

T. C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ZİRAİ MÜCADELE İLAÇLARINDAN FENTHİON'UN SU KURBAĞASININ
ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMİ VE LİPİT PEROKSİDASYON SEVİYELERİ
ÜZERİNE ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Ahmet KANTER
DANIŞMAN: Doç. Dr. İsmail ÇELİK

VAN-2009

T. C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ZİRAİ MÜCADELE İLAÇLARINDAN FENTHİON'UN SU KURBAĞASININ
ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMİ VE LİPİT PEROKSİDASYON SEVİYELERİ
ÜZERİNE ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Ahmet KANTER

VAN-2009

KABUL ve ONAY SAYFASI

Doç. Dr. İsmail ÇELİK danışmanlığında, **Ahmet KANTER** tarafından hazırlanan “**Zirai Mücadele İlaçlarından Fenthion’un Su Kurbağasının (*Rana ridibunda*) Antioksidan Savunma Sistemi ve Lipit Peroksidasyon Seviyeleri Üzerine Etkileri**” isimli bu çalışma **17/09/2009** tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **Biyoloji** Anabilim Dalı’nda Yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Doç. Dr. İsmail ÇELİK

İmza:

Üye: Yrd. Doç. Dr. Suat EKİN

İmza:

Üye: Yrd. Doç Dr. Yasin TÜLÜCE

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun/...../2009 Gün
ve.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

.....

Enstitü Müdürü

ÖZET

ZİRAİ MÜCADELE İLAÇLARINDAN FENTHİON'UN SU KURBAĞASININ ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMİ VE LİPİT PEROKSİDASYON SEVİYELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

KANTER, Ahmet

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. İsmail ÇELİK

Ağustos 2009, Sayfa 57

Bu çalışmada, zirai mücadele ilaçlarından fenthionun yaşam ortamlarına eklenmek suretiyle 24, 48, 72 ve 96 saatlik uygulamalarına laboratuvar şartlarında maruz bırakılan su kurbağalarının (*Rana ridibunda*) karaciğer, böbrek, kalp ve beyin dokularındaki lipid peroksidasyon (MDA) ve glutatyon (GSH) düzeyi ile antioksidan enzim aktiviteleri süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon -S- transferaz (GST), aktivitesi üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Altmış su kurbağası (*Rana ridibunda*) üç deney grubuna ayrıldı. Çalışmalar sırasında kurbağalar yaşam ortamlarına eklenmek suretiyle fenthionun 10 ve 20 ppm'lik dozlarına 24, 48, 72 ve 96 saatlik sürelerle maruz bırakıldılar. Bu sürelerin sonunda kurbağalar diseksiyon edilerek karaciğer, böbrek, kalp ve beyin dokuları kesilerek çıkartıldı. GST, SOD ve GSH-Px aktiviteleri ile MDA ve GSH düzeylerinin dokulardaki analizleri, spektrofotometrik yöntemle belirlendi. Kimyasalın farklı dönem ve konsantrasyon etkisine maruz bırakılan kurbağalarda MDA düzeyi artarken, antioksidan savunma sistemi üzerine farklı etkilere neden oldukları gözlemlendi.

Anahtar kelimeler: Antioksidan enzimler, lipid peroksidasyon, Pestisitler, Kurbağa

ABSTRACT

EFFECTS OF AGRICULTURAL CHEMICAL FENTHION ON ANTIOXIDANT DEFENSE SYSTEMS AND LIPID PEROXIDATION LEVELS OF FROGS

KANTER, Ahmet

Master, Biological Science

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. İsmail ÇELİK

August 2009, pages 57

The study was aimed to investigate the effect of agricultural pesticide fenthion on lipid peroxidation (MDA), reduced glutathione (GSH) levels and antioxidant enzymes activity, süperokside dismutase (SOD), glutathione peroksidase (GSH-Px), glutathione -S- transferase (GST), in various tissues of frogs under laboratory conditions. Frogs (*Rana ridibunda*) were divided into three experimental groups; control and pesticide-exposed for groups. Frogs were exposed to 10 ppm and 20 ppm of fenthion for 24, 48, 72 ve 96 hours. Brain, liver, kidney and heart tissues were excised at the same time. MDA, GSH, GST, SOD and GSH-Px levels were determined in the tissue samples by means of spectrophotometer. The results indicated that the chemical caused an increase in MDA content whereas caused the different effects on the antioxidant defence systems in the various tissues of frogs exposed to different periods and concentrations of chemical.

Key words: Antioxidant enzymes, Lipid peroxidation, Pesticides, Frog

ÖNSÖZ

Çeşitli pestisitlerin ağız, solunum, deriye temas ve gıda zinciri yollarıyla canlı bünyesine girebildikleri bilinmektedir. Yurdumuzda çeşitli maksatlar için kullanılan pestisitlerden fenthionun yaşam ortamlarına eklenmek suretiyle kurbağaların çeşitli dokularındaki lipid peroksidasyon düzeyi ile antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

İstenmeyen organizmaları yok etmek için kullanılan pestisitlerin etki mekanizmaları belirli sınırlar içinde olmakta, bu sınırlar aşıldığında, insan ve diğer canlılar için risk faktörü taşımaktadır. Çok toksik yapıda olan ve parçalanıp bozulma ihtimali olmayan bazı klorlu pestisitlerin dışındaki tarım ilaçlarının çoğu halen büyük miktarda kullanılmaktadır. Bu kimyasal yapıdaki tarım ilaçlarının taşınması, depolanması, kullanılması, hatta sentezlenmesi bile büyük bir çevre kirliliğine sebep olmaktadır.

Günümüzde teknolojinin ilerlemesine paralel olarak çevreye bırakılan ağır metal iyonu miktarının ve çeşidinin artması, tarımda zirai ilaçlama faaliyetlerinin çoğalması, gıda tüketimindeki artışla birlikte suni üretim artışına gidilmesi gibi bazı faktörleri de içine alan pek çok sebepten dolayı canlı çevrenin kirlenip, bozulduğu görülmektedir.

Kirlilik konusunda en aktif canlı olan insan, tabiat dengesini bozmaktadır. Yeryüzü, özellikle de insan çevresi, insan sağlığı açısından çok önemlidir. Kirli bölgelerde yaşayan insandaki ölüm oranının, nispeten daha temiz yörelerdekilerin en az iki misli, tüberküloz ve mide kanseri oranlarının ise üç katı olduğuna literatürlerde rastlanılmaktadır.

Bu araştırmanın hedefleri de kısaca şöyledir. Yurdumuzda çeşitli amaçlar için kullanılan pestisitlerden fenthionun antioksidan enzim etkinliğinin göstergesi olarak değerlendirilebilecek GSH, GST, SOD ve GSH-Px aktiviteleri ile lipid peroksidasyon (MDA) ve glutatyon (GSH) düzeyi seviyelerine bakılacaktır. Yukarıdaki biyolojik parametreler üzerine ilaçların etkilerinin ortaya konulması toksikolojik çalışmalar için önem taşımaktadır. Bu kimyasalların söz konusu canlılar üzerinde in vivo olarak

alışılmasının, biyotoksik araştırmalarla ilgili önemli bir boşluğu dolduracağı kanaatindeyiz.

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı öneren ve her konuda değerli katkılarını esirgemeyen kıymetli hocam Doç. Dr. İsmail ÇELİK'e en derin şükranlarımı arz ederim. Deney hayvanlarının temininde katkılarını sunan Abdulahad DOğAN'a, Yüzüncü Yıl niversitesinde doktora yapmakta olan İsmail IşIK ve Bayram YURT hocalarıma ve çalışma boyunca her türlü yardımda bulunan Musa İşNAS'a, ayrıca projemi destekleyen Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığına (Proje no: 2009-FBE-YL003) teşekkürlerimi arz ederim.

Ahmet
KANTER

İÇİNDEKİLER

	sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖN SÖZ	v
İÇİNDEKİLER	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ	1
1.1. Pestisitler	1
1.2. Pestisitler ve Etkileri	1
1.3. Fenthion	1
1.4. Serbest Radikaller	2
1.4.1. Serbest oksijen radikalleri ve reaktif oksijen türleri	3
1.4.2. Serbest radikallerin kaynakları	4
1.4.3. Serbest radikallerin etkileri	5
1.4.4. Antioksidan savunma sistemleri	6
1.4.4.1. Enzimatik antioksidanlar	7
1.4.4.2. Nonenzimatik antioksidanlar	9
1.4.5. Antioksidan etki tipleri	11
1.5. Araştırmanın Amacı	11
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ	13
3. MATERYAL ve YÖNTEM	16
3.1. Deneylerde Kullanılan Materyaller	16
3.2. Kimyasal Maddelerin Muamelesi	17
3.3. Doku Örneklerinin Alınması	17
3.4. Doku Ekstraksiyon İşlemlerinin Gerçekleştirilmesi	17
3.5. Analizlerin Yapılması	18
3.5.1. Süperoksit dismutaz (SOD) enzim tayini	18
3.5.2. Glutatyon peroksidaz (GSH-P _x) enzim tayini	20

3.5.3. Glutatyon -S- transferaz (GST) enzim tayini	21
3.5.4. Redükte glutatyon (GSH) tayini	22
3.5.5. Lipid peroksidasyonu (MDA) tayini	23
3.6. İstatistiksel Analizler	24
4. BULGULAR	25
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	45
KAYNAKLAR	52
ÖZ GEÇMİŞ	

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 4.1. 24 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GSH düzeylerinin karşılaştırılması	25
Şekil 4.2. 48 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GSH düzeylerinin karşılaştırılması	26
Şekil 4.3. 72 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GSH düzeylerinin karşılaştırılması	27
Şekil 4.4. 96 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GSH düzeylerinin karşılaştırılması	28
Şekil 4.5. 24 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında MDA düzeylerinin karşılaştırılması.	29
Şekil 4.6. 48 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında MDA düzeylerinin karşılaştırılması	30
Şekil 4.7. 72 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında MDA düzeylerinin karşılaştırılması	31
Şekil 4.8. 96 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında MDA düzeylerinin karşılaştırılması.	32
Şekil 4.9. 24 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GST enzim düzeylerinin karşılaştırılması.	33
Şekil 4.10 48 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GST enzim düzeylerinin karşılaştırılması	34
Şekil 4.11. 72 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GST enzim düzeylerinin karşılaştırılması.	35
Şekil 4.12. 96 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GST enzim düzeylerinin karşılaştırılması.	36

Şekil 4.13. 24 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında SOD enzim düzeylerinin karşılaştırılması	37
Şekil 4.14. 48 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında SOD enzim düzeylerinin karşılaştırılması	38
Şekil 4.15. 72 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında SOD enzim düzeylerinin karşılaştırılması	39
Şekil 4.16. 96 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında SOD enzim düzeylerinin karşılaştırılması	40
Şekil 4.17. 24 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GPx enzim düzeylerinin karşılaştırılması	41
Şekil 4.18. 48 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GPx enzim düzeylerinin karşılaştırılması	42
Şekil 4.19. 72 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GPx enzim düzeylerinin karşılaştırılması	43
Şekil 4.20. 96 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GPx enzim düzeylerinin karşılaştırılması	44

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 4.1. 24 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GSH düzeyleri	25
Çizelge 4.2. 48 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GSH düzeyleri	26
Çizelge 4.3. 72 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GSH düzeyleri	27
Çizelge 4.4. 96 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GSH düzeyleri	28
Çizelge 4.5. 24 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında MDA düzeyleri	29
Çizelge 4.6. 48 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında MDA düzeyleri	30
Çizelge 4.7. 72 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında MDA düzeyleri	31
Çizelge 4.8. 96 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında MDA düzeyleri	32
Çizelge 4.9. 24 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GST enzim düzeyleri	33
Çizelge 4.10. 48 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GST enzim düzeyleri	34
Çizelge 4.11. 72 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GST enzim düzeyleri	35
Çizelge 4.12. 96 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GST enzim düzeyleri	36
Çizelge 4.13. 24 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında SOD enzim düzeyleri	37

Çizelge 4.14. 48 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında SOD enzim düzeyleri	38
Çizelge 4.15. 72 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında SOD enzim düzeyleri	39
Çizelge 4.16. 96 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında SOD enzim düzeyleri	40
Çizelge 4.17. 24 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GPx enzim düzeyleri	41
Çizelge 4.18. 48 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GPx enzim düzeyleri	42
Çizelge 4.19. 72 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GPx enzim düzeyleri	43
Çizelge 4.20. 96 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GPx enzim düzeyleri	44

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

μ	Mikron
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
E	Enzim
g	Gram
L	Litre
M	Molar

Kısaltmalar

ΔA	Absorbans değişimi
$\cdot\text{OH}$	Hidroksil radikali
$^1\text{O}_2$	Singlet oksijen radikali
ABA	Absisik asit
ALT	Alanin amino transferaz
AST	Aspartat amino transferaz
BHT	Bütillenmiş hidroksi toluen
CAT	Katalaz
CK	Kreatin kinaz
DNA	Deoksiribonükleik asit
DTNB	5, 5' - (2 - ditiobis) nitrobenzoik asit
$\text{EC}_{(25)}$	25 $^{\circ}\text{C}$ su sıcaklığına göre düzeltilmiş elektriksel iletkenlik değeri
EDTA	Etilendiamin tetra asetik asit
EU	Enzim ünitesi
G6PD	Glukoz -6- fosfat dehidrojenaz
GA_3	Giberellik asit
GGT	Gamma glutamil transferaz
GR	Glutasyon redüktaz
GSH	Redükte glutasyon
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
GSSH	Okside glutasyon

GST	Glutatyon -S- transferaz
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
INT	2-(-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride
ibp	İprobenphos
LDH	Laktat dehidrogenaz
MT	Malathion
MDA	Malondialdehit
NADP	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat hidrojen
nm	Nanometre
nmol	Nanomol
O ₂ ^{·-}	Süperoksit radikali
RO [·]	Alkoksil radikali
ROO [·]	Peroksil radikali
ROOH	Lipid hidroperoksit
rpm	Devir/dakika
SOD	Süperoksid dismutaz
SSA	Sulfosalisilik asit
TBA	Tiyobarbitürik asit
TCA	Trikloroasetik asit

1. GİRİŞ

1.1. Pestisitler

Pestisitlerin kullanımı çok eskilere dayanmaktadır. M.Ö 1500'lere ait bir papirüs üzerinde bit, pire ve eşek arılarına karşı insektisitlerin hazırlanışına dair kayıtlar bulunmuştur. 19.yy'da zararlılara karşı inorganik pestisit kullanılmış, 1940'lardan sonra pestisit üretiminde organik kimyadan faydalanılmış, DDT ve diğer iyi bilinen pestisit ve herbisitler keşfedilmiştir (Öztürk ve Özge, 1978).

Pestisit böcekler, bitkiler, mantarlar, nematodlar ve kemirgenler gibi zararlı organizmaları yok etmek veya kontrol altına almak amacıyla kullanılan kimyasal, fiziksel veya biyolojik bir ajandır. En yaygın olan pestisitler; insektisitler (böcekleri hedef alır), herbisitler (bitkileri hedef alır) ve fungusitlerdir (mantarları hedef alır). (Öztürk ve Özge, 1978).

1.2. Pestisitler ve Etkileri

Zirai mücadelede istenmeyen organizmaları yok etmek için kullanılan pestisitler toprakta birikerek toprak organizmalarını olumsuz etkilemekte toprağın pH'ını değiştirmekte, suya karışarak ürün veriminin düşmesine yol açmakta buharlaşarak atmosfere karışmakta böylece hava kirliliğine ve ozon tabakasının delinmesine neden olmaktadır. Pestisitlerin insan sağlığına etkileri ise akut-kronik zehirlenmeler kanser alerjik reaksiyonlar sinir sistemi tahribatları öğrenme güçlüğü ve hafıza kaybı enzim faaliyetlerinin bozulması karaciğerde fonksiyon kayıpları hücre membranında değişimler şeklinde ortaya çıkmaktadır (Çelik, 1995).

1.3. Fenthion

Bu çalışmada kullanılan pestisitlerden fenthionun; kimyasal adı; 00-dimethyl 0-4-methyl-thio-m-tolyl phosphorothioate'dir Kapalı formülü: $C_{10}H_{15}O_3PS_2$, Mol. Ağırlığı: 278,3 g/mol'dür. G. Schrader ve E. Schegk tarafından geliştirilmiş ve 1957

yılında Bayer Leverkusen tarafından “Bayer 29493”, “S 1752” kod numaraları ve Baycid, Baytex, Entex, Lebaycid, Mercaptophos, Qualetox, Tiguvan ticari isimleriyle piyasaya çıkarılmıştır.

Renksiz ve kokusuz bir sıvıdır. 0,01 mg Hg basıncında kaynama noktası 87° C, 20° C’ de buhar basıncı 3×10^{-5} mm Hg’dır. Oda sıcaklığında 54–56 mg/L çözünür. Birçok organik çözücülerde ve glyceride yağlarında çözünür. Teknik madde, zayıf sarımsak kokulu, % 95–98 saflıkta kahverengi yağimsı sıvıdır. 210°C ye kadar stabildir. Işığa ve alkaline hidrolize dayanıklıdır.

Hidrolize dayanıklılığı ve düşük uçuculuğuyla kalıcı ve nüfus edici etkili bir dokunma ve mide insektisitidir. Örneğin, meyve sineklerine, yaprak pirelerine ve hububat böceklerine karşı etkilidir. Okside olarak bitkide, her ikisi de insektisit etkili sulfoksit ve sulfon’na dönüşür. Başka ilaçlarla karıştırmak için bir ön testin yapılması tavsiye edilmektedir. Ağız yoluyla akut LD₅₀ değeri; erkek sıçanlar için 245/615 mg/kg, dişi sıçanlar için 330/500 mg/kg’dır. Köpeklere ve kümes hayvanlarına karşı daha çok zehir etkisi gösterir. İspinoz kuşlarının kontrolünde kullanılır. Bir yıl 50 ppm’le beslenen köpeklerde ağırlık ve besin tüketiminde bir azalmaya rastlanmamıştır. Sıçanlar için sulfoksit ve sulfon’un ağız yoluyla akut LD₅₀ değeri 125 mg/kg’dır. Kullanırken göz ve deriye temasından kaçınılması gerekmektedir. Ayrıca diğer organik fosfatlılar için gerekli olan tedbirler alınır. Antidotu; atropin ve toxogonin’dir. Toleransı meyvelerde 1 ppm’dir. Bekleme zamanı Doğu Almanya’da (eski) meyvelerde 14 gün, sebzelerde, tarla ve yem bitkilerinde 10 gündür (Öztürk ve Özge, 1978).

1.4. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, dış orbitallerinde bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron bulunan, kısa ömürlü, reaktif atom veya moleküllerdir. Halojen atomlar, oksijen metabolizması ara ürünleri olan oksijen türleri, Cl veya Br gibi tek atomlu yapılar, Na, K gibi alkali metal atomları, bir orbitalinde tek elektron bulunduran NO, NO₂ gibi atom kombinasyonları radikaller olarak sınıflandırılmaktadır. Ancak, Cu⁺², Fe⁺³, Mn⁺², Mo⁺⁵ gibi geçiş metalleri dış yörüngelerinde birer elektron bulundurmalarına rağmen radikal kabul edilmezler. Radikaller elektrik yük olarak; pozitif, negatif ya da nötr olabilirler.

Serbest radikal olan atom veya moleküller, dış orbital elektron konfigürasyonlarının yanı sıra, termodinamik yapıları ve lokal kinetik reaktiviteleri göz önünde bulundurularak değerlendirilirler (Akkuş, 1995; Sen, 1995).

Atomlarda elektron dağılımı incelendiğinde elektronların kabuklarda olduğu görülür. Kabuklar alt kabuklardan, alt kabuklar da elektron içeren orbitallerden oluşur. Orbitallerde, her biri diğerinin fizikokimyasal reaksiyonlara girmesini engelleyen, zıt spinlerde hareket eden elektron çiftleri vardır. Serbest radikallerin dış orbitalleri, genellikle eşlenmemiş elektron içerir. Bu tip atom ya da atom kombinasyonları, elektron konfigürasyonlarını pozitif yükü dengelemek eğiliminde olduklarından stabil değildir (Halliwell ve ark., 1995).

1.4.1. Serbest oksijen radikalleri ve reaktif oksijen türleri

Aerobik organizmaların yaşamlarını sürdürebilmeleri için organik moleküllerden enerji açığa çıkarmada moleküler oksijeni kullanma mecburiyetinde olmaları, bu canlıları doğal olarak oksijenin toksik metabolik ürünleriyle birlikte yaşamak durumunda bırakmıştır. Oksijen, canlı organizmaları oluşturan moleküllerin yapısına girmesi, besin kaynağı konumundaki maddelerde temel element olması ve aerobik canlılardaki oksidasyon reaksiyonları ve solunumda rol alması nedeniyle de önemlidir (Thurnham, 1990; Erenel ve ark., 1992).

Normal metabolizmada moleküler O_2 'nin % 98'i oksidazlar yoluyla suya çevrilmektedir. Geriye kalan kısmı ise oksijenazlar yoluyla hücre içi organellerin yapılarını ve fonksiyonlarını değiştiren, membranlarda oksidatif yıkıma neden olan reaktif toksik ürünlere dönüştürülür. Bu O_2 metabolizması ürünlerinin azaltılması enzimatik (süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px)) ve nonenzimatik (glutatyon (GSH) ve α tokoferol) hücresel savunma mekanizmalarıyla kontrol edilmektedir (Wohaieb ve Godin, 1987; Wickens, 2001).

