

BAHAR ÖZTÜRK KURT

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2017



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

(DOKTORA TEZİ)

**KLORPRİFOS UYGULANAN SIÇANLARDA
SELENYUMUN OLASI KORUYUCU ETKİSİNİN
HEMATOLOJİK PARAMETRELER, OKSİDAN SİSTEM
VE ESER ELEMENT DÜZEYLERİ AÇISINDAN
İNCELENMESİ**

BAHAR ÖZTÜRK KURT

**DANIŞMAN
PROF. DR. SEMRA ÖZDEMİR**

**BİYOFİZİK ANABİLİM DALI
BİYOFİZİK PROGRAMI**

İSTANBUL-2017

TEZ ONAYI**DOKTORA TEZİ ONAYI**

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Biyofizik Programında Doktora öğrencisi Bahar ÖZTÜRK KURT tarafından Prof. Dr. Semra ÖZDEMİR'in danışmanlığında hazırlanan "Klorprifos Uygulanan Sıçanlarda Selenyumun Olası Koruyucu Etkisinin Hematolojik Parametreler, Oksidan Sistem ve Eser Element Düzeyleri Açısından İncelenmesi" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 03/08/2017 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

**Jüri Başkanı**

Prof. Dr. Selmin TOPLAN
İstanbul Üniversitesi
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Biyofizik A.D.

**Jüri-Danışman**

Prof. Dr. Semra ÖZDEMİR
İstanbul Üniversitesi
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Biyofizik A.D.

**Jüri**

Prof. Dr. A. Meltem ERCAN
İstanbul Üniversitesi
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Biyofizik A.D.

**Jüri**

Prof. Dr. Süleyman DAŞDAĞ
İstanbul Medeniyet Üni.
Tıp Fakültesi
Biyofizik A.D.

**Jüri**

Yrd. Doç. Dr. Harun BAŞOĞLU
Bezmialem Vakıf Üni.
Tıp Fakültesi
Biyofizik A.D.

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

BAHAR ÖZTÜRK KURT

İTHAF

Birlikte yaşayacağımız çok daha güzel günler varken aramızdan ansızın ve erkenden ayrılan, hayallerinde doktor olmamı arzulayan canım dedem Ömer ÖZTÜRK'e ithaf ediyorum.

Güzel yerlerde olduğunu ve oralardan beni izleyerek gurur duyduğunu biliyorum...

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim boyunca ilerlediğim akademik yolda bana ışık tutan, katkıları ile beni yönlendiren, birlikte çalışmaktan onur duyduğum ve kendisini ailemden saydığım çok kıymetli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Semra ÖZDEMİR'e,

Tezimin tüm aşamalarında ihtiyaç duyduğum her konuda bana destek olan ve değerli bilgilerini benimle paylaşarak yol gösteren Sayın Prof. Dr. Selmin TOPLAN ve Sayın Prof. Dr. Nuran DARIYERLİ'ye,

Tez çalışmam sırasında gerektiğinde Biyokimya Anabilim Dalı Merkez Laboratuvarı imkanlarını kullanmama olanak tanıyan Sayın Prof. Dr. Dildar KONUKOĞLU'na,

Deneyin yapılması ve örneklerin toplanması aşamalarında tecrübe ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Dr. Rivaze KALAYCI'ya, bu süreçte heyecan ve titizlikte benimle birlikte çalışan İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi öğrencileri Ş. Çağla KARAKUŞ, Ahmet Can ERBİL, Berkay YILMAZ, M. Talha TUT, Betül ÇANAK, M.Mert ATILLA, Sena ALTUNSU, Ayşenur BOLUKÇU, Abdullah TAŞ'a ve kardeşim Kübra ÖZTÜRK'e;

Lisansüstü eğitimim boyunca akademik bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, aralarında olmaktan mutluluk duyduğum başta İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Ü. Bora BARUTÇU olmak üzere değerli hocalarım Prof. Dr. Tunaya KALKAN, Prof. Dr. Şefik DURSUN, Prof. Dr. Mehmet Can AKYOLCU, Prof. Dr. Mehmet Ali KÖRPINAR, Prof. Dr. Derviş ÖZÇELİK, Prof. Dr. Meltem ERCAN ve Prof. Dr. Handan TUNCEL'e ve çalışma arkadaşlarıma,

Bana kuvvet ve yaşama sevinci veren, beni yetiştirip bugünlere getiren ve her daim yanımda olan canım aileme ve çok kıymetli anneanneme,

Başarılarımı destekleyen ve kalbinde bana yer açan tüm aile ve arkadaşlarıma,

Hayatımda iyi ki var dediğim sevgili eşim Turan KURT'a,

Sevgi ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TDK-2016-20474

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	ii
BEYAN.....	iii
İTHAF.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
ÖZET	xvii
ABSTRACT.....	xviii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Pestisitler ve Genel Özellikleri	2
2.1.1. Pestisitlerin Tarihçesi.....	4
2.1.2. Pestisitlerin Sınıflandırılması.....	5
2.1.3. Türkiye’de Pestisit Kullanımı	8
2.1.4. Pestisitlere Maruz Kalma Yolları.....	9
2.1.5. Gıdalarda Pestisit Kalıntısı.....	10
2.2. İnsektisitler.....	11
2.2.1. İnsektisitlerin Sınıflandırılması.....	12
2.3. Organofosfatlar	12
2.3.1. Organofosfatların Sınıflandırılması	14
2.3.2. Organofosfatların Etki Mekanizması	17
2.3.3. Organofosfatların Vücutta Dağılımı ve Detoksifikasyonu	20
2.3.4. Organofosfat Zehirlenmelerinde Klinik Bulgular.....	20
2.3.5. Organofosfat Zehirlenmelerinde Tanı Testleri	22
2.3.6. Organofosfat Zehirlenmelerinde Tedavi	23
2.4. Klorprifos	25
2.4.1. Klorprifosun Yapısı ve Özellikleri.....	25
2.4.2. Klorprifosun Kullanım Alanları.....	25
2.4.3. Klorprifosun Biyotransformasyon Mekanizması.....	26

2.4.4. Klorprifosun Sağlık Üzerine Etkileri	27
2.5. Asetilkolin ve Asetilkolinesteraz	28
2.6. Oksidan Sistem ve Serbest Radikaller	29
2.6.1. Lipid Peroksidasyon.....	31
2.6.1.1. Malondialdehit	33
2.7. Antioksidanlar	33
2.7.1. Enzimatik Antioksidanlar	34
2.7.1.1. Glutasyon Peroksidaz	34
2.8. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar.....	35
2.8.1. Glutasyon.....	35
2.9. Eser Elementler.....	37
2.9.1. Selenyum.....	38
2.9.2. Çinko.....	42
2.9.3. Bakır.....	45
2.9.4. Demir	46
2.9.5. Kalsiyum	47
2.10. Ozmotik Frajilite.....	49
2.10.1. Ozmotik Frajilite ve Oksidatif Stres İlişkisi	51
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	52
3.1. Kitler ve Kimyasallar	52
3.2. Cihazlar	53
3.3. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deneyin Yapılması	54
3.4. Örneklerin Toplanması	56
3.5. Örneklerin Ölçüme Hazır Hale Getirilmesi	57
3.5.1. Doku Homojenatı Hazırlama	57
3.5.2. Doku Yaş Yakma	57
3.6. Yapılan Analizler	58
3.6.1. Eritrosit Ozmotik Frajilitesi Tayini.....	58
3.6.2. Asetilkolinesteraz (AChE) Aktivitesi Tayini	59
3.6.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx) Aktivitesi Tayini	61
3.6.4. Glutasyon (GSH) Aktivitesi Tayini.....	64
3.6.4.1. Kullanılan Reaktiflerin Hazırlanışı	64
3.6.4.2. Ölçümün Yapılışı	64

3.6.5. Lipid Peroksidasyon (MDA) Aktivitesi Tayini	65
3.6.5.1. Kullanılan Reaktiflerin Hazırlanışı	65
3.6.5.2. Ölçümün Yapılışı	65
3.6.6. Eser Element Düzeyinin Tayini	66
3.7. İstatistiksel Analiz.....	70
4. BULGULAR.....	71
4.1. Sıçanların Vücut Ağırlıkları.....	71
4.2. Hematolojik Bulgular.....	72
4.3. Ozmotik Frajilite Bulguları.....	76
4.4. Asetilkolinesteraz (AChE) Aktivitesi Bulguları	81
4.4.1. Serum Asetilkolinesteraz (AChE) Aktivitesi Bulguları.....	81
4.4.2. Beyin Asetilkolinesteraz (AChE) Aktivitesi Bulguları.....	82
4.5. Lipid Peroksidasyon (MDA) Bulguları	83
4.5.1. Karaciğer Malondialdehit (MDA) Bulguları	83
4.5.2. Böbrek MDA Bulguları	84
4.5.3. Beyin MDA Bulguları.....	85
4.6. Antioksidan Enzim Bulguları	86
4.6.1. Glutasyon (GSH) Bulguları.....	86
4.6.1.1. Karaciğer GSH Bulguları.....	86
4.6.1.2. Böbrek GSH Bulguları.....	87
4.6.1.3. Beyin GSH Bulguları	88
4.6.2. Glutasyon Peroksidaz (GPx) Bulguları	89
4.6.2.1. Karaciğer GPx Bulguları	89
4.6.2.2. Böbrek GPx Bulguları	90
4.6.2.3. Beyin GPx Bulguları	91
4.7. Eser Element Bulguları	92
4.7.1. Serum Eser Element Bulguları.....	92
4.7.2. Karaciğer Eser Element Bulguları	93
4.7.3. Böbrek Eser Element Bulguları	94
4.7.4. Beyin Eser Element Bulguları.....	95
5. TARTIŞMA	96
KAYNAKLAR	110
ETİK KURUL KARARI	133

ÖZGEÇMİŞ.....134



TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1: Türk Gıda Kodeksi tarafından bazı gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum pestisit miktarları.....	11
Tablo 2.2: Avrupa yönergelerine göre bazı gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum pestisit miktarları.....	11
Tablo 2.3: Dünya Sağlık Örgütü'ne ait akut zehirlilik tehlike kategorisi.....	14
Tablo 2.4: Küresel Uyumlaştırma Sistemi'ne ait akut zehirlilik tehlike kategorisi.....	14
Tablo 2.5: Organofosfat bileşiklerinin etkilerine ve kimyasal özelliklerine göre sınıflandırılması.....	14
Tablo 2.6: Reaktif oksijen türleri.....	30
Tablo 2.7: Antioksidanların sınıflandırılması.....	34
Tablo 2.8: Eser elementlerin konsantrasyonlarına göre sınıflandırılması.....	37
Tablo 2.9: Eser elementlerin makro ve mikro sınıflandırılması.....	38
Tablo 2.10: Selenoproteinler ve görevleri.....	40
Tablo 2.11: Türkiye'de selenyum için önerilen günlük diyet tüketim değerleri.....	41
Tablo 3.1: AChE aktivitesi tayini için kullanılan standart solüsyonların hazırlanışı.....	60
Tablo 3.2: GPx tayini için kullanılan standart solüsyonların hazırlanışı.....	62
Tablo 3.3: ICP-OES ölçümünde seçilen dalga boyları.....	67
Tablo 3.4: Elementlere ait standart değerler.....	68
Tablo 4.1: Sıçanların vücut ağırlıkları.....	71
Tablo 4.2: Hematolojik parametrelerin ölçüm sonuçları-1.....	73
Tablo 4.3: Hematolojik parametrelerin ölçüm sonuçları-2.....	75
Tablo 4.4: Tüm grupların maksimum ve minimum ozmotik dirençleri ile % hemoliz farklarının ortalama ve standart sapma değerleri.....	76
Tablo 4.5: Serum AChE aktivitesi.....	81
Tablo 4.6: Beyin AChE aktivitesi.....	82

Tablo 4.7: Karaciğer Malondialdehit düzeyleri.....	83
Tablo 4.8: Böbrek MDA düzeyleri.....	84
Tablo 4.9: Beyin MDA düzeyleri.....	85
Tablo 4.10: Karaciğer GSH düzeyleri.....	86
Tablo 4.11: Böbrek GSH düzeyleri	87
Tablo 4.12: Beyin GSH düzeyleri.....	88
Tablo 4.13: Karaciğer GPx düzeyleri.....	89
Tablo 4.14: Böbrek GPx düzeyleri.....	90
Tablo 4.15: Beyin GPx düzeyleri.....	91
Tablo 4.16: Serum eser element konsantrasyonlarının ortalama ve standart sapma değerleri.....	92
Tablo 4.17: Karaciğer dokularında ölçülen eser element konsantrasyonlarının ortalama ve standart sapma değerleri.....	93
Tablo 4.18: Böbrek dokularında ölçülen eser element konsantrasyonlarının ortalama ve standart sapma değerleri.....	94
Tablo 4.19: Beyin dokularında ölçülen eser element konsantrasyonlarının ortalama ve standart sapma değerleri.....	95

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Pestisit gruplarına göre Türkiye’de tarım ilacı kullanımı.....	8
Şekil 2.2: Bölgelere göre tarım ilacı kullanımı.....	9
Şekil 2.3: Pestisitlere maruz kalma yolları.....	10
Şekil 2.4: Organofosfatlı insektisitlerin genel yapıları.....	12
Şekil 2.5: Toksik organofosfat savaş ajanlarının yapısı.....	13
Şekil 2.6: Organofosfatlı pestisitler.....	13
Şekil 2.7: Asetilkolin ile asetilkolinesteraz arasındaki ilişki.....	17
Şekil 2.8: Klorprifosun sitokrom P450 enzimi ile Klorprifos-okson’a biyotransformasyon mekanizması.....	18
Şekil 2.9: Paration’un sitokrom P450 enzimi ile Paraokson’a biyotransformasyon mekanizması.....	18
Şekil 2.10: Organofosfatlı peptisitlerin AChE üzerine etkisi.....	19
Şekil 2.11: Klorprifosun kimyasal yapısı.....	25
Şekil 2.12: Klorprifosun insan ve kemigenlerdeki biyotransformasyon mekanizması.....	26
Şekil 2.13: Nöronlar ve nörotransmitterler.....	28
Şekil 2.14: Asetilkolin.....	28
Şekil 2.15: AChE enzimi tarafından asetilkolinin hidrolizi.....	29
Şekil 2.16: Peroksit radikalinin oluşumu.....	31
Şekil 2.17: Lipit peroksidin zincir reaksiyonu ve dallanması.....	32
Şekil 2.18: GSH’nın vücuttaki sentezi.....	36
Şekil 2.19: İndirgenmiş ve yükseltgenmiş GSH.....	36
Şekil 2.20: Glutatyonun yeniden oluşumu.....	36
Şekil 2.21: Selenyum metabolizması.....	39

Şekil 2.22: Eritrositin diskosit-ekinosit dönüşümü.....	50
Şekil 2.24: Eritrositin diskosit-stomatosit dönüşümü.....	51
Şekil 3.1: Deney planlamasının şematik gösterimi.....	55
Şekil 3.2: Sıçanlara gavaj uygulamaları.....	56
Şekil 3.3: Anestezi madde uygulaması ve kan alımı.....	57
Şekil 3.4: Doku homojenizasyonu.....	57
Şekil 3.5: Etüvlenen doku örnekleri.....	58
Şekil 3.6: Örneklerin hazırlanarak spektrofotometrede ölçülmesi.....	59
Şekil 3.7: Serum ve beyin dokusuna ait AChE aktivitesi standart grafiği.....	61
Şekil 3.8: GPx standart grafiği-1.....	63
Şekil 3.9: GPx standart grafiği-2.....	63
Şekil 3.10: ICP-OES cihazının şematik gösterimi.....	66
Şekil 3.11: Ölçüme ait selenyum kalibrasyon grafiği.....	68
Şekil 3.12: Ölçüme ait çinko kalibrasyon grafiği.....	68
Şekil 3.13: Ölçüme ait bakır kalibrasyon grafiği.....	69
Şekil 3.14: Ölçüme ait demir kalibrasyon grafiği.....	69
Şekil 3.15: Ölçüme ait kalsiyum kalibrasyon grafiği.....	69
Şekil 4.1: Kontrol, sham grubu, Grup I, Grup III ve Grup IV'e ait standart hemoliz eğrisinin değişimi.....	77
Şekil 4.2: Kontrol, sham grubu, Grup I, Grup III ve Grup IV'e ait hemolitik inkrement eğrisinin değişimi.....	77
Şekil 4.3: Kontrol, sham grubu, Grup II, Grup III ve Grup V'e ait standart hemoliz eğrisinin değişimi.....	78
Şekil 4.4: Kontrol, sham grubu, Grup II, Grup III ve Grup V'e ait hemolitik inkrement eğrisinin değişimi.....	78
Şekil 4.5: Kontrol, sham grubu, Grup I, Grup II ve Grup III'e ait standart hemoliz	

eğrisinin değişimi.....	79
Şekil 4.6: Kontrol, sham grubu, Grup I, Grup II ve Grup III'e ait hemolitik inkrement eğrisinin değişimi.....	79
Şekil 4.7: Kontrol, sham grubu, Grup III, Grup IV ve Grup V'e ait standart hemoliz eğrisinin değişimi.....	80
Şekil 4.8: Kontrol, sham grubu, Grup III, Grup IV ve Grup V'e ait hemolitik inkrement eğrisinin değişimi.....	80
Şekil 4.9: Serum AChE aktivitesi.....	81
Şekil 4.10: Beyin AChE aktivitesi.....	82
Şekil 4.11: Karaciğer MDA düzeyleri.....	83
Şekil 4.12: Böbrek MDA düzeyleri.....	84
Şekil 4.13: Beyin MDA düzeyleri.....	85
Şekil 4.14: Karaciğer GSH düzeyleri.....	86
Şekil 4.15: Böbrek GSH düzeyleri.....	87
Şekil 4.16: Beyin GSH düzeyleri.....	88
Şekil 4.17: Karaciğer GPx düzeyleri.....	89
Şekil 4.18: Böbrek GPx düzeyleri.....	90
Şekil 4.19: Beyin GPx düzeyleri.....	91

SEMBOLLER / kısaltmalar listesi

- Se : Selenyum
- Zn : Çinko
- Cu : Bakır
- Fe : Demir
- Ca : Kalsiyum
- P : Fosfor
- NaCl : Sodyum Klorür
- Na₂SeO₃ : Sodyum Selenit
- NaNO₃ : Sodyum Nitrat
- Na₃PO₄ : Tri Sodyum Fosfat
- Na₂HPO₄.2H₂O : Sodyum Fosfat Dibazik Dihidrat
- HPO₃ : Fosforik Asit
- HNO₃ : Nitrik Asit
- HClO₄ : Perklorik Asit
- TBA : Tiyobarbitürik Asit
- TCA : Trikloroasetik Asit
- HCl : Hidroklorik Asit
- EDTA : Etilendiamintetraasetik Asit
- DTNB : 5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit)
- ACh : Asetilkolin
- ChE : Kolinesteraz
- AChE : Asetilkolinesteraz
- CYP450 : Sitokrom P450

- GSH : Glutasyon
- GPx : Glutasyon Peroksidaz
- MDA : Malondialdehit
- AST : Aspartat Aminotransferaz
- ALT : Alanin Aminotransferaz
- ALP : Alkalen Fosfataz
- ALB : Albümin
- WBC : Lökosit
- RBC : Eritrosit
- Hct : Hematokrit
- Hgb : Hemoglobin
- MCV : Ortalama Eritrosit Hacmi
- MPV : Ortalama Trombosit Hacmi
- MCH : Ortalama Hemoglobin Miktarı
- MCHC : Eritrositlerdeki Hemoglobin Yoğunluğu
- Plt : Trombosit
- Tp : Total Protein
- Tg : Trigliserid
- T.Kolesterol : Total Kolesterol
- Rdw : Eritrositlerin Dağılım Genişliği
- LDH : Laktat Dehidrogenaz
- LD₅₀ : % 50 Öldürücü Doz
- LC₅₀ : % 50 Öldürücü Konsantrasyon
- ICP-OES : İndüktif Olarak Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometresi

ÖZET

Öztürk Kurt, B. Klorprifos Uygulanan Sıçanlarda Selenyumun Olası Koruyucu Etkisinin Hematolojik Parametreler, Oksidan Sistem ve Eser Element Düzeyleri Açısından İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyofizik A.D. Doktora Tezi. İstanbul. 2017.

Klorprifos (CPF), evlerde ve tarım alanlarında zararlı böcekleri öldürmek ya da kontrol altında tutabilmek için dünyada yaygın olarak kullanılan organofosfatlı bir pestisitir. Klorprifosun olası toksik etkileri üzerine selenyumun (Se) koruyucu rolünü araştırmak amaçlı çalışmamızda 56 tane Sprague Dawley cinsi erkek sıçan 7 gruba ayrıldı: kontrol grubu (musluk suyu), sham (mısır yağı), Grup I (5,4 mg/kg CPF), Grup II (13,5 mg/kg CPF), Grup III (3 mg/kg Se), Grup IV (5,4 mg/kg CPF+Se), Grup V (13,5 mg/kg CPF+Se). Maddeler sıçanlara 6 hafta boyunca haftada 5 kez gavaj yoluyla verildi. Çalışma sonunda hematolojik parametreler, oksidan sistem ve eser element seviyelerinin belirlenmesi için sıçanların kan, karaciğer, böbrek ve beyin dokuları alındı. Ölçülen parametrelerin hiçbirinde kontrol ve sham grupları arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi. CPF uygulanan grupların kontrol, sham ve Se grupları ile karşılaştırılmasında asetilkolinesteraz aktivitesinin, karaciğer fonksiyon testlerinin, hematolojik parametrelerin ve eser element seviyelerinin anlamlı olarak değiştiği görüldü. Ozmotik frajilite düzeyi yalnızca 13,5 CPF grubunda istatistiksel artış gösterdi. CPF uygulanan gruplarda diğer gruplara göre lipid peroksidasyon artmış ve antioksidan sistem parametreleri (GSH ve GPx) azaldı. Buna rağmen, bir antioksidan olan Se, CPF'nin hematolojik, hepatik, renal ve nörolojik toksisitelerini azaltma eğilimindedir. Klorprifos ile birlikte selenyumun alınmasının, CPF'ye maruz kalmanın yol açtığı olumsuz etkilerin giderilmesinde büyük ölçüde etkili olduğu görüldü.

Anahtar Kelimeler : Klorprifos,ozmotik frajilite, oksidan, antioksidan, eser element

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TDK-2016-20474

ABSTRACT

Öztürk Kurt, B. Investigation of Possible Protective Effect of Selenium with Regard to Hematological Parameters, Oxidant System and Trace Element Levels in Chlorpyrifos Applied Rats. İstanbul University, Institute of Health Science, Biophysics Department. Doctoral Thesis. İstanbul. 2017.

Chlorpyrifos (CPF) is an organophosphorus pesticide which is commonly used in the world to kill or keep under the control harmful insects in both household and agricultural areas. The study aimed to investigate the protective role of selenium (Se) on the possible toxic effect of CPF. 56 Sprague Dawley male rats were distributed into 7 groups (n=8) as control (tap water), sham (corn oil), Group I (5.4 mg/kg CPF), Group II (13.5 mg/kg CPF), Group III (3 mg/kg Se), Group IV (5.4 mg/kg CPF+Se), Group V (13.5 mg/kg CPF+Se). CPF was administrated orally 5 d/w during 6 weeks. After treatment, blood, liver, kidney and brain tissues of rats were collected to determined the haematological parameters, oxidant system and trace element levels. No significant differences were observed in all measured parameters between control and sham groups. There were significantly changes in acetylcholinesterase activity, liver function tests, haematological parameters and trace element levels in CPF treated groups compared to control, sham and Se groups. Osmotic fragility levels were increased statistically only in 13.5 CPF group. Lipid peroxidation was increased and antioxidant system parameters (GSH and GPx) were decreased in CPF treated groups compared to all other groups. However, Se as an antioxidant tend to reduce the hematologic, hepatic, renal and neurologic toxicities of CPF. The use of combinations of chlorpyrifos and selenium appeared to a great extent in restoring the negative effects induced by CPF exposure.

Key Words: Chlorpyrifos, osmotic fragility, oxidant, antioxidant, trace element

The present work was supported by the İstanbul University Scientific Research Projects Unit. Project No. TDK-2016-20474

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yüzyıllar boyu tarımda, zararlı organizmaları ortadan kaldırmak ve vektörel hastalıkları kontrol altına alarak gıda üretimini arttırmak için pestisit adı verilen böcek ilaçları kullanılmıştır (1). Organofosfatlı bir pestisit olan klorprifos, tarımsal alanlarda üretimi ve verimliliği arttırmada; evlerde ise haşerelerden korunmada sıklıkla tercih edilen bir böcek öldürücüdür. Kolay ve ucuz elde edilebilirliği nedeniyle sık sık ve kontrolsüzce kullanılan klorprifos, gıda, su, hava ve toprakta birikerek insanlar da dahil olmak üzere hedef dışı organizmalar için toksisiteye neden olmaktadır (2).

Klorprifosun en büyük etkisi, kolinerjik sinapslarda asetilkolinesterazın geri dönüşümsüz inhibisyonuna bağlı nörotoksisitedir. Organofosfatlar, asetilkolinin serin hidroksil grubunu fosforile eder ve kolinerjik sinapslarda asetilkolin birikimine neden olurlar (3). Bu birikim, kaslarda güçsüzlüğe ve fasikülasyona; nöromusküler kavşakta, sempatik, parasempatik ve merkezi sinir sistemlerinde sinyal iletiminin bozularak aşırı kolinerjik stimülasyonun oluşmasına yol açar. Klorprifosun birçok dokuda toksik etki yarattığı ve eser elementlerde değişikliğe sebep olduğu bildirilmiştir (4-7).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, pestisit toksisitesinin reaktif oksijen türlerinin (ROS) artan üretimiyle ilişkili olabileceğini göstermektedir (8-10). Reaktif oksijen türlerinin üretimini arttıran oksidatif stresin, oksidan-antioksidan dengesinde bozulmaya, hücresel makromoleküllerde değişikliklere, hücre işlevinde bozulmalara ve sonuçta hücre ölümüne yol açmasına neden olduğu bilinmektedir (11-12). Hücreler oksidatif stresin etkilerini hafifletmek için enzimatik ve enzimatik olmayan farklı antioksidan mekanizmalarını kullanırlar (13).

Serbest radikal oluşumundan kaynaklanan oksidatif stres ile serbest radikallerin temizlenmesinde etkili sistemlerdeki değişiklik, eritrosit bütünlüğünü belirleyen karmaşık faktörlerden biridir (14). Başka bir ifadeyle, eritrosit ozmotik fragilitesi ile dolaylı ölçülebilen oksidatif stres klorprifos zehirlenmelerinde rol alan moleküler bir mekanizmadır (15-16). Ozmotik fragilite, eritrositlerin dayanıklılığının göstergesi olarak sıklıkla kullanılmaktadır (17).

Bu çalışmada, klorprifosa maruz kalmanın asetilkolinesteraz aktivitesi, karaciğer enzimleri, ozmotik fragilite, hematolojik parametreler, oksidan ve antioksidan sistem ve eser elementler üzerine olası etkisini incelemek ve bu etkiler üzerine selenyumun rolünü araştırmak amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pestisitler ve Genel Özellikleri

Pestisitler, tarım ürünlerinin üretimi, işlenmesi, depolanması ve pazarlanması aşamalarında besin değerini ya da verimini düşüren "pest" olarak adlandırılan zararlı organizmaları yok etmek, kontrol altında tutmak ya da zararlarını azaltmak amacıyla kullanılan her türlü kimyasal madde ve bileşiklerine verilen genel bir terimdir. Pestisitler, kimyasal madde olabildiği gibi bakteri veya virüs gibi biyolojik ajan, dezenfektan ya da antimikrobik de olabilirler (18-20).

Dünyada olduğu gibi ülkemizde de Tarım Bakanlığı'nın onayı ile sıklıkla kullanılan pestisitler bir yandan zararlı organizmaları yok ederek verimliliği arttırırken; diğer yandan seçiciliklerinin olmaması ve doğada uzun süre kalabilme özelliklerinden dolayı kendilerine daha dirençli ürünlerin oluşumuna, yararlı türlerin yok olmasına ve ekosistemdeki dengenin bozulmasına yol açabilmektedirler (21-23).

Gıda ve Tarım Örgütü ve Dünya Sağlık Örgütü' ne göre zehirli özellik taşıyan her madde pestisit olarak tanımlanamaz ve kullanılamaz. Bir maddenin pestisit olarak nitelendirilebilmesi için taşıması gereken özellikler şunlardır (24):

- Etkili olmalı,
- Kararlı olmalı,
- Güvenilir olmalı,
- Yaban hayatına ve yararlı organizmalara zarar vermemeli,
- Biyolojik olarak aktif olmalı.

Pestisitlerin etkileri sahip oldukları etken madde miktarına göre değişmektedir. Tolerans limit aralığını sağlayan pestisitler insanlar için akut ya da kronik etki yaratmazken ev ya da çiftlik hayvanları gibi hedef dışı canlılara ciddi zarar verebilirler. Pestisitlerin kullanımı sırasında ya da sonrasında uygulandığı alanın dışına bulaşması veya hedef dışı bölgede suyla etkileşime girmesi kontaminasyona neden olmaktadır. Bu kirliliği temizleme işlemi ise oldukça zahmetli ve pahalıdır.

Pestisitlerin içeriğinin ve insanlar için oluşturabileceği tehlikelinin boyutunun anlaşılabilmesi için aktif bileşen, toksisite, etkili doz, yarılanma ömrü, formülasyon gibi birçok kavram tanımlanmıştır (25).

Aktif Bileşen

Aktif bileşen, pestisit gibi birçok kimyasalın biraraya gelmesiyle oluşan bir karışımda hedeflenen zararlı organizmanın öldürülmesini sağlayarak istenilen amacı yerine getiren ana maddedir. Pestlere karşı toksik etki yaratmanın yanında diğer canlılara karşı da tehlike oluşturmaktadır. Pestisit içerisindeki diğer kimyasallar ise çoğunlukla inerttir (reaktif olmayan) ve karışımın çok küçük kısmını oluşturan aktif bileşenin uygulama aşamasında taşınmasını kolaylaştırmaktadır. Borik asit ve şekerli su ile hazırlanan basit bir böcek ilacını ele alırsak aktif bileşen olan borik asit karışımın ancak % 1'lik kısmını oluşturur. % 99'luk kısmı oluşturan şekerli su ise doğrudan böceğin ölümüne sebep olmazken aktif bileşenin hedef bölgeye ulaşımını sağlamaktadır (26).

Toksisite

Pestisitlerin zarar verme kapasitesini ya da neden oldukları biyolojik zararı belirleyen toksisiteLERİDİR. Toksisitenin etkisi, uygulanan maddenin dozu ve verilış yolu ile maddeye ne kadar süre ve ne sıklıkta maruz kalındığı gibi faktörlere bağlıdır. Zararın ortaya çıkması için geçen süreye göre toksisite akut ve kronik olarak sınıflandırılır. Akut toksisite tek doz uygulama sonucunda ve kısa vadeli bir sürede kimyasalların insan ya da hayvanlara verdikleri zararı ifade etmede kullanılır. Akut toksite, genellikle LD₅₀ (% 50 ölümcül doz) ya da LC₅₀ (% 50 ölümcül konsantrasyon) olarak gösterilir. Bu da deney hayvanı popülasyonlarının en az % 50' sini öldürmek için gerekli madde miktarı ya da konsantrasyonunu belirtir. Pestisitlerin LD₅₀ değeri, deney hayvanlarının kilogramı başına hesaplanan pestisit miligramını (mg/kg) ya da milyonda birini (ppm) ifade eder. Akut toksisite bir pestisit toksisite sınıfını (yüksek toksiteli vb) belirlemek ve ona uygun bir uyarı işareti ('tehlikeli ve zehirli' yazısı, 'kuru kafa ya da tehlike işareti' vb) seçiminde bulunmak için belirleyicidir. Kronik toksisite ise deney hayvanlarının pestisitlere uzun vadede, düşük dozda maruz kalması ile ortaya çıkan etki olarak ifade edilmektedir (26, 27).

✚ Formülasyon

Pestisitler suda çözünebilen tozlar, ıslanabilir tozlar, akışkanlar, aerosoller, katı ya da sıvı yemler gibi uygulamada sağladıkları avantajlara göre birçok farklı formda olabilirler. Formülasyonlarda aktif pestisit haricinde çözücü, emülsifiye edici, sulandırıcı gibi genellikle inert olan bir takım maddeler de yer almaktadır (28, 29).

✚ Etkili Doz

Etkili doz, istenmeyen, zararlı organizmanın öldürülebilmesi için gereken miktardır. Etkili dozdan daha azı uygulandığında hedef canlı ölmekte; etkili dozdan daha fazlası uygulandığında ise hedef canlının ölüm şekli değişmemektedir. Her iki uygulama da gereksiz pestisit kullanımına ve para harcanmasına, hedef dışı canlıların ölmesine ve çevre kirliliğine sebep olmaktadır (25, 28).

✚ Yarılanma Ömrü

Yarılanma ömrü ($T_{1/2}$) aktif maddenin yarısının bozulması için geçen süreyi ifade eder ve her ek yarı ömür süresince maddenin % 50'si kaybolmaya devam eder (25). Toprak yarılanma ömrü, topraktaki aktif madde ile metabolitlerinin % 50'sinin parçalanması için gerekli süre olarak tarif edilir ve DT_{50} ile gösterilir. Topraktaki yarılanma ömrü zaman ölçüsüdür ve gün ile belirtilir. Bu süre ne kadar uzun olursa pestisitlerin yer altı sularına bulaşma riski ve toprakta yaşayan canlılara zararı o oranda yüksek olacaktır (29). Genellikle 30 gün olsa da 11-140 günlük toprak yarılanma ömrüne sahip olan klorprifosun kararlılığı asidik topraklarda artar. Klorprifos doğrudan bitkilere uygulandığında ise 10-14 günlük süre boyunca bitki yüzeylerinde kalıntılar görülmeye devam eder (30).

2.1.1. Pestisitlerin Tarihçesi

- Kullanımı İsa'dan önce 1000'li yıllara dayanan kükürt ve arsenik ilk pestisitler olarak sayılmaktadır.
- 16. yy.'da nikotin gibi botanik kökenli maddeler; 19. yy. başlarında ise krizantem çiçeğinden elde edilen piretrum pestisit olarak kullanılmıştır.
- 1874 yılında Alman Kimyacı Othmar Zeidler DDT'yi (diklorodifenil trikloroeta) keşfetmiştir.

- 1939 yılında İsviçreli kimyacı Paul Hermann Müller tarafından DDT'nin pestisit özellikleri taşıdığı belirlenmiştir.
- 1940'lı yıllarda pestisit kullanımı gittikçe yaygınlaşmıştır.
- 1942 yılında piyasaya sürülmesiyle DDT'nin kullanımı hızlıca yayılmıştır.
- 1943 yılında paratyon pazara sunulmuştur.
- 1947 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde ilk pestisit yasası çıkarılmıştır.
- 1955 yılında Dünya Sağlık Örgütü tarafından sıtma ile mücadelede kullanılan pestisitler sayesinde 15 milyon kişinin yaşamı kurtarılmıştır.
- 1960'lı yıllarda yapılan çalışmalarda DDT'nin fareler üzerinde kanserojen etkiye sebep olduğu ayrıca sivrisinekle beslenen canlı türlerinin de ölümüne sebep olduğu belirlenmiştir.
- 1962 yılında Amerikalı biyolojist Rachel Louise Carson 'Silent Spring' adlı kitabında klorlu hidrokarbonların ve DDT'nin insan sağlığı ve ekolojik sistem üzerine etkilerini açık bir anlatımla dile getirerek büyük bir yankı yaratmıştır.
- 1969 yılında DDT kullanımı İsveç'te yasaklanmıştır.
- 1970 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde EPA (Çevre Koruma Ajansı) kurulmuştur.
- 1971 yılında DDT kullanımı Amerika Birleşik Devletleri'nde yasaklanmıştır.
- 1974-1984 yılları arasında DDT kullanımı İngiltere'de gönüllü olarak bırakılmıştır (28).

