Siroki, O., Nehez, M. and Desi, I. (2000). Simultaneous geno- and immunotoxicological investigations for early detection of organophosphate toxicity in rats, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 45, 43-48.
- Valentão, P. Fernandes, E., Carvalho, F., Andrade, P. B., Seabra, R. M. and Bastos, M. L. (2001). Antioxidant Activity of Centaurium erythraea Infusion Evidenced by Its Superoxide Radical Scavenging and Xanthine Oxidase Inhibitory Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (7), 3476–3479.
- Verma, R. S., Mehta, A. and Srivastava, N. (2007). In vivo chlorpyrifos induced oxidative stress: Attenuation by antioxidant vitamins, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 88, 191-196.
- Vishwanathan, R. and Srinivasan, V. (1964). Treatment of OP compound poisoning, *Journal of Indian Medical Association*, 43, 494-497.
- Vural, N. (1996). *Toksikoloji*, Ankara: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No:73, 52-84
- Yano, B. L., Young, J. T. and Mattsson, J. L. (2000). Lack of carcinogenicity of chlorpyrifos insecticide in a high-dose, 2-year dietary toxicity study in Fischer 344 rats, *Toxicological Sciences*, 53, 135-144.
- Yavuz, T., Altuntas, I., Delibas, N., Yıldırım, B., Candır, O., Cora, A., Karahan, N., Ibrism, E. ve Kutsal, A. (2004). Cardiotoxicity in rat induced by methidathion and ameliorating effect of vitamins E and C, *Human and Experimental Toxicology*, 23, 323-329.
- Yılmaz, N. (2006). Kan beyin bariyerinin fizyopatolojisi. *Van Tıp Dergisi*, 13(1), 25-27.
- Yuan, J., Ge, K., Mu, J., Rong, J., Zhang, L., Wang, B., Wan, J. and Xia, G. (2016). Ferulic acid attenuated acetaminophen-induced hepatotoxicity through down-regulating the cytochrome P 2E1 and inhibiting toll-like receptor 4 signaling-mediated inflammation in mice. *American Journal of Translational Research*, 8, 4205-4214.
- Zendzian, R. P. (2003). Pesticide residue on/in the Washed skin and its potential contribution to dermal toxicity, *Journal of Applied Toxicology*, 23, 121-136.

Zhao Z, Egashira Y. and Sanada H. (2004). Ferulic Acid Is Quickly Absorbed from Rat Stomach as the Free Form and Then Conjugated Mainly in Liver; *The Journal of Nutrition*; 134, 3083–3088.

Zhao, J., Suyama, A., Tanaka, M. and Matsui, T. (2014). Ferulic acid enhances the vasorelaxant effect of epigallocatechin gallate in tumor necrosis factor- α induced inflammatory rat aorta. *The Journal Nutritional Biochemistry*, 25, 807-814.





GAZİ GELECEKTİR..