Metabolik olayların normal seyrinde oksijen toplam dört elektron kabul edebilir. Oksijene bir elektron eklenmesi süperoksit anyonu, iki elektron eklenmesi hidrojen peroksit, üç elektron eklenmesi hidroksil radikali ve dört elektron eklenmesi su oluşumuna neden olur (Özdem ve Şadan, 1994; Wickens, 2001).

Süperoksit radikali: Moleküler oksijenin dış orbitallerinde paylaşılmamış iki elektron vardır. Söz konusu elektronlar paylaşılmayıp ayrı orbitallerde bulunduklarında ve spinleri aynı yönde olduğu zaman en düşük enerji seviyesindedirler. Dış orbitallerden her biri birer elektron daha kabul edebilir. Bu orbitallerin tek elektron alması ile süperoksit anyonu (süperoksit radikali O_2^-) iki elektron alması ile peroksil anyonu oluşur. Süperoksit radikali bir oksitleyici gibi davranarak bir elektron daha alabilir, böylece oluşan peroksil anyonu ortamdan iki proton alarak hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşturabilir (Kılınç, 1986).

Hidrojen peroksit: Hidrojen peroksit hücreler için toksik olmakla beraber, özellikle indirgenmiş metal iyonlarıyla reaksiyona girdiğinde önemli serbest radikal hasarına neden olmaktadır (Erenel ve ark., 1992). İnsan metabolizması bir saat içerisinde yaklaşık olarak 3×10^9 toksik hidrojen peroksit molekülü oluşturmaktadır (Wickens, 2001).

Hidroksil radikali: Oksijen radikalleri içinde en reaktif ve en toksik etkili olanı hidroksil radikalidir (Kılınç, 1986; Erenel ve ark., 1992).

Hidroksil radikalinin yüksek reaktivitesi nedeniyle istenmeyen toksik etkileri yanı sıra, üretilmeleri normal biyolojik fonksiyonlar için de gereklidir. Fagositoz ve pek çok enzimatik tepkimenin zorunlu bir parçası olarak OH üretilir ve kataliz olayına doğrudan katılır (Kılınç, 1986).

1.4.2. Serbest radikallerin kaynakları

Serbest radikaller başlıca, oksijenin normal metabolizma basamaklarında indirgenmesi ile açığa çıkmaktadır. Ayrıca, organik maddelerin çürümesi, boyaların kuruması ve plastik maddelerin işlenmesi gibi endüstriyel işlemlerde oksijenin kısmi redüksiyonu ile oluşabilmektedir (Thomas, 1995).

Öte yandan hava kirliliği, kimyasallara maruz kalma, sigara dumanı ve iyonize edici radyasyon gibi çevresel kimyasal etkilerle karşı karşıya kalma sonucunda hücrelerde radikallerin çoğaldığı ve hipoksi, inflamasyon, ısı, yoğun egzersiz, iskemi travma, intoksikasyon gibi durumların radikal oluşumunu tetikleyen faktörler olduğu ileri sürülmektedir (Aslan ve ark., 1995; Wickens, 2001).

Biyolojik kaynaklar: Aktive olmuş fagositler (solunumsal patlama = respiratory burst), antineoplastik ajanlar (bleomisin, adriamisin), radyasyon, alışkanlık yapan maddeler (alkol ve uyuşturucular), çevresel ajanlar (hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, hiperoksi, pestisitler, sigara dumanı, anestezipler), stres. Stres katekolaminin düzeyi artırır. Katekolaminlerin oksidasyonu ise serbest radikal kaynağıdır (Akkuş, 1995).

İntrasellüler kaynaklar: Küçük moleküllerin otooksidasyonu: Tioller, hidrokinonlar. Enzimler ve proteinler: Ksantin oksidaz, hemoglobin. Mitokondrial elektron transportu. Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri (stokrom P-450). Peroksizomlar: oksidazlar, flavoproteinler. Plazma membranı: lipoksijenaz, lipid peroksidasyonu. Oksidatif stres yapıcı durumlar: iskemi, travma, intoksikasyon (Akkuş, 1995).

1.4.3. Serbest radikallerin etkileri

Serbest radikaller, genelde iç ve dış etkenlere bağlı olarak üretimlerindeki artışı takiben başta membran fosfolipitleri olmak üzere hücresel bileşiklerin tümüne (karbonhidrat, lipid, protein, DNA) zarar vermekte, membranlar depolarize olmakta, parçalayıcı enzimlerin aktivitesi artmakta, hücre zarının permeabilitesi ve elektrik yük dengesi değişmektedir (Kavas, 1989; Sinclair ve ark., 1990). Hücrede başlıca mitokondriyum olmak üzere hücre membranı, lizozomlar, peroksizomlar, çekirdek ve endoplazmik retikulumda lokalize olur (Bendich, 1990).

Membran lipidlerine etkileri (Lipid peroksidasyonu): Poliansatüre (doymamış) yağ asitleri serbest radikal hasarına karşı hassastırlar. Bu oksidatif hasara “Lipid Peroksidasyonu” denir. Sonuçta membran akışkanlığında azalma ve permeabilite değişiklikleri meydana gelir (Kavas, 1989).

Peroksidasyon, bir metilen grubundan bir H atomunu yerinden çıkartan herhangi bir serbest radikal türü ile başlayabilir. Bu olay çift bağa komşu metilen grubu üzerinde daha da kolaydır. Oksijen peroksil radikalini oluşturmak için karbon radikaline eklenir ve sonuçta diğer lipid molekülünden bir H atomu çıkarır, lipid hidroperoksil oluşturur. Böylece zincirleme reaksiyon başlar. Siklik peroksitler yeniden düzenlenme ile

endoperoksitlere, daha ileri oksidasyon ile de malondialdehite (MDA) dönüşebilirler (Sinclair ve ark., 1990; Erenel ve ark., 1992).

MDA hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlar doğurur. MDA bu özelliklerinden dolayı DNA'nın nitrojen bazları ile de reaksiyona girebilir. Bundan dolayı hücreler için genotoksik ve karsinojeniktir (Moslen, 1994).

Proteinlere etkileri: Serbest radikallerin neden olduğu hasar sonucunda proteinlerde fragmentasyon, çapraz bağlanma, protein agregasyonu meydana gelmektedir. Proteinlerin, serbest radikal hasarından ne derece etkileneceği aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Proteinin hücresel lokalizasyonuna ve radikalın toksisite gücüne göre protein harabiyetinin boyutları değişebilir (Kavas, 1989; Erenel ve ark., 1992).

Nükleik asitler ve DNA'ya etkileri: Hidroksil radikali deoksiriboz ve bazlarla kolayca etkileşime girer ve değişikliklere yol açar. Sitotoksosite, büyük oranda, nükleik asit baz modifikasyonlarından doğan kromozom değişikliklerine veya DNA'daki diğer bozukluklara bağlıdır. İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar (Akkuş, 1995).

Karbonhidratlara etkileri: Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu oluşan hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelir. Bunlar diabetes gibi patolojik proseslerde önemli rol oynarlar. Bağ dokusunun önemli bir mukopolisakkariti olan hyalüronik asit, sinovyal sıvıda da bol bulunur. Enflamatuvar eklem hastalıklarında sinovyal sıvıya çok sayıda polimorf hücreler göç eder ve immün komplekslerle aktivasyonu sonucu ekstraselüler sıvıya H_2O_2 ve $O_2^{\cdot-}$ salgırlar. Hyalüronik asit parçalanması enflamatuvar eklem hastalıklarında sinovyal sıvının karakteristik bir özelliğidir. Gözün vitreous humor'unda bulunan hyaluronik asidin oksidatif hasarı katarakt oluşumuna katkıda bulunur (Akkuş, 1995).

1.4.4. Antioksidan savunma sistemleri

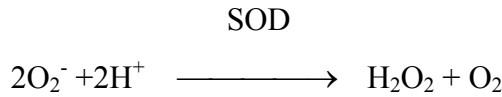
Enzimatik ve nonenzimatik yapılardan oluşan antioksidan savunma sistemi serbest radikal reaksiyonlarını kontrol ederek belirli düzeylerin üzerine çıkmasını

engellemek üzere görev yapmaktadır. Organizma değişen koşullara karşı hücrel homeostazisi korumak durumundadır. Serbest radikaller ve lipit peroksidasyonuna karşı bu yolla antioksidan bir savunma sistemi oluşturularak hücrel denge korunmaya çalışılmaktadır. Canlılar, oluşan bu toksik ürünlere karşı korunma mekanizmasına sahip olmakla beraber, bazı durumlarda bu korunma sistemi aşılabilmekte ve sistem yetersiz kalmaktadır (Thomas, 1995).

1.4.4.1. Enzimatik antioksidanlar

Bilinen en tanınmış reaktif oksijen radikallerini daha az toksik ürünlere dönüştüren antioksidan enzimler SOD, CAT ve GSH siklusu enzimleri (glutasyon peroksidaz, glutasyon redüktaz, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz) dir (Özdem ve Şadan 1994; Aslan, 1995). Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz, süperoksidi detoksifiye eden enzimdir (Akkuş, 1995).

Süperoksit dismutaz: SOD enzimi süperoksit anyonunu (O_2^-) enzimatik olarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştürür. Fizyolojik olarak metabolik aşamalarda üretimi oldukça fazla olan süperoksit, hücre içi aktivitesini düşük tutarak hücrel O_2^- düzeylerinin kontrolünde ve hücreleri O_2^- radikalinin etkilerinden korumada görev alır.

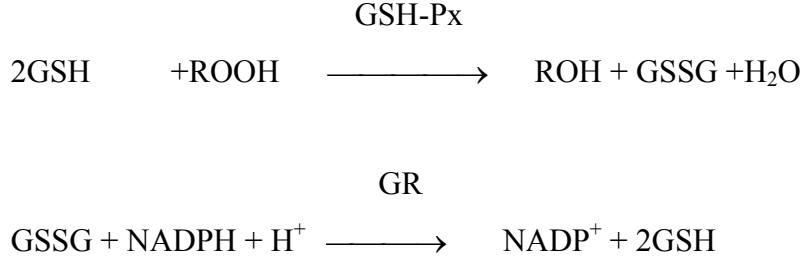


Spontan olarak da oluşabilen bu reaksiyon SOD katalizörlüğünde yaklaşık 4000 kez daha hızlı oluşur.

İki büyük SOD tipi bildirilmiştir. Cu-Zn ve Mn içeren SOD izoenzimleri ökaryotik hücrelerde bulunmuştur. Cu-Zn içeren enzim sitoplazmada, Mn içeren enzim ise mitokondride bulunmaktadır (Keha ve Küfrevioğlu, 2007).

Glutasyon peroksidaz: Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) enzimi 84000 dalton molekül ağırlığında olup her bir molekül başına 4 atom selenyum içerir. GSH-Px hidrojen peroksidi glutasyon varlığında suya katalizler (Deneke ve ark., 1985). Bu arada redükte glutasyon ise okside forma geçer. GSH-Px enzimi etki için redükte glutatyona

gereksinim duymasından dolayı okside glutatyon (GSSG) formunun, redükte formuna (GSH) dönüşümünü glutatyon redüktaz katalizler (Kahraman, 1998).

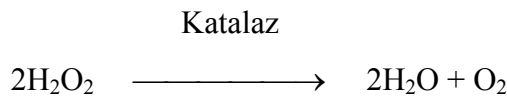


Glutatyon -S- transferazlar: Başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksidleri olmak üzere lipid peroksidlerine karşı GST'lar Se-bağımsız GSH peroksidaz aktivitesi göstererek bir savunma mekanizması oluştururlar.



GST'lar antioksidan aktivitelerine ilave olarak çok önemli başka biyokimyasal fonksiyonlara da sahiptir. GST hem detoksifikasyon yaparlar hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolleri vardır. Katalitik olarak; ksenobiyotikleri glutatyon (GSH)'daki sisteine ait -SH grubu ile bağlayarak onların elektrofilik bölgelerini nötralize ederler ve ürünün daha fazla suda çözünür hale gelmesini sağlar. Oluşan bu GSH konjugatları böylece organizmadan atılabilir veya daha ileri metabolize olurlar (Akkuş, 1995).

Katalaz: Katalaz sitoplazma ve daha çok peroksizomlarda lokalize olan ve yapısında demir bulunduran bir enzim olarak H_2O_2 'nin suya dönüştürülmesinden sorumludur (Erenel ve ark., 1992).



İnsan eritrositlerinde önemli miktarda katalaz bulunmasına rağmen, hidrojen peroksidin buradan uzaklaştırılmasındaki temel mekanizmanın NADPH, glutatyon redüktaz / peroksidaz yolu olduğu düşünülmektedir (Gaetani ve ark., 1989).

Katalaz reaksiyonu için Michaelis Sabiti (K_m) nispeten yüksektir ve katalaz H_2O_2 'in oluştuğu tüm komponentlerde bulunmaz, bu da katalazın oksijen radikallerinin oluşumundan korunmada ikincil öneme sahip olduğunu akla getirmektedir (Erenel ve ark., 1992).

Glutasyon redüktaz: GSH'nun yüksek konsantrasyonları ve GSSG'un düşük düzeyleri hayvanların yaşamları için gereklidir. GSH, oksidazlar tarafından protein sülfidlerine tercih edilen bir substrat olup protein sülfidril oksidasyonunu önler. GSH, protein sülfidrillerinin oksidasyonunu geriye de çevirir. Yüksek GSH ve düşük GSSG düzeyleri önemlidir, çünkü yüksek GSSG düzeyleri protein sülfidrilleriyle reaksiyona girer ve proteinleri inaktive eden karışık glutasyon-protein sülfidrilleri oluşturur. Gerekli GSH-GSSG oranları glutasyon redüktaz (GR) ve glukoz 6 fosfat dehidrojenaz (G6PD) enzimleri tarafından devam ettirilir. NADPH'nin G6PD ile üretimi de oksijen hasarının tamirinde gerekli biyosentetik süreçlerde önemli olabilir (Erenel ve ark., 1992).

1.4.4.2. Nonenzimatik antioksidanlar

CAT ve GSH-Px gibi enzimler oldukça reaktif hidroksil türlerinin hasarlayıcı etkilerine karşı sadece sınırlı, direkt bir koruma sağlayabilirler. Bununla birlikte bir seri düşük molekül ağırlıklı serbest radikal temizleyiciler (antioksidanlar) direkt reaksiyona girerek onları daha az zararlı ve daha stabil türevlerine dönüştürebilirler (Erenel ve ark., 1992).

Nonenzimatik karakterdeki redoks reaksiyonlarında serbest radikal oluşumu ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Bir serbest radikal, iki bağlı molekülün bir tek bağının bir molekül yardımı ile yükseltgenmesi veya indirgenmesi sonucu meydana gelir (Thurnham, 1990). Nonenzimatik yapıdaki bu maddeler, GSH, ürik asit, beta karoten (provitamin A), taurin ve yüksek molekül ağırlıklı antioksidanlar olan mukus ve albümindir (Özdem ve Şadan, 1994). Diğer nonenzimatik antioksidanlar, melatonin, seruloplazmin, askorbik asit, alfa tokoferol, transferin, laktoferrin, miyogloblin, hemoglobindir (Akkuş, 1995).

Melatonin: Melatonin en zararlı radikal olan $\cdot OH$ radikalini ortadan kaldıran çok güçlü bir antioksidandır. Bu yüzden, günümüze kadar bilinen antioksidanların en güçlüsü olarak kabul edilmektedir. Melatonin, $\cdot OH$ radikali ile reaksiyona girdikten

sonra bir indolil katyon radikaline dönüşür ki bunun da ortamda O_2^- radikalini tutarak antioksidan aktivite gösterdiği kaydedilmiştir. Melatoninin antioksidan olarak diğer önemli bir özelliği de lipofilik olmasıdır. Dolayısı ile hücrenin hemen bütün organellerine ve hücre çekirdeğine ulaşabildiği gibi kan-beyin bariyeri gibi bariyerleri de kolayca geçer. Böylece çok geniş bir dağılımda antioksidan aktivite gösterir. Melatoninin bir başka avantajı, diğer antioksidanların aksine çok yüksek dozlarda (300 mg/gün) ve uzun süre kullanımda (5 yıla kadar) bile toksik bir etkisinin olmamasıdır. Melatoninin hücre çekirdeğine girebilmesi onun DNA'yı oksidatif hasardan koruması bakımından diğer antioksidanlara göre daha üstün bir özelliğini teşkil eder. Yaşlanma ile birlikte melatonin üretimi azalır ki bunun da yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı hastalıkların patogeneğinde önemli rolü olabileceği kaydedilmiştir (Akkuş, 1995).

Glutasyon (GSH): GSH tripeptit yapısında olan, glutamik asit, sistein ve glisin aminoasitlerinden meydana gelen bileşiktir. Çok önemli bir antioksidan olan GSH, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif zarara karşı korur. Proteinlerin $-SH$ gruplarını redükte halde tutarak, protein ve enzimlerin inaktivasyonuna engel olur. Bu görevleriyle beraber yabancı bileşiklerin detoksifikasyonunu ve aminoasitlerin membranlarda geçişini de sağlamaktadır (Akkuş, 1995).

İndirgenmiş glutasyon reaktif ksenobiyotiklere karşı hücrel membran yapılarını korumaya iştirak ettiği bilinen önemli hücrel redoks tepkimelerinde potansiyel biyolojik madde olarak görev alır. Bu önemli fonksiyonları bize devamlı azalan GSH konsantrasyonunun yaşlanma prosesleri ve neoplastik hastalıklarda kolaylaştırıcı faktör olabileceğini göstermiştir (Laganieri ve Yu, 1989).

Vitamin C (Askorbik Asit, AA): İnsanlar, primatlar, kobaylar ve meyve yiyen yarasaların, L-glukonolakton oksidaz enzimi içermediklerinden sentezleyemedikleri esansiyel bir vitamindir. AA, güçlü bir redükleyici ajan (e^- donörü) ve antioksidan olup süperoksit, peroksit ve hidroksil radikalleriyle reaksiyona girerek bir ara ürün olan semidehidroaskorbat yoluyla metaboliti dehidroaskorbik asiti oluşturur. AA, dehidroaskorbat redüktaz tarafından katalizlenen bir reaksiyon ile glutasyon tarafından rejenere edilir (Erenel ve ark., 1992).

Vitamin E (α Tokoferol): Bu vitamin, lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu bir serbest radikal temizleyici olarak davranır. Lipitte çözünür doğası, hücre zarlarının

fosfolipit tabakası ve kan lipoproteinleri içerisinde yoğunlaşmasına izin vermektedir. Her bir E vitamini molekülü iki oksidasyon zincirini durdurur. Çünkü vitamin E radikali zincirin devamı için çok az reaktiftir. Vitamin E, AA tarafından rejenere edilebilir. Böylece bir antioksidan olan AA'nın başka bir rolü daha ortaya çıkmaktadır (Erenel ve ark., 1992).

1.4.5. Antioksidan etki tipleri

Antioksidanlar etki tiplerini, a) Radikalleri toplayıcı etki reaksiyonları, b) Radikalleri bastırıcı etki reaksiyonları, c) Radikal zararını onarıcı etki reaksiyonları, d) Zincir kırıcı etki reaksiyonları olarak dört şekilde gösterir (Harris, 1992).

Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutan veya çok daha zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemine toplayıcı etki denir. Antioksidan enzimler bu tip etki gösterirler. Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen bağı aktararak aktivitelerini azaltan veya inaktif şekle dönüştüren olaya bastırıcı etki adı verilir. Vitaminler bu tarz bir etkiye sahiptir. Serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye zincir kırıcı etki denir. Seruloplazmin zincir kırıcı etki gösterirler. Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması onarıcı etkidir. (Akkuş, 1995).

1.5. Araştırmanın Amacı ve Önemi

Çeşitli pestisitlerin ağız, solunum, deriye temas ve gıda zinciri yollarıyla canlı bünyesine girebildikleri bilinmektedir. Yurdumuzda çeşitli maksatlar için kullanılan pestisitlerden fenthionun yaşam ortamlarına eklenmek suretiyle kurbağaların çeşitli dokularındaki lipid peroksidasyon düzeyi ile antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

İstenmeyen organizmaları yok etmek için kullanılan pestisitlerin etki mekanizmaları belirli sınırlar içinde olmakta, bu sınırlar aşıldığında, insan ve diğer canlılar için risk faktörü taşımaktadır. Çok toksik yapıda olan ve parçalanıp bozulma ihtimali olmayan bazı klorlu pestisitlerin dışındaki tarım ilaçlarının çoğu halen büyük miktarda kullanılmaktadır. Bu kimyasal yapıdaki tarım ilaçlarının taşınması,

depolanması, kullanılması, hatta sentezlenmesi bile büyük bir çevre kirliliğine sebep olmaktadır.

Günümüzde çevrenin kirlenmesine bağlı olarak çeşitli hastalıkların artış gösterdiği bilinmektedir. Kirlilik konusunda tabiat dengesinin sürekli bozulması insan sağlığı açısından çok önemlidir. Kirli bölgelerde yaşayan insandaki ölüm oranının, nispeten daha temiz yörelerdekilere göre daha fazla olduğuna literatürlerde rastlanılmaktadır.

Bu araştırmanın hedefleri de kısaca şöyledir. Yurdumuzda çeşitli amaçlar için kullanılan pestisitlerden fenthionun antioksidan enzim etkinliğinin göstergesi olarak değerlendirilebilecek GST, SOD ve GSH-Px aktiviteleri lipid peroksidasyon (MDA) ve glutatyon (GSH) düzeyi seviyelerine bakılacaktır. Yukarıdaki biyolojik parametreler üzerine pestisitlerin etkilerinin ortaya konulması toksikolojik çalışmalar için önem taşımaktadır. Bu kimyasalın sözkonusu canlılar üzerinde in vivo olarak çalışılmasının, biyotoksik araştırmalarla ilgili önemli bir boşluğu dolduracağı kanaatindeyiz.