2.1.2. Pestisitlerin Sınıflandırılması

Pestisitler aktif oldukları etkene, kimyasal tiplerine, formülasyonlarına ve kullanım şekillerine, kökenlerine ve etki ettikleri gelişim evrelerine göre çeşitli şekillerde sınıflandırılmaktadırlar (25, 28):

✚ Pestisitlerin Aktif Oldukları Etkene Göre Sınıflandırılması

1. İnsektisitler: Böcek öldürücüler
2. Herbisitler : Ot öldürücüler
3. Fungisitler : Mantar öldürücüler
4. Akarisitler : Akar öldürücüler
5. Rodentisitler : Kemirici öldürücüler.
6. Pisisitler : Balık öldürücüler
7. Avisitler : Kuş Öldürücüler
8. Mollusisitler : Yumuşakça öldürücüler
9. Nematisitler : Nematod öldürücüler

✚ Pestisitlerin Kimyasal Tiplerine Göre Sınıflandırılması

1. Organofosfatlar
2. N-metil karbamatlar
3. Klorlu hidrokarbonlar
4. Bisditiyokarbamatlar
5. Organotinler
6. Botanik kökenli maddeler
7. Arsenikler
8. Fenoksialifatik asitler
9. Piretrodller
10. Fenol türevleri
11. Mikrobiyaller

✚ Pestisitlerin Formülasyon Şekillerine Göre Sınıflandırılması

1. Toz ilaçlar
2. Islanabilir toz ilaçlar
3. Emülsiyon konsantre ilaçlar
4. Solüsyon konsantre ilaçlar
5. Suda çözünebilir toz ilaçlar
6. Yazlık ve kışlık yağlar
7. Granüller
8. Peletler
9. Tabletler
10. Toz tohum ilaçları
11. Sıvı tohum ilaçları
12. Aerosoller
13. Zehirli yemler
14. Kapsül şekli verilmiş formülasyonlar
15. Akıcı konsantreler (FC)
16. Kuru akışkanlar

✚ Pestisitlerin Kullanım Şekillerine Göre Sınıflandırılması

1. Gaz
2. Toz
3. Püskürtme

✚ Pestisitlerin Kökenlerine Göre Sınıflandırması

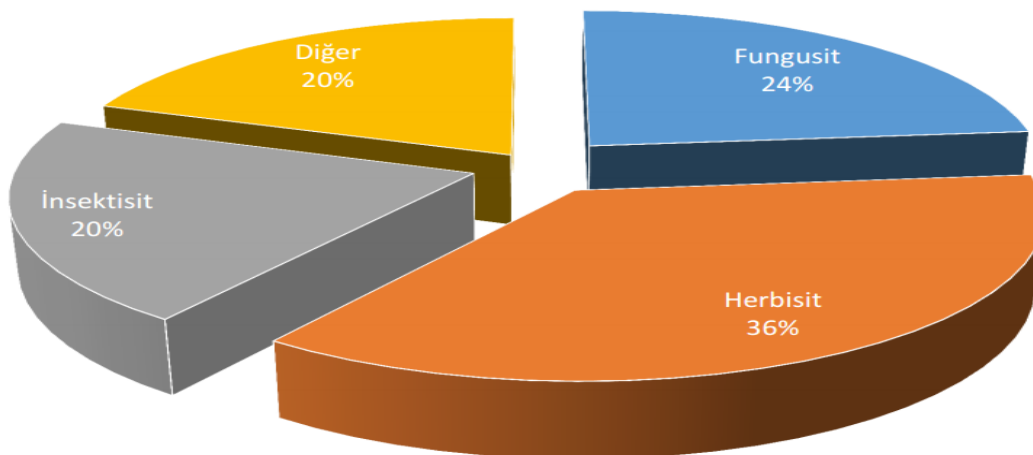
1. İnorganik maddeler
2. Doğal organik maddeler: Bitkisel maddeler, Petrol yağları, vb.
3. Sentetik organik maddeler: Klorlu hidrokarbonlar, Organik fosforular, diğer sentetik organik maddeler (azotlu bileşikler, piretroidler).

✚ Pestisitlerin Etki Ettikleri Gelişim Evrelerine Göre Sınıflandırması

1. Larvisit: Larvaları öldürenler
2. Ovisit: Yumurtalara zarar verenler
3. Adlütisit: Erişkin böcekleri öldürenler

2.1.3. Türkiye’de Pestisit Kullanımı

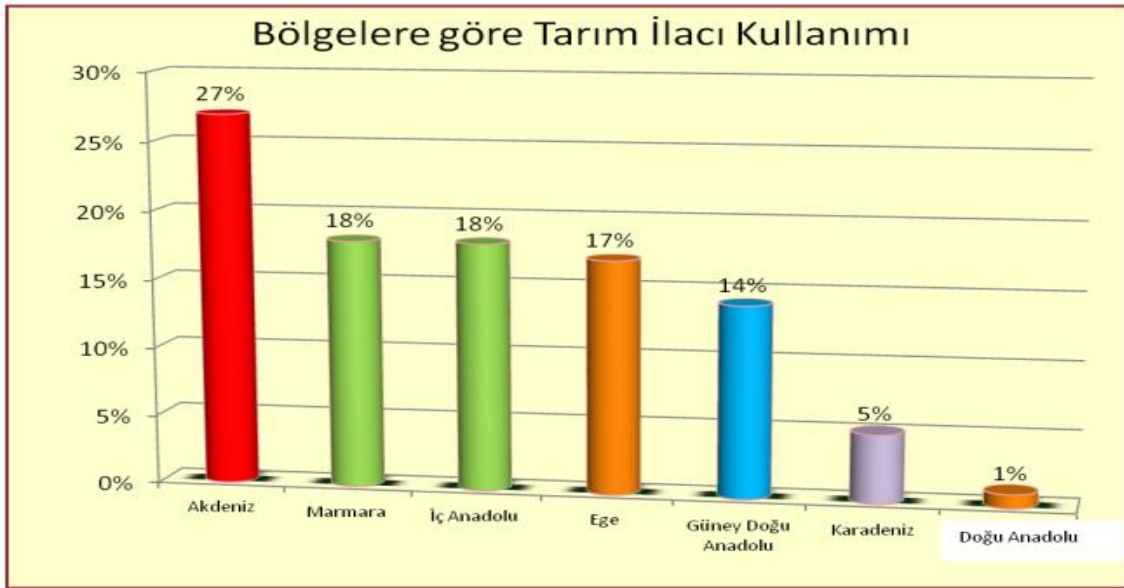
Dünya’da pestisit üretimi yıllık yaklaşık 3,2 milyon ton; satış tutarı ise 44 milyar dolardır. Türkiye’de ise yıllık pestisit satış tutarı ortalama 500 milyon dolardır. 2012 yıl sonu verilerine göre Türkiye’de pestisit kullanımında ilk sırayı % 36’lık oranla herbisitler almaktadır. Bu sırayı % 24 ile fungusitler, % 20 ile insektisitler ve insektisitler ile aynı oranda (% 20) diğer pestisit grupları izlemektedir (Şekil 2.1) (31).



Şekil 2.1: Pestisit gruplarına göre Türkiye’de tarım ilacı kullanımı

Ülkemizde ruhsatlı 334 adet aktif madde ve 5,628 adet bitki koruma ürünü bulunmaktadır. Bunların 4,996’sını pestisitler oluşturmaktadır.

Türkiye Ziraat Mühendisliği 6.Teknik Kongresi’nde Türkiye’de pestisit tüketiminin her geçen yıl arttığı ve 1979 yılına oranla 2002’de bu artışın % 45,29 olduğu bildirilmiştir (32).

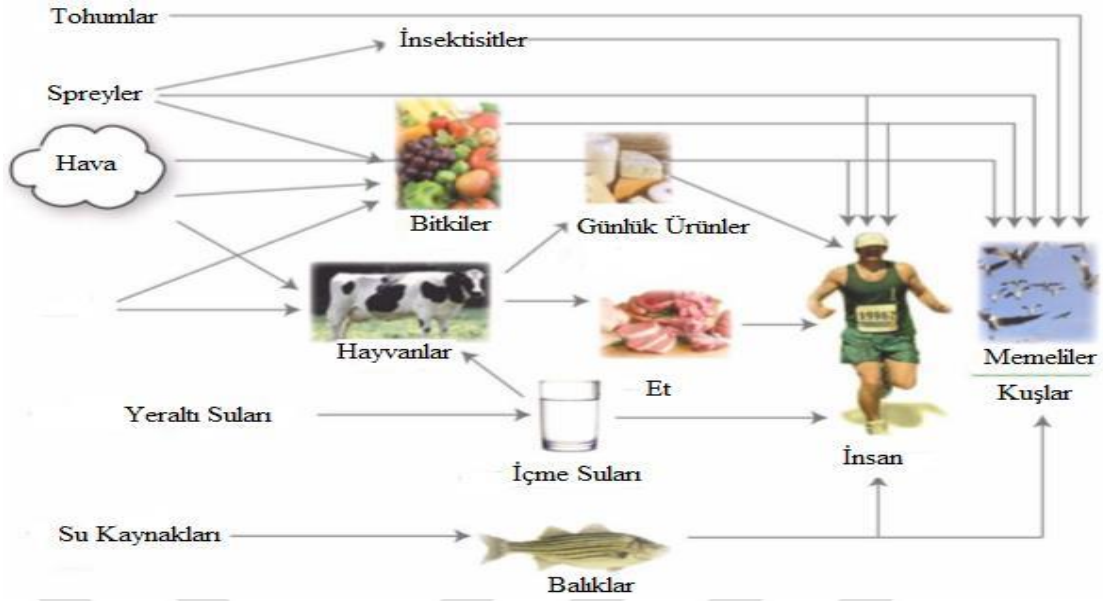


Şekil 2.2: Bölgelere göre tarım ilacı kullanımı

Ülkemizde tarım ilacı kullanımında ilk sırayı Akdeniz Bölgesi (% 27) alırken burayı sırasıyla Marmara (% 18), İç Anadolu (% 18), Ege (% 17), Güneydoğu Anadolu (% 14), Karadeniz (% 5) ve Doğu Anadolu (% 1) bölgeleri takip etmektedir (Şekil 2.2) (31).

2.1.4. Pestisitlere Maruz Kalma Yolları

Pestisitlerin sprey yoluyla uygulanması esnasında bir kısmı bitki yüzeyine, yapraklara ve toprağa ulaşırken; diğer kısmı dağılma ve buharlaşma sebebiyle kaybolur (33). Pestisitler doğrudan toprağa uygulansalar dahi uygulanma sonrası, vejetasyondan ve topraktan buharlaşarak, rüzgâr aracılığıyla atmosfere girerler (34). Uzun mesafeler boyunca hava yoluyla taşınabilirler. Atmosfere giren pestisitler sis, yağmur, ya da kar ile yeniden yeryüzüne dönebilirler (35). Yağışlar ve sızıntı kanalları sebebiyle akarsulara ve yer altı sularına karışan pestisitler sucul ortama girerek, içme suyu kaynaklarını kirletirken deniz canlılarının zehirlenmesine ve ölümüne neden olabilirler. Balıklar, kuşlar, arılar, mikroorganizmalar ve omurgasızlar gibi hedef dışı organizmaların üremelerinde azalmaya ve hatta ölümüne sebep olabilirler (32). Yağmur suları ile toprağa düşen pestisitler toprak yapısının bozulmasına ve burada yaşayan canlıların olumsuz etkilenmesine sebep olabilir (34). Suların buharlaşmasıyla pestisitler tekrardan havaya karışır ve bu hidrolojik döngü sürekli olarak devam eder (36) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3: Pestisitlere maruz kalma yolları (37).

2.1.5. Gıdalarda Pestisit Kalıntısı

Gıdalardaki pestisit kalıntılarının neden olduğu toksikolojik etkiler hakkında henüz yeterli bilgi olmamasına rağmen, tükettiğimiz her gıda, derişimi çok düşük de olsa bir veya birçok pestisit kalıntısını içerebilmekte ve bu durum ciddi seviyelerde sağlık problemlerine sebep olabilmektedir. Gelişmiş pek çok ülke pestisit kalıntı değerlerinin tespiti için gıda analizlerinin önemli ve gerekli olduğunu düşünmektedir. Bu kalıntı değerleri ADI olarak isimlendirilen ‘kabul edilebilir günlük miktar’ gibi toksisite kriterleri veya MRL olarak isimlendirilen ‘maksimum kalıntı limitleri’ gibi ticari standartlar ile karşılaştırılır. ADI toksisite ölçüsüyken; MRL dünya pazarında sağlıklı gıda ticareti kontrolünün gerçekleştirilebilmesi için hem ulusal hem de uluslararası otoritelerce (Codex Alimentarius gibi) oluşturulmuş bir standarttır (38).

Ülkemizde de diğer ülkelerde olduğu gibi tarım ürünlerinde bulunmasına izin verilen maksimum pestisit miktarları, ilaç ve ürün bazında belirlenmiştir (Tablo 2.1 ve Tablo 2.2) (25).

Tablo 2.1: Türk Gıda Kodeksi tarafından bazı gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum pestisit miktarları

Ürünler	Bazı Pestisit Türleri ve Derişimleri (mg/kg)												
	Paration	Fention	Siromazin	Kloropirifos	DDT ve türevleri	Aldrin	Endosulfan	Klordan	Ometoat	Malation	Mono krotofos	Diazinon	Atrazin
Turunçgiller	-	-	-	-	0.05*	-	0.5	-	-	2.00	-	1.00	0.1*
Üzümsü ve Küçük meyveler	-	0.2	-	0.05*-0.5	0.05*	-	0.05*	-	-	0.5	-	0.02*	0.1*
Köklü ve yumrulu sebzeler	-	-	-	0.05*-0.2	0.05*	-	0.05*	0.02	0.1	0.5	-	0.2	0.1*
Yapraklı sebzeler ve taze otlar	-	-	0.5	0.05*	0.05*	-	0.05*	0.02	0.1-0.4(?)	0.5	-	0.02*	0.1*
Baklagiller	-	-	0.5	0.05*	0.05*	-	0.05*	0.02	-	3.00	-	0.02*	0.1*
Mantarlar	-	-	-	0.05*	0.05*	-	0.05*	-	-	0.5	-	0.02*	0.1*
Tahıllar	0.05*	0.1 (?)	-	0.05*-0.2	0.1	0.01	0.05*	0.02	-	8.00	-	0.05	-
Hayvansal ürünler (et ve yağ üzerinden)	0.05* (?)	0.05-2.0	-	0.01*-0.05*	0.04-1.0	0.006-0.2	0.004-0.1	0.002-0.05	-	-	-	0.01*-0.05*	-

* Analitik saptanabilir daha düşük limit. (?) Bütün ürün grubunu kapsamaz sadece belirli ürünler için geçerlidir.

Tablo 2.2: Avrupa yönergelerine göre bazı gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum pestisit miktarları

Ürünler	Bazı Pestisit Türleri ve Derişimleri (mg/kg)												
	Paration	Fention	Sikromazin	Kloropirifos	DDT ve türevleri	Aldrin	Endosulfan	Klordan	Ometoat	Malation	Mono krotofos	Diazinon	Atrazin
Turunçgiller	0.05*	3.0	0.05*	0.2-0.2-2.0	0.05*	0.01*	0.05	0.01*	-	-	-	0.01	0.05*
Üzümsü ve Küçük meyveler	**	0.01*	**	0.05*	-	**	0.05*-0.5*	**	-	-	**	0.01*	**
Köklü ve yumrulu sebzeler	0.05*	0.01*	0.05*-1.00	0.05*	0.05*	0.01*	0.05*	0.01*	-	-	0.2	0.01*	0.05*
Yapraklı sebzeler ve taze otlar	-	-	0.05*	0.05*	-	-	0.05*	-	-	-	-	0.01*	0.05*
Baklagiller	-	-	0.05-5.00	0.05*	-	-	0.05*	-	-	-	-	0.01*	0.05*
Mantarlar	-	-	0.05-5.00	0.05*	-	-	0.05*	-	-	-	-	0.01*	0.05*
Tahıllar	0.05*	0.01*	0.05*	0.05*-0.2	0.05*	0.01*	0.05*	-	-	8.00	-	0.02*	0.1 (1)
Hayvansal ürünler	0.05*	0.05*	0.05*	-	1.00	0.2	0.05*	0.05*	-	-	-	0.05*	-

2.2. İnsektisitler

İnsektisitler, tarım alanlarına zarar veren böceklerle mücadelede kullanılan en büyük pestisit grubudur. İnsektisitler nörotoksik olup hedeflenen organizmanın sinir sisteminde toksik etki gösterirler. Böceklerin gelişmiş merkezi sinir sistemleri (MSS) ve perifer sinir sistemleri (PSS) memelilere benzemektedir. Bu sebeple insektisitlerin hedef aldıkları organlar ile toksik etki mekanizmaları tüm organizmalarda aynıdır. Ancak yaratacağı toksik etkinin şiddeti doza bağlıdır. İnsektisitler sinir sisteminde yer alan potasyum, sodyum ve klor iyonlarına ait membran transportuna, spesifik enzimlere veya sinir uçlarındaki nörotransmitterlere etki ederek nörotoksitelerini gösterirler (39).

2.2.1. İsektisitlerin Sınıflandırılması

İsektisitler kimyasal yapılarına göre 4 ana gruba ayrılır (40):

- Klorluhidrokarbon yapısındaki isektisitler (Organoklorlular)
- Organik fosforlu isektisitler (Organofosfatlar)
- Karbamat grubu isektisitler (Karbamatlar)
- Piretroid isektisitler (Piretroidler)

2.3. Organofosfatlar

Organofosfatlar tarımsal alanlarda, ormancılık sektöründe ve evlerde böceklerle mücadelede en çok kullanılan isektisit grubudur. Organofosfatlı isektisitler kristalize-toz halinde beyaz-sarı renklere ya da yağlı-sıvı halde sarı-koyu kahve renklere bulunan ve kokusu sarımsağa benzeyen bileşiklerdir. Bunlar suda az çözünürken; yağda ve organik çözücülerde iyi çözünürler bu sebeple bitkilerin yaprak ve meyvelerine kolayca girerler (41).

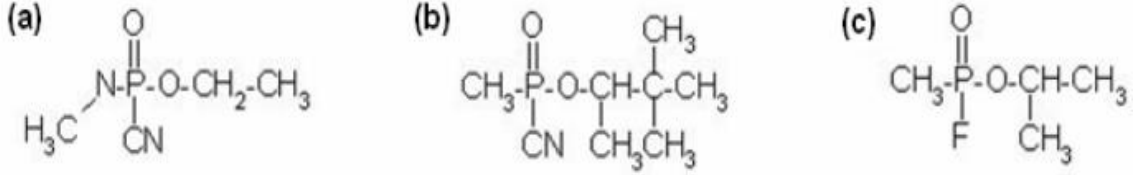
Organofosfat ürünlerin kalıcılığı ortam sıcaklığına ve pH'sına bağlıdır. Organofosfatlı bileşikler asidik ortamlara daha dirençlidirler; ancak ortam pH'sının 2'den küçük olması durumunda dayanıklılıklarını yitirirler. Alkali ortamlarda hızla hidrolize uğrayan organofosfatlar pH'nın 7'nin üstündeki her bir birimlik artışında parçalanma oranını veya hızını ortalama on kat artırır (20).



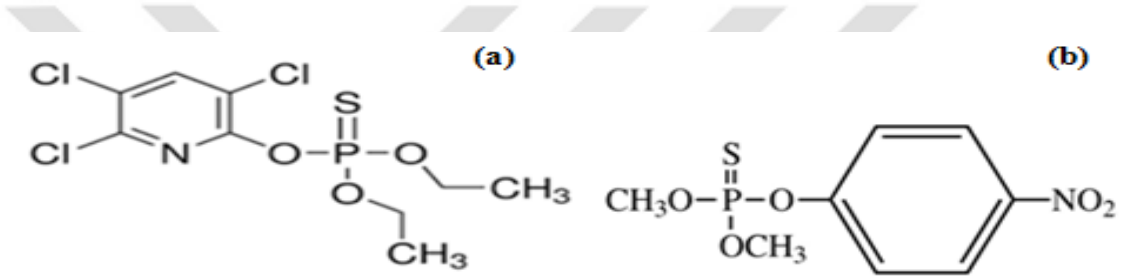
Şekil 2.4: Organofosfatlı isektisitlerin genel yapıları

Organofosfatlı isektisitler, genel olarak fosfonik, fosforik, fosfortioik ve fosfontioik asitlerin amid, ester ve tiyol türevleridir. Şekil 2.4'te görüldüğü üzere organofosfatlar bir fosfor (P) atomuna kükürt ya da oksijen ile bağlanmış veya doğrudan bağlı alkil grupları (R1 ve R2) ile oluşabileceği gibi dallanmış ya da süstitüe aromatik, alifatik veya heterosiklik bir gruptan (X) da oluşabilmektedir. Organofosfatın genel kimyasal yapısı merkezde bir P atomu ve karakteristik fosforik (P = O) veya tiyofosforik (P = S) bağı içerir. X sembolü, AChE aktif bölgesinde nükleofilik

sübstitüsyonla serin oksijeni ile yer değiştiren grubu temsil eder. AChE'nin inhibisyon oranı ayrılan gruba bağlıdır; artan ayrılma eğilimi inhibitörün enzime daha yüksek afinite duymasına neden olur (20).



Şekil 2.5: Toksik organofosfat savaş ajanlarının yapısı: (a) tabun, (b) sabun, (c) sarin (37, 42).



Şekil 2.6: Organofosfatlı pestisitler: (a) klorprifos; (b) metil-parathion (37).

Ayrılan grup çok toksik savaş ajanlarında (Şekil 2.5) yüksek hidroliz eğilimine ve dolayısıyla aşırı AChE inhibisyonuna sahip florür (F) içerir. Daha az toksik organofosfatlarda ise ayrılan grup genellikle alkil veya aril grupları içerir. R₁ ve R₂ yan grupları genelde alkoksi gruplarıdır. AChE aktif alanına bağlanan organofosfatın aktif konfigürasyonu, merkezi fosforun oksijen atomuna bağlı olduğu bir oksono yapıdadır. Şekil 2.6'da organofosfatlı pestisitlere örnekler yer almaktadır (20, 37, 43).

2.3.1. Organofosfatların Sınıflandırılması

Organofosfat bileşikleri Dünya Sağlık Örgütü'ne (Tablo 2.3), Küresel Uyumlaştırma Sistemi'ne (Tablo 2.4), etkilerine ve kimyasal özelliklerine göre (Tablo 2.5) çeşitli şekillerde sınıflandırılmışlardır.

Tablo 2.3: Dünya Sağlık Örgütü'ne ait akut zehirlilik tehlike kategorisi (44).

Dünya Sağlık Örgütü Sınıflandırması		LD ₅₀ (mg/kg) (Sıçanlar için)	
		Ağız Yolu	Deri Yolu
Ia	Aşırı Tehlikeli	< 5	< 50
Ib	Çok Tehlikeli	5-50	50-200
II	Orta Derecede Tehlikeli	50-2000	200-2000
III	Hafif Tehlikeli	2000 üstü	2000 üstü
IV	Akut Tehlike Olasılığı Düşük	5000 ve fazlası	5000 ve fazlası

Tablo 2.4: Küresel Uyumlaştırma Sistemi'ne (KUS) ait akut zehirlilik tehlike kategorisi (44,45).

KUS Sınıflandırması	Kategori 1	Kategori 2	Kategori 3	Kategori 4	Kategori 5
Tehlike Durumu	Ölümcül	Ölümcül	Toksik	Zararlı	Zararlı Olabilir
Maruz Kalma Yolu	LD ₅₀ (mg/kg)	LD ₅₀ (mg/kg)	LD ₅₀ (mg/kg)	LD ₅₀ (mg/kg)	LD ₅₀ (mg/kg)
Ağız (mg/kg)	< 5	5-50	50-300	300-2000	2000-5000
Deri (mg/kg)	< 50	50-200	200-1000	1000-2000	2000-5000
Gaz (ppm)	< 100	100-500	500-2500	2500-5000	
Buhar (mg/l)	< 0,5	0,5-2,0	2,0-10	10-20	
Toz ve Sis (mg/l)	< 0,05	0,05-0,5	0,5-1,0	1,0-5,0	

Tablo 2.5: Organofosfat bileşiklerinin etkilerine ve kimyasal özelliklerine göre sınıflandırılması (46):

Sınıf Ia. Aşırı tehlikeli

Chlorfenvinphos

Coumaphos

Demeton

Disulfoton

Ethoprophos

Fenamiphos

Fensulfothion

Kimyasal Özellik

Fosfat

Fosfotioat

Fosfotioat

Fosfotioat

Fosfotioat

Fosforamid

Fosfotioat

Sınıf Ia. Aşırı tehlikeli

Fonophos

Leptophos

Mephosfolan

Mevinphos

Parathion

Parathion-methyl

Phorate

Phosfolan

Phosphamidon

Prothoate

Sulfotep

TEPP

Terbufos

Trichloronat

Sınıf Ib. Çok Tehlikeli

Azinphos-ethyl

Azinphos-methyl

Bromophos-ethyl

Demeton-S-methyl

Dichlorvos

Dicrotophos

Fenthion

İsofenphos

Methamidophos

Methidathion

Monocrotophos

Omethoate

Pirimphos-ethyl

Propetamphos

Thiometon

Triazophos

Vamidothion

Kimyasal Özellik

Fosfonotiyonat

Fosfonotiyonat

Fosforamid

Fosfat

Fosfotiyonat

Fosfotiyonat

Fosfotiyonat

Fosfonoamidotiyonat

Fosfat

Fosfotiyonat

Fosfotiyonat

Fosfat

Fosfotiyonat

Fosfonotiyonat

Kimyasal Özellik

Fosfonotiyonat

Fosfotiyonat

Fosfotiyonat

Fosfotiyonat

Fosfat

Fosfat

Fosfotiyonat

Fosforamidotiyonat

Fosforamidotiyonat

Fosfotiyonat

Fosfat

Fosfonotiyonat

Fosfotiyonat

Fosforamidotiyonat

Fosfotiyonat

Fosfonat

Fosfotiyonat

Sınıf II. Orta Derecede Tehlikeli**Klorprifos-etil**

Diazinon

Dichlofenthion

Dimethoate

Ethion

Fenitrothion

Phosmet

Phoxim

Profenofos

Prothiofos

Sulprofos

Kimyasal Özellik

Fosfotioat

Fosfotioat

Fosfotioat

Fosfotioat

Fosfotioat

Fosfotioat

Fosfotioat

Fosfonoamidotionat

Fosfotioat

Fosfotioat

Fosfotioat

Sınıf III. Hafif Tehlikeli

Acephate

Bromophos

Malathion

Pirimiphos-methyl

Trichlorfon

Kimyasal Özellik

Fosforamidotionat

Fosfotioat

Fosfotioat Dimethoate

Fosfotioat

Fosfonat

Sınıf IV. Akut Tehlike Olasılığı Düşük

Chlorphoxim

Klorprifos-metil

Temephos

Tetrachlorvinphos

Kimyasal Özellik

Fosfotioat

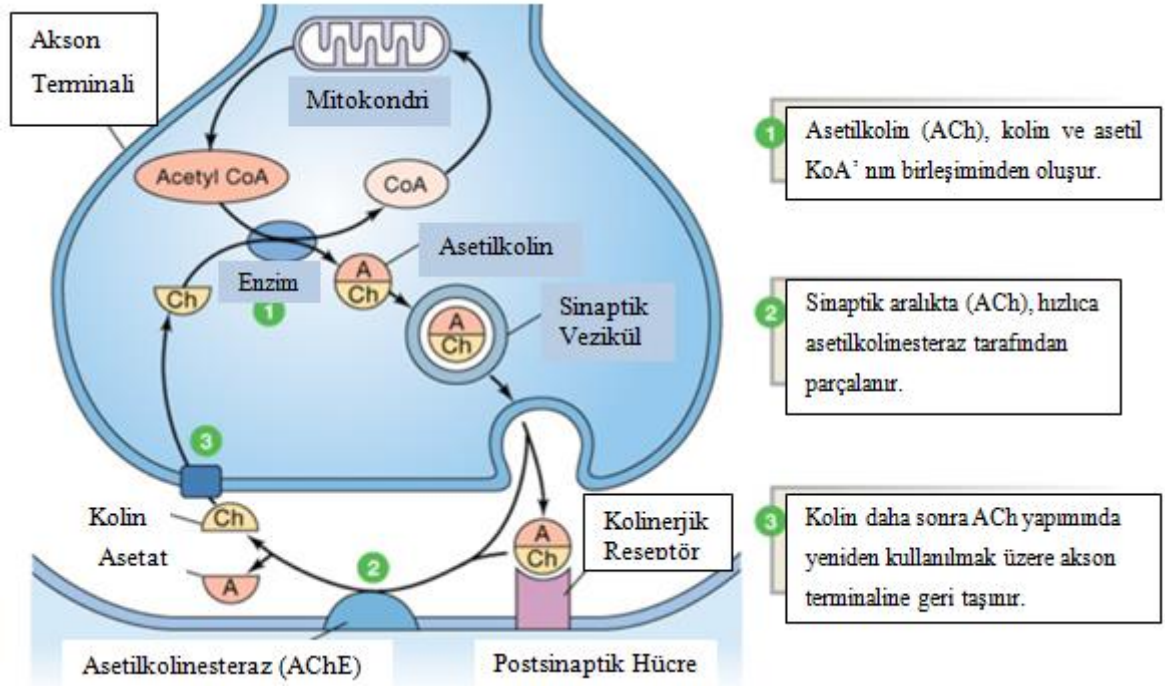
Fosfotioat

Fosfotioat

Fosfat

2.3.2. Organofosfatların Etki Mekanizması

Organofosfatlar etkilerini AChE enziminin inhibisyonu üzerinden gösterirler. Merkezi ve periferik sinir sisteminde, nöromusküler kavşaklarda ve eritrositlerde bulunan AChE, bir nörotransmitter olan asetilkolini (ACh), kolin ve asetik asite çevirerek parçalar (47) (Şekil 2.7).



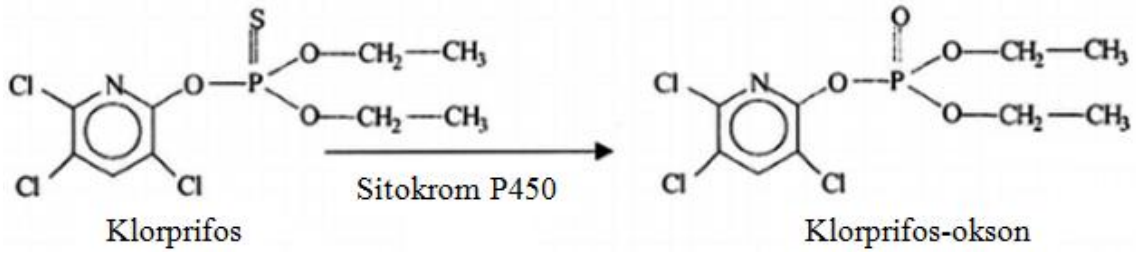
Şekil 2.7: Asetilkolin ile asetilkolinesteraz arasındaki ilişki (48).

Nöronlardan gelen sinyallerinin iskelet kaslarına, düz kaslara, otonom sinir düğümlerine, salgı bezlerine, merkezi sinir sistemine (MSS) iletiminin düzgün sağlanmasında AChE enziminin önemli bir görevi vardır (49). AChE enzimi, aktif bölgesinde yer alan serin aminoasitinin hidroksil grubunun organofosfatlar tarafından fosforlanmasıyla inaktifleşir. AChE enziminin baskılanması sinir-kas kavşağında, otonom ve merkezi sinir sistemlerinde ACh birikimine ve bu olayı takiben nikotinik ve muskarinik reseptörlerin aşırı uyarılmasına neden olur. Başlangıçta meydana gelen bu aşırı uyarıyı takiben kolinerjik sinaptik iletim felci oluşur ve bu durum “kolinerjik sendrom ya da kolinerjik kriz” olarak nitelendirilir (23, 47). Kolinerjik sinir kavşaklarında artan ACh miktarı, düz kaslarda kasılmaya ve salgı bezlerinden fazla miktarda salgı üretilmesine neden olur. ACh miktarındaki aşırı artış, MSS’de duygusal ve davranışsal bozukluklara, solunum ve koordinasyon bozukluklarına, motor

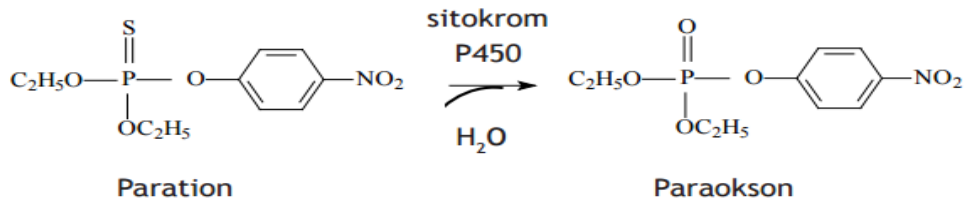
fonksiyonların baskılanmasına, artan akciğer salgılarına; iskelet kaslarında seyirmelere ve hücrenin paralizi olmasına yol açabilir (49).

Çoğu organofosfatlı pestisitinin yapısında çift bağ ile sülfür atomuna bağlanmış fosfor (P=S) bulunur. Organofosfatların toksik olabilmeleri için yapılarındaki tion (P=S) grubunun okson (P=O) grubu ile değişmesi gerekir. Çünkü, AChE'yi ancak yapısında okson barındıran organofosfatlı pestisitler baskılayabilirler. Bu dönüşüm metabolik aktivasyon aracılığıyla vücutta karaciğer mikrozomlarının; doğada ise oksijen ve ışığın etkisi ile gerçekleşir. Oksonlar tionlara göre daha toksiktir; ancak daha kolay yıkıma uğrarlar (50, 51).

Organofosfatların toksik etki yaratması "Oksidatif desülfürasyon" olarak isimlendirilen bu biyotransformasyon reaksiyonunun karaciğer parenkima hücresinin mikrozomal sitokrom P450 (CYP450) enzimleri ile katalizlenmesi sonucunda gerçekleşir (Şekil 2.8 ve 2.9) (52, 53).



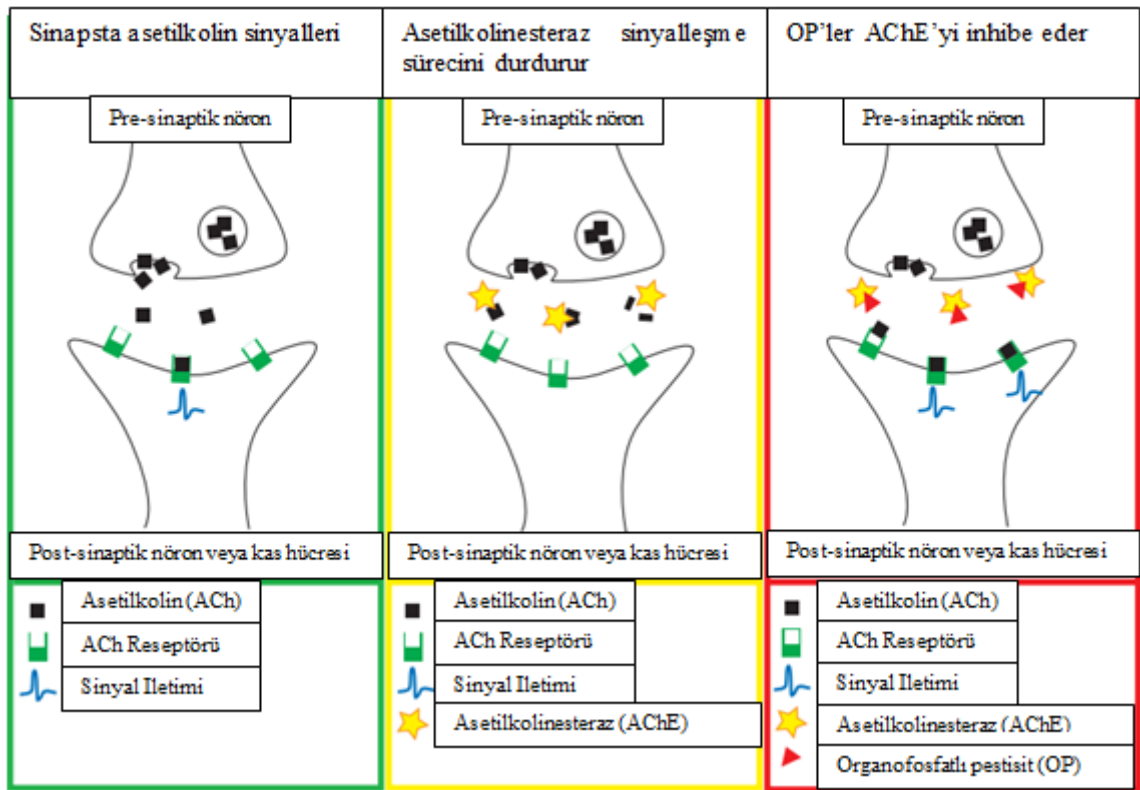
Şekil 2.8: Klorprifosun sitokrom P450 enzimi ile klorprifos-oksona biyotransformasyon mekanizması (54).



Şekil 2.9: Parationun sitokrom P450 enzimi ile paraoksona biyotransformasyon mekanizması (52).

CYP 450 enzim sistemleri, ilaçlar, steroidler, yağ asitleri ve vücuda inhalasyon, enjeksiyon ya da deri yoluyla giren endüstriyel maddeler dahil birçok bileşiğin (substratın) oksidasyonunu katalize eden hem-protein ailesidir. Terapötik maddelerin aktivasyon ya da inaktivasyonunda; kimyasalların reaktif moleküllere dönüştürülmesinde; lipofilik özellikteki kimyasalların vücuttan atılımını sağlayarak

birikiminin engellenmesinde, steroid hormon sentezinde; yağ asitlerinin metabolizmasında görevli sistemlerdir (55). Genetik polimorfizmler, enzim uyarıcıları ve inhibitörleri vb. sebeplerle CYP 450 enzimlerinin aktivitesi ve buna bağlı olarak organofosfatlı pestisitlerin metabolik aktivasyon hızı kişiden kişiye değişkenlik gösterir. Diğer yandan, sinir gazları (tabun, sarin, soman,) yapılarında P=O grubu barındırdığından, toksik etki yaratmak için oksidatif desülfürasyona ihtiyaç duymadan doğrudan AChE'ye bağlanarak çok kısa sürede etki gösterirler. Dolayısıyla metabolik aktivasyon hızındaki değişiklikler sinir gazlarının toksisitesine etki etmezler. Organofosfatlı pestisitlerin AChE üzerine etkisi Şekil 2.10'da gösterilmiştir (56).



Şekil 2.10: Organofosfatlı pestisitlerin AChE üzerine etkisi (57).

Farmakolojik müdahale olmaksızın organofosfat-kolinesteraz bağı kendiliğinden geri dönmez hatta 1-2 günlük sürekli bağlanma kolinesterazda geri dönüşümsüz yıkıma yol açar. Bu durum 'yaşlanma (aging)' olarak tanımlanır. Enzimin kendiliğinden veya oksime bağlanarak aktif olamadığı bir durumdur. Enzime bağlı kalan fosforil grubu kalıcı kimyasal değişikliğe neden olur. Yaşlanmanın geri dönüşü ancak yeni enzim üretimiyle gerçekleşir. Yaşlanma hızı ile reaktivasyon tedavileri ters orantılıdır (40, 58).