2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

Son zamanlarda çevre kirliliği önemli bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Yapılan çalışmalar bu kirliliğe neden olan önemli faktörlerden birinde istenmeyen organizmaları yok etmek için kullanılan tarım ilaçları olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada seçilen fenthionun kurbağalar üzerindeki etkisini araştırmak için yapılan çalışmalara kaynak olması bakımından aşağıdaki çalışmalara ulaşılmıştır.

Üner ve ark. (2009), aynalı sazanda(*Cyprinus carpio L.*) beyin dokusunda fenthion toksisitesini araştırdıkları çalışmada fenthionun GSH artışına neden olmakla beraber SOD ve CAT aktivitesinde değişikliğe neden olmadığını göstermiştir.

Büyükokuroğlu ve ark. (2008) sıçanlarda fenthionun neden olduğu oksidatif strese karşı dantrolene'in koruyucu etkisini araştırmış ve fenthionun MDA seviyesinde artışa GSH seviyesinde azalmaya neden olduğunu göstermiştir.

Çelik 1995, ülkemizde kullanılan bazı pestisitlerin insan ve sığır eritrosit karbonik anhidraz enzimini farklı şekilde inhibe ettiğini ortaya konulmuştur.

Dorval ve ark. (1994), Tarım ilaçlarına maruz kalmış nehirde *Catostomus commersoni* üzerinde yaptıkları çalışmada adrenal doku ve karaciğer dokusunda redükte GSH, CAT, GPx aktivitesini yüksek lipid peroksidasyon (LPO) seviyesini düşük bulmuşlardır.

Tsuda ve ark. (1990), sazanda diazinon, IBP, MT ve fenitrothionun biyokonsantrasyonu ve boşaltımı üzerinde yaptıkları araştırmada, bu pestisitlerin kas ve iç organlarda 12-48 saatlik bir maruz bırakma sonucunda sınır bir değere ulaştıklarını belirlemişlerdir.

Lien ve ark. (1997), 0.3-0.5 mg/l malathiona maruz bırakılmış Afrika yayın balığı (*Clarias arieppinus*) larvalarında morfolojik anormallikleri araştırmışlardır. Prelarvalarda notokord deformasyonları, notokord oluşumundan sonra MT na maruz bırakılan bireylerde de omurga defomiteleri gözlemişler, MT un vücut kaslarında kontrolsüz kontraksiyonlara neden olduğunu bildirmişlerdir.

Tek (1993), çevre kirleticilerden kafeinin yanı sıra NaClO₃, Na₃Cr₂O₇, trikloro asetik asit (TCA), alachor, carboxin, chloridazon, dalapon, dichlorvos, dnoc, metalaxin, propaxurun değişik orijinli karbonik anhidraz (CA) izoenzimlerin üzerindeki etkilerinin

araştırılmasında, sığır eritrosit CA enzimi üzerinde kafein, NaClO₃, Na₃Cr₂O₇, TCA, dichlorvos ve dalaponun adlı kimyasalların inhibisyon etkisini gösterilmiştir.

Oruç ve Üner (1999), 2,4-D ve Azinfosfometilin (1/3LC50) dozuna 24, 48, 72, 96, saatlik sürelerle maruz bırakılan aynalı sazanın (*Cyprinus carpio L.*) karaciğer dokusunda bazı antioksidan enzim aktivitelerini araştırmışlardır.

Llopis ve ark. (2003). *Anguilla anguilla*'nın tiokarbomat herbisitlere karşı direncinde glutatyon metabolizmasının önemini açıklamışlardır.

Sayeed ve ark. (2003), deltametrinin *Channa punctatus* un karaciğer ve böbrek dokularındaki antioksidanlar üzerine etkilerini araştırmışlardır.

Tandon ve Dubey (1983), organik fosforlu bileşiklerden malathionun, tatlı su balıkları üzerindeki etkisinin tespitinde, karaciğer ve böbrek fruktoz-1.6-difosfat aldolaz seviyesinin artmasıyla birlikte ölümlere sebep olduğunu rapor etmişlerdir.

Wiszkowska ve ark. (1986), malathion gibi, fosforlu pestisitlerin RNA polimeraz aktivitesini değiştirdiği ve DNA yapısında bir metilleşmeye sebep olduğunu tespit etmişlerdir.

Hai ve ark. (1997), organik fosforlu bir insektisit olan dichlorvosun sazan (*Cyprinus carpio L.*) ve yayınbalığının (*Ictalurus nebulosus*) antioksidan enzimleri üzerine etkisini araştırmışlardır. Dichlorvosun asetilkolinesterazı inhibe ettiği ve oksidatif stresde karakteristik değişimlere yol açtığı sonucuna varmışlardır.

Ceron ve ark. (1996), organik fosforlu pestisit olan diazinonun 0.42 mg/litre (96 saat) konsantrasyonuna deneysel olarak maruz bırakılan yılan balığının (*Anguilla anguilla*) beyin ve plazmadaki kolinesteraz (ChE) aktivitesini ölçmüşlerdir. Diazinonun inhibitör etkisini beyin dokusundaki ChE için >% 70 ve plazma örneklerindeki ChE için >% 90 olarak tespit etmişlerdir.

Freeman-Witting ve Lewis (1986), captanın polimerizasyon aktivitesinin bir inhibitörü olduğunu, polimerize edici ve eksonükleaz aktivitesiyle çok yönlü bir enzim olan DNA polimeraz-I üzerinde tespit etmişlerdir.

Oruç ve Üner (2000), 27 ppm 2,4-D, 0,003 azinphosmethyl ve her ikisinin karışımına 24, 48, 72 ve 96 saat'lik periyotlarla maruz bırakılan tatlısu çipurasında (*Oreochromis niloticus*) hepatik antioksidan enzim aktiviteleri ve lipid peroksidasyon seviyeleri üzerine çalışmışlardır.

Gallagher ve ark. (1995), diguat ile ciprofibratenin rat karaciğer antioksidan enzimleri üzerine etkileri konulu çalışmalarının sonunda; bu kimyasalların antioksidan enzimlerin katalitik etkilerini azalttığı, redükte glutatyon (GSH) biyosentezini ise inhibe ettiğini tespit etmişlerdir.

Oruç ve Üner (1988), herbisitlerden azinphosmethylin aynalı sazanın (*Cyprinus carpio* L.) çeşitli dokularındaki bazı antioksidan enzim düzeyleri üzerine etkili olduklarını ortaya koymuşlardır. Yine aynı araştırmacılar (1999), 2,4-D'nin aynalı sazanın (*Cyprinus carpio* L.) çeşitli dokulardaki protein ve karbonhidrat metabolizmalarının bazı biyokimyasal parametreleri üzerine etkili olduklarını ortaya koymuşlardır.

Kavitha ve Venkateswara Rao (2007), Sivrisinek balığında (*Gambusia affinis*) organofosfat pestisitlerin oksidatif stres ve lokomotor davranışlar üzerinde etkili olduğunu göstermişlerdir.

Oruç ve Usta (2007), 15 ve 30 günlük peryotlarla diazinon uygulamasına maruz bırakılan aynalı sazanın (*Cyprinus carpio*) çeşitli dokularındaki antioksidan enzim aktivitelerinin etkilendiği sonucuna varmışlardır.

Parves ve Raisuddin (2006), deltametrine maruz bırakılan tatlısu balıklarından *Channa punctata*'nın enzimatik olmayan antioksidan yapılarının etkilendiği ve glutatyon miktarında azalmalar olduğu sonucuna varmışlardır.

Durmaz ve ark. (2006), 1,7,15,ve 30 günlük peryotlarla diazinon etkisine maruz bırakılan tatlısu çipurasının (*Oreochromis niloticus*) çeşitli dokularında antioksidan enzim ve lipid peroksidasyon seviyelerinin etkilendiği sonucuna varmışlardır.

Sapozhnikova ve ark.(2005), aralarında aynalı sazan (*Cyprinus carpio*)'nunda bulunduğu 6 balık türü üzerinde yaptıkları çalışmada DDT'ye maruz bırakılan canlıların en yüksek pestisit konsantrasyonunun kas ve gonatlarda olduğu sonucuna varmışlardır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Deneylerde Kullanılan Materyaller

Deney hayvanı materyali: Araştırmamızın canlı materyali olan su kurbağalarını (*Rana ridibunda*) Van gölü havzası sulak alanlarından yakalanarak temin edilmiştir. Çalışmalar sırasında kullanılacak sarf kimyasallar ve etkilerini araştırdığımız kimyasallar satın alma yoluyla medikaller aracılığıyla temin edilmiştir. Denemelerde Yüzüncü Yıl Üniversitesi kampüs alanı içerisinde bulunan Topraktaş Köyü yakınlarında üniversiteye ait derin kuyu sondajıyla elde edilen su kullanıldı. Her grup 20 hayvandan oluşacak şekilde 3 grup oluşturuldu. Deney 150 litre hacimli cam akvaryumlarda gerçekleştirildi. Ve her grubun bırakıldığı akvaryumda 100 ml su bulunduruldu. Hayvanlar deneme müddetince standart yem ile beslenmeye tabi tutuldu. Kurbağalar deneme boyunca 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık gün ışığı periyodunda ve 18–20 °C su sıcaklığında barındırıldı.

Analizlerde kullanılan cihaz ve malzemeler: Shimadzu UV/VIS-1201 spektrofotometre, Nüve NM 110 vorteks, Gerhaeld çalkalayıcı, Bosch S 2000 hassas terazi, sıcak su sanyosu BM 101 Nüve, otomatik pipet Socorex Swiss, uğur derin dondurucu, Orion pH metre 420 A, BHG Hermle Z 320 K soğutmalı santrifüj (14.000 rpm), Harris derin dondurucu (-80 °C), Chyo JI-180 dijital terazi, Ultrasonic processor homojenizatör, Whatman süzgeç kağıdı No.42.

Analizlerde kullanılan kimyasal maddeler: Süperoksit dismutaz (SOD) ve Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) enzim kiti; Randox-Ransel, Redükte glutasyon (GSH); Boehringer-Mannheim, Metafosforik asit; Merck, Bütillenmiş hidroksitolüen (BHT); Sigma, Tiyobarbitürik asit (TBA); Sigma, 1.1.3.3.tetraethoksiopropan (MDA); Sigma, 5'-Ditiobis 2- nitrobenzoik asit (DTNB); Sigma, Triklor asetik asit (TCA); Merck, Sükroz; Sigma, Sodyum klorür (NaCl); Merck, Sodyum hidroksit (NaOH); Merck, Disodyum hidrojen fosfat (Na₂HPO₄); Merck, Sodyum dihidrojen fosfat (NaH₂PO₄); Merck, Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA); Merck, Sodyum sitrat; Merck,

Sulfosalisilik asit (SSA); Merck, Askorbik asit; Merck, Glioksilik asit; Sigma, Nitrik asit; Merck, Tris (Hidroksi metil amino metan hidroklorit tris HCl); Sigma, Sodyum sülfat; Proses Kimya San. Kullanılan pestisit fenthion Bayer Türk Kimya San. LTD. ŞTİ' nin ürettiği lebaycid isimli ilacın etken maddesi olarak, piyasadan satın alınmıştır.

3.2. Kimyasal Maddelerin Muamelesi

Biri kontrol olmak üzere kimyasal için her grupta 20 kurbağa bulunacak şekilde 3 grup oluşturuldu. Kullanılan pestisit 10 ve 20 mg/L lik (10 ve 20 ppm) olmak üzere kurbağaların iki farklı dozdaki yaşam ortamı çözeltileri hazırlandı. Her gruptaki kurbağalar 24, 48, 72 ve 96 saat'lik periyotlarla adı geçen pestisite maruz bırakıldı. Kontrol grubuna bütün şartlar aynı kalmak şartıyla herhangi bir kimyasal ilave edilmedi. Hayvanlar bu ortam sularında 24, 48, 72 ve 96 saatlik sürelerle uygulamaya tabi tutuldu.

3.3. Doku Örneklerinin Alınması

Deneme sonunda 24, 48, 72 ve 96 saat kimyasala maruz bırakılan kurbağaların karaciğer, böbrek, kalp ve beyin dokuları alındıktan sonra fizyolojik suyla yıkanıp kurutma kağıdıyla kurutuldu ve analizlerin yapılacağı zamana kadar derin dondurucuda (-80°C) muhafaza edildi. Doku antioksidan ve malondialdehit tayini için doku ekstraksiyonları gerçekleştirildi (Xia ve ark., 1994). Redükte glutasyon tayini, aynı gün taze dokularda gerçekleştirildi. Doku antioksidan enzimleri ve malondialdehit analizleri ise elde edilen doku homojenizatlarında daha sonra yapıldı.

3.4. Doku Ekstraksiyon İşlemlerinin Gerçekleştirilmesi

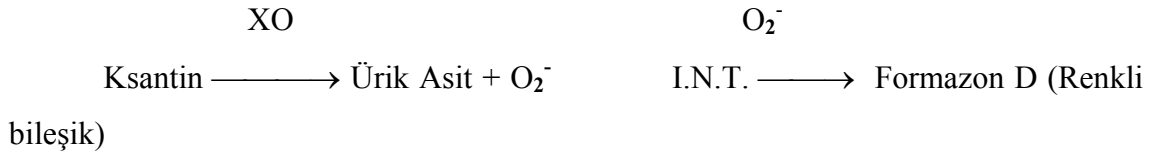
Muamele sonrası kurbağaların karaciğer, böbrek, kalp ve beyin dokuları çıkartılarak sıvı azotta dondurularak, derin dondurucuda (-80°C) analiz zamanına kadar saklandı. Dokularda antioksidan enzim ve malondialdehid tayinleri için doku ekstraksiyon işlemi aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi (Xia ve ark., 1994; Marklund, 1990). Ekstraksiyon için 0.32 mol/L sukroz, 1mmol/L EDTA. 10 nm/L Tris HCl (pH

7.4) içeren tampon hazırlanarak 300 mg dokular 25 ml'lik cam beherlerde Chyo JI-180 dijital terazide tartıldı ve üzerine 1.5 ml soğuk tampon eklendi. Dokular cam bagetle iyice ezilerek Ultrasonic Processor homojenizatörde 5 dakika homojenize edildi. Ekstrakt hemen +4 °C'de 30 dakika 9000 g'de BHG Hermle soğutmalı santrifüj cihazında +4 °C'de santrifüj edildi. Karaciğer, böbrek, kalp ve beyin dokusundan elde edilen berrak süpernatantlarda SOD enzim aktivite tayini Randox-Ransod enzim kiti ile gerçekleştirilerek (Randox Lab., 2008), hesaplama için aynı grafik kullanıldı.

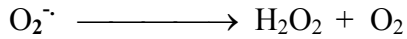
3.5. Analizlerin Yapılması

3.5.1. Süperoksid Dismutaz (SOD) enzim tayini

Prensip: Süperoksid dismutazın rolü, oksidatif enerji basamağında üretilen toksik süperoksid radikalini (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) dismutasyonunu hızlandırmaktır. Bu metotla aşağıdaki formülde görüldüğü gibi ksantin ve ksantin oksidaz kullanılarak süperoksid radikali, 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride (INT) ile kırmızı boya formuna dönüşür. SOD aktivitesi, bu reaksiyonun inhibisyon derecesi ile ölçülür. (Fhole ve Otting, 1984; Xia ve ark., 1994).



SOD



Ayırıcılar

Konsantrasyonları

1.Substrat karışımı

Ksantin	0.05 mmol/l
I.N.T.	0.025 mmol/l

2.Tampon

CAPS	50 mmol/l pH 10.2
EDTA	0.94 mmol/l

3.Ksantin oksidaz

80 U/l

4.Standart

5.70/ml

Deneyin yapılışı: SOD enzim aktivitesi Randox-Ransod enzim kiti ile Shimadzu UV/VIS-1201 spektrofotometrede 505 nm'de 37 °C'de ölçüldü. Analiz materyali olarak daha önce hazırlanan ve analiz zamanına kadar -20 °C' de derin dondurucuda muhafaza edilen ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirilmiş doku örnekleri kullanıldı. Doku örneklerinden 10 µl alınarak 2500 µl 0.01 M fosfat tamponu (pH = 7.0) ilave edilerek 251 katı sulandırılacak (F=251). İnhibisyonun % 30-60 arası olması sağlanarak küvete aşağıdaki ayıracılar pipetlendi.

	Ayıraç Körü	Standart	Sulandırılmış Örnek
Sulandırılmış Örnek	-	-	20 µl
Standart	-	20 µl	-
Fosfat Tamponu	20 µl	-	-
Substrat karışımı	680 µl	680 µl	680 µl

İçerik karıştırılacak ve ilk absorbans A_1 30 saniye sonra okunacak ve eş zamanlı olarak zaman başlatıldı. Son absorbans A_2 3 dakika sonra okundu.

Hesaplama : Spektrofotometreden alınan optik dansite sonuçları aşağıdaki denklemde yerine konarak SOD enzimi % inhibisyonları hesaplandı.

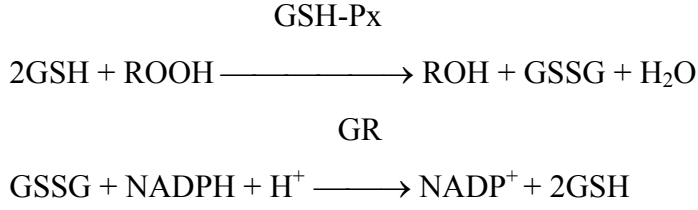
$$100 - \frac{(\Delta A_{\text{StdDk}} \cdot x 100)}{(\Delta A_{\text{Blank Dk.}})} = \% \text{ İnhibisyon}$$

$$100 - \frac{(\Delta A_{\text{ÖrnekDk}} \cdot x 100)}{(\Delta A_{\text{Blank Dk.}})} = \% \text{ İnhibisyon}$$

SOD enzim aktivitesinin hesaplanması için, standart grafiği elde edildi. Grafikten elde edilen $y = 0.0016x^2 + 0.298 - 0.05x$ ($y = U / \text{mg}$, $x = \% \text{ inhibisyon}$, $r = 0.88$, $r^2 = 0.93$, $p < 0.02$) formülü ile SOD aktivitesi U/ml tüm dokuda hesaplanarak, sulandırma faktörü ile çarpıldı.

3.5.2. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzim tayini

Prensip: Glutatyon peroksidaz (GSH-Px), formülde görülen kumen hidroksidin ile indirgenmiş glutatyonu (GSH) okside eden reaksiyonunu katalizler. Ortamda glutatyon redüktaz (GR) ve nikotin adenin dinükleotid fosfat hidrojen (NADPH) var ise yükseltgenmiş glutatyon (GSSG), NADPH'ın NADP'ye oksidasyonu ile GSH'a indirgenir (Fhole ve Günzler, 1984).



Ayıraçlar	Konsantrasyonları
1.Ayıraç	
Glutatyon	4.0 mmol/l
G.Reduktaz	≥ 0.5 U/l
NADPH	0.28 mmol/l
2.Tampon	
Fosfat	0.05 mol/l pH 7.2
EDTA	4.3 mmol/l
3.Kumen Hidroperoksit	0.18 mmol/l
4.Sulandırma Ayırıcı	

Deneyin yapılışı: Glutatyon peroksidaz enzim aktivitesi, Randox-Ransel enzim kitleri ile Shimadzu UV/VIS-1201 spektrofotometrede 340 nm'de ultraviyole metotla 37 °C'de ölçüldü. (Randox Lab., 2009). Analiz materyali olarak daha önce hazırlanan ve analiz zamanına kadar -20 °C' de derin dondurucuda muhafaza edilen ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirilmiş doku örnekleri kullanıldı. Analiz için Doku örneklerinden 10 µl alınarak 2 ml sulandırma ayırıcı ile sulandırıldı. (F = 201). Küvete aşağıdaki ayıraçlar pipetlendi.

Ayıraç Körü

Sulandırılmış Örnek

Sulan. Örnek	-----	15 µl
Distile Su	15 µl	-----
Ayıraç	750 µl	750 µl
Kümen	30 µl	30 µl

Küvetler karıştırılarak, örnek ve körün absorbansları 1 dakika sonra okundu. Zaman başlatılmasından, 1 ve 2 dakika sonra absorbanslar tekrar okunarak dakika absorbans değişimi hesaplandı.

Hesaplama: U/l Hemolizat = $8412 \times \Delta A_{340 \text{ nm}} / \text{dakika}$. Örnek ve körün U/l tüm doku sonuçları hesaplanarak, örnek değeri (U/l), kör değerden (U/l) çıkarıldı. Örnek sonuç değeri (U/l), sulandırma faktörü ($F = 201$) ile çarpıldı ve sonuçlar ml'ye çevrildi. Örnek GSH-Px aktivitesi, U/g doku türünden hesaplandı.

3.5.3. Glutasyon -S-transferaz (GST) enzim tayini

Glutasyon -S- Transferaz her biri iki alt birimden oluşmuş (dimerik) bir enzim ailesi olup ilk defa 1961 yılında tanımlandı. Ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda önemli rol almalarından dolayı biyokimyacılara ilaveten genetikçiler, klinisyenler, farmakolojistler ve toksikolojistlerin ilgisini çeken bir enzimdir. Başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı GST'lar selenyum-bağımsız GSH peroksidaz aktivitesi göstererek bir savunma mekanizması oluştururlar (Akkuş, 1995).