2.3.3. Organofosfatların Vücutta Dağılımı ve Detoksifikasyonu

Organofosfatlı bileşikler ağız, göz ve deri yolu ile vücuda giriş yapar, vücutta hızlıca dağılarak yağ doku başta olmak üzere karaciğer ve böbrek dokularında birikir (25, 59, 60). Organofosfatların detoksifikasyonu, plazma ve karaciğerde paraoksonaz (PON1) gibi A-esterazlar tarafından katalizlenen hidroliz reaksiyonları ile AChE, karboksilesteraz ve butirilkolinesteraz vb. B-esterazlara stokiometrik bağlanma reaksiyonlarını içerir (56). PON1 ilk kez Uriel tarafından 1961 yılında insan serumunda tespit edilmiştir. Kanda yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) partikülüne tamamen bağlı bulunan, organofosfatların toksik okson metabolitlerini, aromatik esterleri ve laktonları, alifatik lektonları, okside lipitleri ve bazı karbamatları hidrolizleyen, glikoprotein yapısında kalsiyuma bağımlı bir enzimdir. İnsan kanında ortalama 50 mg/l kadar bulunan PON1aktivitesine karaciğer, böbrek, beyin ve bağırsak gibi dokularda da rastlanmıştır. (53, 61).

Asetilkolinesteraz ve Pseudokolinesteraz sinirler arasında sinyal iletiminin sağlıklı işleyişi için gerekli enzimlerdir. Asetilkolinesteraz sinir uçlarında, eritrositlerde, akciğerde, dalakta ve hücre gövdelerinin oluşturduğu beyin gri maddesinde; pseudokolinesteraz ise serum, kalp, karaciğer, pankreas ile nöron ve aksonların oluşturduğu beyin beyaz maddesinde bulunur. Kolinesteraz seviyesi insan serumunda 8-18 unit/ml eritrositlerde ise 5-10 unit/ml seviyelerindedir (62, 63).

2.3.4. Organofosfat Zehirlenmelerinde Klinik Bulgular

Organofosfatlara maruz kalınmasından kaynaklanan zehirlenmelerde semptomların görülme hızı ve önemi, organofosfatın kimyasal yapısına, organofosfata ne kadar süreyle ve nasıl maruz kalındığına bağlı olduğu gibi metabolik aktivasyon ve yıkımın hızı gibi diğer birçok faktörle de ilişkilidir (49). Organofosfatlı bileşiğe maruz kalımdan sonra genellikle 30 dakika-3 saat arasında klinik bulgular görülür. Önemli miktarda organofosfat bileşiğinin ağız yoluyla alınımında semptomlar 5. dakikada ortaya çıkabilir ve 15.dakikada ölüm gerçekleşebilir; ancak az miktarda organofosfat bileşiğine deri yoluyla maruz kalınması ufak şikayetlere sebep olurken tehlike yaratmayabilir. Genellikle ilk 24 saat içinde beliren klinik bulgular büyük ölçüde ilk 8 saatte gözlenmeye başlanır (64). Organofosfatlı bileşiklerin yağ dokuda birikimi ve tekrar sistemik dolaşıma geçmesi sistemik etki süresinin uzamasına ve semptomların gecikmesine neden olabilir. Bu yüzden, yağda çözünmeyen Organofosfatlı bileşiklere

maruz kalınan ortalama 12 saatlik zaman dilimi içerisinde semptomlar ortaya çıkmaya başlarken; Klorprifos gibi yağda çözünen bileşikler aynı sürede herhangi bir etkiye neden olmayabilirler (61, 65).

Organofosfat zehirlenmelerinde klinik bulgular muskarinik, nikotinik ve MSS bulguları olmak üzere 3 kategoride sınıflandırılır (23, 66, 67):

✚ **Muskarinik Bulgular**

ACh'nin muskarinik reseptör uyarımı ile aktivite artışına bağlı olarak gözbebeği küçülmesi, göz yaşarması, burun akıntısı, tükürük miktarında artma, bradikardi, brokospazm, bronş salgısında artma, aşırı terleme, karın ağrısı, kusma, ishal, idrar kaçırma gözlemlenebilir.

✚ **Nikotinik Bulgular**

Nikotinik reseptörlerin etkisiyle taşikardi, hipertansiyon, konuşma bozukluğu, kas seyirmeleri, kas krampları, kas zayıflığı, solgunluk, göz bebeklerinde büyüme, solunumun baskılanması, paralizi gibi bulgular gözlemlenebilir.

✚ **Merkezi Sinir Sistemi Bulguları**

Merkezi sinir sisteminde kolinerjik deşarjın etkisiyle uykusuzluk, anksiyete, emosyonel labilite, titreme, mental konfüzyon, baş dönmesi, baş ağrısı, halusinasyon, deliryum, koma ve nöbet gibi bulgular gözlemlenebilir.

Organofosfat bileşiklerinin neden olduğu etkileri daha detaylı incelemek gerekirse;

- **Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri:** Kan basıncının ve kalp debisinin yavaşlaması zehirlenmenin akabinde sıklıkla görülen kardiyovasküler bulgular arasındadır. Nikotinik reseptörün uyarılmasıyla ilişkili olarak nadiren de olsa bu durumun tam tersi ile (kan basıncının ve kalp atım hızının artması) karşılaşılabılır. (60). Sempatik ve parasempatik aktivite artışı miyokard hasarına sebep olabilir. (61, 68).
- **Solunum Sistem Üzerine Etkileri:** Organofosfat bileşiklerin muskarinik reseptörleri etkilemesi burun akıntısı, bronkospazm ve laringeal spazm; nikotinik reseptörleri etkilemesi ise dilde ve farenkste kas zayıflığına neden olur. Organofosfat zehirlenmesi ayrıca diyaframda kas felci, akciğer enfeksiyonları ve

ödemi, astım, öksürük ve pnömotoraks gibi diğer sorunlara da sebep olabilir (69).

- **Gastrointestinal Sistem Üzerine Etkileri:** Organofosfatlı bileşikler karın ağrısı, bulantı, kusma, ishal gibi semptomların yanı sıra nadiren akut pankreatite ve buna bağlı olarak akyuvar sayısında artışa ve potasyum seviyelerinde azalışa neden olabilir (70).
- **Metabolizma ve Endokrin Sistem Üzerine Etkisi:** Hiperglisemi, pankreatit gelişimi, glikozüri ve koma karşılaşılan bulgular arasındadır. Hormonal dengeye de etki eden organofosfatlar hipofiz-adrenal bozukluğuna, T3 ve T4 seviyelerinin azalmasına, TSH seviyesinin artmasına, adrenokortikotropik (ACTH) hormon salgılamındaki düzensizliğe bağlı olarak diürenal ritim bozukluğunun oluşumuna yol açabilir (71, 72).
- **İmmün Sistem Üzerine Etkileri:** İmmün sistem üzerine gerek AChE'nin direkt etkisi gerekse toksik kimyasal stresin dolaylı etkisi immünglobulin G ve immünglobulin M'nin baskılanmasına ayrıca nötrofil kemotaksisinin bozulmasına neden olabilir (73).

2.3.5. Organofosfat Zehirlenmelerinde Tanı Testleri

Organofosfat zehirlenmelerinde klinik bulguların önemi büyüktür. Anamnez alınması, kolinerjik belirtilerin saptanması, solunumda ve varsa kusmukta hidrokarbon ya da sarımsak benzeri kokunun tespit edilmesi tanı koymada klinik bulguların yanında dikkate alınan başlıca kriterlerdir. Zehirlenme saptandıktan sonra antidotlara ulaşmada maruz kalınan pestisit isminin ve ambalajının temini, süreci hızlandırmada büyük kolaylık sağlar (60, 74). Ancak tüm insektisit ve kolinesteraz inhibitörleri organofosfat olmadığından bu her zaman için güvenilir bir yol değildir. Bu sebeple laboratuvar sonuçları ile klinik bulgulara ihtiyaç vardır. En güvenilir laboratuvar testi, organofosfat ve metabolitlerini dokularda ölçmektir; ancak bunun her laboratuvarın çalıştığı bir test olmaması, birçok organofosfat bileşiğinin toksik düzeyinin referans aralığının bilinmemesi ve test sonucunun geç çıkması gibi dezavantajlara sahiptir. Diğer bir test doku AChE enzim düzeyinin ölçümüdür; ancak bu biyopsi gerektiren cerrahi ve zahmetli bir yöntem olmasının yanı sıra sonucun değerlendirilmesi kişiye ait bazal AChE düzeyinin bilinmesini de gerektirmektedir (51, 61).

Pratikte kullanılan yöntem ise AChE ölçümüdür. Serum AChE düzeyi organofosfat zehirlenmeleri haricinde genetik farklılıklarda, kronik hastalıklarda, karaciğer tümörlerinde, sirozda, malnutrisyonda, düşük serum albümin varlığında, kollajen doku hastalıkları, enfeksiyonda, ileri derecede yanıklarda ve hemodiyalizde de azalır (40). AChE aktivitesindeki azalma klinik olarak iki açıdan önemlidir: maruz kalınan kimyasalın antikolinesteraz etkisinin olduğunu kanıtlar ve inhibisyonun derecesi konusunda fikir verir (75). AChE aktivite düzeyinin hafif zehirlenmelerde % 20-50, orta şiddetli zehirlenmelerde % 10-20, şiddetli zehirlenmelerde ise % 10'un altına düşmesi tanısal açıdan önem arz eder (76).

Erken dönemde yapılan EMG'de saptanan tekrarlı potansiyel ile fasikülasyonlar tanıyı desteklemektedir. Ayrıca organofosfat zehirlenmesinden şüphe duyulan tüm hastalara rutin kan tetkiklerine ek olarak Posteroanterior akciğer grafisi çekilmelidir. Pulmoner ödem elimine edilmeli ve hastalar EKG sonucu dikkate alınarak değerlendirilmelidir. Sinüs taşikardisi sıklıkla karşılaşılan aritmi olsada bradikardi, T dalga değişiklikleri, QT uzaması ve ST elevasyonu da görülebilmektedir (60).

2.3.6. Organofosfat Zehirlenmelerinde Tedavi

Hastanın çevreden uzaklaştırılması ve kıyafetlerinin çıkartılması zehirlenmeye neden olan organofosfat ile temasının kesilmesinde önemli işlemlerdir. Etanol içerikli sabun ile cilt yıkanarak organofosfatlı bileşik deriden arındırılır (40). Bileşiğe maruz kaldıktan sonra ilk yarım saatte midenin yıkanması ve aktif kömürün uygulaması organofosfat absorpsiyonunun azaltılmasında önemlidir. Mannitol gibi katartikler henüz absorbe edilmemiş organofosfatların bağırsaklardan atılımının artırılmasında kullanılmaktadır (69). Öncelikli hedef gerekirse entübasyon ve solunum desteği ile kişinin yeterli ve temiz hava solumasını sağlamaktır (77). Tedavide ikincil hedef ise postsinaptik muskarinik reseptörlerde ACh'nin antagonisti olan atropin ile artan muskarinik aktiviteyi kontrol altına alabilmektir. Bu amaçla çocuklarda 0,01-0,04 mg/kg, yetişkinlerde ise 1 mg/kg dozunda atropin venöz yolla uygulanır. Atropinizasyon belirtileri ortaya çıkana kadar 5 dakika ara ile uygulamaya devam edilir. İyileşmenin tam olarak sağlanabilmesi için ise atropin dozu azaltılarak tedavi sürdürülür. Bu tedavinin etkinliğinde kriter salgı salınımının sonlanmasıdır (61, 75).

AChE'nin reaktivatörü olan oksimler diğer bir tedavi yöntemini oluşturur. İyi bilinen bir oksim olan pralidoksim (PAM) intravenöz uygulandığında organofosfata

bağlanmış enzimin fosfat bölgesine etki eder ve aktif bölgeden fosforil grubunu ayırarak enzimin yeniden serbest kalmasını sağlar. Organofosfat ile AChE arasında zaman ilerledikçe geri dönüşümsüz olan kovalent bağ ile yaşlanma oluşur. Bu sebeple oksimler organofosfata maruz kaldıktan sonra ilk 1-2 gün içinde yaşlanma gerçekleşmeden uygulanmalıdır (75, 78). Defosforilasyon ve asetilkolinesterazın etkinleştirilmesi için çocuklara 20-40 mg/kg, yetişkinlere ise 1-2 gr/kg PAM 100 ml % 0,9 sodyum klorür içerisinde çözdürülerek venöz yolla uygulanır (79). Ağız, dil ve deri altı, kas içi uygulamaları da yapılabilir. Plazmanın zirveye ulaşması venöz ve kas içi uygulamada 15-30 dakikada, ağız yolula alımda ise 2-3 saatte gerçekleşir. Yarılanma ömrü ise venöz uygulamada 1-2 saat, kas içi uygulamasında 3 saattir (69, 75). Fasikülasyon durumunda uygulanan bu tedavi fasikülasyonların veya zehirlenme belirtilerinin seyri halinde tekrarlanır (80).

Organofosfatlar gibi yağda çözünen bileşiklerin neden olduğu zehirlenmeler üzerine son yıllarda yapılan bir çalışmada, lipofilik ilaçların lipid solüsyonlarla (lipid molekülleri, % 20 liposin, % 20 intralipid) bağlandığı ve bu sayede yağda çözünen toksik maddeleri tuttuğu öne sürülmüştür. Solüsyonların 0,25 ml/kg/dk veya 1,5 ml/kg bolus şeklinde infüzyonla uygulandığını belirtilse de konu ile ilgili çalışmaların yetersizliği nedeniyle bu uygulama tedavi protokollerinde henüz yer almamaktadır (81).

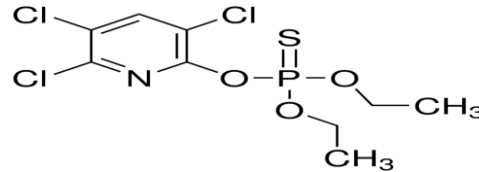
Presinaptik aralıktan ACh salınımını azaltan alfa-2 adrenerjik reseptör antagonistleri ve magnezyum sülfat; serum bütirikolinesteraz (BuChE) düzeyini arttıran taze donmuş plazma; karbon hemofiltrasyon, sodyum bikarbonat, hemodiyaliz gibi yöntemler de etkinliği yetersiz kanıt nedeniyle açıklanamamış ve tedavi protokollerinde henüz yer almamış yöntemlerdendir (76, 82).

Tüm bu tedavi yöntemlerine ek olarak deney hayvanları üzerine yapılan çalışmalarda antioksidan özelliği olan kurkumin, sulforfan, kafeik asit gibi bitkisel içerikli maddelerin organofosfatların neden olduğu zararları azaltıcı etkisinden bahsedilmektedir (74, 76, 83). Biz de çalışmamızda, klorprifosun yol açtığı toksik etkilerin iyileştirilmesinde, antioksidan özelliği ile bilinen selenyumu kullanmayı tercih ettik.

2.4. Klorprifos

2.4.1. Klorprifosun Yapısı ve Özellikleri

Klorprifos [O,O-dietil-O-(3,5,6-trikloro-2-piridil) fosforotiyonat] tarımsal kesimlerde ve evlerde zararlılarla mücadelede dünya genelinde en çok tercih edilen geniş spektrumlu bir organofosfat pestisitir (Şekil 2.11) (84-87).



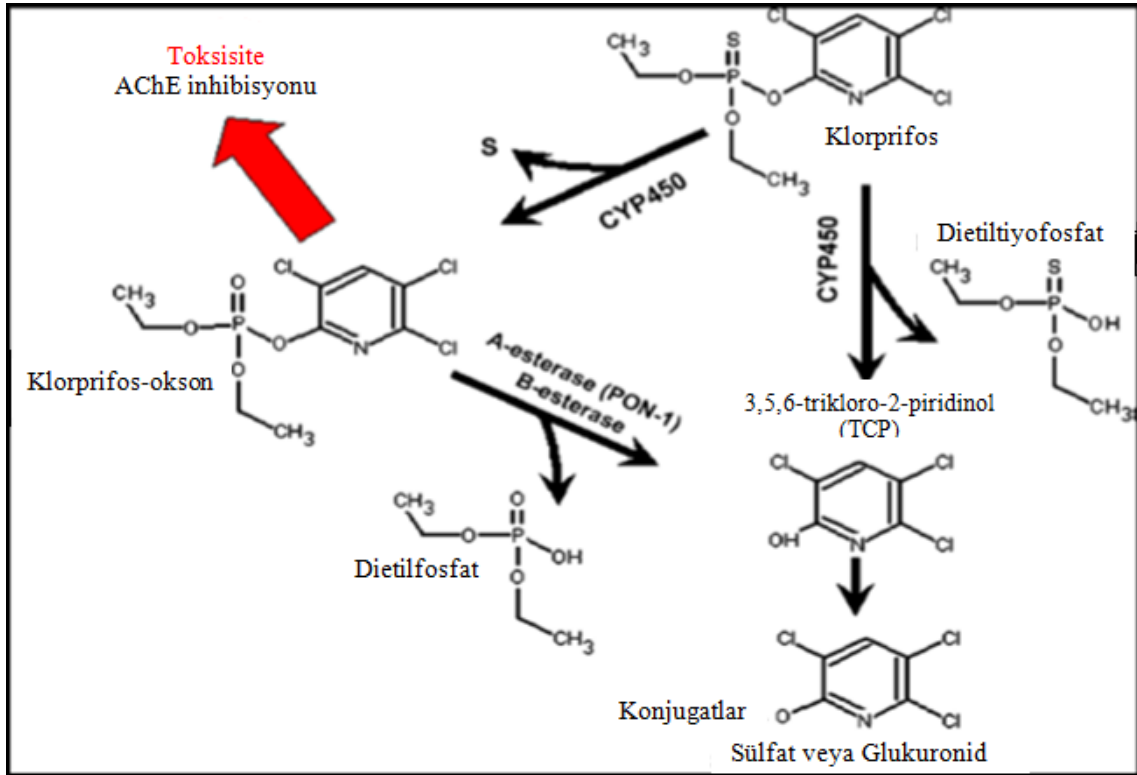
Şekil 2.11: Klorprifosun kimyasal yapısı (37).

Klorprifosun moleküler formülü $C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$, molekül ağırlığı 350,59 g/mol, yoğunluğu $1,398 \text{ g/cm}^3$, erime noktası $43 \text{ }^\circ\text{C}$, kaynama noktası ise $160 \text{ }^\circ\text{C}$ 'dir (88, 89). Klorprifos, etil ve metil esterlere sahiptir. Klorprifos etil kristalize ve renksiz bir madde olup merkaptan kokuludur. Non-polar yapısından dolayı sudaki çözünürlüğü az iken; aseton, benzol, kloroform ve metil alkolde kolayca çözünebilmektedir. Bazik koşullarda dayanıksız fosfotioat türevi bir maddedir. Klorprifos metil ise kristalize ve renksiz bir madde olup merkaptan kokusu hafiftir. Klorprifos etil gibi Klorprifos metilin de suda çözünürlüğü zor olup aseton, benzol, kloroform, metilalkolda ve heksanda iyi çözünür. Uygun saklama koşullarında dayanıklı bir maddedir. Klorprifosun Dursban, Lorsban, Spannit, Talon gibi farklı ticari isimlerle de anılmaktadır. Klorprifos, bazik koşullarda dayanıksız; uygun saklama koşullarında uzun ömürlü fosfotioat türevi bir maddedir (20, 90).

2.4.2. Klorprifosun Kullanım Alanları

Klorprifos, tarla kurdu, hamam böceği, sinek, bit, pire ve termitleri (akkarınca) kontrol altına almada etkilidir. Pamuk, tahıl ve sebze tarlalarında; fındık ve meyve bahçelerinde; çayır, çimen ve süs bitkilerinde böcek öldürücü olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, koyun ve hindilerde, at binme alanlarında, konutlarda ve çiftliklerde, depo alanlarında ve ticari işletmelerde doğrudan kullanım onayı vardır. Klorprifos ürünlerinin granül, toz ve emülsifiye konsantre formları mevcuttur (91).

2.4.3. Klorprifosun Biotransformasyon Mekanizması



Şekil 2.12: Klorprifosun insan ve kemirgenlerdeki biyotransformasyon mekanizması (92).

Klorprifos-okson, klorprifosun oksijen ile bağlanması sonucu karaciğerde okson formuna dönüşmüş aktif metabolitidir. Klorprifosun biyotransformasyonu sitokrom P450 (CYP450) ve karaciğerin mikrozomal membranlarında yer alan ilgili enzimler aracılığıyla katalizlenir. CYP450 aracılığıyla gerçekleşen oksidatif desülfürasyon ve deaminasyon reaksiyonları sonucunda sırasıyla Klorprifos-okson, 3,5,6-trikloro-2-piridinol (TCP) ve dietiltiyofosfat (DETP) oluşur. TCP metabolitinin kendisi ya da konjuge formuna (glukuronid veya sülfat) dönüşmüş şekli hızlıca idrarla atılır. Klorprifos-okson, AChE'ye olduğu gibi butirilkolinesteraz (BuChE), karboksil esteraz (CarbE) ve diğer kolinesterazlara (ChE) da yüksek affinite ile bağlanan ana kısımdır. ChE'lerin inhibisyonuna ve de toksikasyona neden olan asıl etkindir (Şekil 2.12). Klorprifosun biyoaktivasyonunun büyük kısmı karaciğerde; detoksifikasyonu ise hem karaciğer hem de plazmada gerçekleşir (84, 92-94).

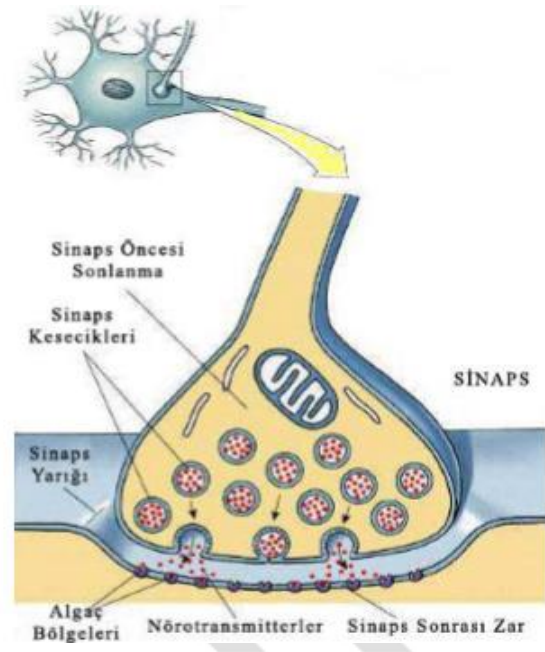
2.4.4. Klorprifosun Sağlık Üzerine Etkileri

- Akut zehirlenmeye neden olabilen Klorprifosun semptomları arasında miyozis, sık idrara çıkma, diyare, aşırı terleme, gözlerde yaşarma ve tükürük salgısında artış, mide bulantısı, baş ağrısı bulunur (8).
- Embriyotoksisite, genotoksisite, teratojenite, hepatik disfonksiyon, nörodavranışsal ve nörokimyasal değişimler gibi sayısız etkilere sebebiyet vermektedir (9, 95).
- Klorprifos, hedef hücrelerde reaktif oksijen türlerinin oluşmasına ve böylelikle hücre içi oksidatif stresin uyarılmasına; dolayısıyla normal hücresel gelişim ve farklılaşmanın bozulmasına neden olmaktadır (96, 97).
- Klorprifos, sinaptik nörotransmisyonu ve nöral hücre replikasyonunda istemsiz değişikliklere; sinir hücre uzantılarının inhibisyonuna yol açmakta, transkripsiyonel modifikasyona ve sinyal kaskatlarına sebep olmaktadır (98).
- Klorprifos, besin tüketiminde, lipid ve proteinlerde ve beraberinde vücut ağırlığında azalmaya yol açmaktadır (87, 99).
- Hepatik atrofi, adrenal ve renal patoloji, kalp ve akciğer hasarı gibi fonksiyon bozukluklarına sebep olmaktadır (100).
- Nörotransmitter reseptörlerini ve salınımını, sinyal iletimini etkilemekte beyin gelişimini engelleyerek korteks ve hipokampusda değişikliklere neden olmaktadır (9).
- İmplantasyon sayısının azalması gibi üreme disfonksiyonlarına neden olan Klorprifos gebelik döneminde anneden fetüse geçerek fetal büyümenin ve gebelik süresinin azalmasına da sebep olmaktadır (101, 102).
- Klorprifosa doğum öncesi maruz kalınması yeni doğanlarda malformasyona, beyinde anomaliye, mikrosefaliye, mental retardasyonlara, damak defektlerine ve gelişim sürecinde gecikmelere yol açmaktadır (101).
- Çeşitli kültür hücrelerinde doza ve zamana bağlı olarak Kaspaz 3'ün aktivasyonu ile apoptozu uyardığı raporlanmıştır (103).

2.5. Asetilkolin ve Asetilkolinesteraz

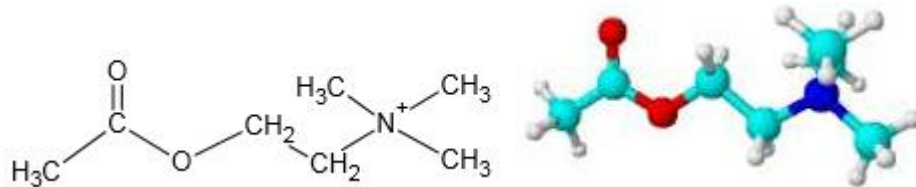
Sinir sistemi, nöron olarak adlandırılan sinir hücrelerinden oluşmaktadır. İnsan vücudunda yaygın olarak sinapslarla bağlantılı ardışık sinirler bulunduğu gibi yalnızca nöronlardan ibaret tek hat şeklinde sinirler de mevcuttur (104).

Elektrik sinyali şeklinde nöronlar boyunca ilerleyen ileti, aktif zona ulaştığında zondaki voltaja bağımlı Ca^{+2} kanalları açılır. Ca^{+2} konsantrasyonunun artması sonucunda sinaps kesecikleri, sinaps öncesi membran ile birleşir ve ardından nörotransmitterler sinaps boşluğuna salınır. Bu nörotransmitterler sinaps sonrası membranda yer alan reseptörlere bağlanır ve bağlandıkları hücrede elektriksel iletinin oluşmasını sağlarlar (Şekil 2.13) (19, 104).



Şekil 2.13: Nöronlar ve nörotransmitterler (19).

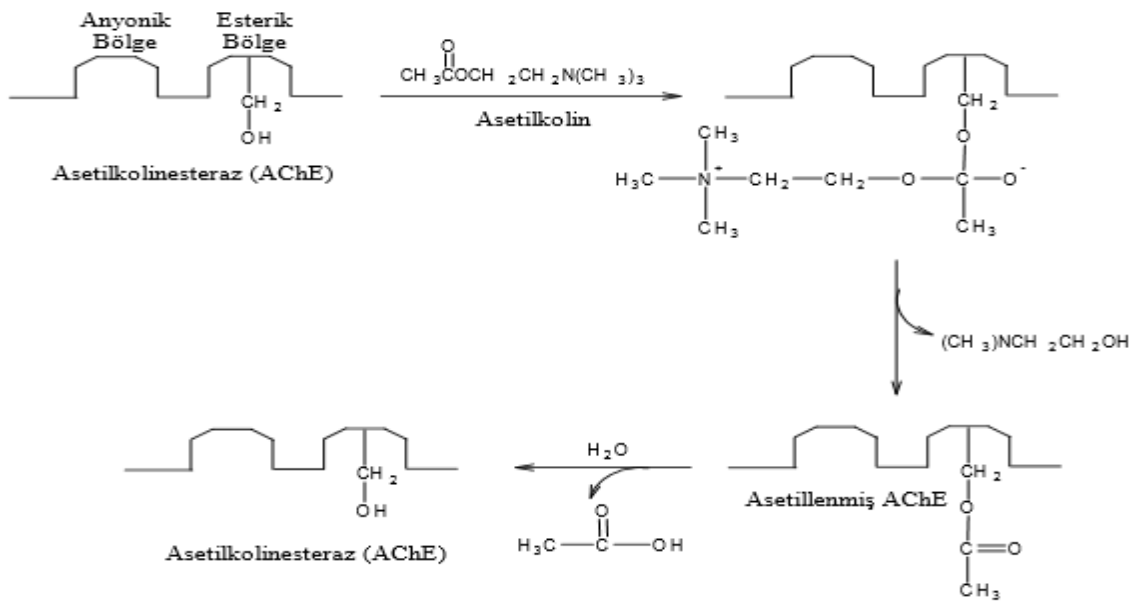
Nörotransmitterler ise sinir sistemi boyunca nöronların birbiri arasında ya da bir nöron ile başka bir hücre arasındaki iletişimi gerçekleştiren kimyasallardır (105). Nörotransmitterler etkilerine göre yavaş, hızlı ve hem yavaş hem hızlı transmitterler olarak üç sınıfa ayrılırlar. İlk keşfedilen nörotransmitterlerden biri olan asetilkolin (ACh) hem yavaş hem de hızlı etkiye sahiptir (106).



Şekil 2.14: Asetilkolin (19)

ACh'nin (Şekil 2.14) nikotinik ve muskarinik olmak üzere iki tür reseptörü vardır. ACh'ler nikotinik reseptörlerle MSS'de, otonomik gangliyonlarda ve iskelet kası

miyonöral kavşaklarda hızlı; muskarinik reseptörlerle ise salgı bezlerinde ve düz kas miyonöral kavşaklarda yavaş nörotransmisyon gösterirler (106). Elektriksel iletiyi diğer nörona aktaran ACh nöronal ya da nöronal olmayan hücrelerden salınan asetilkolinesteraz (AChE) tarafından deaktive olur. ACh'nin inaktif olması, anyonik bölgesinin AChE'nin esterik bölgesine bağlanıp hidrolize uğramasıyla gerçekleşir (Şekil 2.15). Böylece görevini tamamlayan ACh'nin reseptörlerini devamlı stimüle etmesi ve gereksiz yere aşırı elektriksel ileti oluşturması engellenmiş olur (19).



Şekil 2.15: AChE enzimi tarafından ACh'nin hidrolizi (19).

2.6. Oksidan Sistem ve Serbest Radikaller

Dış orbitalinde eşleşmemiş tek sayıda elektron taşıyan, nötr ya da elektrik yüklü olabilen moleküller ya da atomlar serbest radikal ya da reaktif oksijen türleri (ROT) olarak isimlendirilirler. Oksidan moleküller olarak da isimlendirilen serbest radikaller kararsız yapıda, kısa ömürlü, düşük molekül ağırlıklı ve oldukça etkindir. Serbest radikaller eşleşmemiş bu elektronları sebebiyle son derece reaktiflerdir. Kararlı hale gelebilmek için etrafındaki pek çok radikal olmayan molekül ya da atom ile reaksiyona girer ve onlarla elektron alışverişinde bulunurlar. Meydana getirdikleri zincir reaksiyonlar ile pek çok yeni radikal molekülünün ya da atomunun oluşumuna sebep olabilirler (107-109) (Tablo 2.6).

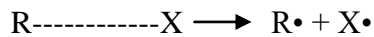
Tablo 2.6: Reaktif oksijen türleri (110).

Radikaller	Radikal Olmayanlar
Süperoksit radikali ($O_2\cdot^-$)	Singlet oksijen ($O_2 \downarrow \uparrow$)
Alkoksil radikali ($RO\cdot$)	Ozon (O_3)
Peroksil radikali ($ROO\cdot$)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Hidroksil radikali ($OH\cdot$)	Lipit hidroperoksit (LOOH)
Hidroperoksil radikali ($HO_2\cdot$)	Hipokloröz asit (HOCl)
Semikinon radikali (HQ)	Peroksinitrit ($ONOO^-$)
	N-Halojenli aminler (R-NH-X)

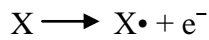
Serbest radikal oluşumu patolojik reaksiyonlar sonucu pek çok biyolojik materyale zarar verir. Antioksidan mekanizmaların devreye girmesi serbest radikallerin neden olduğu sitotoksik etkisinin ortadan kalkmasına yardımcı olur. Dış etkenler sebebiyle oluşan serbest radikallerin yanı sıra mitokondriyal elektron transportu, ksenobiyotiklerin metabolizması gibi olaylar sırasında organizmada doğal yollarla da serbest radikaller oluşabilir (111, 112).

Serbest radikaller esas olarak üç yolla oluşabilirler:

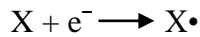
1. Kovalent bağı olan bir molekülün homolitik bölünme ile kopması sonucunda yapısındaki iki elektronun farklı atomlarda kalmasıyla;



2. Bir elektronun kararlı bir molekülden ayrılmasıyla;



3. Bir elektronun kararlı bir moleküle transferiyle;



Moleküler oksijen, hücre içinde en çok kullanılan, hücrelerin tümüne kolaylıkla girebilen ve aerobik organizmalar için hayati önemi olan bir moleküldür. Oksijen biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikalleri oluşturmaktadır (113). Organizmada oksijen kaynaklı serbest radikallerin yanı sıra kükürt ve sülfür merkezli radikaller de üretilir. Organizmada sayısız radikal oluşumu gerçekleşebilse de en önemlileri süperoksit, hidroksil ve hidrojen peroksit radikalleridir (111). Moleküler

oksijenin, temel enerji seviyesindeyken radikale dönüşmesi toksik etkilerle sonuçlanmaktadır (114, 115).

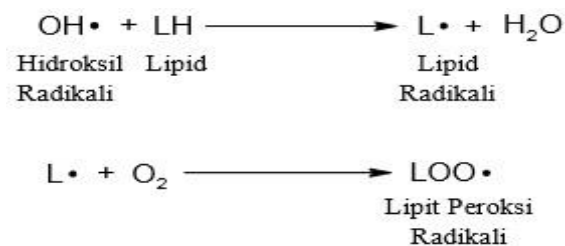


2.6.1. Lipid Peroksidasyon

Metabolizmada çeşitli şekillerde ortaya çıkan serbest radikallerin proteinler, nükleik asitler, lipidler ve karbonhidratlarla etkileşimi doku ve hücre hasarına neden olmaktadır. Oksidatif hücre hasarı açısından membranda bulunan lipidlerinin oksidasyonu bunların en önemlisidir (116). Serbest radikaller tarafından başlatılan ve membran yapısında yer alan lipidlerin oksidasyonu sonlanan olaya lipid peroksidasyonu denir (117). Lipid peroksidasyonu glikolipid, fosfolipid, gliserid ve sterol yapısında yer alan çoklu yağ asitlerinin reaktif oksijen türleri etkisiyle peroksit, aldehit, alkol, hidroksi asit, pentan ve etan vb. ürünlere yıkımına sebep olan reaksiyonlar dizisidir (118). Geri dönüşümsüz olan ve zincir reaksiyon şeklinde kendini devam ettirerek ilerleyen lipid peroksidasyonu metabolizma için oldukça zararlıdır (119).

Lipid peroksidasyonu başlangıç, yayılma (ilerleme) ve sonuç olmak üzere üç aşamada gerçekleşir.

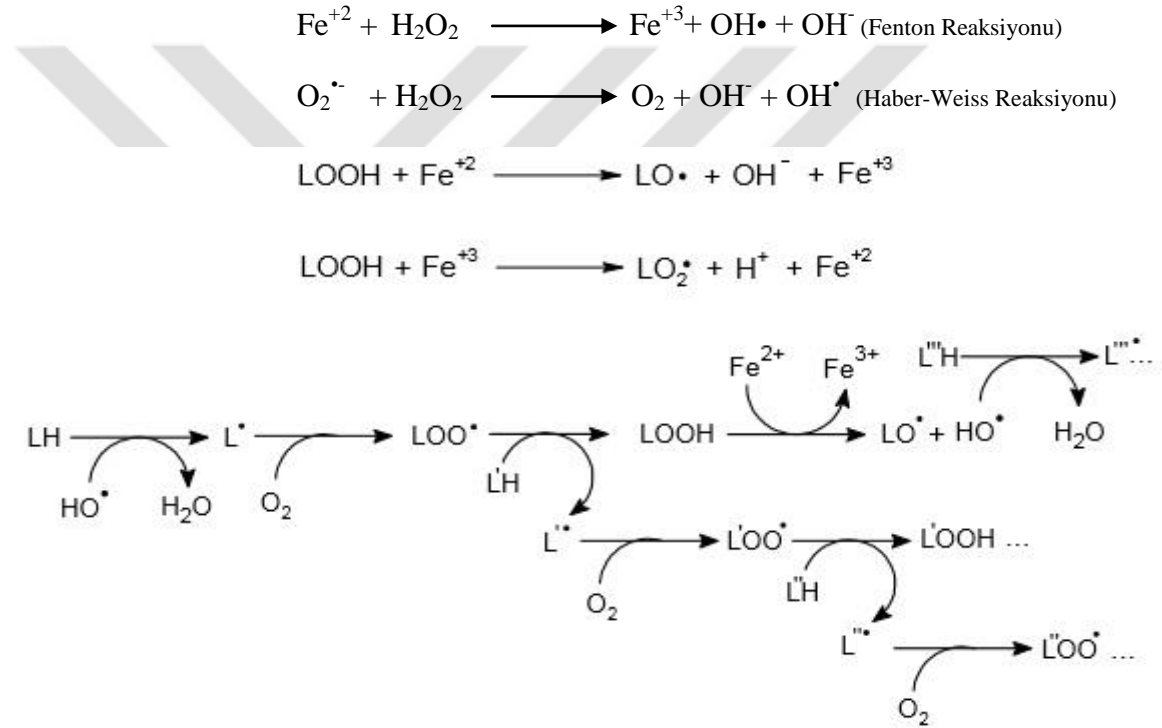
Başlangıç Aşaması: Başta hidroksil radikali olmak üzere singlet oksijen ve nitrik oksit gibi reaktif oksijen türleri, hücre membranındaki çoklu doymamış yağ asidinin yan zincirinde bulunan metilenik karbonlardan bir hidrojen atomu koparırlar. Bu olay sonucunda lipid radikali ($\text{L}\cdot$) meydana gelir. Radikal oluşumunu sonrası yağ asidi zincirindeki çift bağlar konjuge diene dönüşür ve O_2 ile reaksiyona girerek peroksit radikalini meydana getirirler (Şekil 2.16) (19, 119).



Şekil 2.16: Peroksit radikalının oluşumu

Yayımla (İlerleme) Aşaması: Meydana gelen lipid radikaline ($L\cdot$) oksijen ilavesiyle peroksi radikali ($LOO\cdot$) oluşmaktadır. Oluşan bu peroksi radikali bir başka yağ asidinden ($L'H$) ayrılan hidrojen atomuyla birleşerek yeniden lipid radikallerine ve hidroperoksitlere ($LOOH$) dönüşmektedir (119).

Ortamdaki hidroperoksitler geçiş metal iyonlarının (bakır, demir vb.) varlığında yeniden radikal hale dönüşürler ve yayılma aşamasında lipid peroksidasyonunun dallanmasını artırır (Şekil 2.17). Bu metaller bir yandan lipid peroksidasyonu esnasında oluşan hidroperoksitlerin parçalanmasında rol oynarken diğer yandan lipid peroksidasyonunun zincir reaksiyonunu katalize ederler (120).



Şekil 2.17: Lipit peroksidin zincir reaksiyonu ve dallanması (19).

Yayımla zincirinin uzunluğu birçok faktöre bağlıdır:

- Membranda lipid/protein oranı
- Oksijen konsantrasyonu
- Zincir reaksiyonlarını kıran E vitamini gibi antioksidanların varlığı

Sonlanma Aşaması: Açığa çıkan radikaller birbiriyle tepkimeye girerek radikal olmayan eter, ester, alkol, aldehit ve keton gibi stabil ürünlere dönüşürler (121).



Lipid peroksidasyonu sonucunda oluşan bozunma ürünleri hücre membranlarının geçirgenliğini ve viskozitesini değiştirirler. Ca^{+2} gibi iyonlara karşı hücre membranının permabilitesinin artması intrasellüler ortamda serbest Ca^{+2} artışına sebep olurken bu durum fosforilaz aktivitesinde ve fosfolipit kaybında artışa, toksik etkide potansiyel kaybına bağlı artışa, katabolik enzim aktivitesinde artışa, proteolitik etkinin proteaz aktivasyonu ile şiddetlenmesine, ve endonükleaz enzimlerinin aktivitesitesiyle DNA zincirinde kırıklara yol açmaktadır (122).

2.6.1.1. Malondialdehit

Lipid peroksidasyonunun sonlanma aşamasında meydana gelen ürünlerin en önemlisi olan malondialdehit üç ya da daha çok çift bağa sahip poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyonu ile gerçekleşir. Oksidatif hasarın göstergesi olan malondialdehit membran komponentlerinde polimerizasyona ve çapraz bağlanmalara yol açar (19, 119). Malondialdehit, iyon transportunda, enzim aktivitesinde, deformabilitede ve hücre yüzeyinde bulunan determinantların agregasyonunda değişikliklere neden olabilmektedir. Hücre membranından kolayca geçerek azotlu DNA bazları ile reaksiyona girebilen malondialdehit, DNA zincirinde kopmalara sebep olabilmektedir (120).

Malondialdehit yağ asidi oksidasyonunun kantitatif ya da spesifik indikatörü olmasa da lipid peroksidasyonunun derecesi arttıkça artma gösterir. Bu yüzden malondialdehit, lipid peroksidasyonu düzeyini belirlemede onun bir indikatörü gibi sıklıkla tercih edilen bir yöntemdir. Malondialdehit, tiyobarbitürik asit (TBA) ile pembe renkli bir çözelti oluşturmakta ve bu çözeltinin absorbans değerleri ile lipid peroksidasyonunun düzeyi saptanmaktadır (123).

2.7. Antioksidanlar

Hücre protein, lipid, karbonhidrat ve DNA'da reaktif oksijen türleri oluşumu nedeniyle ortaya çıkabilecek oksidatif hasar oluşumunu geciktiren, azaltan ya da yok eden maddelere 'antioksidan' bu mekanizmaya ise 'antioksidan savunma sistemi' adı verilir (124). Antioksidanların dört farklı etki mekanizması vardır: (125, 126).

- ✚ Scavenging (tutma ya da temizleme): Antioksidan enzimler ile küçük moleküllerin oksidantlara etki ederek onları tutma ve onları zayıf bir moleküle çevirme özelliğidir.

- ✚ Quencher (baskılama): Vitaminler ile flavanoidlerin oksidanlara bir hidrojen vererek oksidanların aktivitelerinin azalmasını ya da inaktif olmalarını sağlayan etkidir.
- ✚ Onarma: Antioksidanların, oksidanların neden olduğu hasarı tamir etme özelliğidir.
- ✚ Zincir koparma: Mineral, hemoglobin ve seruloplazminin, oksidanların metal iyonlarını bağlama, onların zincirlerini kırma ve bu sayede radikal oluşumuna engel olma özelliğidir.

Antioksidanlar doğal-yapay; endojen ve eksojen kaynaklı ya da enzimatik olanlar ve olmayanlar şekilde sınıflandırılmaktadır (Tablo 2.7) (113).

Tablo 2.7: Antioksidanların sınıflandırılması

Antioksidanlar		
Doğal Antioksidanlar		Yapay Antioksidanlar
Enzimatik	Enzimatik Olmayan	
	Endojen	Eksojen
SOD Katalaz Glutatyon Peroksidaz Glutatyon Redüktaz Glutatyon S-transferaz Sitokrom oksidaz	Glutatyon Serüloplazmin Bilirubin Ferritin Laktoferin Melatonin Haptoglobin Ürik Asit	Askorbik Asit E Vitamini Flavonoidler β -Karoten
		BHT BHA Troloks Şelat oluşturan maddeler

2.7.1. Enzimatik Antioksidanlar

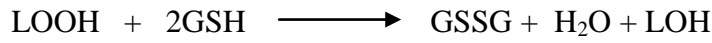
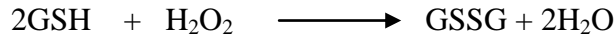
Aerobik organizmalar glutatyon peroksidaz (GPx), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), fosfolipit hidroperoksit glutatyon peroksidaz (PLGPx), glutatyon-S-transferaz (GST) ve glutatyon redüktaz (GR) enzimleri aracılığıyla oksijen toksisitesinden korunurlar (127).

2.7.1.1. Glutatyon Peroksidaz

1957'de Gordon C. Mills tarafından keşfedilmiştir (128). Glutatyon peroksidaz (GPx) tetramerik yapıda olup her birinde bir adet selenyum (Se) bulunan dört aynı subünitten oluşmaktadır (129). Yapısında yer alan Se nedeniyle selenoenzim ya da metalloenzim olarak da bilinir (113, 120). GPx aktivitesi Se'nin kandaki düzeyiyle

koreledir ve Se'nin uzun vadeli eksikliğinde GPx aktivitesi tüm dokularda azalmaktadır (113, 130).

Hidrojen peroksit (H_2O_2) ve lipit hidroperoksitlerin (LOOH) in vitro ortamda indirgenmiş glutatyon (GSH) ile reaksiyona girmesini sağlayan GPx hidroksil radikali (OH.) oluşumunu önlerken H_2O_2 'yi suya, LOOH'ı ise su ve alkole çevirir. Her iki reaksiyonda da GPx tarafından yükseltgenmiş GSH'nın (GSSG) oluşumu katalizlenir (131).



Endotel hücrelerinde başta akciğer olmak üzere etkin bir enzim olan GPx % 60-75 oranında ökaryotik hücrelerin sitoplazmasında, % 25-40 oranında ise mitokondride aktif bulunur. Aktivite en yoğun karaciğerde ve eritrositlerde gerçekleşir (132).

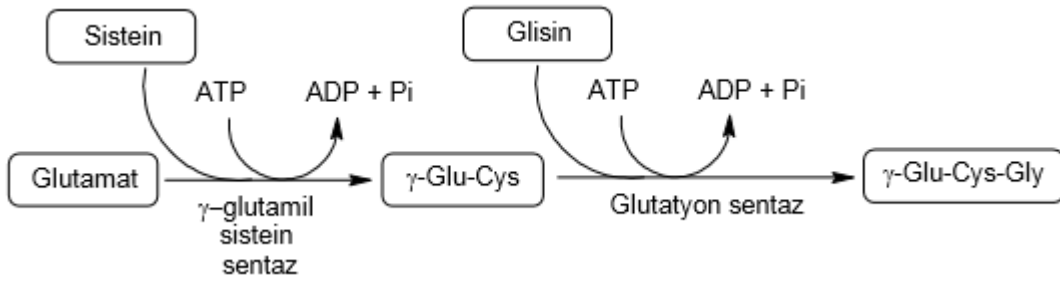
2.8. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

Glutatyon (GSH) başta olmak üzere β -Karoten (Vit. A), Askorbat (Vit. C), α -Tokoferol (Vit. E), Flonoidler, Melatonin, Seruloplazmin, Transferin, Ferritin, Albümin, Laktoferrin, Biluribin, Ürat ve Lipoik asit, antioksidan özelliği taşıyan; ancak enzimatik olmayan moleküllerdir. Serbest oksijen radikallerinin meydana getirdiği hasarı onarmak için kimi zaman yalnız kimi zaman da enzimatik antioksidanlarla beraber direnç gösterirler (133).

2.8.1. Glutatyon

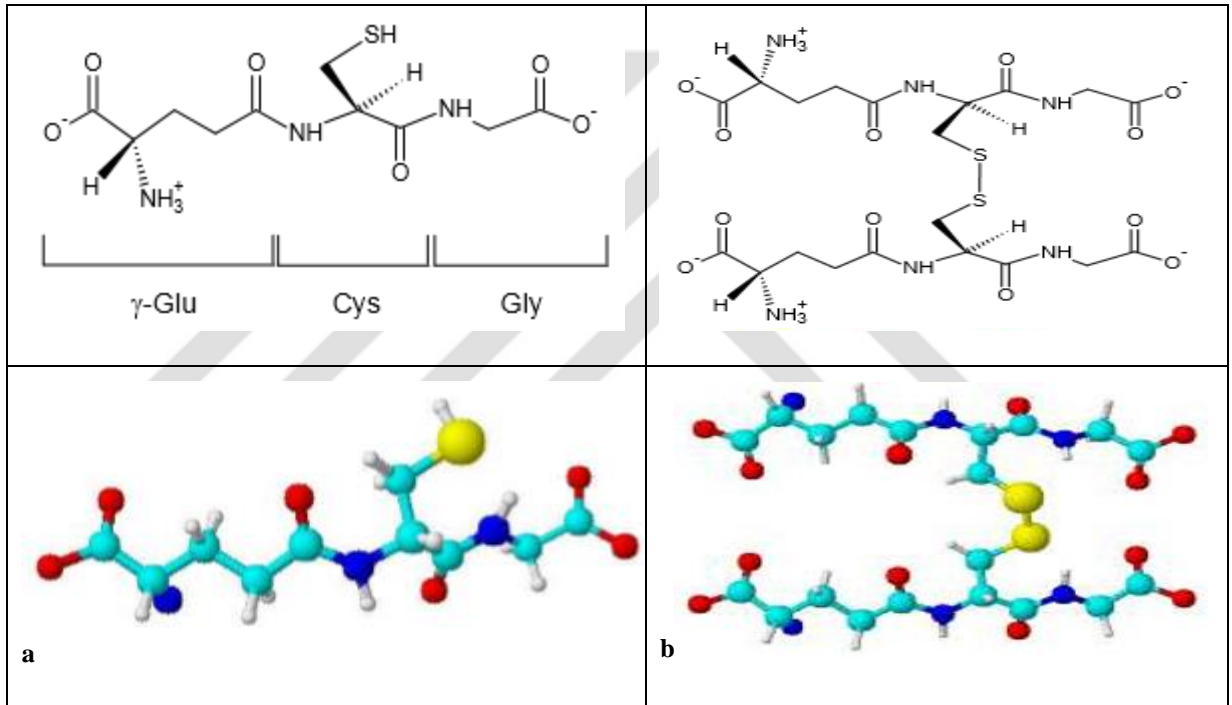
1921'de Frederick G. Hopkins tarafından keşfedilmiştir. Karaciğer başta olmak üzere birçok dokuda yüksek seviyelerde bulunan glutatyon (GSH) glutamat, glisin ve sisteinden sentezlenebilen tripeptit yapıda moleküldür (41).

GSH'nın vücuttaki sentezi iki aşamalı mekanizma ile açıklanır: İlk aşamada glutamat ile sistenin birleşme reaksiyonundan, γ -glutamil sistein sentaz ve ATP aracılığıyla ara ürün (γ -Glu-Cys) oluşur. İkinci aşamada ise glisinin glutatyon sentaz katalizörlüğünde ara ürüne eklenmesiyle GSH meydana gelir (Şekil 2.18) (19, 106).



Şekil 2.18: GSH'nın vücuttaki sentezi (19)

GSH, indirgenmiş ve yükseltgenmiş olarak iki farklı formda bulunabilir (Şekil 2.19) (19).



Şekil 2.19: İndirgenmiş (a) ve yükseltgenmiş (b) GSH

Reaksiyon esnasında yükseltgenmiş glutatyon (GSSG) dönüşen GSH, NADPH'nin (Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat) indirgenmesinde kullanılan GSH-Rx (Glutatyon Redüktaz) ile yeniden oluşturulur (Şekil 2.20) (19, 120).



Şekil 2.20: Glutatyonun yeniden oluşumu (19).

Önemli bir antioksidan molekül olan GSH, hem serbest radikallerle hem de peroksitlerle reaksiyona girerek onların zararlı etkilerini azaltır ve oksidatif hasara karşı hücreyi korur. GST, GPx vb. enzimlerin fonksiyonlarını gerçekleştirebilmesi için gereklidir. Hücrenin proteinlerin yapısında yer alan sülfidril (-SH) gruplarını indirgenmiş halde tutarak birçok enzimin ve proteinin inaktivasyona ve oksidasyona uğramasına engel olur (41, 113, 134).

2.9. Eser Elementler

Vücut doku ve sıvılarında çok düşük konsantrasyonlarda bulunan ve bileşimindeki miktarı 100 ppm'den az olan elementler eser olarak ifade edilmektedir ve eser elementler bazı alt sınıflara ayrılmaktadır (135) (Tablo 2.8-2.9).

Tablo 2.8: Eser elementlerin konsantrasyonlarına göre sınıflandırılması (136).

Element	Konsantrasyonu
Eser	10^{-2} - 10^{-4} ppm
Mikro-eser	10^{-4} - 10^{-7} ppm
Makro-eser	10^{-7} - 10^{-10} ppm
Piko-eser	10^{-10} - 10^{-13} ppm

Başka bir tanımlamaya göre ise; gereken miktarı 100 mg/gün'den az olan elementler eser (mikro elementler <100 mg; makro elementler >100 mg); dokularda $\mu\text{g}/\text{kg}$ düzeyinde bulunan ve gereken miktarı 100 $\mu\text{g}/\text{gün}$ kadar olan elementler ultraeser; eksikliğinde fonksiyon bozukluğuna yol açan elementler ise esansiyel olarak ifade edilir (137, 138).

Tablo 2.9: Eser Elementlerin makro ve mikro sınıflandırılması (139).

Makro Elementler	Na, K, Cl, Ca, Mg, P
Mikro Elementler	
Esansiyel Elementler (RDA belirlenmiş)	Se, Zn, Fe, I
Esansiyel Elementler (RDA belirlenmemiş)	Geçiş Elementleri : Cu, Mn, Cr, Co, Mo Grup VII Halojen : F
Vücut doku ya da sıvılarında 'ultraeser' düzeyinde bulunan; ancak esansiyel olup-olmadığı bilinmeyen elementler	Li, Si, Sn, Ni, V
Toksik elementler	Geçiş elementleri : Ar, Cd, Hg Grup III : Al Grup IV : Pb

RDA: önerilen günlük diyet tüketim değerleri

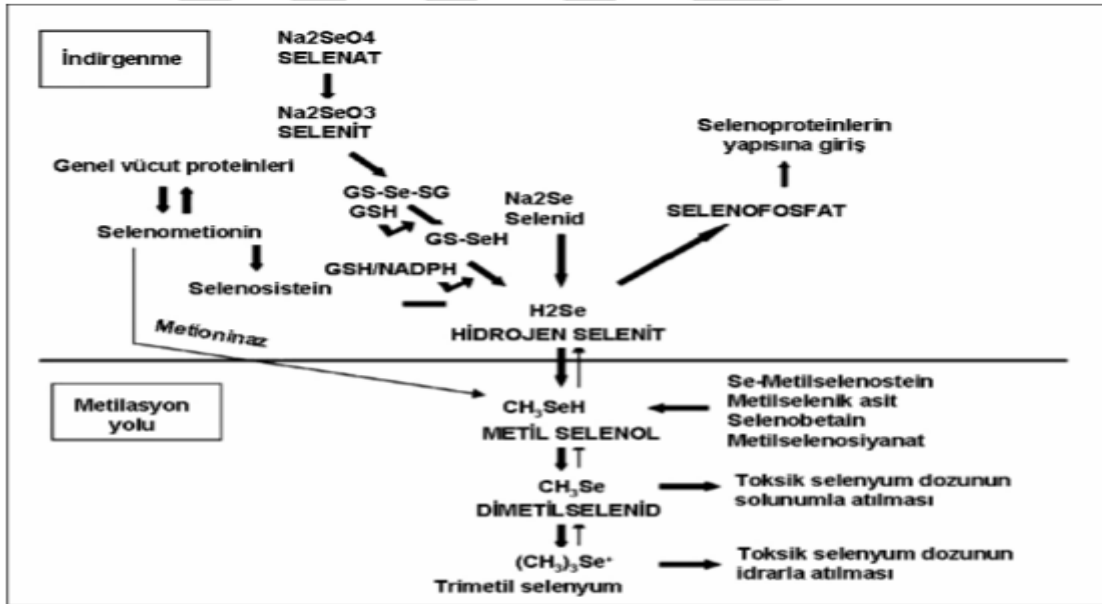
Periyodik cetveldeki 105 elementin 80 kadarını oluşturan eser elementlere örnek olarak selenyum (Se), çinko (Zn), bakır (Cu), demir (Fe) ve kalsiyum (Ca) verilebilir (140).

2.9.1. Selenyum

Doğada yaygın bulunan ve antioksidan özellik taşıyan selenyum (Se); insan ve hayvan organizmalarının gelişimi için gerekli esansiyel eser elementlerden biridir (141). Selenyum ilk kez 1817 yılında İsveçli kimyacıların babası olarak bilinen Jöns Jacob Berzelius tarafından sülfürik asit hazırlanırken öncesinde tellür olarak düşündüğü bir tortunun yeni bir element olduğunu farketmesi ile keşfedilmiştir (142). Atom numarası 34 olan Se periyodik cetvelin 6A grubunda ve 4. periyodunda bulunur. Kimyasal özellikleri açısından ise kükürde benzerlik gösterir (143). Kütle numarası 74, 76, 77, 78, 80 ve 82 olan altı tane doğal izotopu vardır. Elementel selenyum (Se^0), selenit (Se^{-2}), selenit (Se^{+4}) ve selenat (Se^{+6}) olmak üzere 4 doğal oksidasyon formunda bulunmaktadır (144).

Diyetle alınan Se genellikle selenosistein, selenometiyonin ve Selenometilselenosistein şeklinde organik formlarda olsa da selenat ve selenit şeklinde inorganik formlarda da bulunmaktadır (145). İnorganik formlar glutatyonla indirgenir. Ara metabolik yolların büyük kısmında hidrojen selenit (H_2Se) oluşur ya da doğrudan metabolizmaya katılır (146). Oluşan H_2Se , GPx, tiyoredoksin redüktaz (TrxR),

deiyodinaz (DIO) ve selenoprotein P gibi birçok selenoprotein yapısına girer ya da tiyol S-metiltransferazın enzimatik etkisiyle metil selenol, dimetil selenit ve trimetilselenyum gibi farklı metil formlarına dönüştürülür (147). Sodyum selenit, pek çok bakterinin gelişimini inhibe eden oldukça güçlü bir oksitleyici ajandır. Memeli hücrelerinde en zengin tiyol olan indirgenmiş glutatyon ile reaksiyona girerek kovalent GS-Se-SG ürününü oluşturabilir veya tiyoredoksin (Trx) sistemi ile redüksiyona uğrayabilir. Memelilerde ve prokaryotiklerde bulunan Trx sistem, TrxR ve oksidoredüktaz enzim aktivitelerini içeren iki antioksidan sistemi ifade eder. İnorganik selenyum bileşiklerinin merkezi bir metaboliti olduğu düşünülen GS-Se-SG, GRx veya Trx sistemi ile daha etkin şekilde indirgenir. GS-Se-SG'nin azaltılması selenyumun oldukça reaktif formu olan selenitin oluşmasına sebep olur. Selenitin oksijen ile redoks döngüsü yapabilmesi, tiyollerin ve NADPH'nin stokiyometrik olmayan oksidasyonuna neden olabilir (148) (Şekil 2.21).



Şekil 2.21: Selenyum metabolizması (149).

Diyette en çok bulunan Se türü Selenometiyonin'dir. Hücreler metiyonin ile selenometiyonini protein sentezi sırasında birbirinden ayırt edemedikleri için bu seleno aminoasitler vücut proteinlerinin yapısına katılırlar (145). Selenometiyonin, transsülfürasyon yolu ile selenosisteine daha sonra da H₂Se'ye dönüştürülerek selenosisteinin uğradığı metabolik yollara girer (149).

Selenyum, selenosistein olarak selenoproteinlerin ve selenoprotein olarak da en az 25 proteinin yapısına girer. Diyetle alınan doğal selenyumun başka bir formu olan selenosistein, selenoproteinlerin sentezi için gereklidir (150) (Tablo 2.10).

Tablo 2.10: Selenoproteinler ve görevleri (151).

Selenoproteinler	Görevleri
GSH-Px	Antioksidan enzim olup; membran bütünlüğünü sağlamak için fosfolipid ve lipid hidroperoksitler ile hidrojen peroksitleri ortamdan uzaklaştırır. Biyomoleküllerde oksidatif hasarın artmasını engeller.
Sperm mitokondriyal kapsül proteini	Sperm hücrelerini gelişim evresinde oksidatif hasara karşı korurken; olgun spermelerin motilitesi ve kararlılığı için gerekli yapısal proteine polimerize olur
İyodotironin deiyodinaz	Tetraiyodotironinden triiyodotironin oluşumunu ve regülasyonunu katalizler.
Tiyoredoksin redüktaz	Hücre içi redoks kontrolünün sağlanmasında ve gen ekspresyonunun regülasyonunda görevlidir.
Selenofosfat sentetaz	Selenosistein prekürsörü olarak görev yapan selenofosfatın sentezlenmesinde görevlidir.
Selenoprotein P	Endotel hücrelerini peroksinitrit kaynaklı hasara karşı korur.
Selenoprotein W	Kas fonksiyonunda rol alır.
Prostat epitel selenoproteini	GSH-Px ile benzer redoks fonksiyona sahiptir ve sekretuar hücreleri karsinomadan korur.

Selenyum alım düzeyleri coğrafi bölgelere göre farklılık gösterir. Amerika Birleşik Devletleri'nde ve Kanada'da günlük Se alımı 100-250 µg iken; Finlandiya ve Yeni Zelanda'da bu düzey 30-50 µg/gün'dür. Türkiye için önerilen günlük Se alımı 55 µg olarak belirlenmiştir. Se düzeyinin yetişkinlerde 11 µg/gün'den az olmasının Se eksikliğine neden olabileceği bildirilmiştir. Yaş aralığı ve fizyolojik duruma göre ihtiyaç duyulan selenyum düzeylerine ulaşmada beslenme şekli de etkilidir (Tablo 2.11) (152, 153). Ortalama Se konsantrasyonları sütte 150 µg/g, meyvede 100 µg/g, sebze 200 µg/g, ekmekte 450 µg/g, tahılda 1100 µg/g, kuzu etinde 380 µg/g, sığır etinde 760 µg/g ve balıkta 1600 µg/g şeklindedir (154).

Tablo 2.11: Türkiye’de selenyum (Se) için önerilen günlük diyet tüketim değerleri (RDA) (155).

Fizyolojik Durum	Yaş (Yıl)	RDA ($\mu\text{g/gün}$)
Bebek	0 - 0,5	15
	0,5 - 1	20
Çocuk	1 - 3	20
	4 - 9	30
	10 - 13	40
Adölesan	14 - 18	55
Yetişkin	>18	55
Gebelik Dönemi		60
Emzirme Dönemi		70

Canlı türüne, maruz kalma yoluna, alınan selenyum miktarına, maddenin kimyasal formuna göre dağılımı ve atılımı değişkenlik gösterebilen Se'nin % 60'lık büyük kısmı idrarla, % 35'lik kısmı feçesle, % 15'lik kısmı ise solunum ve salgıyla atılır (143). Ruminantlarda feçesle, monogastriklerde ise idrarla büyük oranda atılımı gerçekleşen Se ağız yoluyla alındığında intestinal absorpsiyon değeri ortalama % 44-70 arasında değişkenlik gösterir. İlk haftada atılımın % 35-55'i feçesle, % 14-20'si idrarla ve kalan miktarı ise solunum yolu ile gerçekleşir. Se enjeksiyon yoluyla alındığında ise büyük ölçüde idrarla, toksik miktarda alındığında ise fazlası solunumla atılmaktadır (156).

Selenyum ince bağırsaklarda duodenum-ileum ile ileum-sekum arasında yer alan bölgelerden absorbe edilir. Absorbansyon sonrası plazma proteinlerine ve lipoproteinlere bağlanan Se başta böbrek, karaciğer, pankreas, kalp olmak üzere kemik ve kıl dokuları dahil tüm vücut dokularına, süt proteinleri, lökosit ve eritrositlerle taşınır (157). Vücuttaki Selenyumun yarılanma ömrü 65-115 gün olan Se plazma ve dokulardan hızla, kemik ve iskelet kaslarından ise daha yavaş azalma gösterir (158). İskelet kası Se havuzunun oldukça önemli kısmını (% 40-50) oluşturur (159). Organik ve inorganik formda olmasına bağlı olarak Se metabolizmasında farklılıklar bulunmaktadır. Organik Se formları inorganiklere göre sindirim kanalından daha fazla absorbe olurken; inorganik formların feçesle atılımı daha kolay olmaktadır. (151).

Çoğunlukla yetersiz ve dengesiz beslenmeyle ilişkili olan Se eksikliği bağırsak fonksiyonlarında görülen ciddi bozukluklarla, total parenteral nütrisyona beslenme (TPN) yöntemiyle ve yaşlanma gibi faktörlerle de ilişkilidir. Selenyum eksikliğinin semptomları ve bulguları arasında kas ağrısı ve zayıflığı, saç ve deride pigment kaybı, tırnak yataklarında beyazlama, Keshan hastalığı (endemik kardiyomyopati), Kashin Beck hastalığı (endemik osteoartropati), kalp büyümesi, konjestif kalp yetmezliği, kardiyojenik şok; guatr, hipotirodizm, kretenizm ve bu hastalıklarla ilişkili düşükler, fertilitate bozuklukları, viral ve mikrobiyal enfeksiyonlara karşı direnç azalması, fagositik hücre fonksiyonlarında azalma , antikor üretiminde azalma, mitojenlere cevapta T ve B lenfositlerinin proliferasyonunda azalma, NK-hücreleri (Natural Killer-Doğal Öldürücü) ve lenfositlerin hücre yıkımını inhibe etmesi görülmektedir (160, 161). Akut selenyum toksisitesinin semptomları arasında ise karın ağrısı, salivasyon, diş gıcirtısı; bulguları arasında ise körlük ve farklı derecelerde felç gözlemlenebilir (162).

2.9.2. Çinko

Çinko, vücutta bulunma miktarı bakımından ikinci sırayı alan ve organizma açısından önemli olan esansiyel bir eser elementtir. Periyodik tablonun 2B grubunda ve 4. periyodunda bulunan çinkonun atom numarası 30, atom ağırlığı ise 65,39 g/mol'dür. Doğada $ZnCO_3$, ZnO ve $ZnSO_4$ vb bileşimleri halinde bulunan çinko gümüş rengine bir metaldir (163).

Proteinlerin, nükleik asitlerin ve lipitlerin sentezinde görev alan çinko proteinlerin % 3-10 kadarına bağlı bulunur ve kofaktörü olan yaklaşık 300 enzimin etkinliğinde rol alır. Gen ekspresyonunun regülasyonu için en az 200 transkripsiyon faktörünün DNA'ya bağlanmasında gereklidir. Büyüme, troid ve insülin hormonları gibi birçok hormonun salınımı ve depolanmasında; immün sistemin regülasyonunda; serbest radikallere karşı savunmada; hücreler arası ve hücre içi haberleşmede; koku, tat ve görme duyularının oluşumunda aktif rol oynar (164, 165).

Zn homeostazı gastrointestinal sistem tarafından mukoza epitel hücrelerince düzenlenir (166). Diyetle alınan Zn'nin % 29,5'lik kısmı gastrointestinal sistemde absorbe edilir. Gastrointestinal sistemde Zn'nin absorpsiyonu duodenum (% 60), ileum (% 30) ve jejunumdan (% 10) gerçekleşir (163). Vücuttan atılan Zn miktarı doğrudan absorblanan toplam Zn miktarı ile ilişkilidir. Absorblanma miktarı çok ise atılım da fazla olur (167). Diyetle alınan Zn'nin % 67,6'lık kısmı feçesle ilk 24 saatte atılır (168).

Feçes ile atılan Zn miktarı diyetin Zn içeriğine bağlı olarak 1-5 mg/gün arasında değişmektedir (169). Zn atılımı deri, böbrek ve bağırsak yoluyla da sağlanmaktadır (170). Gastrointestinal sistemden Zn atılımı ortalama 2,5-5,5 mg/gün kadardır. İdrarla atılım idrar miktarından bağımsız olup bu değer ortalama 0,4-0,5 mg/gün'dür. Böbrek iltihabı ve alkole bağlı karaciğer hastalıklarında Zn'nin idrarla atılımı artarken; serum Zn değeri azalır (171). Diyetle alınan Zn'nin kalan % 2,9'luk kısım bağlanır. Plazmada bulunan Zn albümine (% 60); transferine (% 10); sistein, histidin ve α 2-makroglobulin vb. plazma bileşenlerine (% 30) bağlanmaktadır (168). Diyetle alınan Zn miktarının plazma Zn konsantrasyonuna etkisi oldukça azdır. Besin türü, genetik faktörler, ekolojik şartlar vb. serum Zn düzeyini etkileyen parametrelerdir. Örneğin paratiroid hormonu kemik dokudan ve üriner sistemden Zn atılımını arttırmaktadır (172).

Deri, saç, iskelet kası ve kalp Zn konsantrasyonları sabit iken plazma, kemik, akciğer ve testis Zn konsantrasyonları diyetle alınan Zn miktarıyla ilişkili olarak değişmektedir. Vücuttaki toplam Zn'nin % 85'i kemik ve kas dokuda; % 11 karaciğer dokusu ve deride; kalan % 4'ü ise diğer dokularda bulunmaktadır (173).

Bağırsakta yer alan iki değerlikli metal taşıyıcısındaki tek bir bölgeye yarışmalı olarak bağlandıkları için diyetle fazla miktarda demir (Fe) alınımı, Zn'nin absorpsiyonunda azalmaya neden olur. Kadmiyum'un (Cd) fizikokimyasal etkilerinin Zn ile benzer olması sebebiyle Zn absorpsiyonunu etkileyen diğer bir elementtir (174). Bakır (Cu) düşük dozlarda herhangi bir etkiye neden olmasa da yüksek dozlarda alındığında antagonisti olan Zn'nin eksikliğine sebep olabilmektedir (175). Bitkisel protein içerikli diyetlerde kalsiyumun (Ca) Zn absorpsiyonunu negatif yönde etkilediği ve Ca alımının artmasıyla Zn yetersizliğinden kaynaklanan semptomların görüldüğüne yönünde çalışmalar mevcuttur (176).

Absorblanan Zn ince bağırsağın bazolateral membranından portal dolaşıma katılarak metabolizmasında esas rol oynayan organ olan karaciğere gider (163). Zn, birbirine zıt etki gösteren Zn transmembran proteinleri (ZIP, Zinc-Iron related transporter Protein/Zn-Fe ilişkili Taşıyıcı Protein) ve Zn taşıyıcı proteinler (ZnT) ailesi aracılığıyla taşınmaktadır. Zn'nin sitoplazmaya alımı ve veziküllerden transportu ZIP transmembran proteinleri tarafından sağlanırken; hücreden çıkışı ve veziküllere taşınması ise ZnT'ler ile gerçekleşir. Zn bağlayıcı protein olan Metalloitiyonein (MT) ise bağlanan Zn'nin dağılımı, salınımı ve depo edilmesi gibi görevlerde önemli düzenleyici

etkiye sahiptir. MT'ye bağı olan çinko miktarı sadece miktarıyla alakalı olarak değil çinkonun redoks durumuna göre de düzenlenir. MT, çinkoyu hepatositlerde ve enterositlerde fizyolojik koşullar altında tutar ve oksidatif stres altında çinko bırakarak güçlü antioksidan etkiye yol açar. MT'ler, termodinamik olarak stabil bir bağ ile kendilerine bağı tiyol gruplarından zengindirler. Tiyolat kümelenmesinin oksidasyonu MT-disülfid oluşumuna ve ardından çinko bırakılmasına neden olur. MT redoks döngüsü, MT-disülfürün glutatyon tarafından MT'ye indirgenmesi ile sona erer (175). Çinkonun oksidatif süreçleri erteleyebilme özelliği uzun yılladır bilinmektedir. Genel olarak, antioksidan mekanizması akut ve kronik etkilere göre ayrılabilir. Uzun süre çinko alımına bağı kronik etkiler, MT gibi nihai antioksidan olan başka bir substratın indüksiyonu ile sonuçlanır. Kronik çinko eksikliği genelde oksidatif strese duyarlılığın artmasına neden olur. Akut etkilerde iki mekanizma söz konusudur: protein sülfhidrillerin korunması ya da demir ve bakır gibi redoks-aktif geçiş metallerinin antagonizması yoluyla H_2O_2 'den OH^- oluşumunun azaltılması. Protein sülfhidril gruplarının korunmasının, sülfhidril reaktifliğinin indirgenmesini içeren üç mekanizmadan biriyle sağlandığı düşünülmektedir: (1) çinkonun sülfhidril'e doğrudan bağlanması, (2) sülfhidril grubuna yakın diğer bazı protein alanlarına bağlanma sonucu oluşan sterik engel, (3) protein üzerindeki bir başka bölgeye bağlanmayla oluşan konformasyonel değişim. Çinko'nun antioksidan özelliklerine ilişkin kanıtlar olsa da, mekanizmalar halen belirsizdir (177).

Yetersiz ve dengesiz beslenmeyle ilişkili çinko eksikliği ilk kez 1961 yılında 18–20 yaş aralığındaki İranlı erkeklerde, demir eksikliği ve buna bağı anemi, hipogonadizm, dwarfizm ve hepatosplenomegali ile birlikte tanımlanmıştır (178). Bu kişilerin beyaz ekmeği çokça tüketirken hayvansal gıda ile beslenmede yetersiz kaldıkları ve toprak yeme alışkanlıklarının olduğu bildirilmiştir (179). Kilin çinko ve demir ile kelat oluşturması her iki elementin de absorpsiyonunun engellenmesine ve kil yiyenlerde bu elementlerin eksikliklerine sebep olmaktadır (168). Çinko birçok enzimin yapı ve fonksiyonunda yer alan bir element olduğu için eksikliği genellikle nonspesifik semptomlarla görülür. Klinik açıdan Zn eksikliği tanısı konulabilmesi için plazma ve saç Zn düzeylerinin sırasıyla 65 $\mu g/dl$ ve 70 $\mu g/dl$ seviyelerinin altında olması gerekmektedir (163). Çinko eksikliğinin semptomları ve bulguları arasında iştahsızlık, kilo kaybı, büyüme geriliği, saç dökülmesi ve kırılması, yara iyileşmesinde gecikme, kollajen biyosentezinde bozukluk, tırnaklarda soyulma ve kırılma, gastrointestinal

sistem hastalıkları, kronik böbrek hastalıkları, siroz gibi karaciğer hastalıkları, orak hücre anemisi, DNA ve RNA sentezinde azalma, tümörler, tüberküloz, akut ve kronik infeksiyonlar, ACE aktivitesinde bozukluk, testesteron seviyesinde azalma, spermatogenezin engellenmesi, LH ve FSH'nin sentezinde ve sekresyonunda bozulma, yumurta gelişiminde anormallik, düşük vakaları, gebelik periyodunun uzaması, doğum güçlüğü, ölü ya da düşük ağırlıklı doğum, gebelik toksemisi, preeklampsi ve teratogenesite olayları bulunmaktadır (158, 164).

Element halinde zehirli etki yaratmayan Zn'nun toksisitesi başlıca çözünebilir tuzlardan kaynaklanır. Özellikle asit ortamında çözünebilir Zn tuzlarının oluşması, Zn galvanizli kaplar ve benzeri gereçlerin zehirlenmeye sebebiyet vermesi açısından önem taşır. Organik asitlerde Metalik Zn'nin kolayca çözünmesi nedeniyle Zn galvanizli kaplarda saklanan süt ve süt ürünleri başta olmak üzere yiyecek ve içecekler kontaminasyonla Zn'nun çözünmesine yol açarak akut zehirlenmelere sebebiyet verirler (169). Çinko toksisitesinin semptomları ve bulguları arasında ise kramp, bulantı, kusma, diyare, tenesmus, anemi, plazma Cu düzeyinde azalma gibi durumlar söz konusudur (180).

2.9.3. Bakır

Pek çok protein için kofaktör olan bakır biyolojik sistemlerde Cu^{+1} ve Cu^{+2} formlarında yer almaktadır. Canlı sistemler için esansiyel bir element olan bakır, serbest oksijen detoksifikasyonunda; demir homeostazında; bağ doku oluşumunda; kalp fonksiyonlarında; melanin ve dopamin biyosentezinde; bağışıklık sisteminin etkinliğinde; omuriliğin miyelinleşmesinde; tirozinaz, lizil oksidaz ve sitokrom-c-oksidad enzimlerinin aktivitelerinde rol oynamaktadır (181, 182).