Analiz materyali olarak daha önce hazırlanan ve analiz zamanına kadar -80°C ' de derin dondurucuda muhafaza edilen ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirilmiş doku örnekleri kullanıldı. 3 ml kuvartz küvette, 340 nm de absorbans ölçümü gerçekleştirildi. Absorbanslar 3 dakika boyunca 15 saniyede bir kaydedildi. Absorbans aralığındaki değişimin Lineer olduğu kısımdan dakika başına absorbans değişimi tespit edilerek aşağıdaki formülden EU hesaplandı ($\text{EU} = 3 (A / 9.6)$). Aşağıdaki tabloda yer alan miktarlar uygun şekilde karıştırılarak ölçüm yapıldı (Habig ve Jakoby 1981).

	Kör	Numune	Son Konsantrasyon
PBS	2.7 ml	2.7 ml	0.1 M
Distile Su	0.1 ml		
CDNB	0.1 ml	0.1 ml	1 mM
GSH	0.1 ml	0.1 ml	1 mM
Süpernatant		0.1 ml	

3.5.4. Redükte glutatyon (GSH) tayini

Prensip: Dokulardan elde edilen süpernatantlar, yani ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirilmiş dokunun hazırlanan homojenatında, sülfidril (SH) taşımayan tüm proteinler çöktürücü (presipitasyon) çözelti ile çöktürüldü. İndirgenmiş glutatyon (GSH), elde edilen berrak sıvıda sülfidril gruplarının DTNB (5,5'-(2-ditiobis) nitrobenzoik asit) ile reaksiyonu sonucu sarı rengin oluşumu ile ölçüldü. Dokularda indirgenmiş glutatyon seviyesi (GSH), Shimadzu UV/VIS-1201 Spektrofotometre’de 412 nm’de gerçekleştirildi. (Beutler ve ark., 1963; Rizzi ve ark., 1988).

Ayırıcılar: 1. Çöktürücü Çözelti: 1.67 g metafosforik asit, 0.2 g EDTA (disodyum etilen diamin tetraasetik asit), 30 g NaCl 100 ml’ye distile suda eritilerek tamamlandı.

2. Fosfat Çözeltisi: 0.3 M disodyum fosfat distile su ile hazırlandı.

3. DTNB (Ellman's Ayırıcı): 40 mg DTNB (5,5'-(2-ditiobis) nitrobenzoik asit), %1 sodyum sidrat, 100 ml’ye distile su ile tamamlandı.

Deneyin yapılışı: süpernatanttan 200 µl alındı. Üzerine 1.8 ml distile su eklenerek hemoliz gerçekleştirildi. 3 ml çöktürücü çözelti ile hemolizat karıştırıldı. 5 dakika bekleme sonrası, karışım watman süzgeç kağıdından (N.42) süzüldü. Örnek numuneden elde edilen süpernatantın 2 ml’si başka tüpe aktarıldı. Üzerine 8 ml fosfat çözeltisi, 1ml DTNB ayırıcı eklendi. Blank için 2 ml çöktürücü çözeltisi (3 kısım çöktürücü çözelti + 2 kısım distile su), 8 ml fosfat çözeltisi ve 1 ml DTNB ayırıcı tüpe alınarak hazırlandı. Standart için, 40 mg GSH çözeltisi taze olarak hazırlandı. Shimadzu UV/VIS-1201 spektrofotometrede 412 nm’de blanka karşı standart numunelerin optik

dansiteler okundu. Sonuçlar mg/g doku olarak hesaplandı. (Beutler ve ark., 1963; Rizzi ve ark., 1988).

3.5.5. Lipid peroksidasyonu (MDA) tayini

Prensip: Yağ asitlerinin, serbest radikallerle reaksiyonu sonucu oluşan peroksidasyon ürünlerinden malondialdehid, tiyobarbiturik asit ile renkli forma girmesi ile ölçülür. (Slater, 1984; Sushil ve ark., 1989).

Ayırıcılar

1. EDTA Çözeltisi (0.1 M) : 37.224 g EDTA- $\text{Na}_2\text{H}_2\text{O}$ 1 litre distile suda eritilir.
2. BHT Çözeltisi (%88) : 0.220 g BHT 25 ml mutlak alkolde çözündürülür.
3. NaOH Çözeltisi (0.05 N) : 2 g NaOH 1 litre distile suda eritilir.
4. TBA Çözeltisi (%1) : 1 g TBA 100 ml'ye 0.05 N NaOH ile tamamlanır.
5. TCA (% 30) : 30 g TCA 100 ml distile suda eritilir.
6. Fosfat Tamponu : 8.1 g NaCl, 2.302 g Na_2HPO_4 , 0.194 g NaH_2PO_4

yaklaşık 900 ml distile suda çözülerek pH'sı 7.4 'e ayarlanır. Son hacim 1 litreye tamamlanır.

Deneyin yapılışı: Lipid peroksidasyon ürünü malondialdehid seviyesi, tiyobarbitürik asit (TBA) reaktifi ile renk reaksiyonu sonucu Shimadzu UV/VIS-1201 spektrofotometrede maksimum 532 absorbanslar ölçüldü.

Bir tüpe ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirilmiş doku örneklerinden (berrak süpernatanttan) 200 µl alınarak üzerine 800 µl fosfat tamponu ve 25 µl BHT ile süspanse edildi. Sonra 500 µl % 30'luk TCA eklendi. Tüpler vorteksle karıştırılarak 2 saat -20 °C'de buzda tutuldu. Sonra 15 dakika 2000 rpm'de santrifüj edildi. Süpernatantın 1 ml'si alınarak başka tüplere aktarıldı. Bunların üzerine 75 µl EDTA- $\text{Na}_2\text{H}_2\text{O}$, 250 µl TBA eklendi. Tüpler vorteksle karıştırıldı ve 15 dakika sıcak su banyosunda (+90°C) tutuldu. Sonra oda ısısına getirilerek 532 nm'de optik dansiteleri okundu. Ekstraksiyon katsayısından ($1.56 \cdot 10^5 \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{M}^{-1}$) yararlanılarak nmol/g dokuda MDA miktarı hasaplandı. (Slater, 1984; Sushil ve ark., 1989).

$$A = a \times b \times c$$

A = Absorbans a = Ekstinksiyon katsayısı

b = Işık yolu c = Konsantrasyon

$$1. \text{Sulandırma} : 0.2 + 0.8 + 0.025 + 0.5 = 1.525 / 0.2 = 7.625$$

$$2. \text{Sulandırma} : 1 + 0.075 + 0.25 = 1.325 / 1 = 1.325$$

$$\text{Sonuç} = 7.625 \times 1.325 = 10.103125 = F$$

$$c = A/a \times b = (A/\text{mol} \times \text{cm}) / 1.56 \times 10^5 \times \text{lt}) \times (1/\text{cm}) \times (10^9 \text{ nM/mol}) \times (\text{lt}/10^3 \times \text{ml})$$

$$c = A \times 1 \times F \times 10 / 1.56 = \text{nmol} / \text{g doku}$$

3.6. İstatistiksel Analizler

Ortalama ve standart sapma ($X \pm SD$) hazır program (Minitab for Windows) kullanarak standart metotlara göre, grup ortalamaları arasındaki fark ise ANOVA (One way Unstaced) testi kullanılarak ortaya konmuştur. Önem derecesi bütün testler için $p \leq 0.05$ olarak kabul edildi.

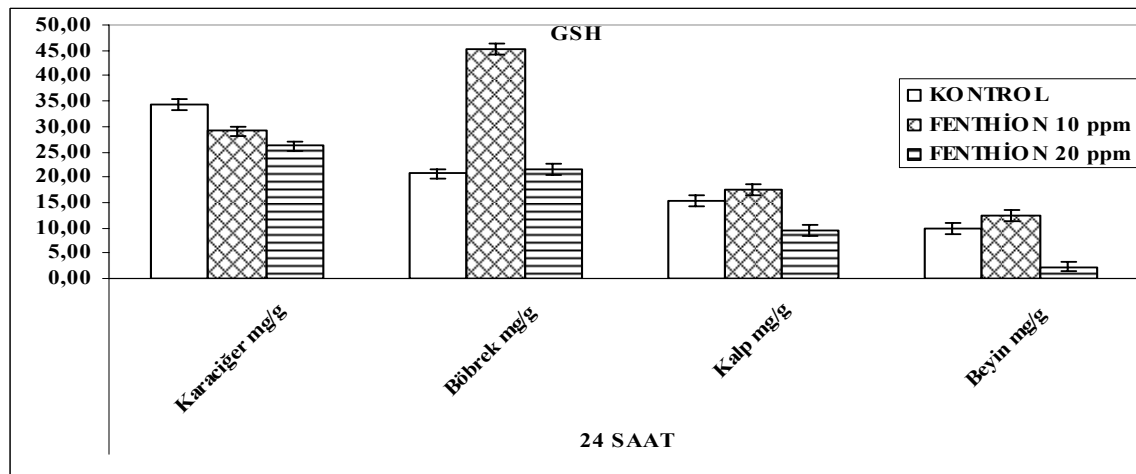
4. BULGULAR

Altmış adet su kurbağası (*Rana ridibunda*) 3 deney grubuna ayrıldı. Bu gruplardan biri kontrol diğerleri ise fenthionun 10 ppm ve fenthion 20 ppm'lik dozlarına maruz kalan kurbağalardan oluşturuldu. 150 litrelik akvaryumlarda tutulan kurbağalardan sırasıyla 24. 48. 72. ve 96. saat sonrası beşer balık çıkarıldı ve analizler yapıldı. Fenthionun farklı dozlarına maruz bırakılan su kurbağasının çeşitli dokulardaki lipid peroksidasyon düzeyi ile antioksidan savunma sistemini üzerine farklı etkilere neden oldukları gözlemlendi.

Çizelge 4.1. 24 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GSH düzeyleri

		GSH		
Periyot	Doku	KONTROL X ± SD	10 ppm X ± SD	20 ppm X ± SD
24 saat	Karaciğer mg/g	34,29±6,64	29,03±3,62	26,10±3,69
	Böbrek mg/g	20,64±4,86	45,21±9,65*	21,48±6,81
	Kalp mg/g	15,38±1,94	17,55±0,86*	9,43±1,54*
	Beyin mg/g	9,88±0,96	12,37±0,06*	2,31±0,03*

* Kontrol grubuna göre istatistiki açıdan anlamlıdır ($p \leq 0.05$).



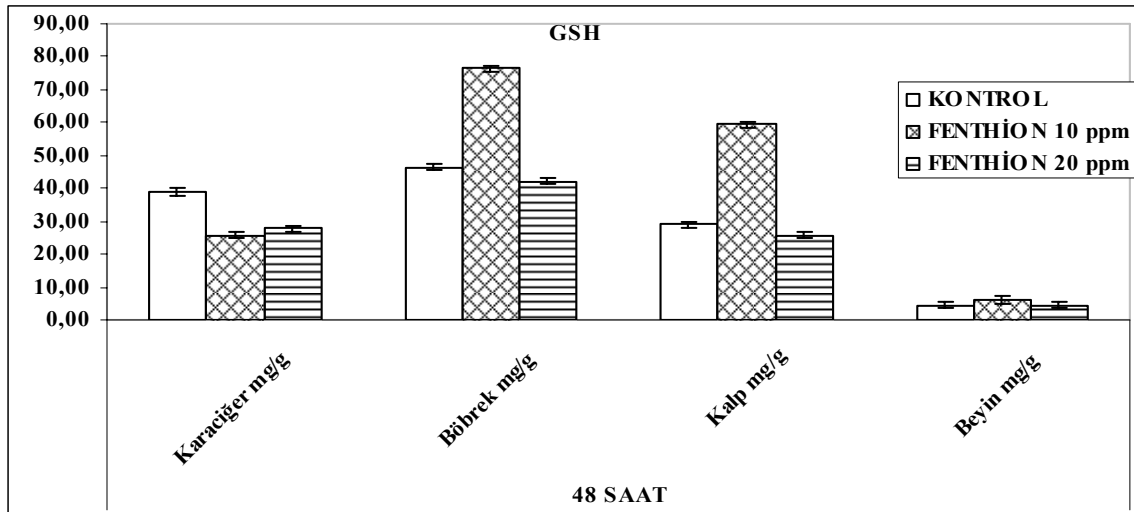
Şekil 4.1. 24 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularındaki GSH düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.1.'de sunulduğu gibi, 24 saat sonunda istatistik ortalamaları glutatyon (GSH mg/g) için karaciğer dokusunda, kontrol, 10 ppm ve 20 ppm gruplarında sırasıyla 34.29 ± 6.64 , 29.03 ± 3.62 , 26.10 ± 3.69 , böbrek dokusunda 20.64 ± 4.86 , 45.21 ± 9.65 , 21.48 ± 6.81 , kalp dokusunda 15.38 ± 1.94 , 17.55 ± 0.86 , 9.43 ± 1.54 , beyin dokusunda 9.88 ± 0.96 , 12.37 ± 0.06 , 2.31 ± 0.03 olarak bulundu. Bu sonuçlara göre kalp, karaciğer ve böbrek dokularında 10 ppm muamele sonunda önemli düzeyde artarken, kalp ve beyinde 20 ppm lik muamele sonunda kontrol grubuna göre azalma anlamlı bulundu.

Çizelge 4.2. 48 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GSH düzeyleri

		GSH		
Periyot	Doku	KONTROL X $\pm$ SD	10 ppm X $\pm$ SD	20 ppm X $\pm$ SD
48 saat	Karaciğer mg/g	39,00 $\pm$ 6,49	25,69 $\pm$ 2,46*	27,68 $\pm$ 5,68*
	Böbrek mg/g	46,50 $\pm$ 3,73	76,38 $\pm$ 2,96*	42,12 $\pm$ 2,23
	Kalp mg/g	29,06 $\pm$ 1,71	59,33 $\pm$ 10,79*	25,76 $\pm$ 9,59
	Beyin mg/g	4,50 $\pm$ 0,07	6,11 $\pm$ 0,20*	4,52 $\pm$ 0,03

* Kontrol grubuna göre istatistiki açıdan anlamlıdır ($p \leq 0.05$).



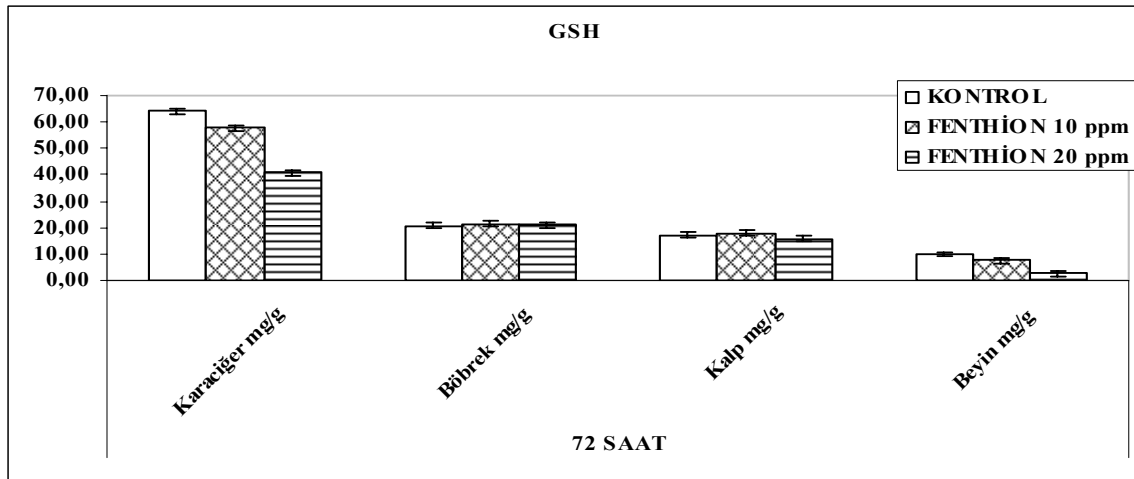
Şekil 4.2. 48 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularındaki GSH düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.2.'de sunulduğu gibi, 48 saat sonunda istatistik ortalamaları glutatyon (GSH mg/g) için karaciğer dokusunda, kontrol, 10 ppm ve 20 ppm gruplarında sırasıyla 39.00 ± 6.49 , 25.69 ± 2.46 , 27.68 ± 5.68 , böbrek dokusunda 46.50 ± 3.73 , 79.48 ± 8.59 , 55.97 ± 21.70 kalp dokusunda 29.06 ± 1.71 , 59.33 ± 10.79 , 25.76 ± 9.59 , beyin dokusunda 4.50 ± 0.07 , 6.11 ± 0.20 , 4.52 ± 0.03 olarak bulundu. Böbrek, kalp ve beyin dokularında 10 ppm doz uygulaması sonunda önemli artış olurken 10 ve 20 ppm lik uygulama sonunda karaciğer dokusunda azalış anlamlı olduğu belirlendi.

Çizelge 4.3. 72 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GSH düzeyleri

		GSH		
Periyot	Doku	KONTROL X $\pm$ SD	10 ppm X $\pm$ SD	20 ppm X $\pm$ SD
72 saat	Karaciğer mg/g	64,12 $\pm$ 6,73	57,64 $\pm$ 11,46	40,81 $\pm$ 7,63*
	Böbrek mg/g	20,63 $\pm$ 2,23	21,56 $\pm$ 7,67	20,99 $\pm$ 7,47
	Kalp mg/g	17,22 $\pm$ 0,24	17,81 $\pm$ 5,13	15,90 $\pm$ 2,43
	Beyin mg/g	9,87 $\pm$ 0,42	7,48 $\pm$ 1,13	2,69 $\pm$ 0,21*

* Kontrol grubuna göre istatistiki açıdan anlamlıdır ($p \leq 0.05$).



Şekil 4.3. 72 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GSH düzeylerinin karşılaştırılması.

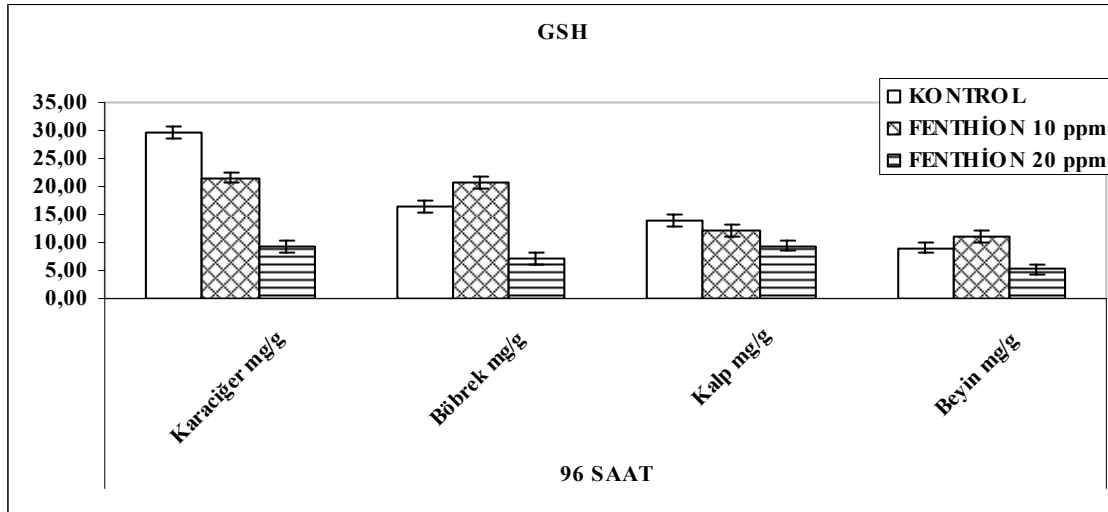
Çizelge 4.3.'de sunulduğu gibi, 72 saat sonunda istatistik ortalamaları glutatyon (GSH mg/g) için karaciğer dokusunda kontrol, 10 ppm ve 20 ppm'lik gruplarında sırasıyla $64,12 \pm 6,73$, $57,64 \pm 11,46$, $40,81 \pm 7,63$, böbrek dokusunda $20,63 \pm 2,23$, $21,56 \pm 7,67$, $20,99 \pm 7,47$, kalp dokusunda $17,22 \pm 0,24$, $17,81 \pm 5,13$, $15,90 \pm 2,43$, beyin

dokusunda 9.87 ± 0.42 , 7.48 ± 1.13 , 2.69 ± 0.21 olarak bulundu. Bu periyodun 20 ppm lik grubun beyin dokusundaki azalışın istatistikî açıdan kontrol grubuna göre anlamlı olduğu belirlendi.

Çizelge 4.4. 96 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GSH düzeyleri

		GSH		
Periyot	Doku	KONTROL X $\pm$ SD	10 ppm X $\pm$ SD	20 ppm X $\pm$ SD
96 saat	Karaciğer mg/g	29.71 $\pm$ 3.25	21.57 $\pm$ 3.12*	9.23 $\pm$ 3.67*
	Böbrek mg/g	16.35 $\pm$ 0.80	20.61 $\pm$ 5.35	7.09 $\pm$ 2.86*
	Kalp mg/g	13.96 $\pm$ 3.97	12.20 $\pm$ 4.22	9.44 $\pm$ 2.6*
	Beyin mg/g	9.09 $\pm$ 0.55	11.11 $\pm$ 4.08	5.18 $\pm$ 0.13*

* Kontrol grubuna göre istatistiki açıdan anlamlıdır ($p \leq 0.05$).



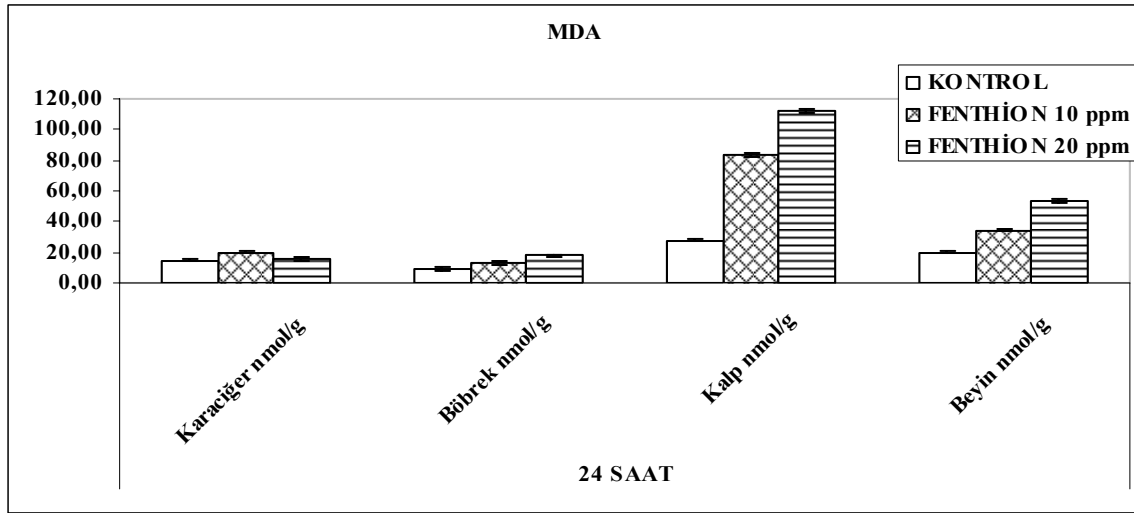
Şekil 4.4. 96 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GSH düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.4.'de sunulduğu gibi, 96 saat sonunda istatistik ortalamaları glutatyon (GSH mg/g) için karaciğer dokusunda, kontrol, Fenthion 10 ve Fenthion 20 ppm'lik gruplarında sırasıyla, 29.71 $\pm$ 3.25, 21.57 $\pm$ 3.12, 9.23 $\pm$ 3.67, böbrek dokusunda 18.67 $\pm$ 3.42, 20.61 $\pm$ 5.35, 17.86 $\pm$ 13.02, kalp dokusunda, 13.96 $\pm$ 3.97, 12.20 $\pm$ 4.22, 9.44 $\pm$ 2.6, beyin dokusunda 9.09 $\pm$ 0.55, 11.11 $\pm$ 4.08, 5.18 $\pm$ 0.13 olarak bulundu. Karaciğer dokusunun 10 ppm lik ve 20 ppm lik dozuna maruz bırakılan tüm doku örneklerindeki azalışlar kontrol grubuna göre önemli olduğu belirlendi.

Çizelge 4.5. 24 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında MDA düzeyleri

		MDA		
Periyot	Doku	KONTROL X ± SD	10 ppm X ± SD	20 ppm X ± SD
24 saat	Karaciğer nmol/g	14,76±2,91	20,07±7,13	15,67±4,25
	Böbrek nmol/g	8,93±2,11	13,08±0,96*	17,74±6,64*
	Kalp nmol/g	27,97±3,95	83,54±13,31*	112,30±23,87*
	Beyin nmol/g	19,94±2,01	34,32±1,02*	53,23±3,31*

* Kontrol grubuna göre istatistiki açıdan anlamlıdır ($p \leq 0.05$).



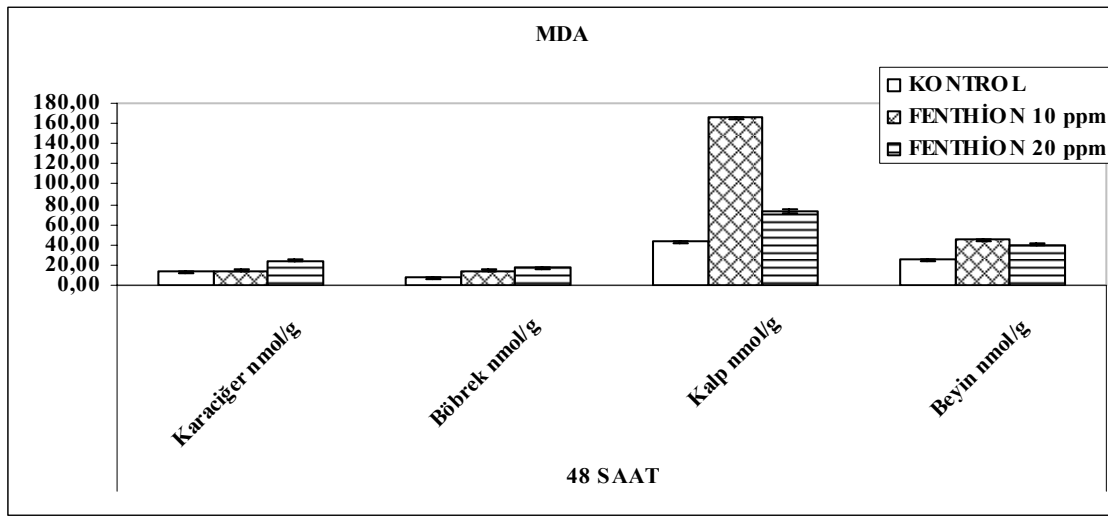
Şekil 4.5.24 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında MDA düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.5.'de sunulduğu gibi, 24 saat sonunda istatistik ortalamaları Malondialdehit (MDA nmol/g) için karaciğer dokusunda, kontrol, 10 ppm ve 20 ppm'lik gruplarında sırasıyla, 14,76±2,91, 20,07±7,13, 15,67±4,25, böbrek dokusunda, 8,93±2,11, 13,08±0,96, 17,74±6,64, kalp dokusunda, 27,97±3,95, 83,54±13,31, 112,30±23,87, beyin dokusunda 19,94±2,01, 34,32±1,02, 53,23±3,31 olarak bulundu. Bu sonuçlara göre; Karaciğer dışındaki tüm dokularının 10 ve 20 ppm lik dozlara maruz bırakılması sonunda MDA düzeyinde istatistikî açıdan anlamlı olduğu belirlendi.

Çizelge 4.6. 48 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında MDA düzeyleri

		MDA		
Periyot	Doku	KONTROL X ± SD	10 ppm X ± SD	20 ppm X ± SD
48 saat	Karaciğer nmol/g	13,40±2,78	14,37±3,50	23,96±8,98*
	Böbrek nmol/g	7,90±1,97	14,63±2,27*	16,83±7,70*
	Kalp nmol/g	42,61±5,22	165,79±29,38*	73,18±17,29*
	Beyin nmol/g	25,12±3,95	45,46±9,75*	39,89±3,70*

* Kontrol grubuna göre istatistiki açıdan anlamlıdır ($p \leq 0.05$).



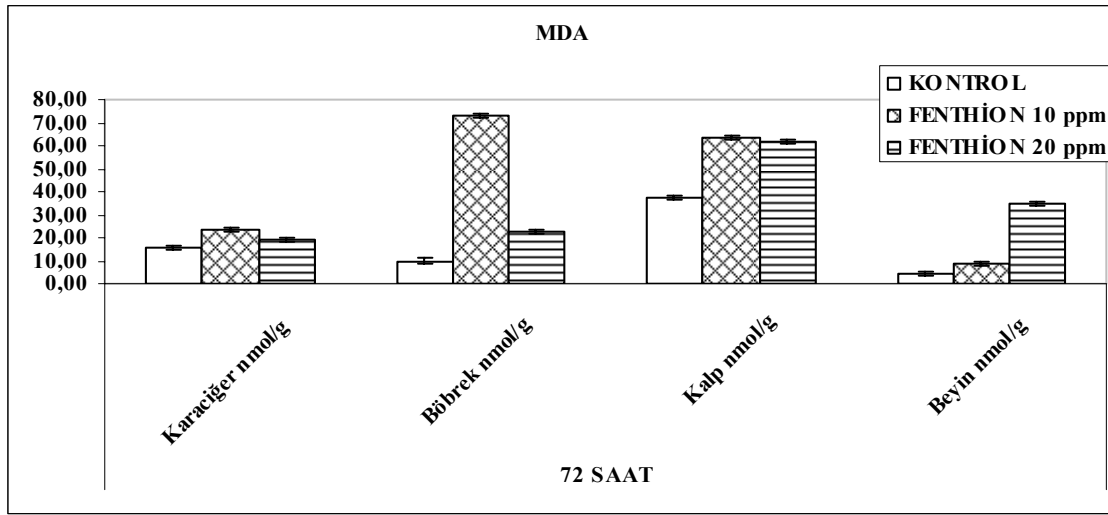
Şekil 4.6. 48 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında MDA düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.6.'de sunulduğu gibi, 48 saat sonunda istatistik ortalamaları Malondialdehit (MDA nmol/g) için karaciğer dokusunda, kontrol, Fenthion 10 ppm ve Fenthion 20 ppm gruplarında sırasıyla 13,40±2,78, 14,37±3,50, 23,96±8,98, böbrek dokusunda 7,90±1,97, 14,63±2,27, 16,83±7,70, kalp dokusunda 42,61±5,22, 165,79±29,38, 73,18±17,29, beyin dokusunda 25,12±3,95, 45,46±9,75, 39,89±3,70 olarak bulundu. 10 ppm lik doza maruz bırakılan kurbağaların karaciğer dokusu dışında kalan dokuların hepsinde kontrol grubuna göre önemli artış olduğu tespit edildi.

Çizelge 4.7. 72 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında MDA düzeyleri

		MDA		
Periyot	Doku	KONTROL X ± SD	10 ppm X ± SD	20 ppm X ± SD
72 saat	Karaciğer nmol/g	15,80±1,45	23,18±4,76*	19,10±1,80
	Böbrek nmol/g	9,90±1,67	72,79±12,68*	22,79±5,92*
	Kalp nmol/g	37,30±8,83	63,59±9,40*	62,04±15,25*
	Beyin nmol/g	4,53±1,44	8,80±1,86*	34,84±6,01*

* Kontrol grubuna göre istatistiki açıdan anlamlıdır ($p \leq 0.05$).



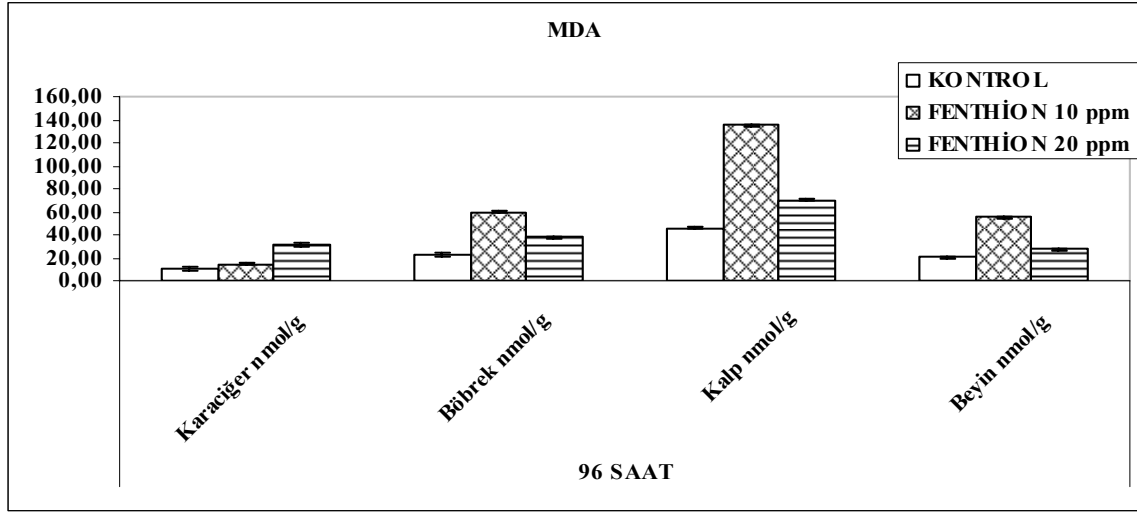
Şekil 4.7. 72 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında MDA düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.7.'de sunulduğu gibi, 72 saat sonunda istatistik ortalamaları Malondialdehit (MDA nmol/g) için karaciğer dokusunda, kontrol, 10 ppm ve 20 ppm'lik gruplarında sırasıyla, 15,80±1,45, 23,18±4,76, 19,10±1,80, böbrek dokusunda 9,90±1,67, 72,79±12,68, 22,79±5,92 kalp dokusunda 37,30±8,83, 63,59±9,40, 62,04±15,25, beyin dokusunda 4,53±1,44, 8,80±1,86, 34,84±6,01 olarak bulundu. Sonuçlara göre; 20 ppm'lik grubun karaciğer dokusu dışında kalan alınan örnek maruz bırakıldığı 10 ppm lik doz ile böbrek, kalp ve beyin dokularından alınan doku örneklerinin maruz bırakıldığı 10 ve 20 ppm lik dozlardaki dokuların değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı olduğu belirlendi.

Çizelge 4.8. 96 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında MDA düzeyleri

		MDA		
Periyot	Doku	KONTROL X ± SD	10 ppm X ± SD	20 ppm X ± SD
96 saat	Karaciğer nmol/g	10,49±2,91	14,50±2,65	31,21±7,62*
	Böbrek nmol/g	22,66±2,04	59,97±18,13*	37,95±10,47*
	Kalp nmol/g	45,98±7,53	135,09±31,73*	69,94±8,23*
	Beyin nmol/g	20,20±3,11	55,43±4,26*	27,07±2,72*

* Kontrol grubuna göre istatistiki açıdan anlamlıdır ($p \leq 0.05$).



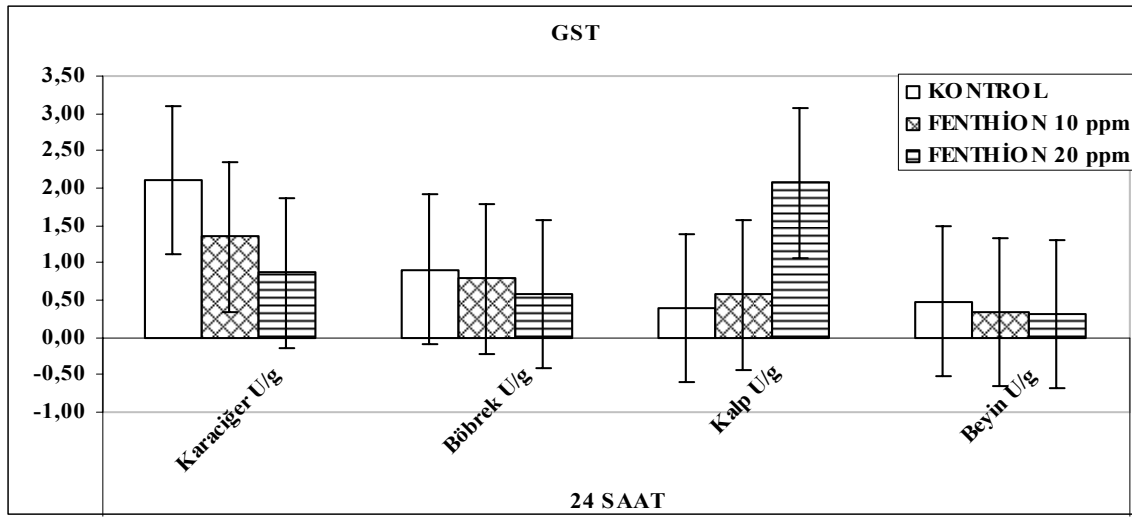
Şekil 4.8. 96 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında MDA düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.8.'de sunulduğu gibi, 96 saat sonunda istatistik ortalamaları Malondialdehit (MDA nmol/g) için karaciğer dokusunda, kontrol, 10 ppm ve 20 ppm'lik gruplarında sırasıyla 10,49±2,91, 14,50±2,65, 31,21±7,62, böbrek dokusunda 22,66±2,04, 59,97±18,13, 37,95±10,47, kalp dokusunda 45,98±7,53, 135,09±31,73, 69,94±8,23, beyin dokusunda 20,20±3,11, 55,43±4,26, 27,07±2,72 olarak bulundu. Karaciğer dokusundan alınan örneğin maruz bırakıldığı 20 ppm lik dozdaki, böbrek, kalp ve beyin dokularından alınan örneklerin maruz bırakıldığı 10 ve 20 ppm lik dozlardaki değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı olduğu belirlendi.

Çizelge 4.9. 24 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GST düzeyleri

		GST		
Periyot	Doku	KONTROL X ± SD	10 ppm X ± SD	20 ppm X ± SD
24 saat	Karaciğer U/g	2,11±0,38	1,35±0,64	0,87±0,22*
	Böbrek U/g	0,91±0,22	0,79±0,16	0,58±0,21*
	Kalp U/g	0,39±0,12	0,57±0,08*	2,07±0,48*
	Beyin U/g	0,48±0,08	0,34±0,01*	0,31±0,00*

* Kontrol grubuna göre istatistiki açıdan anlamlıdır ($p \leq 0.05$).



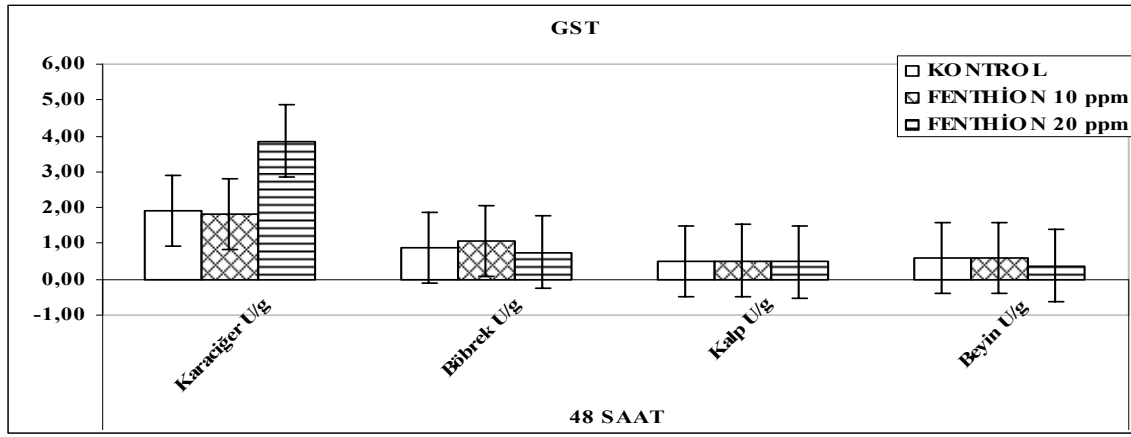
Şekil 4.9. 24 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GST enzim düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.9.'de sunulduğu gibi, 24 saat sonunda istatistik ortalamaları Glutatyon-S-transferaz (GST U/g) için karaciğer dokusunda, kontrol, Fenthion 10 ppm ve Fenthion 20 ppm gruplarında sırasıyla, 2,11±0,38, 1,35±0,64, 0,87±0,22, böbrek dokusunda 0,91±0,22, 0,79±0,16, 0,58±0,21, kalp dokusunda 0,39±0,12, 0,57±0,08, 2,07±0,48, beyin dokusunda 0,48±0,08, 0,34±0,01, 0,31±0,00, olarak bulundu. 20 ppm lik doza maruz bırakıldığı grubun karaciğer ve böbrek dokularından alınan örnekler ile 10 ve 20 ppm lik dozlara maruz bırakılan grupların beyin dokusunda azalma görülürken, 10 ve 20 ppm lik dozlara maruz bırakılan grupların kalp dokusundaki kontrol grubuna göre anlamlı olduğu belirlendi.

Çizelge 4.10. 48 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GST enzim düzeyleri

		GST		
Periyot	Doku	KONTROL X ± SD	10 ppm X ± SD	20 ppm X ± SD
48 saat	Karaciğer U/g	1,92±0,27	1,82±0,98	3,86±1,09*
	Böbrek U/g	0,87±0,06	1,07±0,35	0,76±0,43
	Kalp U/g	0,51±0,12	0,52±0,11	0,48±0,12
	Beyin U/g	0,60±0,08	0,59±0,01	0,38±0,01*

* Kontrol grubuna göre istatistiki açıdan anlamlıdır ($p \leq 0.05$).



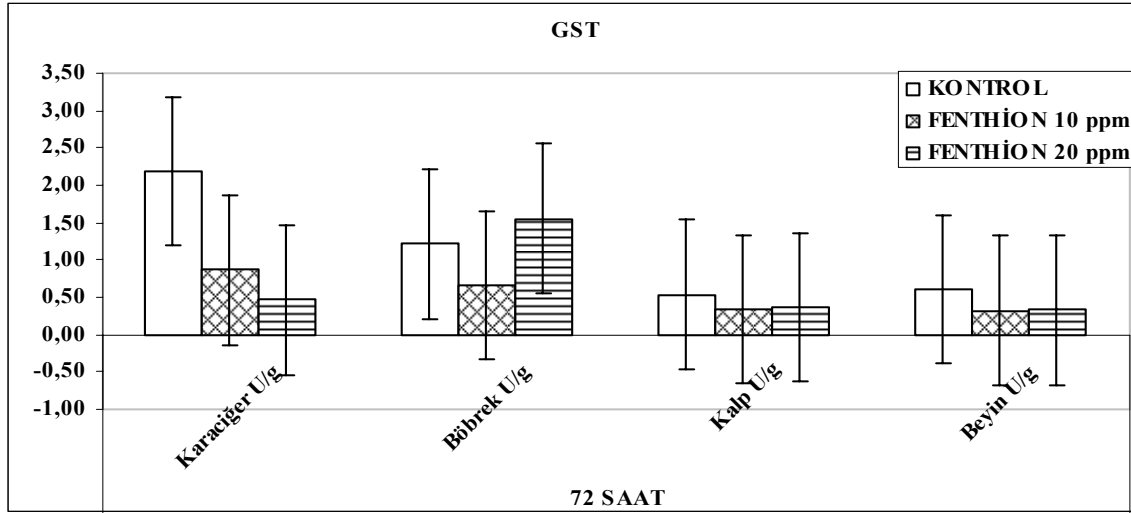
Şekil 4.10. 48 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GST enzim düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.10.da sunulduğu gibi, 48 saat sonunda istatistik ortalamaları Glutasyon-S-transferaz (GST U/g) için karaciğer dokusunda, kontrol, Fenthion 10 ppm ve Fenthion 20 ppm gruplarında sırasıyla, 1,92±0,27, 1,82±0,98, 3,86±1,09, böbrek dokusunda 0,87±0,06, 1,07±0,35, 0,76±0,43, kalp dokusunda 0,51±0,12, 0,52±0,11, 0,48±0,12, beyin dokusunda 0,60±0,08, 0,59±0,01, 0,38±0,01, olarak bulundu. Buna göre; 20 ppm lik doza maruz bırakılan grubun karaciğer ve beyin dokularının GST aktivitesinin arttığı diğer muamele ve dokularda herhangi bir değişikliğin olmadığı tespit edildi.