Diyet yoluyla alınan bakır ince bağırsaktan ve mideden absorblanır; metalotionin ile karaciğerde depo edilir. Bakırın absorpsiyonunda kalsiyum karbonat, kadmiyum, molibden, çinko, sülfat ve fitat azaltıcı etki gösterirken; kişinin cinsiyeti, alınan bakır miktarı, bakırın kimyasal formu gibi özellikler de absorpsiyonu etkileyen faktörler arasındadır (183). Küçük peptidlerle veya amino asitlerle birleşerek duodenumdan absorbe olan bakır, mukoza hücrelerinden kana geçerek albümine ya da histidine bağlanır. Bakır-albümin ya da bakır-histidin kompleksi karaciğere taşınır ve buradan seruloplazmin şeklinde plazmaya verilir (184). Bakır, karaciğer başta olmak üzere beyin, böbrek, kalp ve plazmada bulunmaktadır. Karaciğerde bakır seviyesi 30–50

$\mu\text{g/g}$, serumda ise $70\text{-}140\mu\text{g/dl}$ arasında değişkenlik göstermektedir. Östrojen hormonunun seruloplazmin sentezini arttırması sebebiyle serum bakır düzeyi kadınlarda erkeklere göre daha fazla bulunmaktadır (185).

Bakırın karaciğerde toksik miktarlarda birikimi, lipid peroksidasyon ve serbest radikal oluşumlarını indükler. Mitokondriyal ve hepatosit hasarına, fibrojenezise, siroz, steatozis ve hatta karaciğer yetmezliğine sebep olabilir (186).

2.9.4. Demir

Dünyada en çok bulunan ve canlılar için biyolojik önem arz eden demir vücutta ferröz (Fe^{+2}) ya da ferrik (Fe^{+3}) olmak üzere iki farklı formda bulunur. Vücuttaki demirin % 70'i hemoglobinde, % 25' i hemosiderinde, % 3-4 arası miyoglobinde, % 2'si hücreler arası sıvıda, % 0,1'i sitokromlarda, % 0,1'i demir-enzim komplekslerinde, % 0,1'i plazmada transferrine bağlı olarak bulunur. Demir elektron transfer edebilme özelliği ile dokulara oksijen taşınmasında; RNA, DNA ve protein sentezinde görevli; hemoglobin, miyoglobin, hemosiderin, ferritin, sitokrom proteinlerinin ve miyeloperoksidaz, mitokondriyal dehidrogenaz, monoamin oksidaz, ksantin oksidaz, ribonükleotid redüktaz, alfa gliserofosfat dehidrogenaz, katalaz enzimlerinin yapısında bulunan esansiyel bir elementtir (187, 188).

Vücuda besinlerle alınan demirin absorpsiyonu pek çok faktör tarafından etkilenmektedir. Demir absorpsiyonunu alkol, antiasit, fitat, fosfat, oksalat, kil ve toprak azaltırken; C vitamini, kalsiyum, laktat, früktoz, piruvat, sistein arttırmaktadır. Bitkisel besinlerdeki demir, hayvansal besinlerdeki demirden daha zor absorbe edilir. Demirin absorpsiyonu ince bağırsaktan, proksimal jejunumdan ve duodenumdan gerçekleşir. Aktif transport ile ince bağırsaktan absorbe edilen demir apotransferrine bağlanır ve karaciğerden transferrinin sentezlenmesiyle kan plazmasında taşınır. Depo demiri azaldıkça transferrinin sentezi artar. İki demir atomu (Fe^{+2}) , bir molekül transferrine bağlanır. Reseptör aracılı endositoz yoluyla hücre içine taşınır ve ferritinde depolanır. İhtiyaca bağlı olarak değişen reseptör sayıları depo demirin artmasıyla azalır (117, 163).

Demir eksikliği üç evreden oluşur. Birinci evrede demir kaybının, alımından daha fazla seviyelere ulaşması negatif demir dengesini oluşturur. Demir deposu azalırken, demir bağlama kapasitesinde ve diyet yoluyla alınan demirin absorpsiyonunda artış olur. Hematokrit, hemoglobin ve serum demir seviyelerinde değişiklik saptanmazken; serum ferritin seviyesi azalır. İkinci evrede demir depoları kullanıldıkça

ilik tarafından karşılanamaz hal alır. Plazma transferrin seviyesi artarken; serum demir seviyesi azalır. Serum demir seviyesi 50 mg/dl'nin ve transferrin saturasyonu % 16'nın altında düştüğünde eritropoez bozulur. Serum ferritin reseptör yoğunluğu artar. Hematokrit, hemoglobin ve eritrosit indeksleri normaldir. Üçüncü evrede ise hematokrit ve hemoglobin seviyeleri, eritrositlerin ortalama hacmi ve yoğunluğu, eritrositlerdeki ortalama hemoglobin miktarı azalırken; eritrositlerin dağılım genişliği ve Mentzer indeksi (ortalama eritrosit hacmi/eritrosit sayısı) artar. Diğer evrelerde ortaya çıkan bulguların yanı sıra anizositoz, hipoksemi, poikilositoz gözlemlenir. Dokularda demir eksikliğine bağlı bazı semptomlarla ve bulgularla karşılaşılır (189, 190).

Biyoyararlanımın düşük seviyelerde olması; mide pH'sının yüksek olması; fitat, kepek, nişasta vb. gıdalarla beslenme; kobalt, kurşun gibi metaller; bağırsağın absorblanma yüzeyinin deformasyonu; gastrit ve ülser; gastrointestinal, üriner, vajinal kanamalar, hemoroidler; tümör ve polipler; demir absorbsiyonunda sorunlar (TMPRSS6 mutasyonu vb.); enterosit absorbsiyonunda sorunlar başlıca demir eksikliği nedenleri arasındadır. Demir eksikliğine bağlı olarak algıda, zihin fonksiyonlarında ve kas gücünde zayıflama, kilo artışında duraklama gibi birçok belirti anemi öncesinde ortaya çıkabilir (191). Demir fazlalığında ise prooksidan özellik gösteren serbest demirin oluşumu serbest oksijen radikallerinin meydana gelmesine sebep olur (192).

2.9.5. Kalsiyum

Kalsiyum (Ca^{+2}) vücut ağırlığının % 1,5-2'sini oluşturan ve dolayısıyla insan vücudunda en çok bulunan mineraldir. Kalsiyum iyonize, proteine bağlı ve kompleks hallerinde olmak üzere üç farklı formda bulunur. Biyolojik aktif olan iyonize kalsiyum (Ca^{+2}) plazmadaki mineralin % 50'sini oluşturur. Albümin (% 80) ve globülin (% 20) proteine bağlı kalsiyum biyolojik inaktiftir ve % 40'luk kısmı oluşturur. Kalsiyumun % 10' luk kısmı ise fosfat, bikarbonat veya sitrat ile kompleks oluşturur (193).

Kalsiyum, sitozolde oldukça düşük ($\approx 10^{-7}M$); endoplazmik retikulum ($\approx 5 \times 10^{-4}M$) ve ekstrasellüler sıvıda ise ($\approx 10^{-3}M$) yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Hücre dışından gelen sinyaller, sitoplazmik serbest Ca^{+2} derişiminde artışa neden olur. Çeşitli uyarılarla endoplazmik retikulum ve plazma membranlarının kalsiyuma geçirgenliği arttırıldığında kalsiyum iyonları sitoplazma ve ekstrasellüler sıvı veya endoplazmik retikulum arasındaki gradiyent farklı sebebiyle sitoplazmaya doğru hızlıca difüze olurlar. Kalsiyumun önemli miktarda artışına neden olan bu olay hücrelerde kalsiyuma

duyarlı proteinlerin aktif hale gelmesini sağlar. Kalsiyum sinyalleri, hücrelerde oluşan pek çok metabolik olay için önemli bir mekanizmadır. Bu sinyaller sinir hücrelerindeki ve epitel hücrelerdeki veri aktarımında, kas fonksiyonlarında, kalbin kasılma ve gevşeme mekanizmalarında ve kanın pıhtılaşmasında rol oynar. Dışarıdan uygulanan zehirli bir madde sebebiyle kalsiyum sinyalinin salınımında, dalgalanma frekansında veya büyüklüğünde herhangi bir değişiklik görülürse hücre işlevleri bu durumdan ciddi şekilde etkilenir (194).

İnsan vücudundaki dağılımına bakıldığında kalsiyum % 99'luk oranla en çok (1135 gr) iskelette bulunur. Dağılımın kalan kısmını % 0,6'şar eşit oranla (7'şer gr) dişler ve yumuşak dokular; % 0,06'sını (0,7 gr) ekstrasellüler sıvılar; % 0,03'ünü (0,35 gr) plazma oluşturmaktadır (195). Kalsiyum kas dokuda 700 mg/kg, sinir dokuda 150 mg/kg, serumda 8,8-10,8 mg/l, beyin omurilik sıvısında 4,5-5 mg/l seviyelerinde dağılım göstermektedir (196).

Diyetle alınan kalsiyumun ancak % 30-40'ı absorbe edilmekte ve absorpsiyon büyük oranda ince bağırsakta, az miktarda ise midede gerçekleşmektedir. Kalsiyum alım miktarına bağlı olarak farklı difüzyon mekanizmalarıyla absorbe olur. Alınan kalsiyum miktarı az veya orta seviyede ise aktif difüzyonla; yüksek seviyede ise pasif difüzyonla absorpsiyon gerçekleşir. Kalsiyum miktarının bağırsakta azalması absorpsiyonunu artırır. Kanda serum kalsiyum düzeyi azalır, D vitamini ve paratiroid hormonu ise artar (197, 198). Kalsiyumun absorpsiyonunu olumlu ve olumsuz yönde etkileyen faktörler vardır. İnce bağırsağın sağlıklı mukozal yapıya sahip olması; ortamda arjinin, lizin, serin amino asitlerinin, kısa ve orta zincirli yağ asitlerinin, sitrik asitin, laktozun ve sükrozun, C ve D vitaminlerinin bulunması; diyetle uygun oranda kalsiyum-fosfor alımının gerçekleşmesi; mide ve safra asitlerinin salınımı kalsiyumun absorpsiyonunu olumlu etkileyen etmenlerdir. İnce bağırsağın mukozal yapısının bozulması; ortamda oksalatların, fitatların ve absorbe edilmemiş yağ asitlerinin çok miktarda olması; D vitamini yetersizliği; diyetle birlikte Zn, Al gibi diğer minerallerin ve posa içeriğinin fazla miktarlarda alımı; diyetle uygun oranda kalsiyum-fosfor alımının gerçekleşmemesi; paratroid ve östrojen hormonlarının yetersizliği; böbrek yetmezliği; stres ve yaşlanma gibi faktörler ise kalsiyumun absorpsiyonunu olumsuz yönde etkilemektedir (193, 199). Kalsiyumun atılımı ise feçes, idrar, ter ve kıl yoluyla gerçekleşmektedir. Feçes yoluyla hem absorbe edilemeyen hem de metabolize olan

kalsiyum atılımı gerçekleşir. Feçes ile günlük 100-130 mg kalsiyum atılır. İdrarla ise metabolizma sonucu oluşan kalsiyumun atılımı gerçekleşir ve bu miktar günlük yaklaşık 150 mg civarındadır. İdrarla kalsiyum atılımı fazla miktarda protein alımına bağlı olarak artarken; yaşlanma ile azalma gösterir (200).

Total kalsiyum düzeyinin 9 mg/dl'nin ya da iyonize kalsiyum düzeyinin 4,5 mg/dl'nin altında olması durumu hipokalsemi olarak nitelendirilir ve nedenleri arasında paratroid (PTH) hormonla ilgili bozukluklar (PTH gen mutasyonu, kalsiyum sensor aktifleyici reseptör mutasyonu, hipoparatiroidizm vb); D vitamini ile ilgili bozukluklar (D vitamini yetersizliği, D vitaminine bağımlı ve dirençli raşitizm tipleri vb.); şelasyon, pankreatit, HIV virüsü, neonatal hipokalsemi vb. durumlar sayılabilir. Hipokalsemi semptomları ve bulguları arasında anksiyete, yorgunluk, hafızada zorlanma, depresyon, el ve ayaklarda karıncalanma, spontan ya da latent tetani, cilt kuruluğu, hipotansiyon gözlemlenebilir (201). Toplam kalsiyum düzeyinin 12 mg/dl'nin üzerinde olması durumu ise hiperkalsemi olarak nitelendirilir ve nedenleri arasında humoral faktörler; hiperparatiroidizm; tüberküloz, sarkoidoz, histoplazmozis gibi granüloamatöz hastalıklar; adrenal yetmezlik; hipertiroidi; süt-alkali sendromu; alüminyum intoksifikasyonu; lityum ile A ve D vitamini ilaçları sayılabilir. Hiperkalsemi semptomları ve bulguları arasında baş ağrısı; koma; kas, karın ve kemik ağrıları; halsizlik, kabızlık, bulantı, kusma, peptik ülser, böbrek yetmezliği, hipertansiyon gözlemlenebilir (202).

2.10. Ozmotik Frajilite

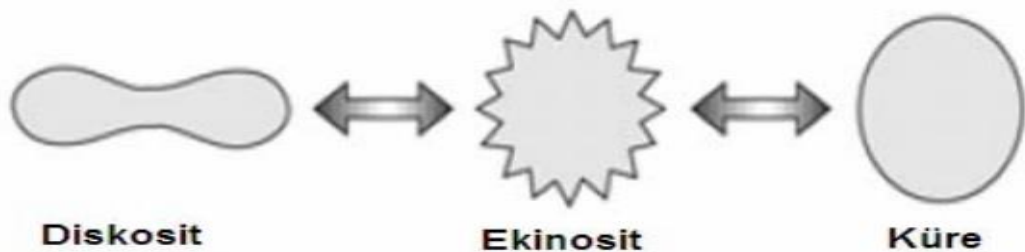
Ozmotik frajilite, eritrositlerin bütünlüğünün bozulmadan su alma kapasitelerini ve dirençsizliğini gösterir. Ozmotik frajilite testi, farklı hipotonik ortamlarda eritrositlerin ozmotik strese karşı direncinin dolayısıyla eritrositlerin dayanıklılığının ölçülmesini sağlayan bir yöntemdir (163). Eritrosit membranının her bir hipotonik derişimdeki parçalanma miktarı, derişimin içinde yer alan hemoglobinin kolorimetrik ölçülmesiyle hesaplanır ve eritrositlerin tümüyle lizis olduğu, derişimi en düşük örnek referans alınarak karşılaştırma yapılır (203). Ozmotik frajilite testi, eritrositlerde yüzey alanı/hacim oranını değerlendirir. Yüzey alanı/hacim oranındaki azalma ozmotik frajilitedeki artışı ve hipotonik solüsyonlara karşı direncin azaldığını gösterirken; bu orandaki (yüzey alanı/hacim) artış ozmotik frajilitenin azaldığını ve hemolize karşı direncin arttığını ifade eder (163).

Frajilitedeki azalma membranın kararlı olduğunu gösterir. Hemoglobinin ozmotik etkisi sebebiyle eritrositler intrasellüler sıvıyı artırmaya eğilimlidirler; fakat bu eğilim normal şartlar altında Na^+ - K^+ ATPaz ile engellenir. Sodyum (Na) ile beraber hücre içine giren su yine Na ile beraber hücreden dışarıya atılır. Hücre içine giren su miktarının Na^+ - K^+ ATPaz pompasının kapasitesini aşması durumunda eritrositler şişerek küresel şekil alır. Eritrositler hipotonik çözeltilere konulduklarında da membrandan içeri hızlıca giren su hücrenin şişmesine ve önce fincan daha sonra küre şeklini almasına yol açar. Bu durum eritrosit hacminin artmasına rağmen yüzey alanında artışın hiç olmaması ya da çok az olmasından kaynaklanır. Eritrosit hacmindeki artışın devam etmesi ise membranının yırtılmasına ve beraberinde hemoglobin gibi büyük moleküllerin serbest kalmasına neden olur (204).

Hemoliz eritrositlerin içinde yer alan hemoglobinin eritrosit membranının parçalanmasıyla plazmaya geçmesidir. Hemositoliz veya ozmotik hemoliz şeklinde gözlemlenir. Hemositoliz eritrosit membranındaki lipit tabakanın kimyasal, fiziki ya da mekanik faktörler etkisi altında erimesiyle oluşan hemolizdir. Ozmotik hemoliz ise, hipotonik sıvıya konulan eritrositlerin içine su alarak şişmesi sonucu oluşan yüksek basınç altında membranın yırtılması ve hemoglobinlerin dışarı çıkması durumudur. İzotonik ortamlarda ise eritrosit membranına zarar gelmeden hemoliz oluşabilir (163).

Eritrositin küre şeklini almasına neden olan iki olay daha vardır:

Birincisi eritrositin diskositik-ekinosit dönüşümüdür (Şekil 2.22) (205). İntrasellüler Ca^{+2} konsantrasyonundaki artma Na^+ - K^+ ATPaz'ın inhibisyonuna ve iyonik dengenin bozulmasına yol açabilir. İntrasellüler Ca^{+2} konsantrasyonundaki aşırı artış (25-300 $\mu\text{mol/l}$) ise eritrositlerin bikonkav disk yapısının bozularak oval ya da küresel hal almasına ve eritrositlerde dikensi çıkıntılarının oluşmasına yani ekinosit veya sferoekinosit forma dönüşmesine neden olur. Ortama yeterli ATP verilirse eritrositler yavaş yavaş eski formuna geri dönebilir (206, 207).



Şekil 2.22: Eritrositin diskosit-ekinosit dönüşümü

İkincisi ise eritrositlerin diskosit-stomatosit dönüşümüdür. Düşük pH ortamında eritrositin ortadan çökük kenarlardan şişkin bikonkav şeklinin ortada yarık şeklini aldığı durumdur (Şekil 2.23) (205).



Şekil 2.24: Eritrositin diskosit-stomatosit dönüşümü

Hereditör stomasitozis ve sferositozda, kazanılmış immün hemolitik anemilerde ve gebelikte eritrosit ozmotik frajilitesi artar. Hipokromik mikrositik anemi (talasemi, demir eksikliği anemisi) hemoglobinopati, myeloskleroz, splenektomi, lösemi, lenfosarkom ve karaciğer hastalıklarında ise ozmotik frajilite azalır (203).

2.10.1. Ozmotik Frajilite ve Oksidatif Stres İlişkisi

Eritrositlerde serbest oksijen radikalleri, proteinler ve doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek protein yıkımına ve lipid peroksidasyonuna sebep olurlar (208, 209). Oksidatif hasar eritrositlerde spektrin ile globulin arasında çapraz bağ oluşumunu da uyarır. Eritrosit membranındaki band 3, glikoforin, ankrin gibi komponentlerin dağılımını etkileyerek protein hasarına sebep olur (210). Polimerizasyon ile çapraz bağlanma çift katlı lipid membranın iç tabakasında bozulmaya neden olarak eritrositde diskosit-ekinosit dönüşümüne yol açar. Eritrositlerin şeklinde meydana gelen bu değişim deformabiliteyi azaltırken membranının sertliğini ve ozmotik frajilitesini artırır (208, 211). Reaktif oksijen türleri ve oksidatif stresin malondialdehit, alanin (protein hasar göstergesi) ve ozmotik frajiliteyi arttırdığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (15, 212, 213). Ancak bir başka çalışmada eritrositlerin altı saat süresince malondialdehite maruz bırakılması hemolitik direnci arttırmış ve hücrelerden potasyum ile beraber H_2O 'nun çıkması ile konu açıklanmıştır (214). Öte yandan önce farklı tıbbi bitkilerle korunan sonrasında ise bir saat boyunca H_2O_2 'ye maruz bırakılan eritrositler üzerine yapılan incelemede ozmotik frajilite ile protein hasarı arasında doğru orantılı bir korelasyon saptanırken; lipid peroksidasyonun bu parametre için belirleyici faktör olmadığı bildirilmiştir (215).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kitler ve Kimyasallar

Sıçan AChE Eliza Kiti (SunRed)

Sıçan GPx Eliza Kiti (SunRed)

Klorprifos-etil (Safban 25 WP) (Safa Tarım A.Ş.)

Sodyum Selenit (Sigma)

Mısır Yağı (Evin)

Selenyum Standart Çözeltisi (Chem-Lab)

Çinko Standart Çözeltisi (Chem-Lab)

Bakır Standart Çözeltisi (Chem-Lab)

Demir Standart Çözeltisi (Chem-Lab)

Magnezyum Standart Çözeltisi (Chem-Lab)

Manganez Standart Çözeltisi (Chem-Lab)

Krom Standart Çözeltisi (Chem-Lab)

Kalsiyum Standart Çözeltisi (Chem-Lab)

Fosfor Standart Çözeltisi (Chem-Lab)

Arsenik Standart Çözeltisi (Chem-Lab)

Bor Standart Çözeltisi (Chem-Lab)

Nikel Standart Çözeltisi (Chem-Lab)

Silisyum Standart Çözeltisi (Chem-Lab)

Nitrik Asit (Merck)

Perklorik Asit (Ridel-De Haën)

Metafosforik Asit (Carlo Eba Reagenti)

Hidroklorik Asit (Ridel-de Haën)

Trikloroasetik Asit (Ridel-de Haën)

Tiyobarbitürük Asit (Merck)

Etilendiamintetraasetik Asit (Sigma)

Sodyum Klorür (Ridel-de Haën)

Primer Sodyum Fosfat (Horasan Kimya)

Potasyum Klorür (Horasan Kimya)

3.2. Cihazlar

Spektrofotometre (Shimadzu UV-1800)

Eliza Okuyucu (BioTek EL800)

Eliza Yıkayıcı (CIOM Medikal CA-200)

ICP-OES (ICAP 6000 Serisi, Thermo)

Hematoloji Analiz Cihazı (Roche Modüler LH 780)

Biyokimya Analiz Cihazı (Roche Cobas Modüler c 702)

Homojenizatör

Etüv (Elektrohelios)

Ayarlanabilir Otomatik Pipet Seti (Eppendorf)

Derin Dondurucu (-80°C Rua Instruments)

Santrifüj (Hettich-Universal 30 RF)

Deiyonize Su Cihazı (Nüve NS104)

Vorteks (Vortex Mixer Vm-20)

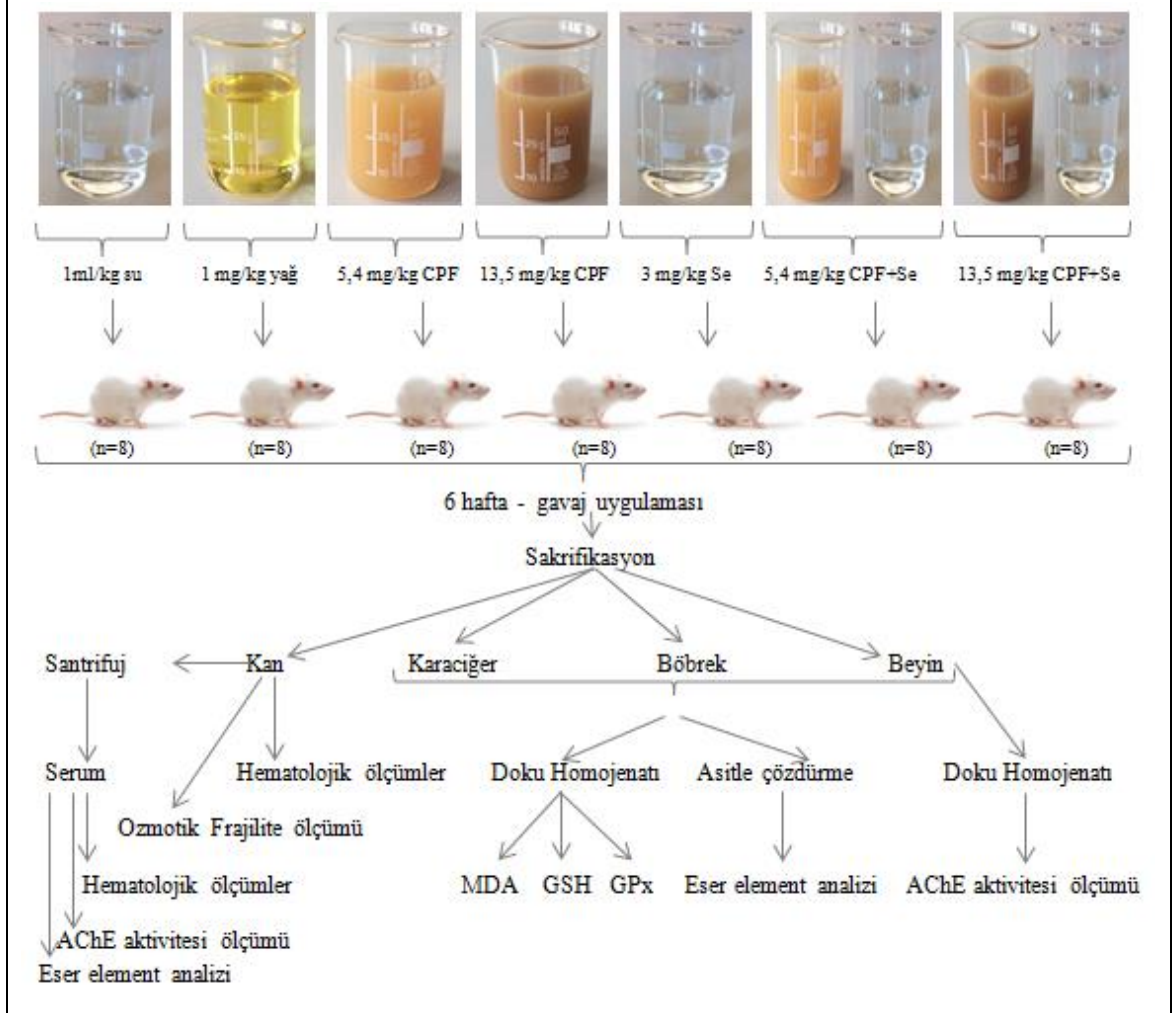
Hassas Terazı (Scaltec)

3.3. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deneyin Yapılması

Çalışmada, İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü'nden temini, bakımı ve barınması sağlanan 250 ± 15 gr ağırlığında Sprague Dawley soyu toplam 56 adet erkek sıçan kullanıldı. Deney süresince 22 ± 2 °C oda sıcaklığında, 12 saatlik sabit aydınlık ve karanlık periyodunda polietilen kafeslerde tutulan sıçanlar yem ve musluk suyu kısıtlaması olmadan ad libitum olarak beslendi. Yapılan literatür incelemelerinde Klorprifos'un LD₅₀ dozunun 135 mg/kg olduğu ifade edildiğinden uygulama için LD₅₀ dozunun 1/25'i ve 1/10'u tercih edilmiştir (100, 216-219). Organofosfatların yağlarda, lipitlerde ve non-polar çözücülerde iyi çözünmesi (88) ve klorprifosun yağda çözdürülmesi dışında alternatif bir uygulama ile karşılaşılmasından dolayı deney hayvanlarına klorprifosun mısır yağında verildi (218-223). Çalışma, her grupta eşit sayıda (n=8) ve rastgele seçilen sıçanlarla toplam yedi gruptan oluşturuldu. (Şekil 3.1).

- a) **Kontrol Grubu:** Deney grupları ile aynı stres ortamını oluşturmak için 1ml/kg olacak şekilde musluk suyunun 6 haftalık deney süresi boyunca hafta içi her gün gavaj ile uygulandığı grup (Şekil 3.2)
- b) **Sham:** 1ml/kg olacak şekilde mısır yağının 6 haftalık deney süresi boyunca hafta içi her gün gavaj ile uygulandığı grup
- c) **Grup I:** 5,4 mg/kg (1/25 LD₅₀) Klorprifos-etil'in 1 ml/kg mısır yağında çözdürülerek 6 haftalık deney süresi boyunca hafta içi her gün gavaj ile uygulandığı grup (düşük doz klorprifos grubu, 5,4 CPF grubu)
- d) **Grup II:** 13,5 mg/kg (1/10 LD₅₀) Klorprifos-etil'in 1 ml/kg mısır yağında çözdürülerek 6 haftalık deney süresi boyunca hafta içi her gün gavaj ile uygulandığı grup (yüksek doz klorprifos grubu, 13,5 CPF grubu)
- e) **Grup III:** 3 mg/kg sodyum selenitin (Na₂SeO₃) 1ml/kg musluk suyunda çözdürülerek 6 haftalık deney süresi boyunca hafta içi her gün gavaj ile uygulandığı grup (Se grubu)
- f) **Grup IV:** 1ml/kg musluk suyunda çözdürülen 3 mg/kg sodyum selenit uygulanmasından 30 dakika sonra 1 ml/kg mısır yağında çözdürülen 5,4 mg/kg Klorprifos-etil'in 6 haftalık deney süresi boyunca hafta içi her gün gavaj ile uygulandığı grup (5,4 CPF+Se grubu)

g) **Grup V:** 1ml/kg musluk suyunda çözdürülen 3 mg/kg sodyum selenit uygulamasından 30 dakika sonra 1 ml/kg mısır yağında çözdürülen 13,5 mg/kg Klorprifos-etil'in 6 haftalık deney süresi boyunca hafta içi her gün gavaj ile uygulandığı grup (13,5 CPF+Se grubu)



Şekil 3.1: Deney planlamasının şematik gösterimi



Şekil 3.2: Sıçanlara gavaj uygulamaları

3.4. Örneklerin Toplanması

Deney süresi tamamlandıktan sonra ketamin hidroklorür (50 mg/kg) kullanılarak intramuskular yoldan anestezi edilen hayvanların kan örnekleri alındı (Şekil 3.3). Alınan kan örnekleri sarı kapaklı jelli ve EDTA'lı (Etilendiamintetraasetik asit) tüplere koyuldu. EDTA'lı tüplerdeki kanın 300 µl'si eritrosit ozmotik fragilite testi için tüpün içerisinde ayrıldıktan sonra, kalan kan hematolojik parametreler ve karaciğer fonksiyon testlerinin ölçümü için bekletilmeden kullanıldı. Sarı kapaklı jelli tüplerdeki kanlar ise koagülasyon için 10-20 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 2000-3000 rpm'de santrifuj edilerek serumlarına ayrıldı. Serum örneklerinin bir kısmı hematolojik parametrelerin analizi için vakit kaybetmeden kullanılırken; diğer kısmı ependorflara aktarılarak eser element ölçümü yapılmaya kadar -80°C' de muhafaza edildi. Sakrifiye edilen hayvanların karaciğer, böbrek ve beyin dokuları da ependorflara konularak MDA, GSH, GPx, AChE ve eser element ölçümleri için -80 °C'de muhafaza edildi.



Şekil 3.3: Anestezik madde uygulaması (a) ve kan alımı (b)

3.5. Örneklerin Ölçüme Hazır Hale Getirilmesi

3.5.1. Doku Homojenatı Hazırlama

Karaciğer, böbrek ve beyin dokularından alınan kesitler darası alınan cam tüplere konularak tartıldı ve ardından üzerlerine 1:10 (w/V) oranında potasyum klorür eklendi. +4°C’de homojenize edilen % 10’ luk doku homojenatları 3500 devirde 10 dakika satrifuj edilerek AChE, MDA, GSH ve GPx ölçümleri için gerekli süpernatantlar elde edilmiş oldu (Şekil 3.4).



Şekil 3.4: Doku homojenizasyonu

3.5.2. Doku Yaş Yakma

Darası alınmış dereceli ve ısıya dayanıklı cam tüplere konulan dokuların ağırlıkları hassas terazide tartılıp kaydedildi. Yaklaşık 0,5 gr ağırlığındaki dokuların üzerine 2,5 ml % 65’ lik HNO₃ (Nitrik asit) ilave edildi. Bir saat oda sıcaklığında bekletilen doku örnekleri daha sonra yaklaşık iki saat 100-120 °C sıcaklıktaki etüvde erimeye bırakıldı. Etüvden çıkarılan örnekler oda sıcaklığına ulaştığında üzerlerine

0,5ml % 65' lik HClO_4 (Perklorik asit) ilave edildi ve $150-180^\circ\text{C}$ sıcaklıktaki etüvde iki saat tutularak yaş yakma işlemi gerçekleştirildi. Etüvden çıkarılan örnekler soğuduktan sonra (Şekil 3.5) toplam hacim 10 ml olana kadar % 0,5'lik HNO_3 çözeltisi ile tamamlandı. Karışım vorteksenerek eser element ölçümüne hazır hale getirildi.



Şekil 3.5: Etüvlenen doku örnekleri

3.6. Yapılan Analizler

- Beckman Coulter LH780 ve Beckman Coulter DXH cihazlarında hemogram testi ile Roche Cobas c 702 modüler cihazında serumda biyokimyasal analizler yapıldı.
- Spektrofotometre cihazında (Shimadzu, UV-1800) eritrosit ozmotik fragilitesi ile karaciğer, böbrek ve beyin dokularına ait MDA ve GSH analizleri gerçekleştirildi.
- Eliza cihazında (Biotek, EL800) serum ve beyin AChE aktivitesi ile karaciğer, böbrek ve beyin dokularına ait GPx analizleri yapıldı.
- ICP-OES cihazında (ICAP 6000 Serisi, Thermo) serum, karaciğer, böbrek ve beyin dokularına ait selenyum, çinko, bakır, demir, kalsiyum konsantrasyonları analiz edildi.

3.6.1. Eritrosit Ozmotik Fragilitesi Tayini

Eritrositlerin ozmotik fragilitesi Suess yöntemi kullanılarak ölçüldü (224). Her bir kan örneği için 0,20'den başlayarak 0,72'ye kadar 0,04 aralıklarla toplam 14 adet cam tüpün üzerine içerikteki % NaCl (sodyum klorür) konsantrasyonunu gösteren rakamlar (0,2; 0,24...) yazıldı. pH'sı 7,4 olan bir çözelti elde etmek için pH'sı 7,2 olan

Na_3PO_4 (tri sodyum fosfat) çözeltisi ile % 1'lik NaCl çözeltisi $\text{Na}_3\text{PO}_4/\text{NaCl}$ oranı 1/10 olacak şekilde tamponlandı. % 0,2'lik NaCl çözeltisi hazırlamak için 2,0 ml tamponize edilmiş NaCl çözeltisi konulan ilk tüpün üzeri toplam hacmi 10 ml olacak şekilde distile su ile tamamlandı. Sonraki tüplerin her birine, bir öncekinden 0,4 ml daha fazla NaCl çözeltisi konuldu ve toplam hacim her seferinde 10 ml'ye distile su ile tamamlandı. Her bir 14'lük sete aynı deney hayvanına ait kandan $20\mu\text{l}$ konularak karıştırılan tüpler oda sıcaklığında 1 saat bekletildi. Tüpler 10 dakika süre ile 2000 devirde santrifüj edilerek hemolize uğramamış eritrositlerin çökmesi sağlandı. Her bir tüpteki süpernatant kuvarz küvetlere alındı. Süpernatantdaki hemoglobün konsantrasyonu distile su ile kalibrasyonu yapılan spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda ölçüldü (Şekil 3.6). Okunan değerlerden hemoliz ve hemolitik inkrement eğrileri ile minimal ve maksimum ozmotik direnç sınır değerleri elde edildi. Hemolitik inkrement eğrilerinin değerleri hesaplanırken her bir NaCl çözeltisindeki % hemoliz miktarı, bir sonraki hemoliz %'sinden çıkarıldı. Bu farklar çözeltiler içindeki gerçek hemoliz oranını belirledi. Hemolitik inkrement eğrisinin amplitüdündeki artma, azalan eritrosit direncini ve artan % hemoliz miktarını göstermektedir (163).



Şekil 3.6: Örneklerin hazırlanarak spektrofotometrede ölçülmesi

3.6.2. Asetilkolinesteraz (AChE) Aktivitesi Tayini

Serum ve beyin doku homojenatı örneklerinde AChE tayini Eliza yöntemi ile kit (SunRed Sıçan AChE Eliza Kiti) protokollerine uygun olarak yapıldı.

- Ölçümden önce tüm reaktifler 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
- 5 numaralı standart, $120\mu\text{l}$ standart solüsyonun, $120\mu\text{l}$ standart seyreltici ile karıştırılmasından elde edildi (80 ng/ml).

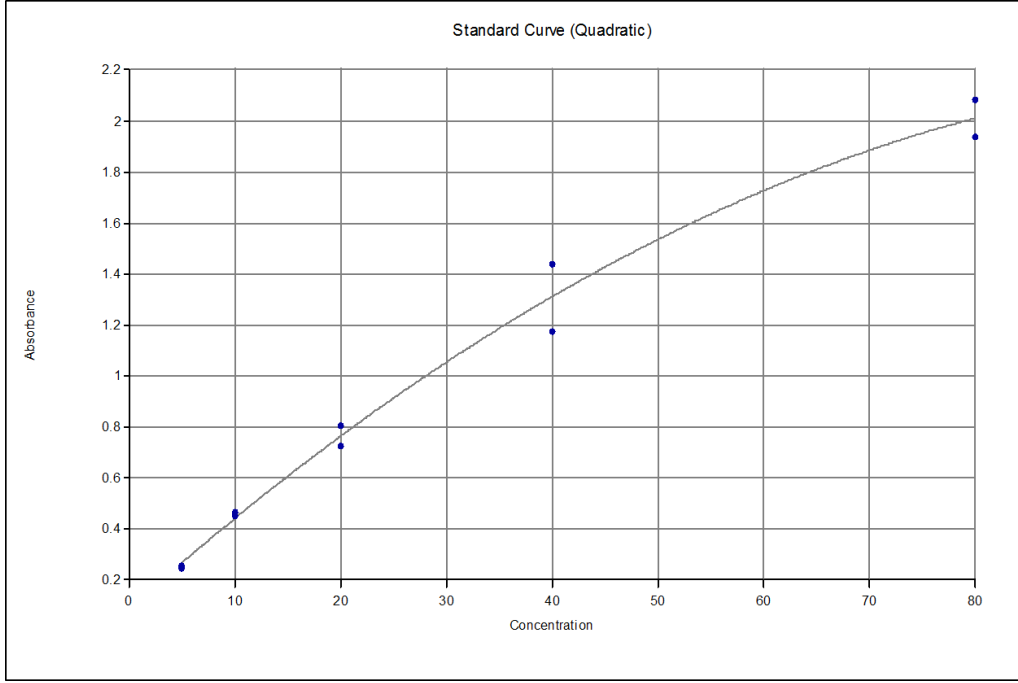
- Standart 4 için standart 5'ten 120 µl alınarak aynı hacimde (120 µl) standart seyreltici ile karıştırıldı (40 ng/ml). Diğer standartlar da aynı yol izlenerek hazırlandı (Tablo 3.1).