Çizelge 4.11. 72 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GST enzim düzeyleri

		GST		
Periyot	Doku	KONTROL	10 ppm	20 ppm
		X ± SD	X ± SD	X ± SD
72 saat	Karaciğer U/g	2,19±0,36	0,87±0,73*	0,46±0,23*
	Böbrek U/g	1,21±0,37	0,66±0,29*	1,55±0,29
	Kalp U/g	0,54±0,13	0,34±0,09*	0,37±0,05*
	Beyin U/g	0,61±0,04	0,32±0,01*	0,33±0,01*

* Kontrol grubuna göre istatistiki açıdan anlamlıdır ($p \leq 0.05$).



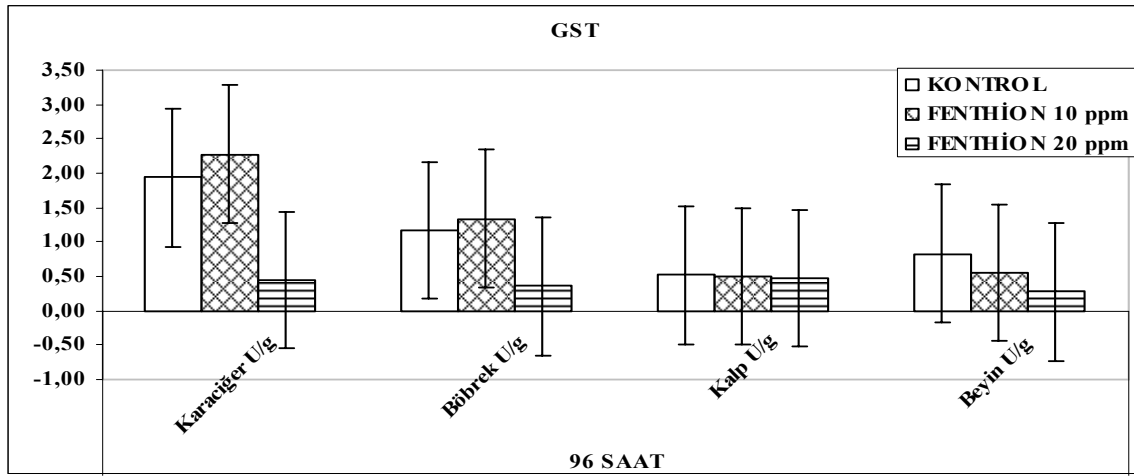
Şekil 4.11. 72 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GST enzim düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.11.'de sunulduğu gibi, 72 saat sonunda istatistik ortalamaları Glutasyon-S-transferaz (GST U/g) için karaciğer dokusunda, kontrol, Fenthion 10 ppm ve Fenthion 20 ppm gruplarında sırasıyla, 2,19±0,36, 0,87±0,73, 0,46±0,23, böbrek dokusunda 1,21±0,37, 0,66±0,29, 1,55±0,29, kalp dokusunda 0,54±0,13, 0,34±0,09, 0,37±0,05, beyin dokusunda 0,61±0,04, 0,32±0,01, 0,33±0,01, olarak bulundu. Bu sonuçlara göre; 20 ppm'lik grubun böbrek dokusu dışındaki diğer dokularda enzim aktivitesinde kontrol grubuna göre anlamlı azalma olduğu belirlendi.

Çizelge 4.12. 96 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GST enzim düzeyleri

		GST		
Periyot	Doku	KONTROL X ± SD	10 ppm X ± SD	20 ppm X ± SD
96 saat	Karaciğer U/g	1,94±0,58	2,28±0,73	0,45±0,35*
	Böbrek U/g	1,17±0,11	1,34±0,31	0,36±0,07*
	Kalp U/g	0,52±0,16	0,50±0,11	0,47±0,16
	Beyin U/g	0,83±0,17	0,55±0,01*	0,28±0,04*

* Kontrol grubuna göre istatistiki açıdan anlamlıdır ($p \leq 0.05$).



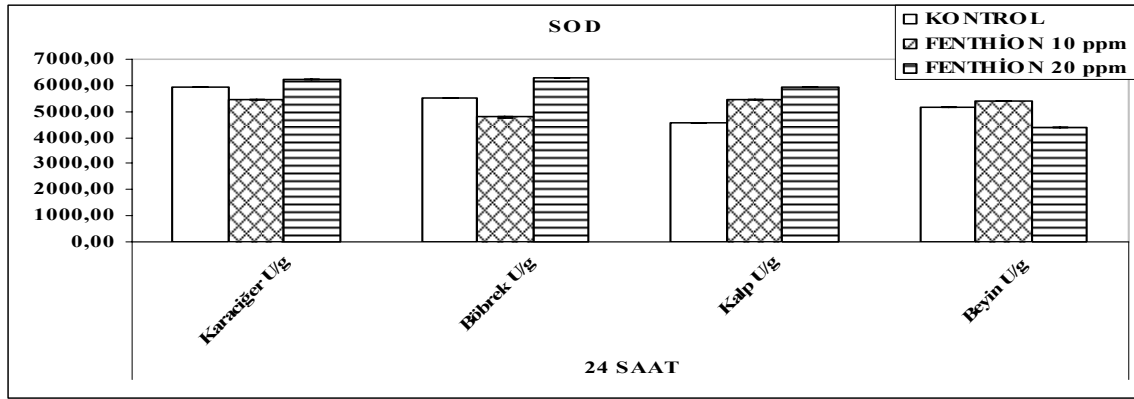
Şekil 4.12. 96 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GST enzim düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.12.'de sunulduğu gibi, 96 saat sonunda istatistik ortalamaları Glutatyon-S-transferaz (GST U/g) için karaciğer dokusunda, kontrol, Fenthion 10 ppm ve Fenthion 20 ppm gruplarında sırasıyla, 1,94±0,58, 2,28±0,73, 0,45±0,35, böbrek dokusunda 1,17±0,11, 1,34±0,31, 0,36±0,07, kalp dokusunda 0,52±0,16, 0,50±0,11, 0,47±0,16, beyin dokusunda 0,83±0,17, 0,55±0,01, 0,28±0,04, olarak bulundu. Buna göre; 10 ppm'lik dozun beğın dokusu ile 20 ppm lik dozun kalp dışındaki diğer dokularında kontrol grubuna göre anlamlı azalma olduğu bulundu.

Çizelge 4.13. 24 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında SOD enzim düzeyleri

		SOD		
Periyot	Doku	KONTROL	10 ppm	20 ppm
		X ± SD	X ± SD	X ± SD
24 saat	Karaciğer U/g	5944,44±220,32	5429,79±412,16*	6229,45±134,72*
	Böbrek U/g	5503,81±94,82	4776,39±584,75*	6307,24±14,76*
	Kalp U/g	4543,24±737,22	5475,22±231,37*	5923,66±48,96*
	Beyin U/g	5173,63±58,13	5420,32±44,58*	4404,64±141,27*

* Kontrol grubuna göre istatistiki açıdan anlamlıdır ($p \leq 0.05$).



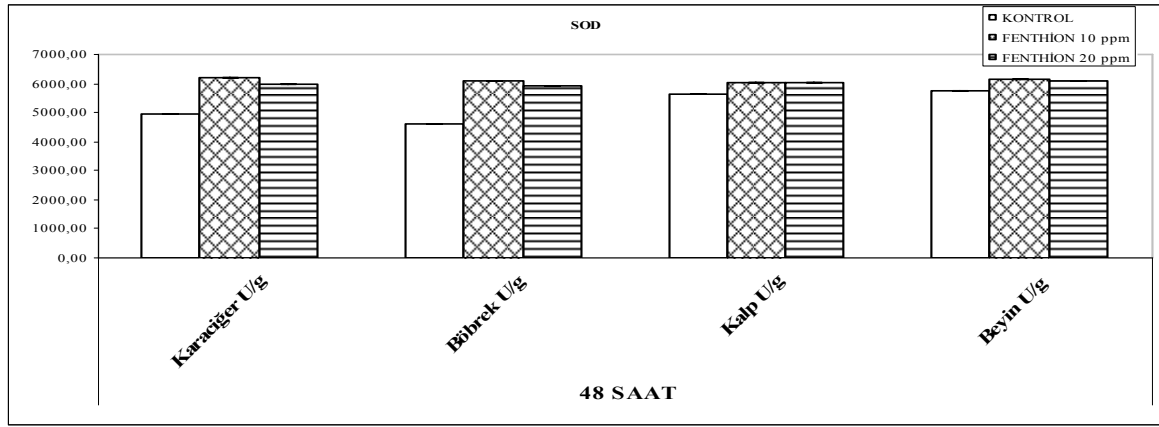
Şekil 4.13. 24 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında SOD enzim düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.13.'de sunulduğu gibi, 24 saat sonunda istatistik ortalamaları süperoksit dismutaz enzim aktivitesi (SOD U/g) için karaciğer dokusunda, kontrol, Fenthion 10 ppm ve Fenthion 20 ppm gruplarında sırasıyla, 5944,44±220,32, 5429,79±412,16, 6229,45±134,72, böbrek dokusunda 5503,81±94,82, 4776,39±584,75, 6307,24±14,76, kalp dokusunda 4543,24±737,22, 5475,22±231,37, 5923,66±48,96, beyin dokusunda 5173,63±58,13, 5420,32±44,58, 4404,64±141,27, olarak bulundu. Buna göre; 10 ppm'lik dozun karaciğer ve böbrek dokularında azalma olurken, diğer doku ve muamele grubunun tüm dokularında SOD aktivitesine artış meydana geldiği tespit edildi.

Çizelge 4.14. 48 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında SOD enzim düzeyleri

		SOD		
Periyot	Doku	KONTROL	10 ppm	20 ppm
		X ± SD	X ± SD	X ± SD
48 saat	Karaciğer U/g	4977,45±614,00	6218,42±58,16*	5973,02±94,71*
	Böbrek U/g	4594,38±1000,81	6115,78±127,14*	5899,73±170,25*
	Kalp U/g	5653,10±109,91	6028,24±227,69*	6034,62±100,02*
	Beyin U/g	5723,50±57,72	6127,63±40,48*	6078,65±32,90*

* Kontrol grubuna göre istatistiki açıdan anlamlıdır ($p \leq 0.05$).



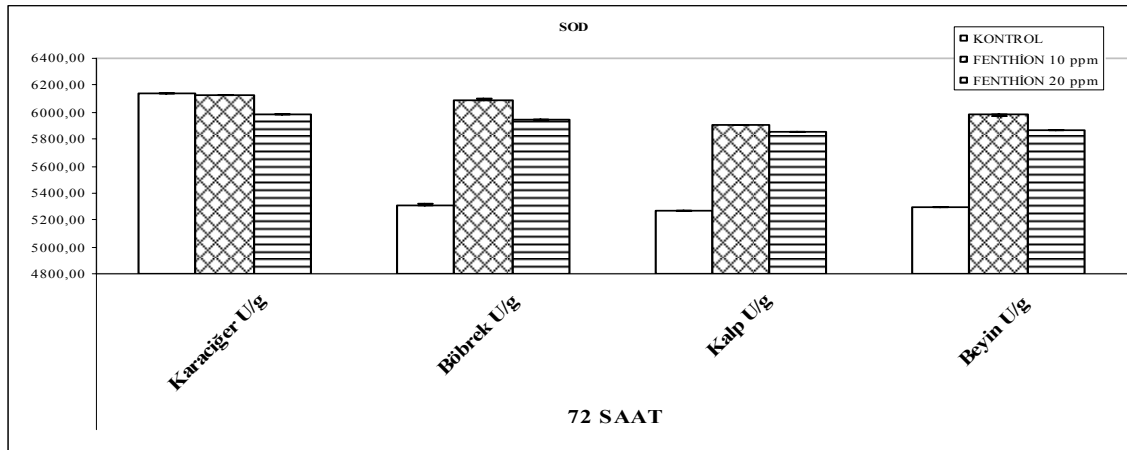
Şekil 4.14. 48 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında SOD enzim düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.14.'de sunulduğu gibi, 48 saat sonunda istatistik ortalamaları süperoksit dismutaz enzim aktivitesi (SOD U/g) için karaciğer dokusunda, kontrol, Fenthion 10 ppm ve Fenthion 20 ppm gruplarında sırasıyla, 4977,45±614,00, 6218,42±58,16, 5973,02±94,71, böbrek dokusunda 4594,38±1000,81, 6115,78±127,14, 5899,73±170,25, kalp dokusunda 5653,10±109,91, 6028,24±227,69, 6034,62±100,02, beyin dokusunda 5723,50±57,72, 6127,63±40,48, 6078,65±32,90 olarak bulundu. 10 ve 20 ppm lik dozlardaki bu periyodun sonunda tüm dokuların enzim aktivitesinde kontrol grubuna göre anlamlı artış olduğu belirlendi.

Çizelge 4.15. 72 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında SOD enzim düzeyleri

		SOD		
Periyot	Doku	KONTROL X ± SD	10 ppm X ± SD	20 ppm X ± SD
72 saat	Karaciğer U/g	6143,16±76,17	6126,33±98,63	5987,30±310,09
	Böbrek U/g	5313,05±460,71	6094,10±154,03*	5942,53±87,72*
	Kalp U/g	5263,26±69,37	5904,03±96,59*	5853,85±332,23*
	Beyin U/g	5294,01±122,95	5977,85±27,81*	5868,73±129,40*

* Kontrol grubuna göre istatistiki açıdan anlamlıdır ($p \leq 0.05$).



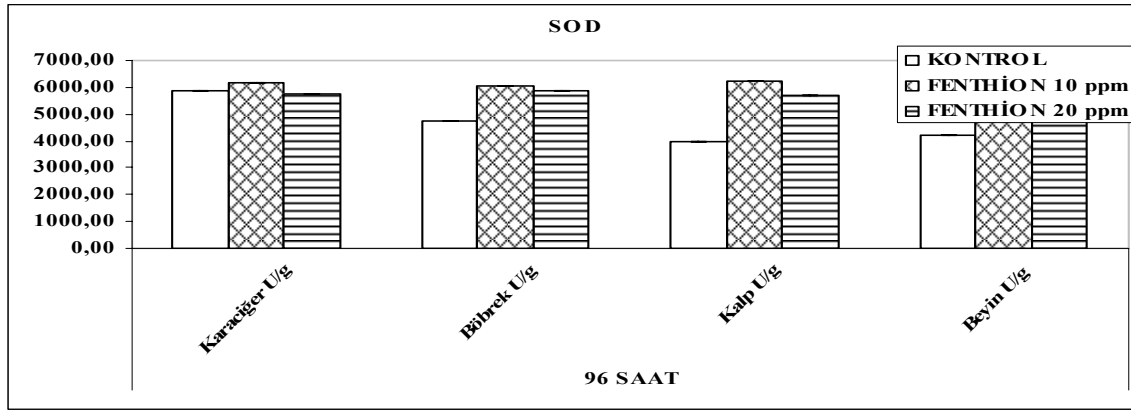
Şekil 4.15. 72 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında SOD enzim düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.15.'de sunulduğu gibi, 72 saat sonunda istatistik ortalamaları süperoksit dismutaz enzim aktivitesi (SOD U/g) için karaciğer dokusunda, kontrol, Fenthion 10 ppm ve Fenthion 20 ppm gruplarında sırasıyla, 6143,16±76,17, 6126,33±98,63, 5987,30±310,09, böbrek dokusunda 5313,05±460,71, 6094,10±154,03, 5942,53±87,72, kalp dokusunda 5263,26±69,37, 5904,03±96,59, 5853,85±332,23, beyin dokusunda 5294,01±122,95, 5977,85±27,81, 5868,73±129,40 olarak bulundu. 10 ve 20 ppm lik dozlardaki bu periyodun sonunda karaciğer dışında kalan tüm dokuların enzim aktivitesinde kontrol grubuna göre yine anlamlı artış olduğu belirlendi.

Çizelge 4.16. 96 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında SOD enzim düzeyleri

		SOD		
Periyot	Doku	KONTROL	10 ppm	20 ppm
		X ± SD	X ± SD	X ± SD
96 saat	Karaciğer U/g	5860,17±128,20	6146,25±69,42*	5748,68±381,49
	Böbrek U/g	4760,61±977,41	6079,00±123,80*	5864,57±184,79*
	Kalp U/g	3976,49±855,55	6248,96±97,61*	5699,83±167,32*
	Beyin U/g	4192,53±396,93	6174,89±35,16*	5849,99±85,00*

* Kontrol grubuna göre istatistiki açıdan anlamlıdır ($p \leq 0.05$).



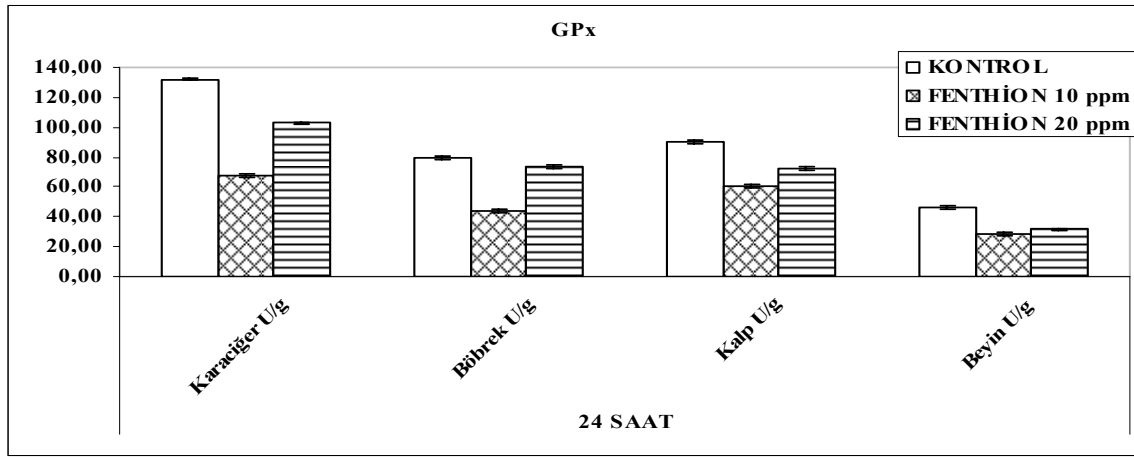
Şekil 4.16. 96 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında SOD enzim düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.16.'da sunulduğu gibi, 96 saat sonunda istatistik ortalamaları süperoksit dismutaz enzim aktivitesi (SOD U/g) için karaciğer dokusunda, kontrol, Fenthion 10 ppm ve Fenthion 20 ppm gruplarında sırasıyla, 5860,17±128,20, 6146,25±69,42, 5748,68±381,49, böbrek dokusunda 4760,61±977,41, 6079,00±123,80, 5864,57±184,79, kalp dokusunda 3976,49±855,55, 6248,96±97,61, 5699,83±167,32, beyin dokusunda 4192,53±396,93, 6174,89±35,16, 5849,99±85,00 olarak bulundu. Bu sonuçlara göre; 10 ve 20 ppm lik dozlara maruz bırakılan kurbağaların bu peridu sonunda da 20 ppm lik dozun karaciğer dokusu dışındaki tüm muamele ve dokularda SOD artışı kontrol grubuna göre anlamlı olduğu belirlendi.

Çizelge 4.17. 24 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GPx enzim düzeyleri

		GPx		
Periyot	Doku	KONTROL X ± SD	10 ppm X ± SD	20 ppm X ± SD
24 saat	Karaciğer U/g	132,17±21,13	67,70±3,97*	102,63±19,71
	Böbrek U/g	79,34±5,01	44,10±10,66*	73,74±3,46
	Kalp U/g	89,84±6,09	60,43±7,35*	72,07±3,32*
	Beyin U/g	46,55±0,10	28,42±0,15*	31,58±0,10*

* Kontrol grubuna göre istatistiki açıdan anlamlıdır ($p \leq 0.05$).