Tablo 3.1: AChE aktivitesi tayini için kullanılan standart solüsyonların hazırlanışı

80 ng/ml	Standart 5	120 µl Standart Solüsyon + 120 µl Standart Seyreltici
40 ng/ml	Standart 4	120 µl Standart 5 + 120 µl Standart Seyreltici
20 ng/ml	Standart 3	120 µl Standart 4 + 120 µl Standart Seyreltici
10 ng/ml	Standart 2	120 µl Standart 3 + 120 µl Standart Seyreltici
5 ng/ml	Standart 1	120 µl Standart 2 + 120 µl Standart Seyreltici

- Plate kuyucuklarının ilk ikisine blank, üçüncüden itibaren standartlar ve devamında ise ölçülecek örnekler koyuldu. Blank ve standartlar için çift kuyucuklu çalışma gerçekleştirildi.
- Blank kuyularına yalnızca Kromojen A ve B solüsyonu ile Stop solüsyon koyuldu.
- Standart kuyularına 50 µl standart, 50 µl Streptavidin-HRP koyuldu.
- Test kuyularına 40 µl örnek, 10 µl AChE-AB ve 50 µl Streptavidin-HRP koyuldu.
- Üzerine membran kapatılan mikroeliza kuyucukları hafifçe sallandırdıktan sonra 1 sa 37 °C'de inkübe edildi.
- İnkübasyon süresi tamamlandığında membran dikkatlice kaldırılarak CIOM Medikal CA-200 Eliza Yıkayıcı cihazında 5 kez yıkama işlemi gerçekleştirildi.
- Her bir kuyuya 50 µl Kromojen A ve 50 µl Kromojen B ilave edildikten sonra hafifçe karıştırılarak karanlık ortamda ve 37 °C'de 10 dakika inkübe edildi.
- İnkübasyondan sonra tüm kuyucuklara 50 µl Stop solüsyon koyularak reaksiyon durduruldu. Bu sırada mikroplate'nin mavi rengi hızlıca sarıya dönüştü.

- Blank değeri 0 kabul edildi ve BioTek EL800 Eliza Okuyucuda 450 nm dalga boyunda okuma yapılarak optik dansite (O.D.) değerleri kaydedildi.
- Standartların konsantrasyonlarına karşılık gelen O.D. değerleri ile çizilen grafikten (Şekil 3.7) örneklerin O.D. değerleri hesaplandı.
- Sonuçlar serumda ng/ml; beyin dokusunda ng/g_{doku} olarak ifade edildi.



Şekil 3.7: Serum ve beyin dokusuna ait AChE aktivitesi standart grafiği

3.6.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx) Aktivitesi Tayini

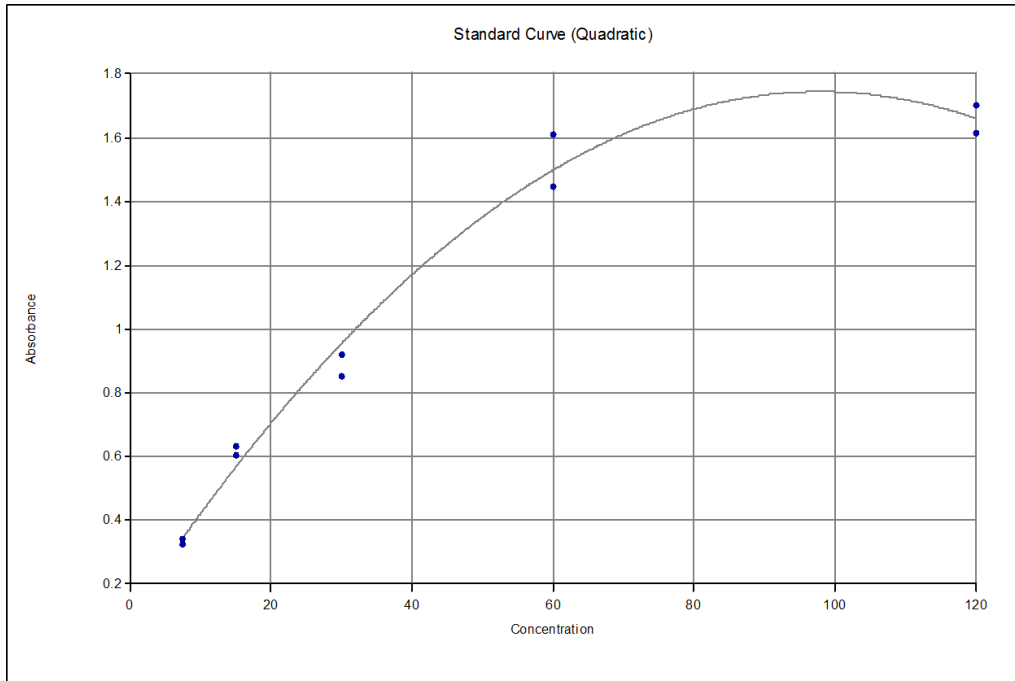
Karaciğer, böbrek ve beyin doku homojenatı örneklerinde GPx düzeyleri Eliza yöntemi ile kit (SunRed Sıçan GPx Eliza Kiti) protokollerine uygun olarak belirlendi.

- Ölçümden önce tüm reaktifler 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
- 5 numaralı standart 120 µl standart solüsyonun, 120 µl standart seyreltici ile karıştırılmasından elde edildi (120 ng/ml).
- Standart 4 (60 ng/ml) için standart 5'ten 120 µl alınarak 120 µl standart seyreltici ile karıştırıldı. Diğer standartlar da aynı yol izlenerek hazırlandı (Tablo 3.2).

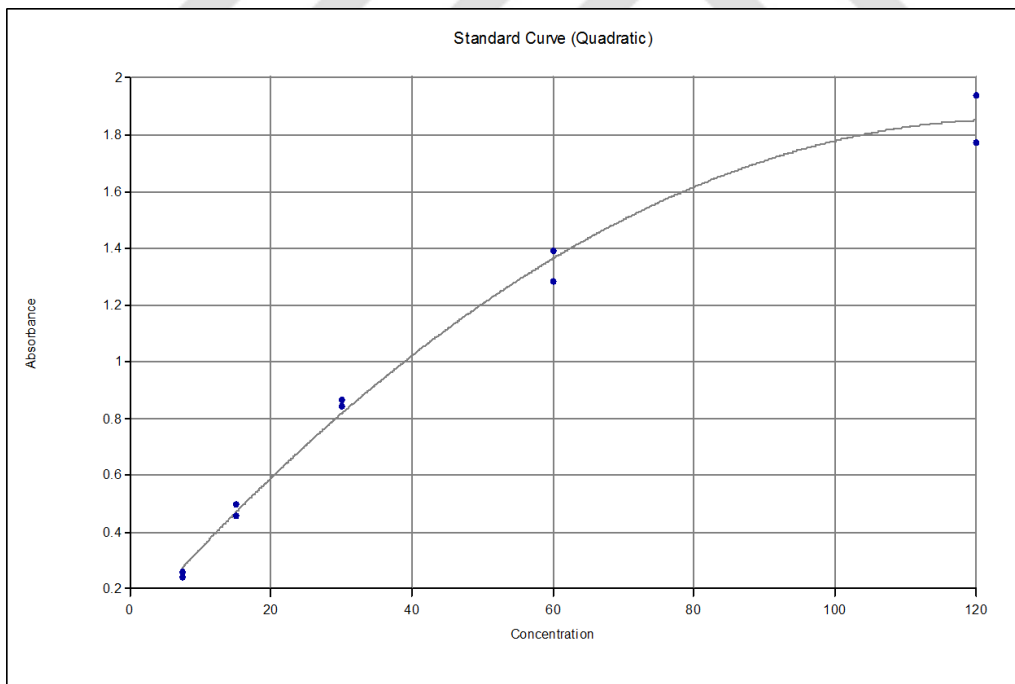
Tablo 3.2: GPx tayini için kullanılan standart solüsyonların hazırlanışı

120 ng/ml	Standart 5	120 µl Standart Solüsyon + 120 µl Standart Seyreltici
60 ng/ml	Standart 4	120 µl Standart 5 + 120 µl Standart Seyreltici
30 ng/ml	Standart 3	120 µl Standart 4 + 120 µl Standart Seyreltici
15 ng/ml	Standart 2	120 µl Standart 3 + 120 µl Standart Seyreltici
7,5 ng/ml	Standart 1	120 µl Standart 2 + 120 µl Standart Seyreltici

- Plate kuyucuklarının ilk ikisine blank, üçüncüden itibaren standartlar ve devamında ise ölçülecek örnekler koyuldu. Blank ve standartlar için çift kuyucuklu çalışma gerçekleştirildi.
- Blank kuyularına yalnızca Kromojen A ve B solüsyonu ile Stop solüsyon koyuldu.
- Standart kuyularına 50 µl standart, 50 µl Streptavidin-HRP koyuldu.
- Test kuyularına 40 µl örnek, 10 µl GPx-AB ve 50 µl Streptavidin-HRP koyuldu.
- Üzerine membran kapatılan mikroeliza kuyucukları hafifçe sallandırdıktan sonra 1 sa 37⁰C'de inkübe edildi.
- İnkübasyon süresi tamamlandığında membran dikkatlice kaldırılarak CIOM Medikal CA-200 Eliza Yıkayıcı cihazında 5 kez yıkama işlemi gerçekleştirildi.
- Her bir kuyuya 50 µl Kromojen A ve 50 µl Kromojen B ilave edildikten sonra hafifçe karıştırılarak karanlık ortamda ve 37⁰C'de 10 dakika inkübe edildi.
- İnkübasyondan sonra tüm kuyucuklara 50 µl Stop solüsyon koyularak reaksiyon durduruldu. Bu sırada mikroplate'nin mavi rengi hızlıca sarıya dönüştü.
- Blank değeri 0 kabul edildi ve BioTek EL800 Eliza Okuyucuda 450 nm dalga boyunda okuma yapılarak optik dansite (O.D.) değerleri kaydedildi.
- Standartların konsantrasyonlarına karşılık gelen O.D. değerleri ile çizilen grafiklerden (Şekil 3.8 ve Şekil 3.9) örneklerin O.D. değerleri hesaplandı ve sonuçlar ng/g_{doku} olarak ifade edildi.



Şekil 3.8: GPx standart grafiği-1



Şekil 3.9: GPx standart grafiği-2

3.6.4. Glutasyon (GSH) Aktivitesi Tayini

Karaciğer, böbrek ve beyin doku homojenatı örneklerinde GSH düzeyleri Beutler metoduna göre spektrofotometrik olarak belirlendi (225).

3.6.4.1. Kullanılan Reaktiflerin Hazırlanışı

- **Presipitasyon Çözeltisi:** 30 gr NaCl, 1,67 gr HPO₃ (fosforik asit) ve 0,2 gr EDTA distile suda çözdürülerek 100 ml'ye tamamlandı.
- **% 1'lik Sodyum Sitrata (NaNO₃) Çözeltisi:** 1 gr NaNO₃ toplam hacim 100 ml olacak şekilde distile suda çözdürüldü.
- **Ellman Reaktifi - DTNB (5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit)):** 40 mg DTNB % 1'lik NaNO₃ çözeltisinin 100 ml'sinde çözdürüldü.
- **Fosfat Çözeltisi:** 4,68 gr primer sodyum fosfat dibazik dihidrat (Na₂HPO₄.2H₂O) toplam hacim 100 ml olacak şekilde distile suda çözdürüldü.

3.6.4.2. Ölçümün Yapılışı

- Doku homojenatlarından 1 ml alınıp cam tüpler içerisine koyuldu.
- 1,5 ml presipitasyon çözeltisi tüplere eklendi ve karışım vortekslendi.
- Tüpler 5 dakika süresince 4000 g'de santrifüj edildi.
- Santrifüj sonucunda elde edilen süpernatantlardan 1 ml alınarak temiz cam tüpler içerisine koyuldu.
- Süpernatantların üzerine 4 ml sodyum fosfat çözeltisi ve 0,5 Ellman reaktifi DTNB eklenerek vortekslendi.
- Oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilen örnekler spektrofotometrede 412 nm dalgaboyunda okundu.
- Sonuçlar 'O.D. x 310,4 /2' formülü kullanılarak hesaplandı ve µmol/g_{doku} olarak ifade edildi.

3.6.5. Lipid Peroksidasyon (MDA) Aktivitesi Tayini

Karaciğer, böbrek ve beyin doku homojenatı örneklerinde lipid peroksidasyon düzeyleri peroksidasyonun son ürünü olan Malondialdehit'in (MDA) spektrofotometrik ölçüm yöntemiyle belirlendi (226).

3.6.5.1. Kullanılan Reaktiflerin Hazırlanışı

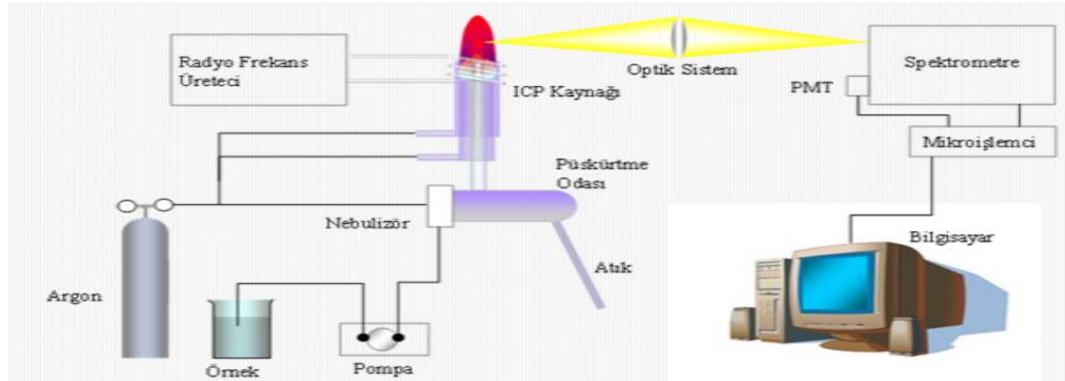
- **HCl (Hidroklorik asit):** % 37'lik 12 M derişik HCl çözeltisinden 41,666 ml alınarak distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.
- **TCA (Trikloroasetik asit):** % 100'luk TCA'dan 30 ml alınarak distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.
- **TBA (Tiyobarbitürik asit):** % 100'luk TBA'dan 0,75 gr alınarak distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

3.6.5.2. Ölçümün Yapılışı

- Isıya dayanıklı cam tüp içerisine 1ml TCA, 1,5 ml TBA ve 0,1 ml HCl koyuldu.
- Karışımı içeren tüpler vortekslendikten sonra 37 °C'ye ayarlanmış su banyosunda 15 dakika süresince inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında tüplere doku homojenatlarından 0,2 ml eklendi ve vortekslenerek 100 °C'de 15 dakika kaynatıldı.
- Oda sıcaklığına gelen örnekler 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatantlar spektrofotometrede 532 nm dalgaboyunda okundu.
- Sonuçlar 'O.D. / 1,56 x 140' formülü kullanılarak hesaplandı ve µmol/l olarak ifade edildi.

3.6.6. Eser Element Düzeyinin Tayini

Element ölçümleri İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı'nda bulunan ICP-OES (İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektroskopisi-ICAP 6000 Serisi-Thermo) cihazı ile gerçekleştirildi.



Şekil 3.10: ICP-OES cihazının şematik gösterimi

Yukarıda şematik görünümü verilen ICP-OES çok küçük konsantrasyonda, yüksek hassasiyette elementlerin tayininin yapılabildiği bir optik emisyon spektrometresidir (Şekil 3.10). Cihaz, sırası ile peristaltik pompa, nebulizer (sisleştirici), spray chamber (sis odası), transferline (transfer hattı), torch (plazmanın olduğu quartz oda), cone, optik aynalar, mono/polikromatör, dedektör ve bilgisayar sisteminden oluşur. Hızı ayarlanabilen bir çark düzeneğine sahip peristaltik pompa, iç hacmi küçük elastik boruları (tubing) sıkıştırarak vakum etkisi ile örneğin tubing boyunca ilerlemesini sağlayan çok sayıda mil içerir. İçerisinde organik veya sulu örneğin sisleştirilerek plazma alevine ulaşmasını sağlayan nebulizerin yer aldığı spray chamber bu işlem sırasında oluşan büyük tanecikleri yerçekiminin etkisiyle tutarken peristaltik pompaya bağlanan atık tubing seti sayesinde biriken taneciklerin dışarıya atılmasını sağlar. Transferline, sisleştirilen örneğin plazma bölümüne ulaştırıldığı yoldur. Plazma oluşumu esnasında yüksek miktardaki inert gazlar (argon) sebebiyle torchun yarattığı vakum, örneğin yerçekimini yenerek plazmaya ulaşmasını sağlar. Çevresinde manyetik bir alan yaratılan argon molekülleri nötrallerine (Ar), iyonlarına (Ar⁺) ve elektronlarına (e⁻) ayrışır. Radyo frekans (RF) jeneratöründen aldığı güç ile manyetik alan oluşturan coil sayesinde hızlandırılan elektronların nötral argon ve iyonlarla çarpıştırılması sonucunda oluşan yüksek sıcaklık nedeniyle birçok yüklü ve uyarılmış atom elde edilir. 10000 ⁰K sıcaklığındaki plazma merkezine enjekte edilen örnekteki elementlerin ayrışma, atomlaşma ve uyarılma işlemlerinin gerçekleşmesini sağlar. Plazmadan gelen

emisyon ışınını tek dalga boyunda ayıran prizma optiği monokramatör; aynı anda birçok dalga boyunda ayırım yapan sistem ise polikramatör olarak isimlendirilir. Yayılan ışığın şiddeti örnek içindeki elementlerin konsantrasyonu ile orantılıdır. Her bir element için yayılan ışık foton çoğaltıcı tüpler tarafından dedekte edilir. Dedektör elektromanyetik dalga formundaki enerji akışını ölçülebilir niceliklere çevirerek bilgisayara yüklenen yazılım sayesinde kayıt edilmesini sağlar (163).

Element analizi yapmak için Tablo 3.3’de belirtilen dalga boyları seçildi.

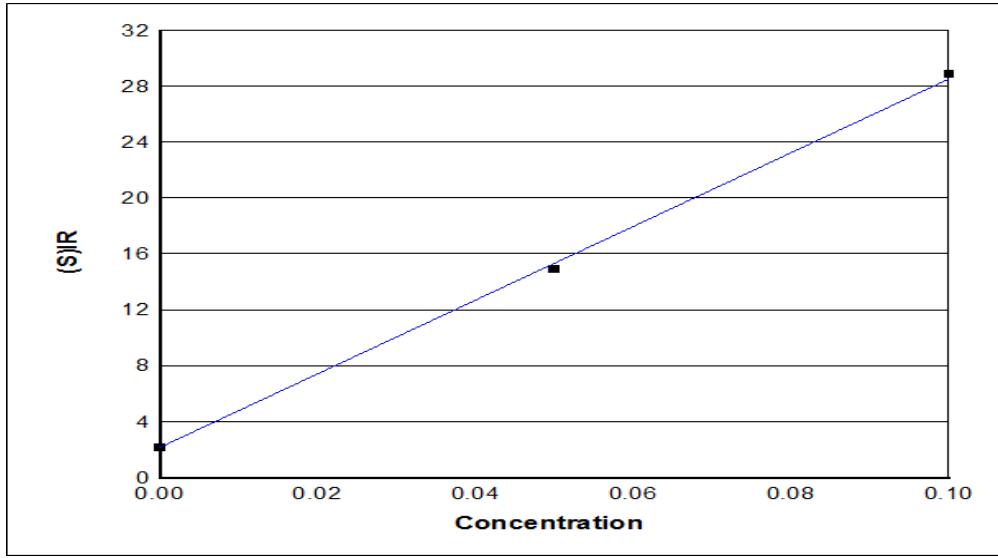
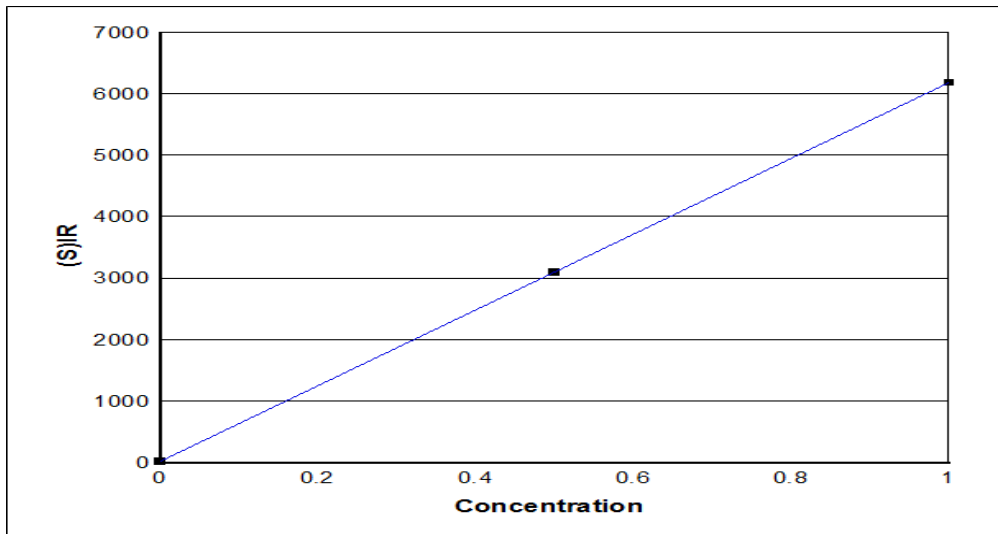
Tablo 3.3: ICP-OES ölçümünde seçilen dalga boyları

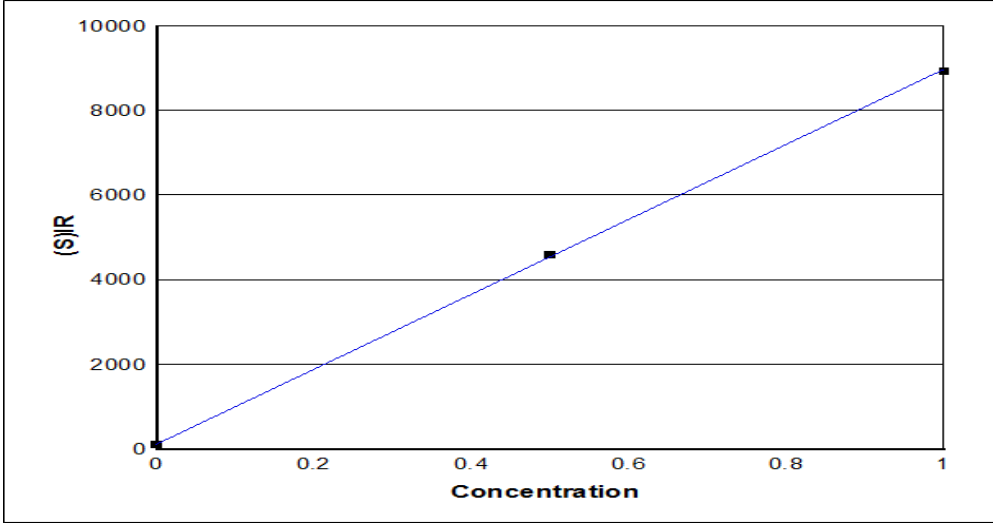
Element	Dalga boyu (nm)
Se	196,090
Zn	206,200
Cu	324,754
Fe	259,940
Ca	317,933

- ICP-OES cihazında ölçüme uygun database ve metot oluşturuldu.
- Cihazın kalibrasyonu için her bir elementin analitik saflıkta 1000 mg/L’lik stok solüsyonları ile % 0,3’lük HNO₃ belirli oranlarda karıştırılarak Tablo 3.4’de gösterilen konsantrasyonlarda standart çözeltiler hazırlandı.
- Hazırlanan standart çözeltilerin ve kör olarak kullanılan % 0,3’lük HNO₃’ün cihaza verilmesi ile her bir element için kalibrasyon grafiği çizildi (Şekil 3.11, 3.12, 3.13, 3.14, 3.15).
- Kalibrasyon grafiklerine ait korelasyon katsayıları minimum 0,999 (maksimum değer 1) değerinde bulunduğu cihazın ölçüme uygun olduğu kabul edilerek serum ve doku örneklerinin element tayinleri gerçekleştirildi.
- Ekranda çıkan sonuçlar sulandırma katsayısı ile çarpılarak (x 10) ppm cinsinden ifade edildi.

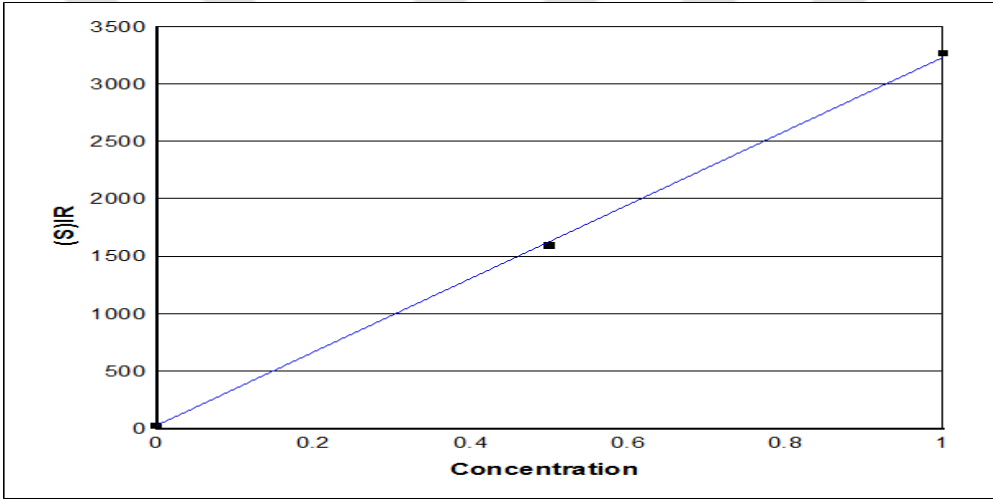
Tablo 3.4: Elementlere ait standart değerler

Element	Standart 1 (ppm)	Standart 2 (ppm)	Standart 3 (ppm)	Standart 4 (ppm)
Se	0,05	0,1		
Zn	0,5	1,0		
Cu	0,5	1,0		
Fe	0,5	1,0		
Ca	50	100	150	

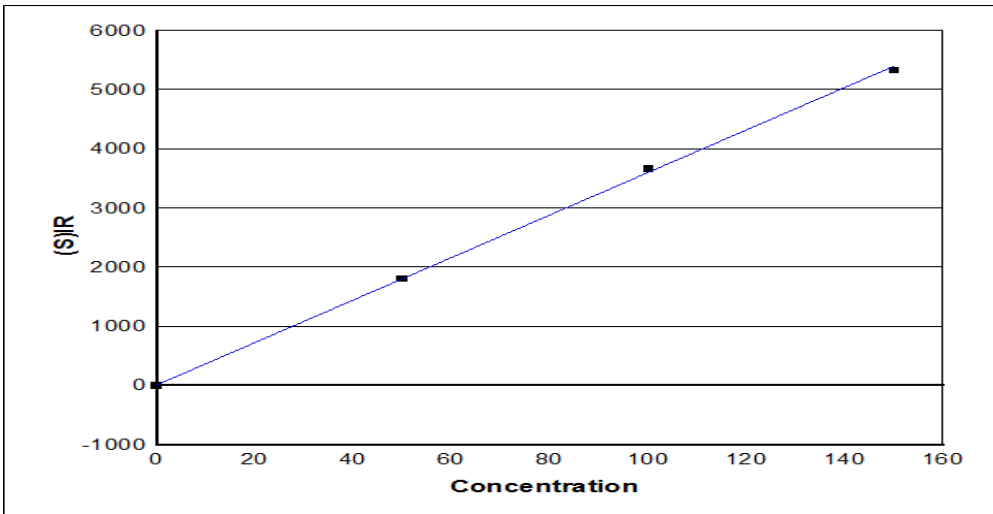
**Şekil 3.11:** Ölçüme ait selenyum kalibrasyon grafiği**Şekil 3.12:** Ölçüme ait çinko kalibrasyon grafiği



Şekil 3.13: Ölçüme ait bakır kalibrasyon grafiği



Şekil 3.14: Ölçüme ait demir kalibrasyon grafiği



Şekil 3.15: Ölçüme ait kalsiyum kalibrasyon grafiği

3.7. İstatistiksel Analiz

Tüm analizlerden elde edilen sonuçlar IBM SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) İstatistik 21 programı ile değerlendirildi. İstatistiksel karşılaştırma için gruplar arası dağılım analizi yapılarak, parametrik gruplara One-Way ANOVA; parametrik olmayan gruplara ise Dunn-Bonferroni düzeltmeli Mann-Withney U Testi uygulandı. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma ($M\pm SD$) olarak verildi ve anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak kabul edildi. Sonuçlar tablo ve grafik olarak gösterildi.



4. BULGULAR

Klorprifosun tek başına ve selenyum ile birlikte farklı dozlarda 6 haftalık deney süresince uygulanmasının ardından tüm gruplarda yapılan ölçümler istatistiksel olarak karşılaştırıldı. İstatistiksel değerlendirme sonuçları tablo ve grafik olarak gösterildi.

4.1. Sıçanların Vücut Ağırlıkları

Tablo 4.1: Sıçanların vücut ağırlıklarının ortalama (M) ve standart sapma (SD) değerleri (M±SD). (g)

	1.Hafta	2.Hafta	3.Hafta	4.Hafta	5.Hafta	6.Hafta
Kontrol	260,77±9,09	265,29±7,75	270,82±7,97	278,31±11,58	282,57±14,85	291,22±16,93
Sham	266,68±18,88	271,46±15,75	272,38±15,15	279,80±16,69	286,47±17,43	290,73±17,35
Grup I	259,69±8,24	256,47±8,74	259,18±11,33	261,32±13,82	272,33±15,40	280,57±22,55
Grup II	247,78±12,12	242,88±12,95	242,53±11,76	240,87±13,16	243,14±12,77	260,58±17,47
Grup III	244,43±11,15	240,08±9,31	242,14±9,22	248,46±9,67	247,03±13,22	257,95±14,09
Grup IV	247,52±17,40	245,46±15,91	246,49±17,55	249,72±20,82	253,88±21,50	253,75±17,28
Grup V	226,13±16,97	225,04±16,68	232,61±19,48	237,55±17,87	241,47±20,28	244,55±18,31

Kontrol grubu, Sham (mısır yağı), Grup I (5,4 mg/kg CPF), Grup II (13,5 mg/kg CPF), Grup III (3 mg/kg Se), Grup IV (5,4 mg/kg CPF+ Se), Grup V (13,5 mg/kg CPF+Se).

Deney süresince ölçülen tüm sıçan vücut ağırlıklarındaki değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

4.2. Hematolojik Bulgular

Eritrosit (RBC) değerinin gruplar arası karşılaştırılmasında, 13,5 CPF grubunun kontrol, sham ve Se gruplarına göre anlamlı olarak azaldığı ($p<0,05$) gözlenirken; diğer gruplar arası istatistiksel fark bulunmadı. 13,5 CPF grubuna ait hemoglobin (Hgb) değerinin kontrol, sham ($p<0,001$), Se ($p<0,01$) ve 5,4 CPF ($p<0,05$) gruplarına göre anlamlı olarak azaldığı saptandı. 13,5 CPF+Se grubu Hgb değeri ise 13,5 CPF grubuna kıyasla anlamlı olarak arttı ($p<0,05$). 13,5 CPF grubunun Hct değeri kontrol, sham ve Se gruplarına göre anlamlı olarak azalma ($p<0,05$) gösterirken; diğer gruplar arası istatistiksel fark saptanmadı. Lökosit (WBC) değerinin 13,5 CPF grubunda, kontrol, sham, Se (her biri için $p<0,001$) ve 5,4 CPF ($p<0,01$) gruplarına göre anlamlı olarak arttığı tespit edildi. 13,5 CPF+Se grubu WBC değeri ise 13,5 CPF grubuna kıyasla anlamlı olarak azaldı ($p<0,01$). Trombosit (Plt) değerinin gruplar arası karşılaştırılmasında, kontrol ve sham gruplarına kıyasla 13,5 CPF grubunun anlamlı arttığı gözlendi ($p<0,05$). Eritrosit dağılım genişliği (Rdw) değerinin istatistiksel analizinde ise kontrol grubuna kıyasla 13,5 CPF grubunda anlamlı artış görülürken ($p<0,05$); diğer gruplar arasında istatistiksel fark bulunmadı. Hematolojik parametrelerin istatistiksel değerlendirmesinde ortalama eritrosit hacmi (MCV), ortalama hemoglobin miktarı (MCH), eritrositlerdeki hemoglobin yoğunluğu (MCHC) ve ortalama trombosit hacmi (MPV) değerlerinde gruplar arası herhangi bir anlamlılık tespit edilmedi. (Tablo 4.2).

Tablo 4.2: Hematolojik parametrelerin ölçüm sonuçları-1'in ortalama (M) ve standart sapma (SD) değerleri (M±SD).

	RBC (10 ⁶ /μL)	Hgb (g/dL)	Hct (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	WBC (10 ³ /μL)	Plt (10 ³ /μL)	Rdw (%)	MPV (fL)
Kontrol	8,36±0,50	14,70±0,77	44,41±1,99	53,55±3,05	17,61±0,73	33,09±0,69	7,59±1,50	641,00±189,01	32,61±1,47	5,77±0,32
Sham	8,23±0,58	14,61±0,70	44,24±2,02	54,81±2,55	18,08±0,70	33,00±0,57	7,37±1,88	651,86±163,50	33,14±1,48	5,91±0,27
Grup I	7,84±0,60	14,11±0,99	43,26±2,30	54,73±1,41	18,03±0,71	32,94±0,52	9,80±1,55	853,13±127,36	35,36±1,32	6,40±0,83
Grup II	7,19±0,71 ^{a,c,i}	12,74±0,73 ^{b,d,e,j}	40,01±2,70 ^{a,c,i}	54,69±4,25	17,90±1,13	32,76±0,66	13,09±1,67 ^{b,d,f,k}	931,57±120,94 ^{a,c}	35,85±2,84 ^a	6,60±1,27
Grup III	8,33±0,59	14,62±0,88	44,96±2,08	53,44±2,14	17,16±0,74	32,12±0,51	7,48±1,35	715,00±137,23	33,20±1,65	6,80±1,39
Grup IV	8,01±0,61	14,24±0,86	43,91±3,31	54,20±3,34	17,66±0,86	32,60±0,82	7,67±1,75	747,71±149,35	34,63±1,36	6,62±1,28
Grup V	7,82±0,64	14,20±0,55 ^g	42,66±1,26	54,10±1,80	17,86±0,70	33,00±0,74	9,02±1,03 ^h	778,60±135,72	35,08±1,00	6,02±0,91

RBC: eritrosit; Hgb: hemoglobin; Hct: hematokrit; MCV: ortalama eritrosit hacmi; MCH: ortalama hemoglobin miktarı; MCHC: eritrositlerdeki hemoglobin yoğunluğu; WBC: lökosit; Plt: trombosit; Rdw: eritrositlerin dağılım genişliği; MPV: ortalama trombosit hacmi. Kontrol grubu, Sham (mısır yağı), Grup I (5,4 mg/kg CPF), Grup II (13,5 mg/kg CPF), Grup III (3 mg/kg Se), Grup IV (5,4 mg/kg CPF+ Se), Grup IV (13,5 mg/kg CPF+Se). ^ap<0,05 ve ^bp<0,001 kontrole kıyasla; ^cp<0,05 ve ^dp<0,001 Sham'e kıyasla; ^ep<0,05 ve ^fp<0,01 Grup I'e kıyasla; ^gp<0,05 ve ^hp<0,01 Grup II'ye kıyasla; ⁱp<0,05, ^jp<0,01 ve ^kp<0,001 Grup III'e kıyasla.

Albümin (ALB) değerinin kontrol grubuna kıyasla 5,4 CPF grubunda azaldığı gözlemlendi ($p<0,05$). 13,5 CPF grubuna ait ALB değerinin kontrol, sham, Se ($p<0,001$) ve 5,4 CPF gruplarına göre anlamlı azaldığı ($p<0,05$) tespit edildi. Klorprifosun selenyum ile birlikte uygulandığı gruplarla karşılaştırılmasında, 13,5 CPF+Se grubunun ALB değerinin, 13,5 CPF grubuna göre anlamlı artış gösterdiği saptandı ($p<0,01$). 5,4 CPF grubuna ait alkalen fosfataz (ALP) değerinin kontrol, Se (her biri için $p<0,05$) ve sham ($p<0,01$) gruplarına göre anlamlı olarak arttığı görüldü. Kontrol, sham ve Se gruplarına kıyasla ALP değerlerinin 13,5 CPF grubunda da anlamlı artışa sebep olduğu tespit edildi ($p<0,001$). Klorprifosla birlikte selenyum uygulanan 13,5 CPF+Se grubunun ALP değerinin 13,5 CPF grubuna göre anlamlı azaldığı saptandı ($p<0,05$). Alanin aminotransferaz (ALT) değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında, kontrol, sham ve Se gruplarına göre 5,4 CPF ve 13,5 CPF gruplarında anlamlı artış görüldü (sırasıyla; $p<0,05$ ve $p<0,001$). Klorprifos gruplarının birbirleriyle olan karşılaştırılmasında ise, 5,4 CPF grubuna göre 13,5 CPF grubu ALT değerinin anlamlı olarak arttığı tespit edildi ($p<0,01$). 5,4 CPF grubuna kıyasla 5,4 CPF+Se grubunda; 13,5 CPF ve Se gruplarına kıyasla ise 13,5 CPF+Se grubunda ALT değerinin anlamlı olarak azaldığı gözlemlendi ($p<0,05$). Kontrol, sham ve Se gruplarına göre aspartat aminotransferaz (AST) değeri 5,4 CPF ve 13,5 CPF gruplarında anlamlı artış gösterdi (sırasıyla; $p<0,05$ ve $p<0,001$). Klorprifosun selenyum ile birlikte uygulandığı gruplarla karşılaştırılmasında ise, 5,4 CPF grubuna kıyasla 5,4 CPF+Se grubunda ve 13,5 CPF grubuna kıyasla 13,5 CPF+Se grubunda AST değerinin anlamlı olarak azaldığı saptandı ($p<0,05$). Kontrol, sham ve Se gruplarına göre Tp değerleri 5,4 CPF ve 13,5 CPF gruplarında anlamlı azalma gösterdi (sırasıyla; $p<0,05$ ve $p<0,01$). Klorprifosun selenyum ile birlikte uygulandığı gruplarla karşılaştırılmasında ise, 5,4 CPF grubuna kıyasla 5,4 CPF+Se grubunda anlamlı artış saptanırken ($p<0,05$); yüksek doz uygulanan gruplarda istatistiksel fark bulunmadı. LDH değerinin gruplar arası karşılaştırılmasında istatistiksel fark yüksek doz CPF grubunda tespit edildi. Bulgularımıza göre, LDH değeri 13,5 CPF grubunda kontrol, sham, Se ve 5,4 CPF gruplarına kıyasla anlamlı olarak arttı ($p<0,01$). 13,5 CPF+Se grubuna ait LDH değeri 13,5 CPF grubuna göre anlamlı olarak azaldı ($p<0,01$). Total kolesterol ve Tg değerleri için yapılan istatistiksel analizde anlamlı fark saptanmadı. (Tablo 4.3).

Tablo 4.3: Hematolojik parametrelerin ölçüm sonuçları-2'nin ortalama (M) ve standart sapma (SD) değerleri (M±SD).

	ALB (g/dl)	ALP (U/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)	Tp (g/dl)	T.Kolesterol (mg/dl)	Tg (mg/dl)	LDH (U/L)
Kontrol	4,20±0,17	117,17±14,63	74,63±11,24	135,29±20,86	7,01±0,43	55,14±6,01	101,29±23,79	1190±247,96
Sham	4,16±0,21	114,17±22,97	74,25±11,67	135,50±23,88	7,00±0,39	55,14±7,10	102,50±20,95	1142,43±252,97
Grup I	3,84±0,24 ^a	157,88±26,28 ^{a,e,k}	97,00±10,38 ^{a,d,k}	176,25±23,31 ^{a,d,k}	6,39±0,35 ^{a,d,k}	47,33±6,12	98,75±17,18	1158,00±201,14
Grup II	3,48±0,17 ^{c,f,g,m}	184,63±17,23 ^{c,f,m}	122,25±16,35 ^{c,f,h,m}	194,00±21,99 ^{c,f,m}	6,23±0,31 ^{b,e,l}	44,20±5,40	96,00±16,34	1713,50±260,87 ^{b,e,h,l}
Grup III	4,11±0,20	120,40±07,44	73,00±11,96	136,57±20,44	7,02±0,31	50,00±7,42	103,00±21,69	1185,14±258,89
Grup IV	4,01±0,23	133,44±26,19	76,22±14,10 ^g	139,33±24,09 ^g	6,97±0,22 ^g	48,50±8,89	99,44±21,47	1139,56±296,74
Grup V	3,98±0,14 ^j	141,20±19,73 ^l	96,20±12,38 ^{l,k}	149,80±28,37 ^l	6,77±0,29	48,80±3,56	99,20±21,16	1124,50±281,60 ^j

ALB: albümin; ALP: alkalen fosfataz; ALT: alanin aminotransferaz; AST: aspartat aminotransferaz; TP: total protein; Tg: Trigliserid; LDH: laktat dehidrogenaz. Kontrol grubu, Sham (mısır yağı), Grup I (5,4 mg/kg CPF), Grup II (13,5 mg/kg CPF), Grup III (3 mg/kg Se), Grup IV (5,4 mg/kg CPF+ Se), Grup IV (13,5 mg/kg CPF+Se). ^ap<0,05, ^bp<0,01 ve ^cp<0,001 kontrole kıyasla; ^dp<0,05, ^ep<0,01 ve ^fp<0,001 Sham'e kıyasla; ^gp<0,05 ve ^hp<0,01 Grup I'e kıyasla; ⁱp<0,05 ve ^jp<0,01 Grup II'ye kıyasla; ^kp<0,05, ^lp<0,01 ve ^mp<0,001 Grup III'e kıyasla.

4.3. Ozmotik Frajilite Bulguları

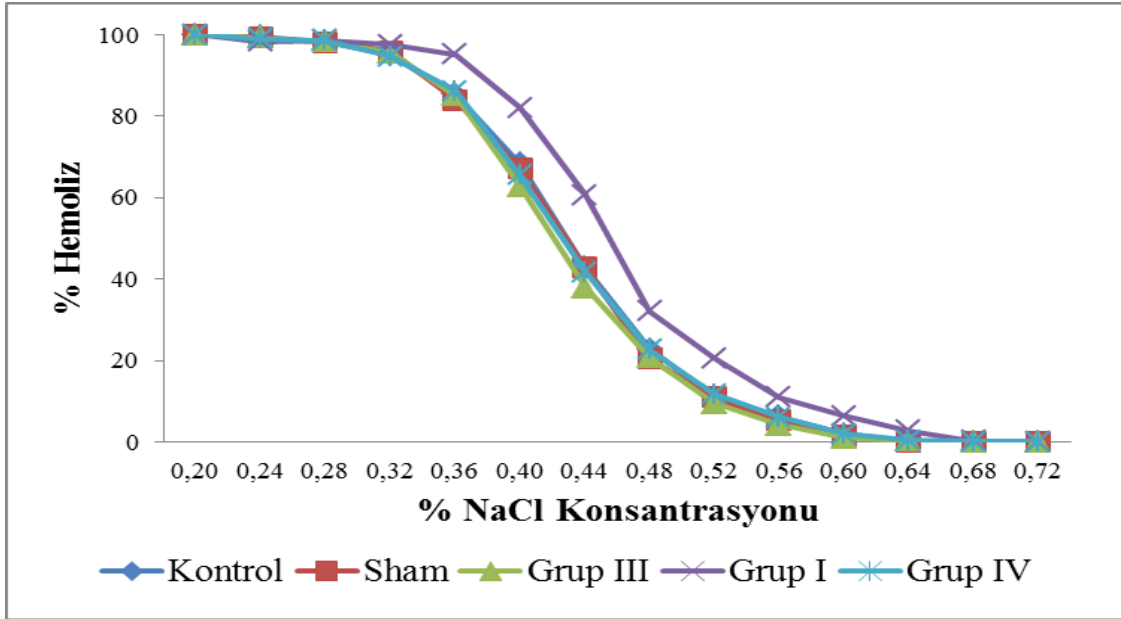
Ozmotik frajilite sonuçlarının istatistiksel analizinde 13,5 CPF grubunun maksimum ozmotik direncinin kontrol, sham grubu ve 13,5 CPF+Se grubuna göre arttığı saptandı ($p<0,05$). Se grubuna kıyasla 13,5 CPF grubunda maksimum ozmotik direnç anlamlı olarak artarken; minimum ozmotik direnç azaldı ($p<0,01$). % Hemoliz farkında gruplar arası değişiklikler görülse de istatistiksel fark 13,5 CPF grubu ile Se grubu arasında tespit edildi ($p<0,01$) (Tablo 4.4).

Tablo 4.4: Tüm grupların maksimum ve minimum ozmotik dirençleri ile % hemoliz farklarının ortalama (M) ve standart sapma (SD) değerleri (M±SD).

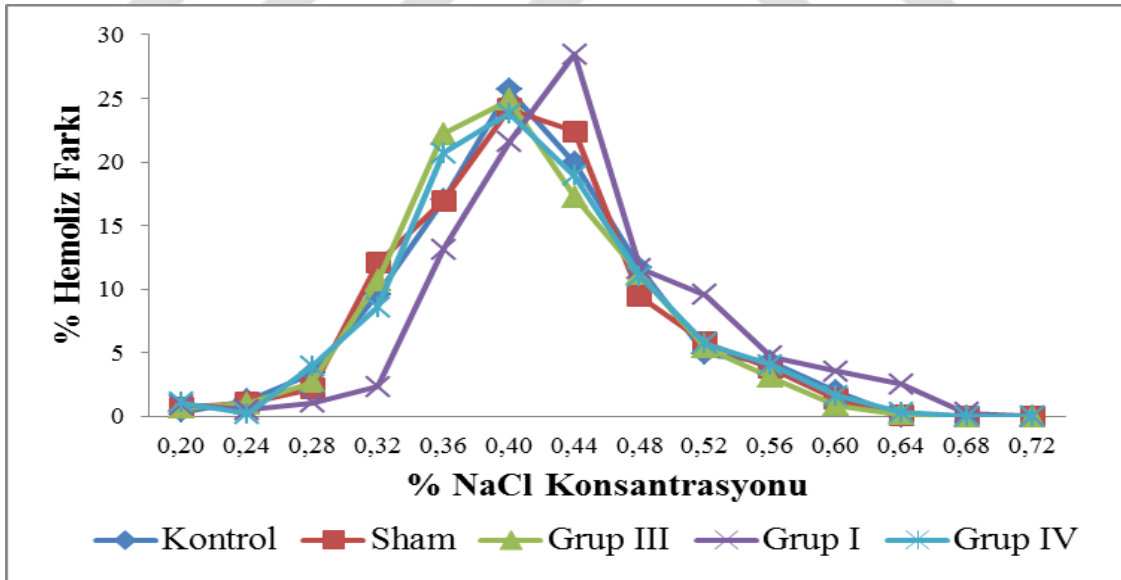
	Kontrol	Sham	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	Grup V
Max.O.D. (% NaCl)	0,35±0,02	0,35±0,02	0,37±0,02	0,42±0,02 ^{a,b,e}	0,34±0,02	0,35±0,02	0,35±0,02 ^c
Min. O.D. (% NaCl)	0,55±0,02	0,55±0,02	0,60±0,03	0,62±0,02 ^d	0,54±0,02	0,56±0,03	0,59±0,02
%Hemoliz Farkı	0,41±0,02	0,41±0,02	0,43±0,02	0,48±0,03 ^e	0,39±0,02	0,39±0,03	0,41±0,02

Max.O.D.: Maksimum ozmotik direnç; Min.O.D.: Minimum ozmotik direnç. Kontrol grubu, Sham (mısır yağı), Grup I (5,4 mg/kg CPF), Grup II (13,5 mg/kg CPF), Grup III (3 mg/kg Se), Grup IV (5,4 mg/kg CPF+ Se), Grup IV (13,5 mg/kg CPF+Se). ^a $p<0,05$ kontrole kıyasla; ^b $p<0,05$ Sham grubuna kıyasla; ^c $p<0,05$ Grup II'ye kıyasla; ^d $p<0,05$ ve ^e $p<0,01$ Grup III'e kıyasla.

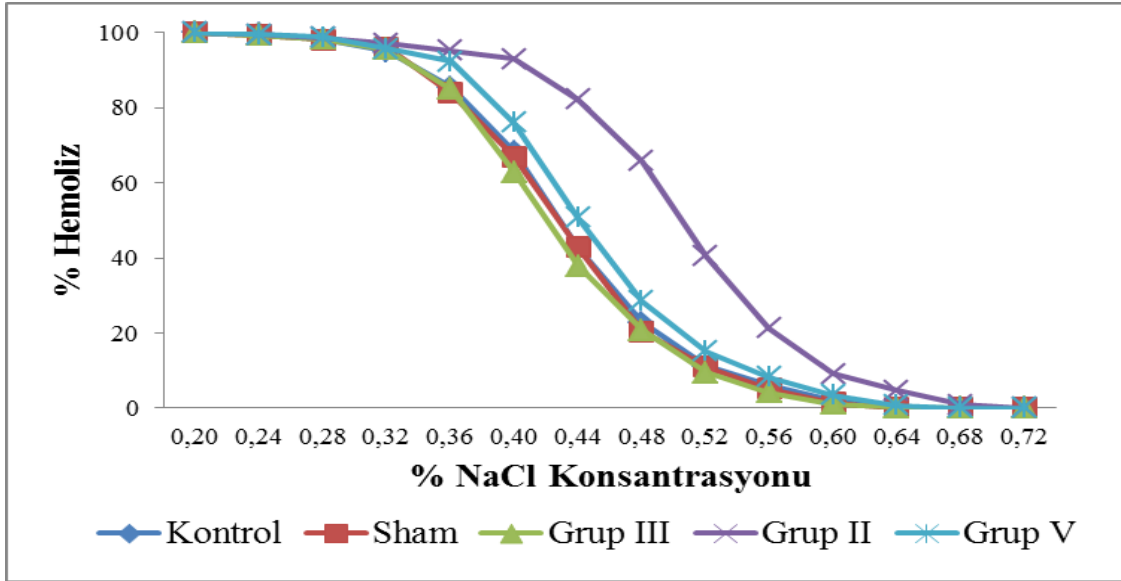
Standart hemoliz ve hemolitik inkrement eğrilerinin değişimi incelendiğinde 13,5 CPF grubu başta olmak üzere klorprifos uygulanan gruplarda eğrilerin diğer gruplara göre sağa kaydığı ve selenyum uygulamasıyla normale döndüğü görüldü. Maksimum ozmotik direnç sınırı olarak % hemolizin 90'a denk geldiği değer kabul edildi. (Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8).



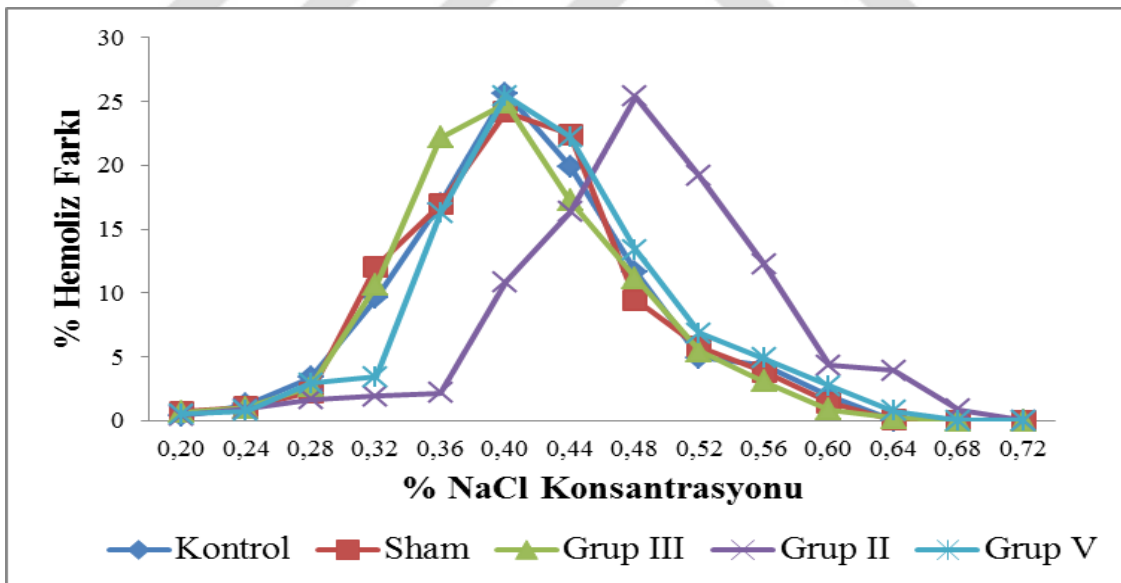
Şekil 4.1: Kontrol, sham grubu, Grup I, Grup III ve Grup IV'e ait standart hemoliz eğrisinin değişimi. Kontrol grubu, Sham (mısır yağı), Grup I (5,4 mg/kg CPF), Grup III (3 mg/kg Se), Grup IV (5,4 mg/kg CPF+ Se).



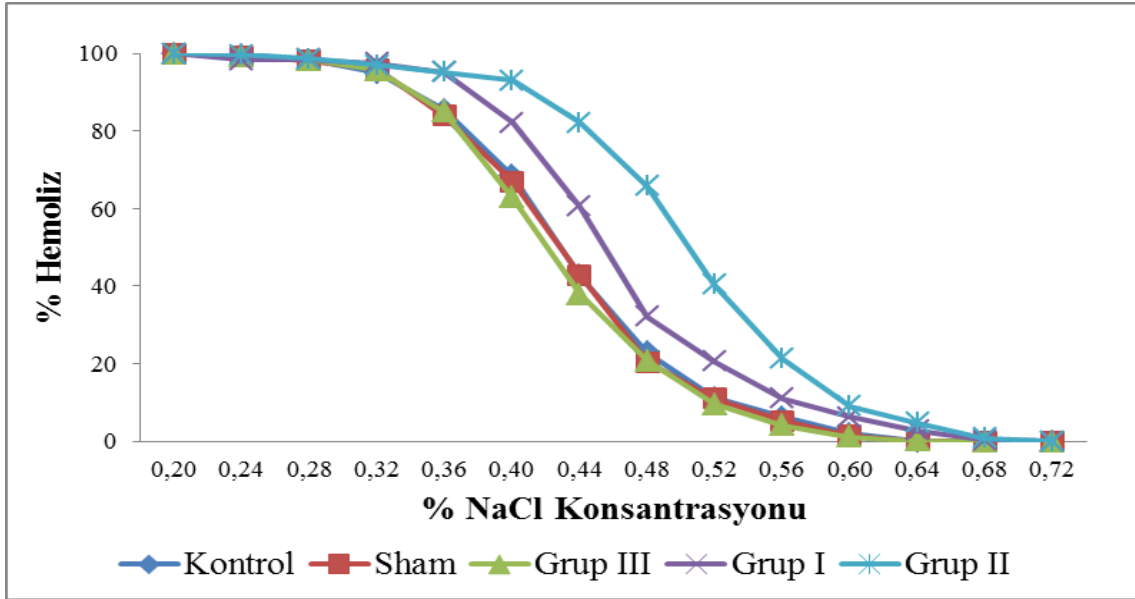
Şekil 4.2: Kontrol, sham grubu, Grup I, Grup III ve Grup IV'e ait hemolitik inkrement eğrisinin değişimi. Kontrol grubu, Sham (mısır yağı), Grup I (5,4 mg/kg CPF), Grup III (3 mg/kg Se), Grup IV (5,4 mg/kg CPF+ Se).



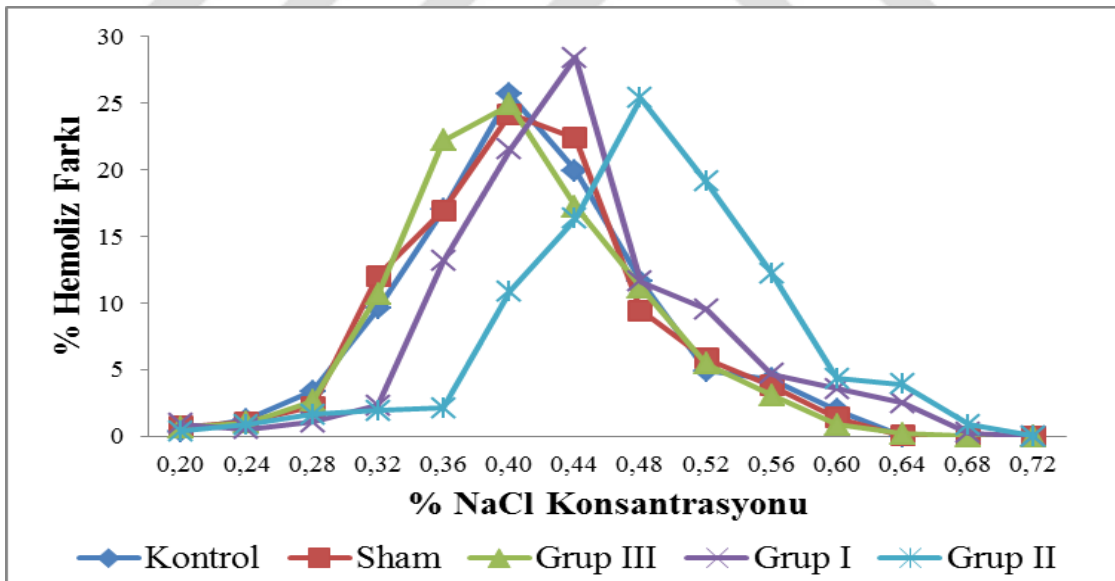
Şekil 4.3: Kontrol, sham grubu, Grup II, Grup III ve Grup V'e ait standart hemoliz eğrisinin değişimi. Kontrol grubu, Sham (mısır yağı), Grup II (13,5 mg/kg CPF), Grup III (3 mg/kg Se), Grup V (13,5 mg/kg CPF+ Se).



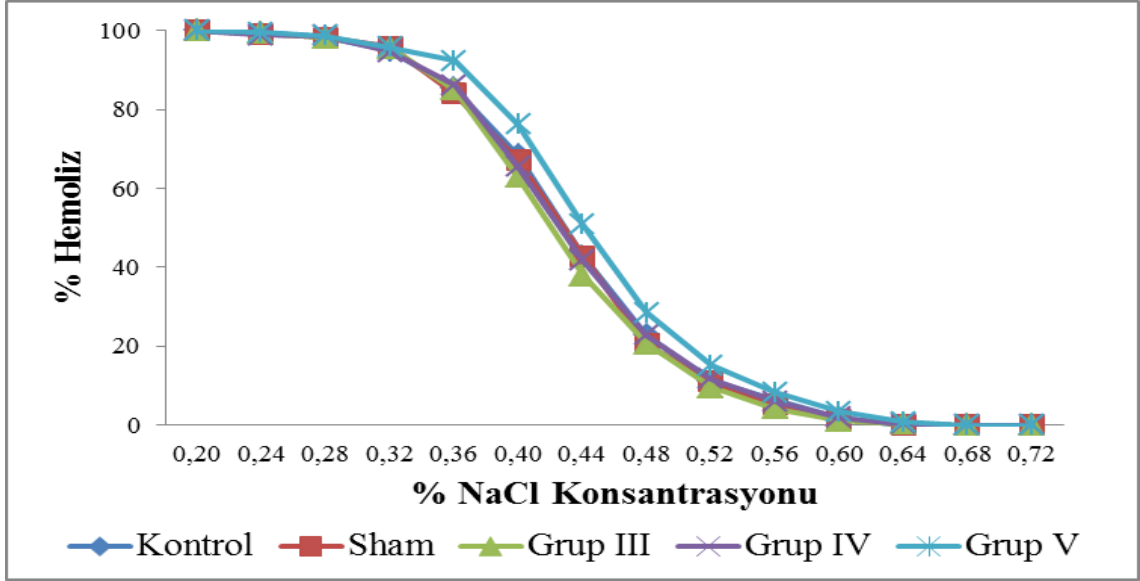
Şekil 4.4: Kontrol, sham grubu, Grup II, Grup III ve Grup V'e ait hemolitik inkrement eğrisinin değişimi. Kontrol grubu, Sham (mısır yağı), Grup II (13,5 mg/kg CPF), Grup III (3 mg/kg Se), Grup V (13,5 mg/kg CPF+ Se).



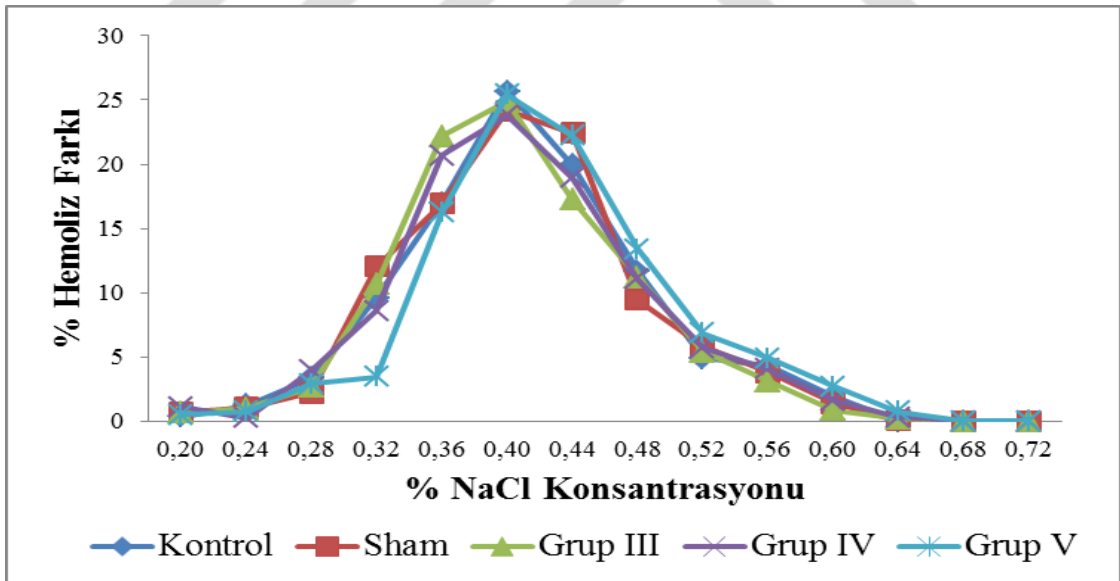
Şekil 4.5: Kontrol, sham grubu, Grup I, Grup II ve Grup III'e ait standart hemoliz eğrisinin değişimi. Kontrol grubu, Sham (mısır yağı), Grup I (5,4 mg/kg CPF), Grup II (13,5 mg/kg CPF+ Se), Grup III (3 mg/kg Se).



Şekil 4.6: Kontrol, sham grubu, Grup I, Grup II ve Grup III'e ait hemolitik inkrement eğrisinin değişimi. Kontrol grubu, Sham (mısır yağı), Grup I (5,4 mg/kg CPF), Grup II (13,5 mg/kg CPF+ Se), Grup III (3 mg/kg Se).



Şekil 4.7: Kontrol, sham grubu, Grup III, Grup IV ve Grup V'e ait standart hemoliz eğrisinin değişimi. Kontrol grubu, Sham (mısır yağı), Grup III (3 mg/kg Se), Grup IV (5,4 mg/kg CPF+ Se), Grup V (13,5 mg/kg CPF+ Se).



Şekil 4.8: Kontrol, sham grubu, Grup III, Grup IV ve Grup V'e ait hemolitik inkrement eğrisinin değişimi. Kontrol grubu, Sham (mısır yağı), Grup III (3 mg/kg Se), Grup IV (5,4 mg/kg CPF+ Se), Grup V (13,5 mg/kg CPF+ Se).

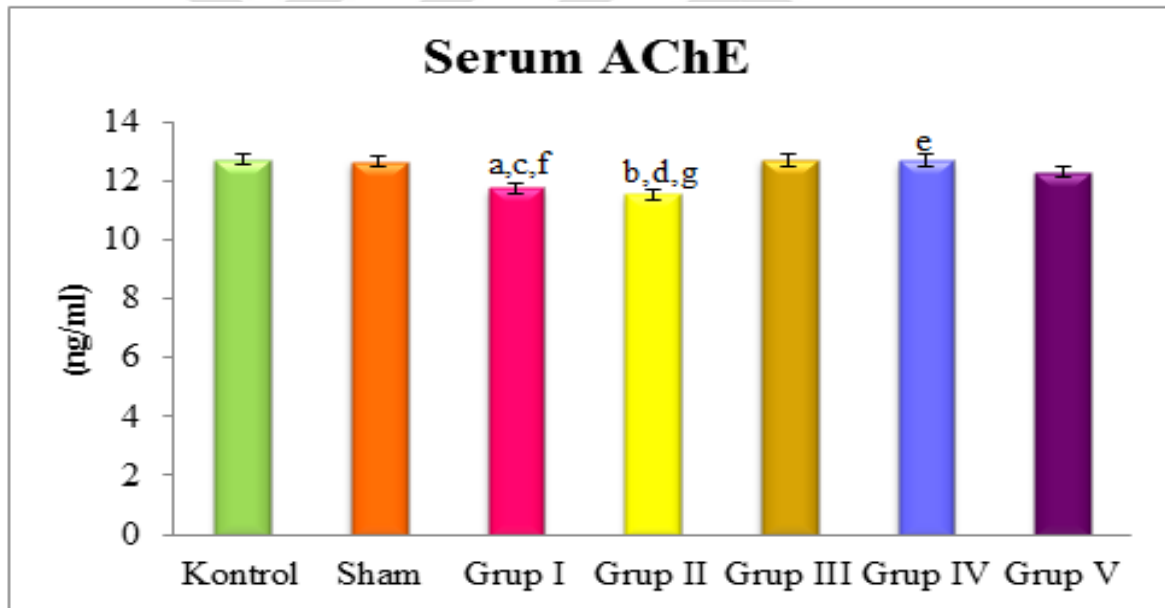
4.4. Asetilkolinesteraz (AChE) Aktivitesi Bulguları

4.4.1. Serum Asetilkolinesteraz (AChE) Aktivitesi Bulguları

Kontrol, sham ve Se gruplarına kıyasla serum AChE aktivitesinin 5,4 CPF ve 13,5 CPF gruplarında anlamlı olarak azaldığı tespit edildi (sırasıyla; $p<0,05$ ve $p<0,01$). Klorprifosun selenyum ile birlikte uygulandığı gruplarla karşılaştırılmasında ise, 5,4 CPF grubuna kıyasla 5,4 CPF+Se grubunda anlamlı artış saptanırken ($p<0,05$); yüksek doz uygulanan gruplarda istatistiksel fark bulunmadı. (Tablo 4.5 ve Şekil 4.9).

Tablo 4.5: Serum AChE aktivitesinin ortalama (M) ve standart sapma (SD) değerleri (M±SD). (ng/ml)

	Kontrol	Sham	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	Grup V
Serum AChE	12,72±0,42	12,65±0,48	11,74±0,44 ^{a,c,f}	11,53±0,49 ^{b,d,g}	12,70±0,52	12,69±0,48 ^e	12,30±0,55



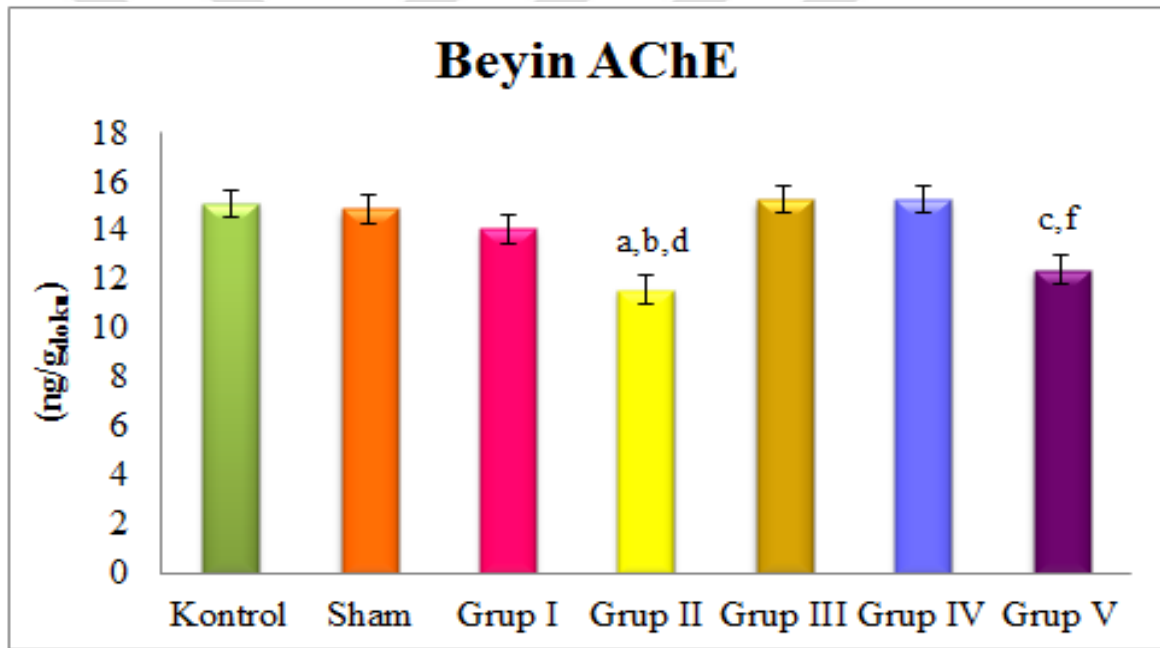
Şekil 4.9: Serum AChE aktivitesi. Kontrol grubu, Sham (mısır yağı), Grup I (5,4 mg/kg CPF), Grup II (13,5 mg/kg CPF), Grup III (3 mg/kg Se), Grup IV (5,4 mg/kg CPF+ Se), Grup IV (13,5 mg/kg CPF+Se). ^a $p<0,05$ ve ^b $p<0,01$ kontrole kıyasla; ^c $p<0,05$ ve ^d $p<0,01$ Sham'e kıyasla; ^e $p<0,05$ Grup I'e kıyasla; ^f $p<0,05$ ve ^g $p<0,01$ Grup III'e kıyasla.

4.4.2. Beyin Asetilkolinesteraz (AChE) Aktivitesi Bulguları

13,5 CPF grubu beyin AChE aktivitesi, kontrol, sham ve Se gruplarına kıyasla anlamlı olarak azaldı ($p<0,01$). 13,5 CPF+Se uygulanan grupta ise Se ve 5,4 CPF+Se gruplarına göre anlamlı azalma gözlemlendi ($p<0,05$). Klorprifosun düşük dozda uygulandığı grupta istatistiksel fark tespit edilmedi. (Tablo 4.6 ve Şekil 4.10).

Tablo 4.6: Beyin AChE aktivitesinin ortalama (M) ve standart sapma (SD) değerleri ($M\pm SD$). (ng/g_{doku}).

	Kontrol	Sham	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	Grup V
Beyin AChE	15,12±1,75	14,89±1,65	14,07±1,34	11,60±1,17 ^{a,b,d}	15,29±1,71	15,29±1,76	12,42±1,08 ^{c,f}



Şekil 4.10: Beyin AChE aktivitesi. Kontrol grubu, Sham (mısır yağı), Grup I (5,4 mg/kg CPF), Grup II (13,5 mg/kg CPF), Grup III (3 mg/kg Se), Grup IV (5,4 mg/kg CPF+ Se), Grup V (13,5 mg/kg CPF+Se). ^a $p<0,01$ kontrole kıyasla; ^b $p<0,01$ Sham'e kıyasla; ^c $p<0,05$ ve ^d $p<0,01$ Grup III'e kıyasla; ^f $p<0,05$ Grup IV'e kıyasla.

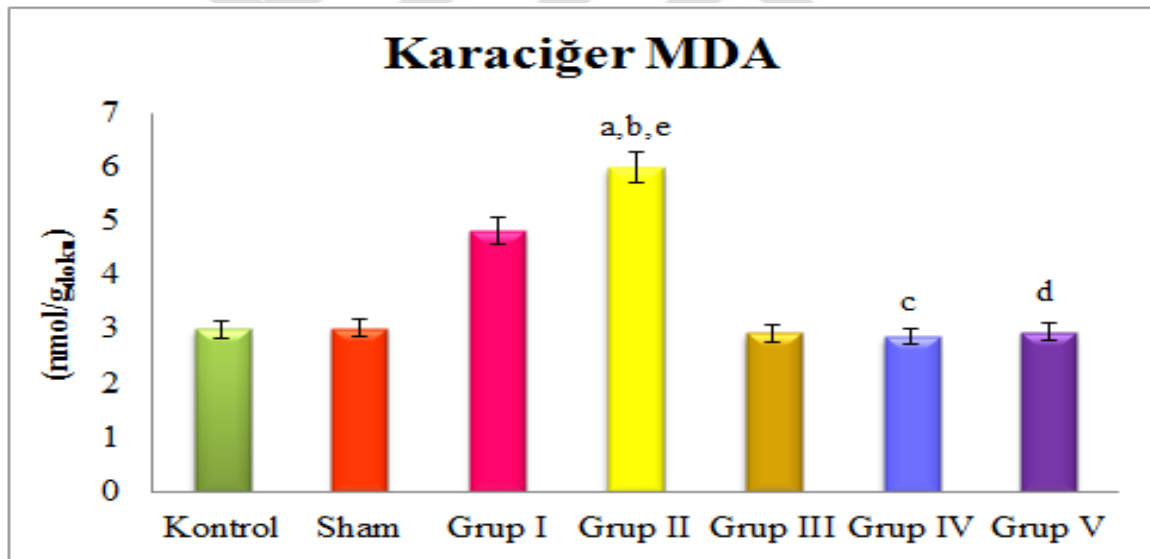
4.5. Lipid Peroksidasyon (MDA) Bulguları

4.5.1. Karaciğer Malondialdehit (MDA) Bulguları

13,5 CPF grubu MDA düzeylerinde kontrol, sham, Se gruplarına göre anlamlı artış saptandı ($p<0,01$). Klorprifosun selenyum ile birlikte uygulandığı gruplarla karşılaştırılmasında ise, 5,4 CPF grubuna kıyasla 5,4 CPF+Se grubunda ve 13,5 CPF grubuna kıyasla 13,5 CPF+Se grubunda anlamlı azalış görüldü ($p<0,05$). (Tablo 4.7 ve Şekil 4.11).

Tablo 4.7: Karaciğer Malondialdehit düzeylerinin ortalama (M) ve standart sapma (SD) değerleri (M±SD). (nmol/g_{doku}).