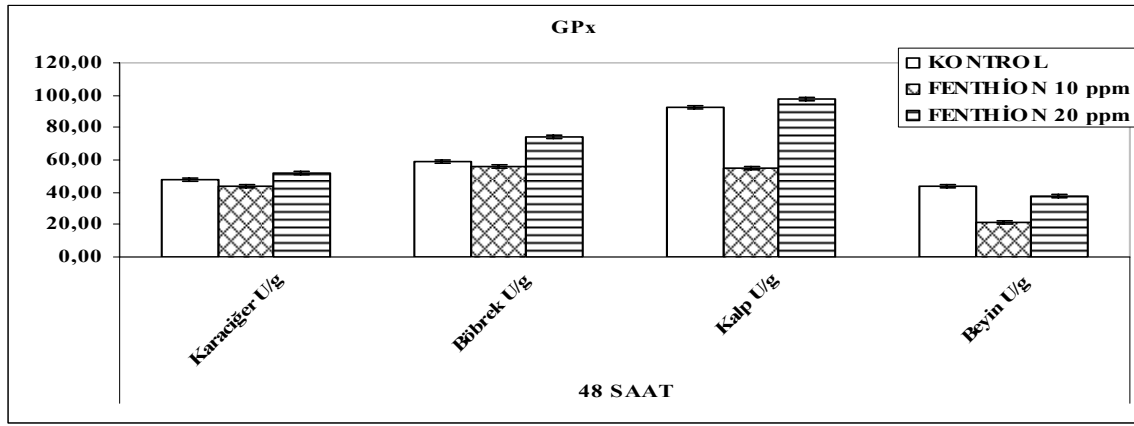
Şekil 4.17. 24 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GPx enzim düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.17.'de sunulduğu gibi, 24 saat sonunda istatistik ortalamaları glutatyon peroksidaz enzim aktivitesi (GSH-Px U/g) için karaciğer dokusunda, kontrol, Fenthion 10 ppm ve Fenthion 20 ppm gruplarında sırasıyla, 132,17±21,13, 67,70±3,97, 102,63±19,71, böbrek dokusunda 79,34±5,01, 44,10±10,66, 73,74±3,46, kalp dokusunda 89,84±6,09, 60,43±7,35, 72,07±3,32, beyin dokusunda 46,55±0,10, 28,42±0,15, 31,58±0,10 olarak bulundu. Bu sonuçlara göre; karaciğer ve böbrek dokularının 20 ppm'lik muamele dışındaki diğer örneklerin GPx aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı azalma olduğu belirlendi.

Çizelge 4.18. 48 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GPx enzim düzeyleri

		GPx		
Periyot	Doku	KONTROL X ± SD	10 ppm X ± SD	20 ppm X ± SD
48 saat	Karaciğer U/g	47,97±6,33	43,83±9,11	51,40±11,58
	Böbrek U/g	59,12±4,75	56,21±11,09	74,31±4,69*
	Kalp U/g	92,10±5,73	54,51±9,63*	97,98±30,63
	Beyin U/g	44,13±1,78	21,55±3,75*	37,70±0,16*

* Kontrol grubuna göre istatistiki açıdan anlamlıdır ($p \leq 0.05$).



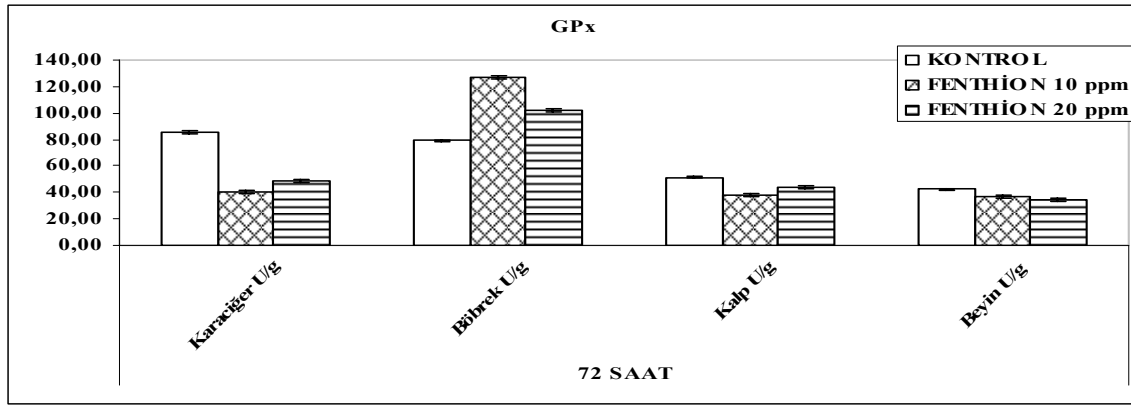
Şekil 4.18. 48 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GPx enzim düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.18.'de sunulduğu gibi, 48 saat sonunda istatistik ortalamaları glutatyon peroksidaz enzim aktivitesi (GSH-Px U/g) için karaciğer dokusunda, kontrol, Fenthion 10 ppm ve Fenthion 20 ppm gruplarında sırasıyla, 47,97±6,33, 43,83±9,11, 51,40±11,58, böbrek dokusunda 59,12±4,75, 56,21±11,09, 74,31±4,69, kalp dokusunda 92,10±5,73, 54,51±9,63, 97,98±30,63, beyin dokusunda 44,13±1,78, 21,55±3,75, 37,70±0,16 olarak bulundu. Bu değerlere göre; kalp ve beğin dokularının 10 ppm'lik muamele ile 20 ppm'lik doz muamelesinin yine beğin dokusunda aktivitesi düşerken, 20 ppm'lik doz muamelesinin böbrek dokusunun GPx aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı azalma olduğu belirlendi.

Çizelge 4.19. 72 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GPx enzim düzeyleri

		GPx		
Periyot	Doku	KONTROL	10 ppm	20 ppm
		X ± SD	X ± SD	X ± SD
72 saat	Karaciğer U/g	85,69±5,39	40,26±4,10*	48,47±5,62*
	Böbrek U/g	78,97±3,84	127,29±21,77*	102,26±13,11*
	Kalp U/g	51,52±4,27	37,92±4,89*	43,51±0,11*
	Beyin U/g	42,28±6,32	36,91±1,34	34,37±0,74*

* Kontrol grubuna göre istatistiki açıdan anlamlıdır ($p \leq 0.05$).



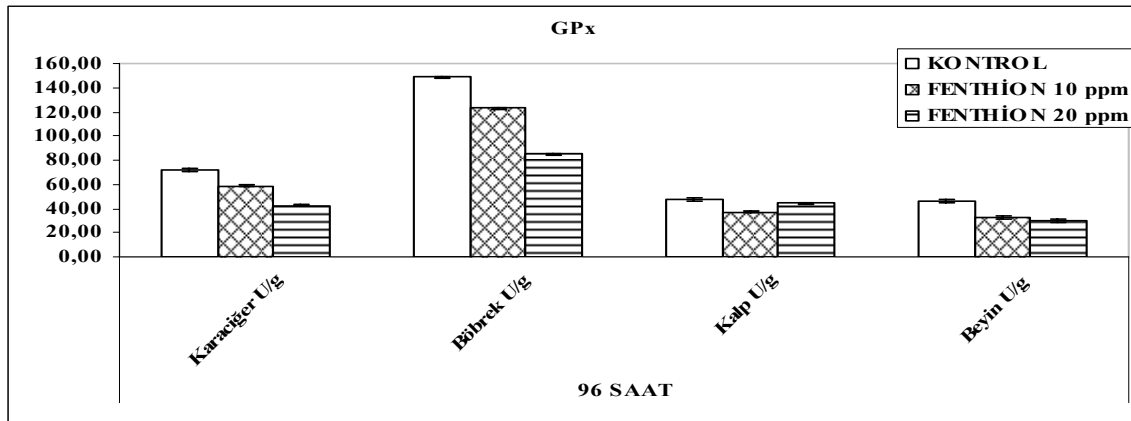
Şekil 4.19. 72 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GPx enzim düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.19.'da sunulduğu gibi, 72 saat sonunda istatistik ortalamaları glutatyon peroksidaz enzim aktivitesi (GSH-Px U/g) için karaciğer dokusunda, kontrol, Fenthion 10 ppm ve 20 ppm'lik gruplarında sırasıyla, 85,69±5,39, 40,26±4,10, 48,47±5,62, böbrek dokusunda 78,97±3,84, 127,29±21,77, 102,26±13,11, kalp dokusunda 51,52±4,27, 37,92±4,89, 43,51±0,11, beyin dokusunda 42,28±6,32, 36,91±1,34, 34,37±0,74 olarak bulundu. Sonuçlara göre; 10 ve 20 ppm lik dozlardaki karaciğer ve kalp dokuları ile 20 ppm'lik beyin dokusunun enzim aktivitesi azalırken, böbrek dokusunun 10 ve 20 ppm lik dozlarında kontrol grubuna göre anlamlı artış olduğu belirlendi.

Çizelge 4.20. 96 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GPx enzim düzeyleri

		GPx		
Periyot	Doku	KONTROL	10 ppm	20 ppm
		X ± SD	X ± SD	X ± SD
96 saat	Karaciğer U/g	71,60±7,53	58,67±4,26*	42,38±3,16*
	Böbrek U/g	148,83±10,21	122,82±8,75*	84,76±16,90*
	Kalp U/g	47,75±4,30	37,18±1,76*	44,16±9,47
	Beyin U/g	45,98±0,38	32,71±2,13*	29,59±1,72*

* Kontrol grubuna göre istatistiki açıdan anlamlıdır ($p \leq 0.05$).



Şekil 4.20. 96 saat Fenthion uygulanan kurbağaların çeşitli dokularında GPx enzim düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.20.'de sunulduğu gibi, 96 saat sonunda istatistik ortalamaları glutatyon peroksidaz enzim aktivitesi (GSH-Px U/g) için karaciğer dokusunda, kontrol, Fenthion 10 ppm ve Fenthion 20 ppm gruplarında sırasıyla, 71,60±7,53, 58,67±4,26, 42,38±3,16, böbrek dokusunda 148,83±10,21, 122,82±8,75, 84,76±16,90, kalp dokusunda 47,75±4,30, 37,18±1,76, 44,16±9,47, beyin dokusunda 45,98±0,38, 32,71±2,13, 29,59±1,72 olarak bulundu. 10 ve 20 ppm lik dozlardaki bu periyodun sonunda kalp dokusunun 10 ppm'lik muamele dışında kalan tüm dokuların enzim aktivitesinde kontrol grubuna göre yine anlamlı azalış olduğu belirlendi.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Pestisitlerin insan sağlığına etkileri akut-kronik zehirlenmeler, kanser, alerjik reaksiyonlar, sinir sistemi tahribatları, öğrenme güçlüğü ve hafıza kaybı, enzim faaliyetlerinin bozulması, karaciğerde fonksiyon kayıpları, hücre membranında değişimler şeklinde ortaya çıkmaktadır (Çelik,1995).

Yapılan çalışmalar, serbest radikaller, lipid peroksidasyonu artışının birçok kanser türü arasında bağlantı olduğunu ortaya konulmuştur. Birçok kimyasal maddenin hücre etrafındaki oksidatif stresi artırarak, kansere sebep olduğu bildirilmektedir. Fiziksel ajanlardan radyasyonun da serbest radikal ve lipid peroksidasyon üretimini artırarak kansere sebep olduğu gösterilmiştir. Serbest radikaller, kanserin başlangıç, ilerleme ve gelişme dönemlerinde etkili olmakla beraber bu etki ilerleme döneminde daha belirgin, diğer dönemlerde ise nispeten azdır. Serbest radikallerin etkisi sonucu DNA ve kromozomlarda kırılma ve onkojenlerde aktivasyonda artış meydana gelir (Özdem ve Şadan, 1994; Akkuş, 1995).

Lipid peroksidasyonu membran fosfolipidlerindeki doymamış yağ asitlerinin oksijen ile reaksiyona girerek, lipid hidroperoksitlerini oluşturmalarındaki olaylar dizisidir. Bir dizi reaksiyon sonucu MDA, bazı aldehitler, konjuge dienler, uçucu hidrokarbonlar gibi ürünler ortaya çıkmaktadır. Lipid peroksidasyonu göstergesini oluşturan peroksidasyon ürünlerinden MDA'nın ölçümü, tiyobarbitirik asit ile reaksiyon sonucu yapılmaktadır (Slater, 1984; Sushil, 1984).

Bu çalışmada kullanılan fenthion isimli kimyasal maddenin seçiliş sebebi; bazı tarım zararlılarının yok edilmesi ve dolayısıyla ürünün arttırılması için ülkemizde sıkça kullanılmasıdır. Bu kimyasal madde çevre kirliliğine neden olabilmekte ve suda yaşayan canlıları etkileyebilmektedir. Çalışmamızda bu kimyasallardan fenthion seçilmiştir. Bu kimyasalın 10 ppm ve 20 ppm'lik dozlarına 24, 48, 72 ve 96 saatlik periyotlarla yaşam ortamlarına eklenmek suretiyle maruz bırakılan kurbağaların çeşitli dokularından alınan örneklerde, bu kimyasal maddenin etkinliğinin göstergesi olarak değerlendirilebilecek antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon -S- transferaz (GST) ve aktiviteri ile lipid peroksidasyonu (Malondialdehit) ve glutatyon (GSH) düzeylerine bakılmıştır. Bu

kimyasalların kurbağalar üzerinde in vivo olarak çalışılmasının toksikolojik çalışmalar bakımından önem taşıdığı düşünülmektedir.

Sunulan çalışmada parametrelere olumsuz etki edecek faktörlerin en aza indirilmesi için gerekli bütün önlemler alındı. Kontrol ve tüm deneme grubundaki denekler aynı koşullarda tutuldu.

Seçilen kimyasalların etkilerinin 24, 48, 72 ve 96 saat sonrasındaki karaciğer, böbrek, kalp ve beyin dokularındaki Glutasyon (GSH), sonuçları çizelge 4.1., 4.2., 4.3. ve 4.4'te sunuldu. Malondialdehit (MDA), sonuçları çizelge 4.5., 4.6., 4.7. ve 4.8.'de sunuldu. Glutasyon -S- transferaz enzim aktivite (GST), sonuçları çizelge 4.9., 4.10., 4.11. ve 4.12'de sunuldu. Süperoksit dismutaz enzim aktivite (SOD), sonuçları çizelge 4.13., 4.14., 4.15. ve 4.16'da sunuldu. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), enzim aktivite sonuçları çizelge 4.17., 4.18., 4.19. ve 4.20'de sunuldu. Çizelgelerde görüleceği gibi kimyasalın etkisi sonrası, karaciğer, böbrek, kalp ve beyin dokularında glutasyon (GSH), malondialdehit (MDA), glutasyon -S- transferaz enzim aktivite (GST), süperoksit dismutaz enzim aktivite (SOD), glutasyon peroksidaz (GSH-Px), enzim aktivite düzeylerinde önemli dalgalanmalara neden olmuştur. Diğer yandan bu kimyasalın su kurbağasının antioksidant savunma sistemi ve lipid peroksidasyonu üzerindeki etkilerine dair herhangi bir çalışmaya rastlanmadığı için bu çalışmada elde edilen sonuçları önceki çalışmalarla karşılaştırılamadı. Elde edilen sonuçlara göre;

24 saat boyunca söz konusu kimyasala maruz bırakılan kurbağalarda seçilen her dört dokuda glutasyon (GSH) verilerinin Çizelge 4.1.'de incelenmesinde: kalp, karaciğer ve böbrek dokularında 10 ppm muamele sonunda önemli düzeyde artarken, kalp ve beyinde 20 ppm lik muamele sonunda kontrol grubuna göre azalma anlamlı ($p < 0.05$) bulundu.

48 saat boyuca söz konusu kimyasala maruz bırakılan kurbağalarda, seçilen her dört dokuda glutasyon (GSH) verilerinin Çizelge 4.2.'de incelenmesinde: böbrek, kalp ve beyin dokularında 10 ppm doz uygulaması sonunda artış olurken 10 ve 20 ppm lik uygulama sonunda karaciğer dokusunda azalış anlamlı ($p < 0.05$) olduğu belirlendi.

72 saat boyuca söz konusu kimyasala maruz bırakılan kurbağalarda, seçilen her dört dokuda glutasyon (GSH) verilerinin Çizelge 4.3.'te incelenmesinde: bu periyodun 20 ppm lik grubun beyin dokusundaki azalışın istatistiki açıdan kontrol grubuna göre anlamlı ($p < 0.05$) olduğu belirlendi.

96 saat boyuca söz konusu kimyasala maruz bırakılan kurbağalarda, seçilen her dört dokuda glutatyon (GSH) verilerinin Çizelge 4.4.'de sunulduğu gibi, 96 saat sonunda karaciğer dokusunun 10 ppm lik ve 20 ppm lik dozuna maruz bırakılan tüm doku örneklerindeki azalışlar kontrol grubuna göre önemli ($p<0.05$) olduğu belirlendi.

Serbest radikallerin detoksifikasyonunda önemli görevleri bulunan glutatyonun asıl besinsel kaynağı kükürt içeren aminoasitler, özellikle sistein ve metiyonindir (Roediger, 1995). Söz konusu dokularda GSH düzeyinin düşük çıkması, GSH'ın sentezinin yeterince yapılamamış olmasından kaynaklanabilir. Glutatyonun önemli bir antioksidan olduğu bilinmektedir. Oksidatif hasardan kaynaklanan lipid peroksidasyon ürünleriyle reaksiyona girerek okside glutatyona dönüşür. Çeşitli araştırmalarda serbest radikal hasarı ve lipid peroksidasyonu ile glutatyon düzeylerinin araştırıldığı çalışmalarda lipid peroksidasyon ürünlerinde artış, glutatyon düzeylerinde azalmalar bulunmuştur (Meister ve Anderson, 1983; Yagi, 1994). GSH ve onu metabolize edici antioksidan enzimler, reaktif oksijen türevlerinin yol açtığı hücresel hasar karşısında büyük bir savunma sağlar (Avellini ve ark., 1993; Kurata ve ark., 1993), GSH'da görülen bu azalma oksidatif stres riskini arttırmaktadır (Halliwell, 1994; 1999). Glutatyon, hücrelerin serbest radikallerden ileri gelen oksidatif hasardan korunması yanı sıra yabancı toksik bileşiklerin ortadan kaldırılmasında görev alan reaksiyonlarda da yer almaktadır (Akkuş, 1995).

24 saat boyuca söz konusu kimyasallara maruz bırakılan kurbağalarda seçilen her dört dokuda malondialdehit (MDA) verilerinin Çizelge 4.5.'te incelenmesinde: Karaciğer dışındaki tüm dokularının 10 ve 20 ppm lik dozlara maruz bırakılması sonunda MDA düzeyinde istatistikî açıdan anlamlı ($p<0.05$) olduğu belirlendi.

48 saat boyuca söz konusu kimyasallara maruz bırakılan kurbağalarda seçilen her dört dokuda malondialdehit (MDA) verilerinin Çizelge 4.6.'da incelenmesinde: 10 ppm lik doza maruz bırakılan kurbağaların karaciğer dokusu dışında kalan dokuların hepsinde kontrol grubuna göre önemli ($p<0.05$) artış olduğu tespit edildi.

72 saat boyuca söz konusu kimyasallara maruz bırakılan kurbağalarda seçilen her dört dokuda malondialdehit (MDA) verilerinin Çizelge 4.7.'de incelenmesinde: 20 ppm'lik grubun karaciğer dokusu dışında kalan alınan örnek maruz bırakıldığı 10 ppm lik doz ile böbrek, kalp ve beyin dokularından alınan doku örneklerinin maruz

bırakıldığı 10 ve 20 ppm lik dozlardaki dokuların değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) olduğu belirlendi.

96 saat boyuca söz konusu kimyasallara maruz bırakılan kurbağalarda seçilen her dört dokuda malondialdehit (MDA) verilerinin Çizelge 4.8.'de incelenmesinde, karaciğer dokusundan alınan örneğin maruz bırakıldığı 20 ppm lik dozdaki, böbrek, kalp ve beyin dokularından alınan örneklerin maruz bırakıldığı 10 ve 20 ppm lik dozlardaki değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) olduğu belirlendi.

Radyasyon, ilaç toksikasyonları, kimyasal maddeler veya çeşitli hastalıkların oluşumu ile birlikte serbest radikal üretiminde artış, buna bağlı olarak hücre sel bileşiklerde çeşitli zararlı etkiler oluşmaktadır (Halliwell, ve Gutteridge, 1990; Janssen ve ark., 1993; Stevens, 1993; Moslen, 1994). Serbest radikaller, hücre savunma sisteminin koruyucu etkisini aşacak şekilde fazla meydana gelmeleri sonucunda metabolizmada zararlı etkilerini en hassas bileşikler olan lipidler üzerinde gösterirler. Membranların yapısında yer alan doymamış fosfolipidler ve kolesterol, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu meydana getirir. (Porter, 1984; Niki, 1987). MDA düzeyindeki artışın söz konusu kimyasalın neden olduğu stres faktöründen kaynaklanmış olması muhtemeldir. Nitekim yapılan bazı çalışmalar fenthiona maruz kalmış hayvan dokularında MDA seviyesinde artış meydana geldiğini göstermiştir (Büyükokuroğlu ve ark., 2008; Üner ve ark., 2009).

24 saat boyuca söz konusu kimyasala maruz bırakılan kurbağalarda seçilen her dört dokuda glutatyon-S-transferaz (GST) aktivite düzeylerinin Çizelge 4.9.'da incelenmesinde: 20 ppm lik doza maruz bırakıldığı grubun karaciğer ve böbrek dokularından alınan örnekler ile 10 ve 20 ppm lik dozlara maruz bırakılan grupların beyin dokusunda azalma görülürken, 10 ve 20 ppm lik dozlara maruz bırakılan grupların kalp dokusundaki kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) olduğu belirlendi.

48 saat boyuca söz konusu kimyasala maruz bırakılan kurbağalarda seçilen her dört dokuda glutatyon-S-transferaz (GST) aktivite düzeylerinin Çizelge 4.10.'da incelenmesinde: 20 ppm lik doza maruz bırakılan grubun karaciğer ve beyin dokularının GST aktivitesinin önemli düzeyde ($p<0.05$) arttığı diğer muamele ve dokularda herhangi bir değişikliğin olmadığı tespit edildi.

72 saat boyuca söz konusu kimyasala maruz bırakılan kurbağalarda seçilen her dört dokuda glutatyon -S- transferaz (GST) aktivite düzeylerinin Çizelge 4.11.'de

incelenmesinde: 20 ppm'lik grubun böbrek dokusu dışındaki diğer dokularda enzim aktivitesinde kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) azalma olduğu belirlendi.

96 saat boyuca söz konusu kimyasala maruz bırakılan kurbağalarda seçilen her dört dokuda glutatyon -S- transferaz (GST) aktivite düzeylerinin Çizelge 4.12.'de incelenmesinde: 10 ppm'lik dozun beğın dokusu ile 20 ppm lik dozun kalp dışındaki diğer dokularında kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) azalma olduğu bulundu.

GST hem detoksifikasyon yaparlar hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolleri vardır. Katalitik olarak; ksenobiyotikleri glutatyondaki (GSH) sisteine ait -SH grubu ile bağlayarak onların elektrofilik bölgelerini nötralize ederler ve ürünün daha fazla suda çözünür hale gelmesini sağlar. Oluşan bu GSH konjugatları organizmadan atılabilir veya daha ileri metabolize olurlar (Akkuş, 1995). GST aktivitesindeki artışı oksidatif stres durumuna karşı koyma mekanizmasında izlenen adaptasyonu olarak düşünülebilir (Agrawal ve ark., 1991; Banerjee ve ark., 1999).

24 saat boyuca söz konusu kimyasala maruz bırakılan kurbağalarda seçilen her dört dokuda süperoksit dismutaz (SOD) aktivitelerinin Çizelge 4.13.'te incelenmesinde 10 ppm'lik dozun karaciğer ve böbrek dokularında azalma olurken, diğer doku ve muamele grubunun tüm dokularında SOD aktivitesine istatistikî açıdan önemli ($p<0.05$) artış meydana geldiği tespit edildi.

48 saat boyuca söz konusu kimyasala maruz bırakılan kurbağalarda seçilen her dört dokuda süperoksit dismutaz (SOD) aktivitelerinin Çizelge 4.14.'te incelenmesinde: 10 ve 20 ppm lik dozlardaki bu periyodun sonunda tüm dokuların enzim aktivitesinde kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) artış olduğu belirlendi.

72 saat boyuca söz konusu kimyasala maruz bırakılan kurbağalarda seçilen her dört dokuda süperoksit dismutaz (SOD) aktivitelerinin Çizelge 4.15.'te incelenmesinde: 10 ve 20 ppm lik dozlardaki bu periyodun sonunda karaciğer dışında kalan tüm dokuların enzim aktivitesinde kontrol grubuna göre yine anlamlı ($p<0.05$) artış olduğu belirlendi.

96 saat boyuca söz konusu kimyasala maruz bırakılan kurbağalarda seçilen her dört dokuda süperoksit dismutaz (SOD) aktivitelerinin Çizelge 4.16.'da incelenmesinde: 10 ve 20 ppm lik dozlara maruz bırakılan kurbağaların bu peridu sonunda da 20 ppm lik dozun karaciğer dokusu dışındaki tüm muamele ve dokularda SOD artışı kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) olduğu belirlendi.

SOD'un fizyolojik fonksiyonu; oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikallerinin zararlı etkilerine karşı korumaktır. Böylece lipid peroksidasyonunu inhibe eder. SOD aktivitesi yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır. Enzimin spesifik aktivitesi down sendromlu hastaların eritrositlerinde yüksek, prematurelerin ve yaşlıların eritrositlerinde düşük bulunmuştur. SOD'un ekstraselüler aktivitesinin düşük olduğu belirtilmiştir (Akkuş, 1995). Süperoksit radikallerinin artışına bağlı olarak SOD enziminin aktivitesi artmış olabilir.

24 saat boyuca söz konusu kimyasala maruz bırakılan kurbağalarda seçilen her dört dokuda Glutasyon peroksidaz (GPx) aktivitelerinin Çizelge 4.17.'de incelenmesinde: karaciğer ve böbrek dokularının 20 ppm'lik muamele dışındaki diğer örneklerin GPx aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) azalma olduğu belirlendi.

48 saat boyuca söz konusu kimyasala maruz bırakılan kurbağalarda seçilen her dört dokuda Glutasyon peroksidaz (GPx) aktivitelerinin Çizelge 4.18.'de incelenmesinde: kalp ve beğın dokularının 10 ppm'lik muamele ile 20 ppm'lik doz muamelesinin yine beğın dokusunda aktivitesi düşerken, 20 ppm'lik doz muamelesinin böbrek dokusunun GPx aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) azalma olduğu belirlendi.

72 saat boyuca söz konusu kimyasala maruz bırakılan kurbağalarda seçilen her dört dokuda Glutasyon peroksidaz (GPx) aktivitelerinin Çizelge 4.19.'da incelenmesinde: 10 ve 20 ppm lik dozlardaki karaciğer ve kalp dokuları ile 20 ppm'lik beğın dokusunun enzim aktivitesi azalırken, böbrek dokusunun 10 ve 20 ppm lik dozlarında kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) artış olduğu belirlendi.

96 saat boyuca söz konusu kimyasala maruz bırakılan kurbağalarda seçilen her dört dokuda Glutasyon peroksidaz (GPx) aktivitelerinin Çizelge 4.20.'de incelenmesinde: 10 ve 20 ppm lik dozlardaki bu periyodun sonunda kalp dokusunun 10 ppm'lik muamele dışında kalan tüm dokuların enzim aktivitesinde kontrol grubuna göre yine anlamlı ($p<0.05$) azalış olduğu belirlendi.

GPx, hidrojen peroksit ve lipid peroksidlerin indirgenmesini katalizlemektedir. Lipid peroksidasyon karşısında randımanlı koruma sağlayan enzim olarak kabul edilir (Winston ve Di Giulio, 1991). Serbest radikal oluşumunun ve lipid peroksidasyonunun uzun süreli artışına bağlı olarak hücresel antioksidan savunma sisteminin aşılması

halinde ise antioksidan enzim aktivitelerinde azalma olabileceği bildirilmektedir (Meister ve Anderson, 1983; Akkuş, 1995).

Sonuç olarak, fenthion kurbağaların antioksidan savunma sistemini önemli oranda etkilemiştir. Kurbağalar antioksidan mekanizması yoluyla oksidatif strese direnç göstermiştir. İncelenen parametrelerde farklı değerlerin bulunması hayvanların bünyesel farklılıklarından ve hücrel fizyolojik adaptasyonun dokulara göre farklı nitelikte olmasından kaynaklanabilir. Uygulama süresi boyunca dokularda meydana gelebilecek serbest radikal hasarına karşı, kurbağaların savunma sistemlerini yeniden yapılandırmış olmaları da muhtemeldir. Bu nedenle, birçok ksenobiyotik detoksifikasyonunda görev alan multienzim yapısındaki SOD, GPx ve GST antioksidan enzimleri oksidatif strese karşı dokuları korumada önemli bir rol üstlenmiştir.

Yurdumuzda sıklıkla kullanılan fenthionun su canlıları üzerindeki etkilerini ortaya koymak önemlidir. Bu araştırmadaki bulguların özellikle akuatik ortamda risk faktörünün olup olmadığı ile ilgili pestisit kullanımına ışık tutacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

- Agrarwal, D., Sultana, P., Gupta, G.S.D., 1991. Oxidative damage and changes in glutathione redox system in erythrocytes from rats treated with hexachlorocyclohexane. *Fd. Chem. Toxicol.*, **29**: 459-62.
- Akkuş, İ., 1995. *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*. Mimoza Yayınları, Konya.
- Aslan, R., Şekeroğlu, R., Bayıroğlu, F., 1995. Serbest radikal türlerinin membran lipid peroksidasyonuna etkileri ve hücrel antioksidan savunma. *YYÜ Sağ. Bil. Ens. Derg.*, **2**: 137-142.
- Avellini, L., Spaterna, A., Rebold, G.P, Gaiti, A., 1993. Defense mechanism against free radical-induced damage in sheep, cattle and dog erythrocytes. *Comp. Biochem .Physiol. B.* **106**: 391-394
- Banerjee, B.D., Seth, V., Bhattacharya, A., Pasha, S.T., 1999. Chakraborty AK. Biochemical effects of some pesticides on lipid peroxidation and free radical scavengers. *Toxicol. Lett.*, **107**: 33-47.
- Bendich, A., 1990. *Antioxidant Nutrients and Immune Functions*, Plenum Pres, New York.
- Beutler, E., Duron, O., Kelly, B.M., 1963. Improved method for the determination of blood glutathione. *J. Lab. Clin. Med.*, **61** (5): 882-888.
- Büyükokuroğlu, M.E., Cemek, M., Tosun, M., Yürümez, Y., Baş, O., Yavuz, Y., 2008. Dantrolene may prevent organophosphate-induced oxidative stress and muscle injury. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **92** (2008) 156–163
- Ceron, J.J., Ferrando, M.D., Sancho, E., Gutierrez-Panizo, C., Andreu-Moliner, E., 1996. Effects of diazinon exposure on cholinesterase activity in different tissues of European eel (*Anguilla anguilla*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **35** (3): 222-225.
- Çelik, İ., 1995. *Bazı Pestisit ve Bitki Büyüme Regülatörlerinin Sığır ve İnsan Eritrosit Karbonik Anhidraz İzoenzimleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması* (doktora tezi). Y Y Ü, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Deneke, S.M., Lynch, B.A., Fanburg, B.L., 1985. Effects of low protein diets or feed restriction on rat glutathione and oxygen toxicity. *J. Nutr* **115** 726-732.

- Dorval, J., Leblond, V., Deblois, C., Hontela, A., 1994. Oxidative stress and endocrine endpoints in *Catostomus commersoni* from a river impacted by agricultural chemicals. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **24**: 1273-1280
- Durmaz, H., Sevgiler, Y., Üner, N., 2006. Tissue specific antioxidative and neurotoxic responses to diazinon in *Oreochromis niloticus*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **84**: 215-226
- Erenel, G., Erbaş, D., Arıcioğlu, A., 1992. Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. *Gazi Tıp Derg.*, **3**: 243-250.
- Fhole, L., Günzler, W.A., 1984. Assays of glutathione peroxidase. *Methods in Enzymology*, **105**: 114-115.
- Fhole, L., Otting, F., 1984. Superoxide dismutase assays. *Methods in Enzymology*, **105**: 93-104.
- Freeman-Witting, M.J., Lewis, R.A., 1986. Alteration of the exonuclease activities of DNA polymerase I by captan. *Biochem. Biophys. Acta.*, **867** (3): 107-113.
- Gaetani, G.F., Galiano, S., Canepa, L., Ferraris, A.M., Kirkman, H.N., 1989. Catalase and glutathione peroxidase are equally active in detoxification of hydrogen peroxide in human erythrocytes. *Blood*, **73** (1): 334-339.
- Gallagher, E.P., Buetler, T.M., Stapleton, P.L., Wang, C., Stahl, D.L., Eaton D.L., 1995. The effect of diquat and ciprofibrate on mRNA expression and catalytic activities of hepatic xenobiotic metabolizing and antioxidant enzymes in rat liver. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **134** (1): 81-91.
- Habig, W. H., Jakoby, W. B., 1981. Assays for differentiation of glutathione-S-transferase. *Methods Enzymol.*, **77**: 398-405.
- Hai, D.Q., Varga, S.I., Matkovics, B., 1997. Organophosphate effects on antioxidant system of carp (*Cyprinus carpio*) and catfish (*Ictalurus nebulosus*). *Comp. Biochem. Physiol. C. Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.*, **117** (1): 83-88.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M., 1984. Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy. *The Lancet*, **23**: 1396-1397.
- Halliwell, B., 1994. Free radical and antioxidants: a personal view. *Nutr. Rev.* **52**: 253-265

- Halliwell, B., 1999. Antioxidant defense mechanisms: from the beginning to the end of the beginning. *Free Radic. Biol. Med.* **31** 4: 261-272
- Halliwell, B., Gutteridge, M.C., 1990. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease : An overview. *Methods in Enzymology*, **186**: 1-85.
- Halliwell, B., Murcia, M.A., Chirico, S., Auroma, O.I., 1995. Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.*, **35** (1): 7-20.
- Harris, E.D., 1992. Regulation of antioxidant enzymes. *Faseb J.*, **6**: 2675-2683.
- Janssen, Y.M.W., Houten, B.V., Borm, P.J.A., Mossmon, B.T., 1993. Biology of disease, cell and tissue responses to oxidative damage. *Lab. Invest.*, **69** (3): 261-274.
- Kahraman, T., 1998. *Elektrik Alanın Rat Eritrosit ve Dokularındaki Antioksidan Enzim (Süperoksid Dismutaz, Glutasyon Peroksidaz) Aktiviteleri, Lipit Peroksidasyon ve Glutasyon Seviyelerine Etkisi* (doktora tezi). Y Y Ü Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Kavas, G.Ö., 1989. Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri, *Türkiye Klinikleri*, **9**: 1-8.
- Kavitha, P., Venkateswara Rao, J., 2007. Oxidative stres and locomotor behaviour response as biomarkers for assesing recovery status of mosquito fish Gambusia affinis after lethal effect of on organophosphate pesticide monocrotophos. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. **87**: 182-188
- Keha, E.E. ve Küfrevioğlu, Ö.İ., 2007. Biyokimya. Aktif yayınevi, Sirkeci/İstanbul, 329-330.
- Kılınç, K., 1986. Oxygen radicals: Their production, function and toxic effects. *Biyokimya Dergisi*, **9**(3): 59-76.
- Kurata, M., Suzuki, M., Agar, N.S., 1999. Antioxidant system and erythrocyte life span in mammals. *Comp. Biochem .Physiol. B.* **106**: 477-487
- Laganriere, S., Yu, B.P., 1989. Effect of chronic food restriction in ageing rats II. liver cytosolic antioxidants and related enzymes. *Mech of Age and Develop*, **48**: 221-230.

- Lien, N.T.H., Adriens, D., Janssen, C.R, 1997. Morphological Abnormalities in African Catfish (*Clarias gariepinus*) Larvae Exposed to Malathion. *Chemosphere*, **35** (7): 1475-1486
- Llopis, S.P., Ferrando, M.D., Pena, J.B., 2003. Fish tolerance to organophosphate-induce oxidative stress is dependent on glutathione metabolism and enhanced by N-acetylcysteine. *Aquatic Toxicology*, **65**: 337-360.
- Marklund, S.L., 1990. Analysis of extracellular superoxide dismutase in tissue homogenates and extracellular fluids. *Methods in Enzymology*, **186**: 260-265.
- Meister, A., Anderson, M.E., 1983. Glutathione. *Ann. Rev. Biochem.* **52**: 711-760.
- Moslen, M.T., 1994. Reactive Oxygen Species in Normal Physiology, Cell Injury and Phagocytosis. *Free Radicals in Diagnostic Medicine* (Editors: D Armstrong) Plenum Press, New York. 1-15s.
- Niki, E., 1987. Antioxidant in relation to lipid peroxidation. *Chemistry and Physics of Lipids*, **44**: 227-253.
- Oruç, E.Ö., Usta, D., 2007. Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential of diazinon in different tissues of *Cyprinus carpio*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **23**: 48-55
- Oruç, E.Ö., Üner, N., 1988. Effects of azinphosmethyl on some biochemical parameters in blood, muscle and liver tissues of *Cyprinus carpio* (L.). *Pestic. Biochem. Physiol.*, **62**: 65-71.
- Oruç, E.Ö., Üner, N., 1999. Effects of 2,4-D on some biochemical parameters of protein and carbohydrate metabolism in the serum, muscle and liver tissues of *Cyprinus carpio* (L.). *Environ. Pollut.*, **105**: 267-272.
- Oruç, E.Ö., Üner, N., 2000. Combined effects of 2,4-D and azinphosmethyl on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in liver of *Oreochromis niloticus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, **127**: 291-296.
- Özdem, S., Şadan, G., 1994. Serbest oksijen radikallerinin oluşum ve klinik açıdan önemi, *A Ü, Tıp Fak. Derg.*, **11** (1): 63-71.
- Öztürk, S., 1990. *Tarım İlaçları*. Renk ofset, İstanbul.
- Öztürk, S., Özge, N., 1978. *Bitki Koruma İlaçları*. Eser yayıncılık, Ankara.

- Parves, S., Rasiuddin, S., 2006. Copper modulates non enzymatic antioxidant in the freshwater fish *Channa punctata* (Bloch) exposed to deltamethrin. ***Chemosphere*** **68**: 1324-1332
- Porter, N.A., 1984. Chemistry of lipid peroxidation. ***Methods in Enzymology***, **105**: 273-283.
- Rizzi, R., Caroli, A., Bolla, P., Acciaioli, A., Pagnacco, G., 1988. Variability of reduced glutathione levels in massese ewes and its effect on daily milk production. ***J. Dairy Research***, **55**: 345-353.
- Roediger, W.E.W., 1995. New views on the pathogenesis of kwashiorkor: methionine and other amino acids. ***J. Pediatr. Gastroent. and Nutr.***, **21**: 130-136.
- Sapozhnikova, Y., Zubcow, N., Hungerford, S., Roy, A.L., Biocenco, N., Zubcow, E., Schlenk, D., 2005 Evaluation of pesticides and metals in fish of the Dniester River, Moldova. ***Chemosphere***, **60**: 196-205
- Sayeed, I., Parvez, S., Pandey, S., Bin-Hafeez, B., Haque, R., Sheikh, R., 2003. Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, *Channa punctatus* . Bloch. ***Ecotoxic and Environ. Safe***, **22** (9): 473-480.
- Sen, C.K., 1995. Oxidants and antioxidants in exercise. ***J. Appl. Physiol.***, **79** (3): 675-686.
- Sinclair, A.J., Barnett, A.H., Junec, J., 1990. Free radicals and antioxidant systems in health and disease. ***Brit. J. Hos. Med.***, **43**: 334-344.
- Slater, T.F., 1984. Overview of methods used for detecting lipid peroxidation. ***Methods in Enzymology***, **105**: 283-305.
- Stevens, R.G., 1993. Breast cancer and electric power. ***Biomed & Pharmacother***, **47**: 435-438.
- Sushil, J.K., Mcvie, R., Duett, J., Herbst, J.J., 1989. Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycosylated hemoglobin in diabetes. ***Diabetes***, **38**: 1539-1543.
- Tandon, R.S., Dubey, A., 1983. Toxic effects of two organophosphorus pesticides on fructose-1,6-diphosphate aldolase activity of liver, brain and gills of the freshwater fish *Clarias batrachus*. ***Environ. Poll.***, **A 31**: 1-7.
- Tek, V., 1993. ***Değişik Orjinli Karbonik Anhidraz İzoenzimleri Üzerine Bazı Çevre Kirleticilerinin ve Kafeinin Etkileri ve Kinetik Özelliklerinin Araştırılması*** (doktora tezi). A Ü, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

- Thomas, M., 1995. The role of free radicals and antioxidants: how do we know that they are working. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.*, **35** (1): 21-39.
- Thurnham, D.I., 1990. Antioxidants and prooxidants in malnourished populations. *Proceedings Nutr. Society*, **49**: 247-259.
- Tsuda, T., Kojima, M., Harada, H., Nakajima, A., Aoki, S., 1996. Acute Toxicity, Accumulation and Excretion of Organophosphorus Insecticides and their Oxidation Products in Killifish. *Chemosphere*, **35** (5): 939-949.
- Tsuda, T., Aoki, S., Kojima, M., Harada, H., 1990. Bioconcentration and Excretion of Diazinon, IBP, Malathion and Fenitrothion by Carp. *Comparative Biochemistry and physiology part C: Comparative Pharmacology and toxicology*, **96** (1): 23-26
- Üner, N., Sevgiler, Y., Durmaz, H., Piner, P., Çinkiloğlu, E., 2009. N-Acetylcysteine provides dose-dependent protection against fenthion toxicity in the brain of *Cyprinus carpio* L. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, **150**: 33–38
- Wickens, A.P., 2001. Ageing and free radical theory. *Respiration Physiology*, **128**: 379-391.
- Winston, G.W., Di Giulio, R.T., 1991. Prooxidant and antioxidant mechanism in aquatic organism. *Aquat. Toxicol.*, **24**: 143-152
- Wiszkowska, H., Kulamowicz, I., Malinowska, A., 1986. The effect of malathion on RNA polymerase activity of cell nuclei and transcription products in lymphocyte culture. *Environ. Res.*, **41**: 372-377.
- Wohaieb, S.A., Godin, D.V., 1987. Starvation related alterations in free radical tissue defense mechanisms in rats. *Diabetes*, **36**: 169-173.
- Xia, E., Rao, G., Remmen, H.V., Heydari A.R., Richardson, A., 1994. Activities of antioxidant enzymes in various tissues of male fischer 344 rats are altered by food restriction. *J. Nutr.*, **125**: 195-201.
- Yagi, K., 1994. Lipid Peroxides in Hepatic, Gastrointestinal, and Pancreatic Disease. *Free Radicals in Diagnostic Medicine* (Editor: Armstrong, D.) Plenum, 165-169.

ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Van'ın Erciş ilçesinde doğdu. İlk ve ortaokulu Atatürk İlköğretim okulunda tamamladı. 1998 yılında Erciş Lisesi'nden mezun oldu. 1999 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesine girdi. 2001 yılında Marmara Üniversitesi Biyoloji Bölümüne geçiş yaptı. Bu bölümden 2007 yılında mezun oldu. Çeşitli alanlarda okul ve dersane öğretmenliği yapmıştır.