	Kontrol	Sham	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	Grup V
Karaciğer MDA	2,99±0,68	3,02±0,71	4,81±0,54	5,99±0,93 ^{a,b,e}	2,92±0,81	2,85±0,60 ^c	2,95±0,58 ^d



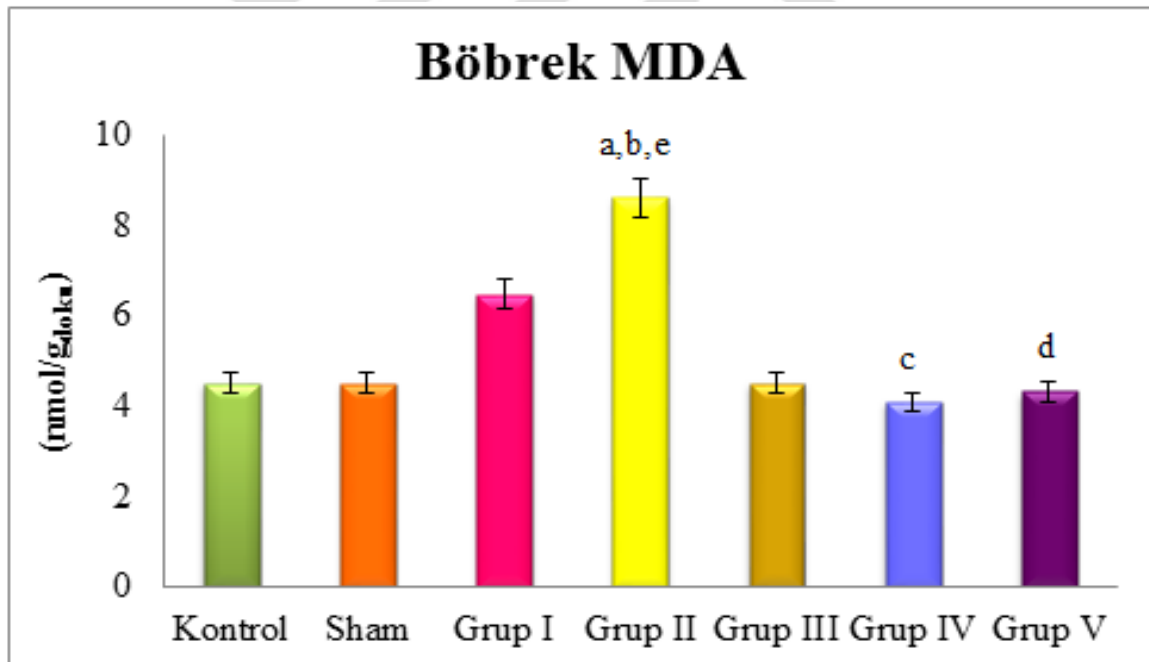
Şekil 4.11: Karaciğer MDA düzeyleri. Kontrol grubu, Sham (mısır yağı), Grup I (5,4 mg/kg CPF), Grup II (13,5 mg/kg CPF), Grup III (3 mg/kg Se), Grup IV (5,4 mg/kg CPF+ Se), Grup IV (13,5 mg/kg CPF+Se). ^a $p<0,01$ kontrole kıyasla; ^b $p<0,01$ Sham'e kıyasla; ^c $p<0,05$ Grup I'e kıyasla, ^d $p<0,05$ Grup II'ye kıyasla ve ^e $p<0,01$ Grup III'e kıyasla.

4.5.2. Böbrek MDA Bulguları

13,5 CPF grubuna ait böbrek MDA düzeyinin kontrol, sham ve Se gruplarına göre anlamlı olarak arttığı (sırasıyla; $p<0,01$, $p<0,01$ ve $p<0,05$) tespit edilirken; düşük dozda klorprifos uygulamasının kontrol gruplarıyla karşılaştırılmasında herhangi bir istatistiksel fark bulunmadı. Klorprifosun selenyum ile birlikte uygulandığı gruplarla karşılaştırılmasında ise, 5,4 CPF grubuna kıyasla 5,4 CPF+Se grubu ($p<0,05$) ve 13,5 CPF grubuna kıyasla 13,5 CPF+Se grubu anlamlı olarak azaldı ($p<0,01$). (Tablo 4.8 ve Şekil 4.12).

Tablo 4.8: Böbrek MDA düzeylerinin ortalama (M) ve standart sapma (SD) değerleri (M \pm SD). (nmol/g_{doku}).

	Kontrol	Sham	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	Grup V
Böbrek MDA	4,50 \pm 0,58	4,50 \pm 0,52	6,47 \pm 0,65	8,60 \pm 0,53 ^{a,b,e}	4,50 \pm 0,51	4,09 \pm 0,56 ^c	4,32 \pm 0,45 ^d



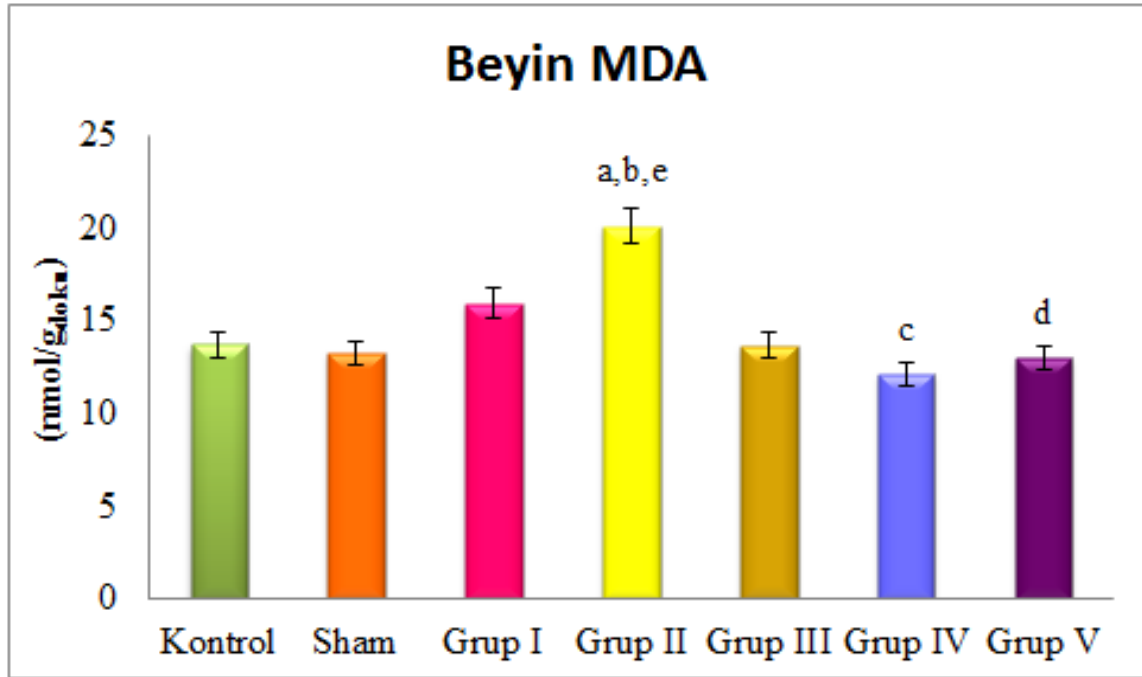
Şekil 4.12: Böbrek MDA düzeyleri. Kontrol grubu, Sham (mısır yağı), Grup I (5,4 mg/kg CPF), Grup II (13,5 mg/kg CPF), Grup III (3 mg/kg Se), Grup IV (5,4 mg/kg CPF+ Se), Grup IV (13,5 mg/kg CPF+Se). ^a $p<0,01$ kontrole kıyasla; ^b $p<0,01$ Sham'e kıyasla; ^c $p<0,05$ Grup I'e kıyasla, ^d $p<0,01$ Grup II'ye kıyasla ve ^e $p<0,05$ Grup III'e kıyasla.

4.5.3. Beyin MDA Bulguları

Beyin MDA düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılmasında, 13,5 CPF grubunun kontrol, Se (her biri için $p<0,05$) ve sham gruplarına göre ($p<0,01$) anlamlı olarak arttığı görülürken; düşük dozda klorprifos uygulamasının kontrol gruplarıyla karşılaştırılmasında istatistiksel bir fark saptanmadı. Klorprifosun selenyum ile birlikte uygulandığı gruplarla karşılaştırılmasında ise, 5,4 CPF grubuna kıyasla 5,4 CPF+Se grubunda ($p<0,05$) ve 13,5 CPF grubuna kıyasla 13,5 CPF+Se grubunda anlamlı azalma ($p<0,01$) gözlemlendi. (Tablo 4.9 ve Şekil 4.13).

Tablo 4.9: Beyin MDA düzeylerinin ortalama (M) ve standart sapma (SD) değerleri (M \pm SD). (nmol/g_{doku}).

	Kontrol	Sham	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	Grup V
Beyin MDA	13,69 \pm 2,15	13,25 \pm 2,74	15,94 \pm 1,04	20,10 \pm 1,01 ^{a,b,e}	13,65 \pm 1,47	12,13 \pm 1,24 ^c	13,01 \pm 1,68 ^d



Şekil 4.13: Beyin MDA düzeyleri. Kontrol grubu, Sham (mısır yağı), Grup I (5,4 mg/kg CPF), Grup II (13,5 mg/kg CPF), Grup III (3 mg/kg Se), Grup IV (5,4 mg/kg CPF+ Se), Grup V (13,5 mg/kg CPF+Se). ^a $p<0,05$ kontrole kıyasla; ^b $p<0,01$ Sham'e kıyasla; ^c $p<0,05$ Grup I'e kıyasla, ^d $p<0,05$ Grup II'ye kıyasla ve ^e $p<0,05$ Grup III'e kıyasla.

4.6. Antioksidan Enzim Bulguları

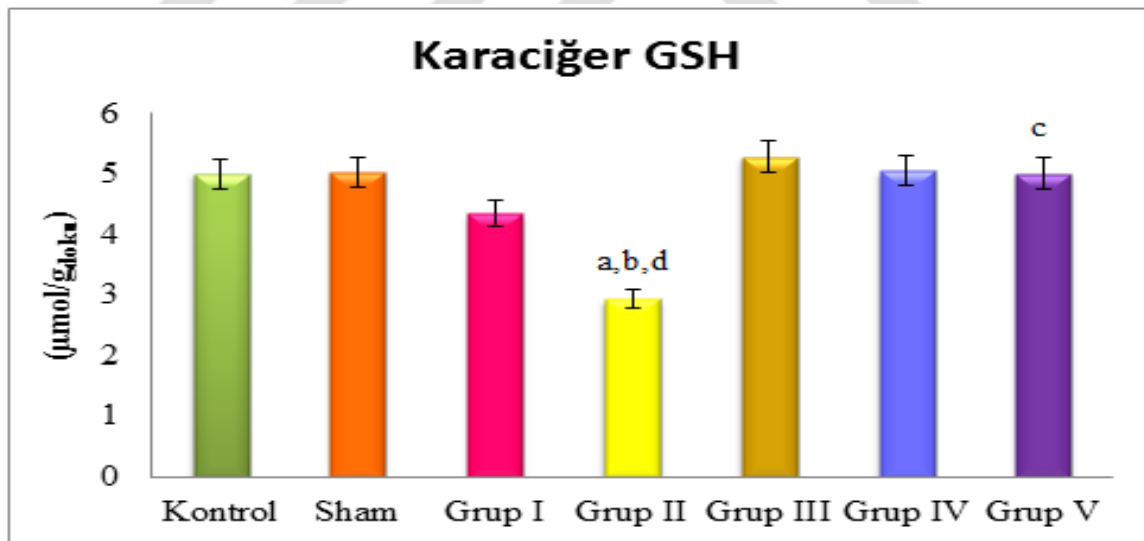
4.6.1. Glutasyon (GSH) Bulguları

4.6.1.1. Karaciğer GSH Bulguları

13,5 CPF grubunun karaciğer GSH düzeyinin, kontrol, sham (her biri için $p<0,05$) ve Se gruplarına göre ($p<0,01$) anlamlı olarak arttığı görüldü. Karaciğer GSH düzeyinin klorprifosun selenyum ile birlikte uygulandığı gruplarla karşılaştırılmasında, 13,5 CPF grubuna kıyasla 13,5 CPF+Se grubunda anlamlı azaldığı ($p<0,05$) tespit edildi. Düşük doz klorprifos uygulanan grupların diğer gruplarla karşılaştırılmasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanmadı. (Tablo 4.10 ve Şekil 4.14).

Tablo 4.10: Karaciğer GSH düzeylerinin ortalama (M) ve standart sapma (SD) değerleri (M±SD). ($\mu\text{mol/g}_{\text{doku}}$).

	Kontrol	Sham	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	Grup V
Karaciğer GSH	5,00±1,14	5,03±1,25	4,34±1,04	2,93±1,18 ^{a,b,d}	5,28±1,42	5,05±1,02	5,01±0,90 ^c



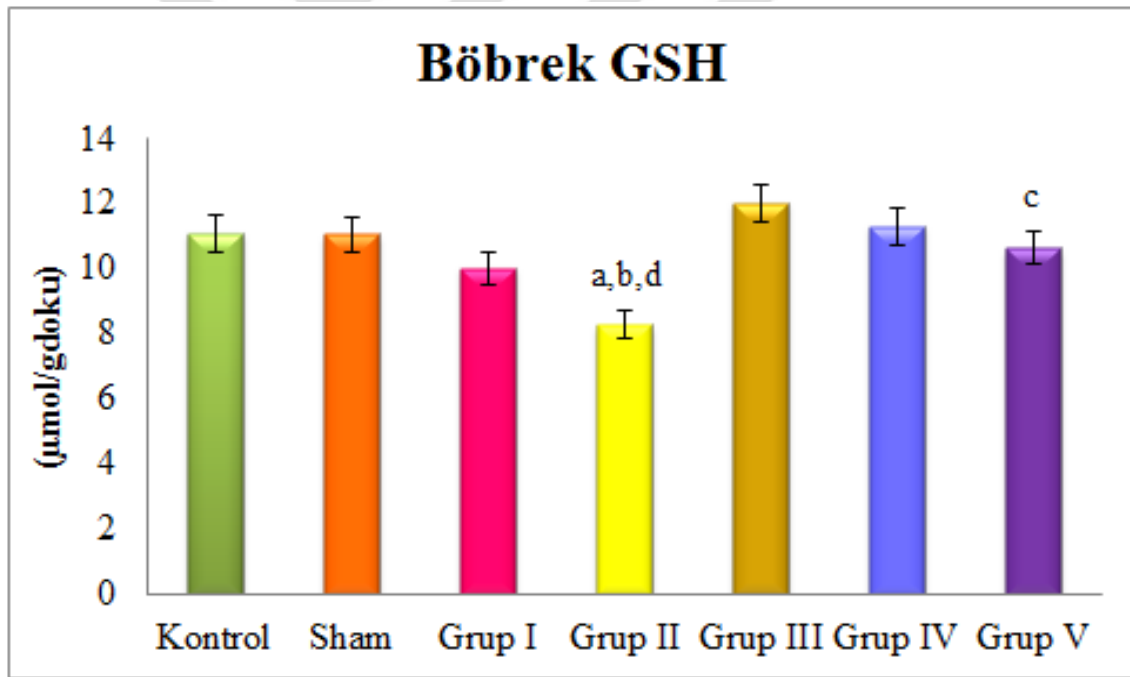
Şekil 4.14. Karaciğer GSH düzeyleri. Kontrol grubu, Sham (mısır yağı), Grup I (5,4 mg/kg CPF), Grup II (13,5 mg/kg CPF), Grup III (3 mg/kg Se), Grup IV (5,4 mg/kg CPF+ Se), Grup V (13,5 mg/kg CPF+Se). ^a $p<0,05$ kontrole kıyasla; ^b $p<0,05$ Sham'e kıyasla; ^c $p<0,05$ Grup II'ye kıyasla, ^d $p<0,01$ Grup III'e kıyasla.

4.6.1.2. Böbrek GSH Bulguları

13,5 CPF grubunun böbrek GSH düzeyinin, kontrol, sham (her biri için $p<0,01$) ve Se ($p<0,001$) gruplarına göre anlamlı olarak arttığı tespit edildi. Böbrek GSH düzeyinin klorprifosun selenyum ile birlikte uygulandığı gruplarla karşılaştırılmasında, 13,5 CPF grubuna kıyasla 13,5 CPF+Se grubunda anlamlı azaldığı ($p<0,05$) saptandı. Düşük doz klorprifos uygulanan grupların diğer gruplarla karşılaştırılmasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadı. (Tablo 4.11 ve Şekil 4.15).

Tablo 4.11: Böbrek GSH düzeylerinin ortalama (M) ve standart sapma (SD) değerleri (M \pm SD). ($\mu\text{mol/gdoku}$).

	Kontrol	Sham	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	Grup V
Böbrek GSH	11,10 \pm 1,10	11,06 \pm 1,04	10,03 \pm 0,74	8,28 \pm 1,14 ^{a,b,d}	12,02 \pm 0,88	11,31 \pm 1,84	10,65 \pm 1,69 ^c



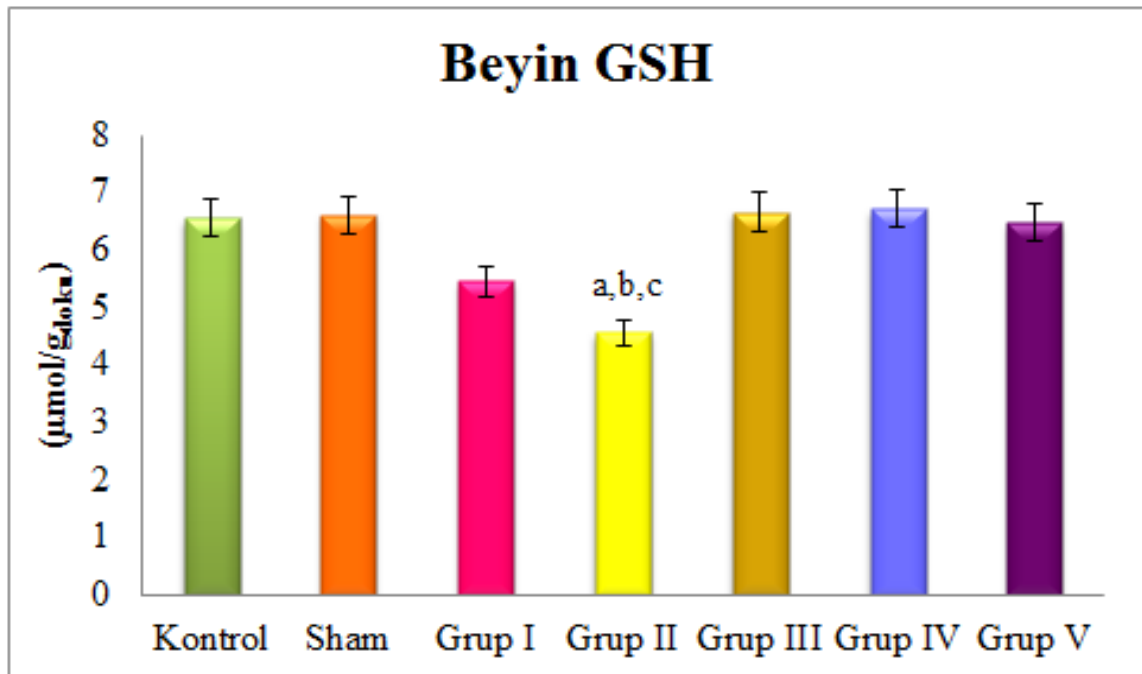
Şekil 4.15: Böbrek GSH düzeyleri. Kontrol grubu, Sham (mısır yağı), Grup I (5,4 mg/kg CPF), Grup II (13,5 mg/kg CPF), Grup III (3 mg/kg Se), Grup IV (5,4 mg/kg CPF+ Se), Grup V (13,5 mg/kg CPF+Se). ^a $p<0,01$ kontrole kıyasla; ^b $p<0,01$ Sham'e kıyasla; ^c $p<0,05$ Grup II'ye kıyasla, ^d $p<0,001$ Grup III'e kıyasla.

4.6.1.3. Beyin GSH Bulguları

Beyin GSH düzeyi yalnızca 13,5 CPF grubunda kontrol, sham ve Se gruplarına göre anlamlı olarak azaldı ($p < 0,05$). Diğer gruplar arasında herhangi bir istatistiksel fark saptanmadı. (Tablo 4.12 ve Şekil 4.16).

Tablo 4.12: Beyin GSH düzeylerinin ortalama (M) ve standart sapma (SD) değerleri ($M \pm SD$). ($\mu\text{mol/g}_{\text{doku}}$).

	Kontrol	Sham	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	Grup V
Beyin GSH	6,55 \pm 1,26	6,61 \pm 0,82	5,45 \pm 1,01	4,56 \pm 1,19 ^{a,b,c}	6,66 \pm 1,32	6,72 \pm 1,15	6,48 \pm 1,04



Şekil 4.16: Beyin GSH düzeyleri. Kontrol grubu, Sham (mısır yağı), Grup I (5,4 mg/kg CPF), Grup II (13,5 mg/kg CPF), Grup III (3 mg/kg Se), Grup IV (5,4 mg/kg CPF+ Se), Grup V (13,5 mg/kg CPF+Se). ^a $p < 0,05$ kontrole kıyasla; ^b $p < 0,05$ Sham'e kıyasla; ^c $p < 0,05$ Grup III'e kıyasla.

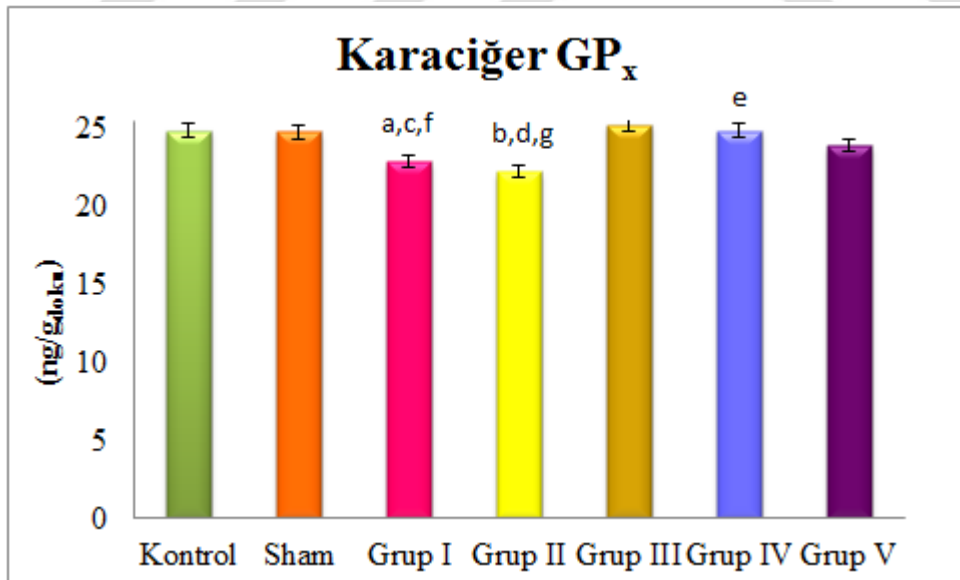
4.6.2. Glutasyon Peroksidaz (GPx) Bulguları

4.6.2.1. Karaciğer GPx Bulguları

Düşük doz klorprifos uygulanan grubun karaciğer GPx düzeyleri kontrol, sham ve Se gruplarına göre anlamlı olarak azaldı ($p<0,05$). Yüksek doz klorprifos uygulanan grubun karaciğer GPx düzeylerinin de kontrol, sham (her biri için $p<0,01$) ve Se ($p<0,001$) gruplarına göre anlamlı olarak azaldığı görüldü. Klorprifosun selenyum ile birlikte uygulandığı gruplarla karşılaştırılmasında, 5,4 CPF+Se grubuna ait karaciğer GPx düzeyinin 5,4 CPF grubuna kıyasla anlamlı olarak arttığı ($p<0,05$) saptandı. (Tablo 4.13 ve Şekil 4.17).

Tablo 4.13: Karaciğer GPx düzeylerinin ortalama (M) ve standart sapma (SD) değerleri (M±SD). (ng/gdoku).

	Kontrol	Sham	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	Grup V
Karaciğer GPx	24,88±1,19	24,81±1,18	22,91±1,16 ^{a,c,f}	22,28±1,26 ^{b,d,g}	25,26±1,38	24,91±1,23 ^e	23,94±1,28



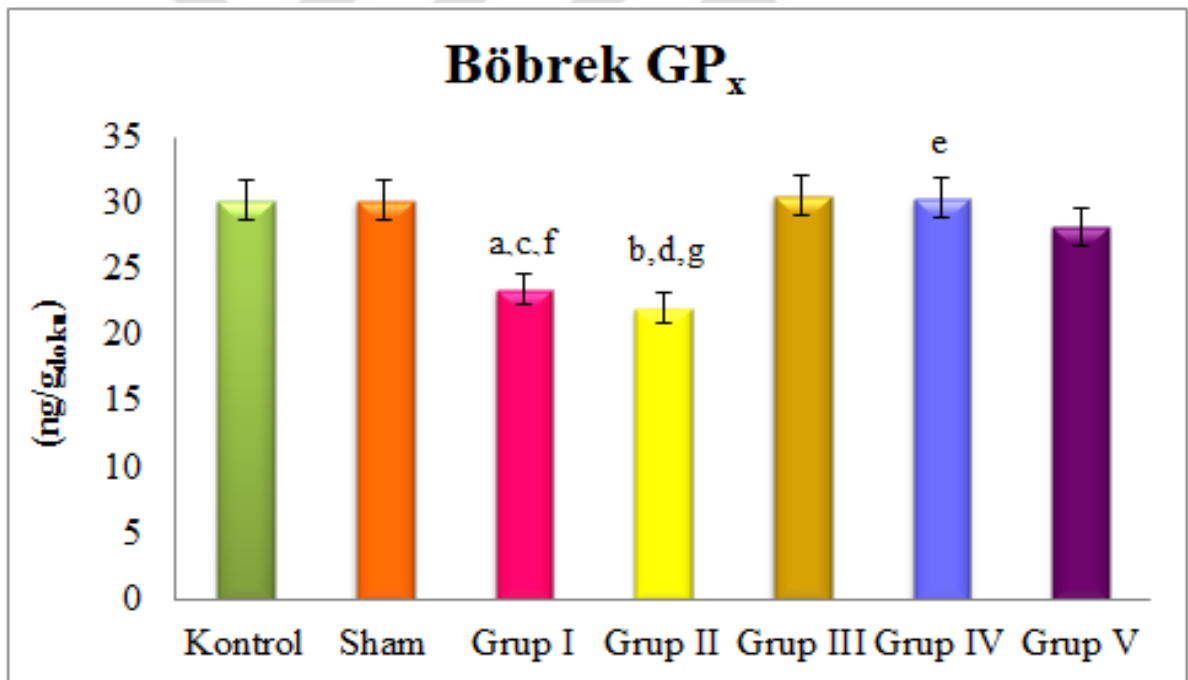
Şekil 4.17: Karaciğer GPx düzeyleri. Kontrol grubu, Sham (mısır yağı), Grup I (5,4 mg/kg CPF), Grup II (13,5 mg/kg CPF), Grup III (3 mg/kg Se), Grup IV (5,4 mg/kg CPF+ Se), Grup V (13,5 mg/kg CPF+Se). ^a $p<0,05$ ve ^b $p<0,01$ kontrole kıyasla; ^c $p<0,05$ ve ^d $p<0,01$ Sham'e kıyasla; ^e $p<0,05$ Grup I'e kıyasla; ^f $p<0,05$ ve ^g $p<0,001$ Grup III'e kıyasla.

4.6.2.2. Böbrek GPx Bulguları

Deney gruplarının böbrek GPx düzeylerinin kontrol, sham ve Se gruplarıyla karşılaştırılmalarında hem 5,4 CPF hem de 13,5 CPF gruplarında anlamlı azalma tespit edildi (sırasıyla; $p<0,05$ ve $p<0,01$). Klorprifosun selenyum ile birlikte uygulandığı gruplarla karşılaştırılmasında 5,4 CPF+Se grubuna ait karaciğer GPx düzeyinin 5,4 CPF grubuna kıyasla anlamlı olarak arttığı ($p<0,05$) görülürken; 13,5 CPF+Se grubunda istatistiksel anlamlılık saptanmadı. (Tablo 4.14 ve Şekil 4.18).

Tablo 4.14: Böbrek GPx düzeylerinin ortalama (M) ve standart sapma (SD) değerleri (M±SD). (ng/g_{doku}).

	Kontrol	Sham	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	Grup V
Böbrek GPx	30,19±2,37	30,14±2,33	23,40±1,32 ^{a,c,f}	22,02±1,46 ^{b,d,g}	30,56±1,72	30,34±1,93 ^e	28,22±1,23



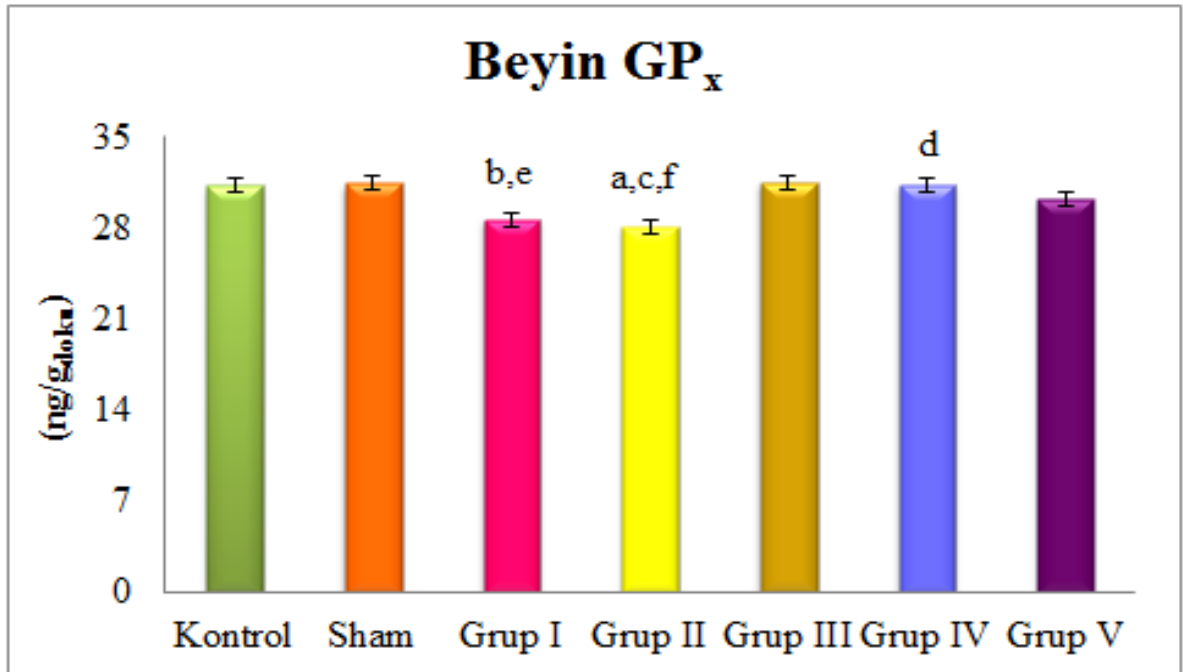
Şekil 4.18: Böbrek GPx düzeyleri. Kontrol grubu, Sham (mısır yağı), Grup I (5,4 mg/kg CPF), Grup II (13,5 mg/kg CPF), Grup III (3 mg/kg Se), Grup IV (5,4 mg/kg CPF+ Se), Grup IV (13,5 mg/kg CPF+Se). ^a $p<0,05$ ve ^b $p<0,01$ kontrole kıyasla; ^c $p<0,05$ ve ^d $p<0,01$ Sham'e kıyasla; ^e $p<0,05$ Grup I'e kıyasla; ^f $p<0,05$ ve ^g $p<0,01$ Grup III'e kıyasla.

4.6.2.3. Beyin GPx Bulguları

Düşük doz klorprifos uygulanan grubun beyin GPx düzeyinin sham, Se ve 5,4 CPF+Se gruplarına kıyasla anlamlı olarak azaldığı görüldü ($p<0,05$). Yüksek doz klorprifos uygulanan grubun beyin GPx düzeyi ise kontrol ($p<0,05$), sham ve Se gruplarına ($p<0,01$) göre anlamlı olarak azalma gösterdi. Düşük doz klorprifos uygulanan grup ile düşük doz klorprifosun selenyum ile birlikte uygulandığı grup arasında istatistiksel fark bulunmadı. (Tablo 4.15 ve Şekil 4.19).

Tablo 4.15: Beyin GPx düzeylerinin ortalama (M) ve standart sapma (SD) değerleri (M±SD). (ng/gdoku).

	Kontrol	Sham	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	Grup V
Beyin GPx	31,22±2,34	31,39±2,27	28,65±1,13 ^{b,e}	28,13±1,20 ^{a,c,f}	31,50±1,49	31,33±1,69 ^d	30,29±1,26



Şekil 4.19: Beyin GPx düzeyleri. Kontrol grubu, Sham (mısır yağı), Grup I (5,4 mg/kg CPF), Grup II (13,5 mg/kg CPF), Grup III (3 mg/kg Se), Grup IV (5,4 mg/kg CPF+ Se), Grup V (13,5 mg/kg CPF+Se). ^a $p<0,05$ kontrole kıyasla; ^b $p<0,05$ ve ^c $p<0,01$ Sham'e kıyasla; ^d $p<0,05$ Grup I'e kıyasla; ^e $p<0,05$ ve ^f $p<0,01$ Grup III'e kıyasla.

4.7. Eser Element Bulguları

4.7.1. Serum Eser Element Bulguları

Düşük doz klorprifos grubunun serum selenyum düzeyleri, Se ve 5.4 CPF+Se gruplarına kıyasla anlamlı olarak azaldı ($p<0,05$). Se ve 5.4 CPF+Se gruplarının serum selenyum düzeylerinde kontrol ($p<0,001$) ve sham ($p<0,01$) gruplarına göre anlamlı artış saptandı. Serum bakır düzeyi, Se grubunda kontrole göre anlamlı olarak arttı ($p<0,001$). 5.4 CPF+Se grubunda serum bakır düzeyinin kontrol ve sham gruplarına kıyasla arttığı görüldü (sırasıyla; $p<0,001$ ve $p<0,05$). Yüksek doz klorprifos ile birlikte Se uygulanan grubun serum kalsiyum düzeyleri 13,5 CPF ve Se gruplarına göre azaldı ($p<0,01$). Serum çinko ve demir düzeylerinin gruplar arası istatistiksel analizinde anlamlı bir fark bulunmadı. (Tablo 4.16).

Tablo 4.16: Serum eser element konsantrasyonlarının ortalama (M) ve standart sapma (SD) değerleri (M±SD).

	Se (mg/l)	Zn (mg/l)	Cu (mg/l)	Fe (mg/l)	Ca (mg/l)
Kontrol	0,69±0,07	0,42±0,10	0,69±0,12	2,13±0,42	69,90±9,90
Sham	0,71±0,07	0,41±0,09	0,81±0,11	2,17±0,44	69,84±5,16
Grup I	0,76±0,08 ^f	0,48±0,08	0,84±0,10	2,05±0,46	69,92±5,60
Grup II	0,81±0,06	0,53±0,09	0,89±0,15	2,22±0,26	74,88±4,23
Grup III	1,30±0,16 ^{a,c}	0,40±0,07	1,02±0,18 ^a	2,15±0,26	75,44±7,86
Grup IV	1,16±0,14 ^{a,c,d}	0,47±0,10	1,05±0,12 ^{a,b}	2,13±0,30	69,64±5,88
Grup V	0,93±0,11	0,48±0,07	0,84±0,12	1,84±0,25	60,84±4,20 ^{e,g}

Se: selenyum; Zn: çinko; Cu: bakır; Fe: demir; Ca: kalsiyum. Kontrol grubu, Sham (mısır yağı), Grup I (5,4 mg/kg CPF), Grup II (13,5 mg/kg CPF), Grup III (3 mg/kg Se), Grup IV (5,4 mg/kg CPF+ Se), Grup IV (13,5 mg/kg CPF+Se). ^a $p<0,001$ kontrole kıyasla; ^b $p<0,05$ ve ^c $p<0,01$ Sham'e kıyasla; ^d $p<0,05$ Grup I'e kıyasla; ^e $p<0,05$ Grup II'ye kıyasla; ^f $p<0,05$ ve ^g $p<0,01$ Grup III'e kıyasla.

4.7.2. Karaciğer Eser Element Bulguları

Yapılan istatistiksel analize göre, 5,4 CPF ve 13,5 CPF gruplarının karaciğer Se düzeylerinin, Se grubuna kıyasla azaldığı görüldü (sırasıyla; $p<0,01$ ve $p<0,05$). Se ve 5,4 CPF+Se gruplarının karaciğer Se düzeyleri kontrol ve sham gruplarına kıyasla anlamlı olarak arttı ($p<0,01$). 13,5CPF+Se grubunun karaciğer Se düzeyi ise kontrol, sham ve 13,5 CPF gruplarına göre anlamlı artış gösterdi ($p<0,05$). (Tablo 4.17).

Tablo 4.17: Karaciğer dokularında ölçülen eser element konsantrasyonlarının ortalama (M) ve standart sapma (SD) değerleri (M \pm SD).

	Se ($\mu\text{g/g}$)	Zn ($\mu\text{g/g}$)	Cu ($\mu\text{g/g}$)	Fe ($\mu\text{g/g}$)	Ca ($\mu\text{g/g}$)
Kontrol	1,01 \pm 0,16	15,11 \pm 3,65	2,62 \pm 0,50	162,99 \pm 51,74	56,17 \pm 10,38
Sham	1,05 \pm 0,28	14,37 \pm 1,48	2,67 \pm 0,39	151,95 \pm 27,58	50,69 \pm 16,96
Grup I	0,96 \pm 0,16 ^h	14,01 \pm 2,78	2,40 \pm 0,30	121,70 \pm 39,76	59,30 \pm 16,54
Grup II	1,06 \pm 0,18 ^g	14,01 \pm 2,36	2,60 \pm 0,62	141,00 \pm 24,12	65,42 \pm 17,32
Grup III	4,42 \pm 0,81 ^{b,d}	12,83 \pm 1,44	2,40 \pm 0,33	135,79 \pm 23,25	59,47 \pm 16,61
Grup IV	4,55 \pm 1,02 ^{b,d,e}	13,86 \pm 3,69	2,65 \pm 0,60	181,45 \pm 52,03	60,03 \pm 13,05
Grup V	4,70 \pm 1,44 ^{a,c,f}	15,21 \pm 1,29	2,59 \pm 0,65	119,54 \pm 13,59	65,60 \pm 11,08

Se: selenyum; Zn: çinko; Cu: bakır; Fe: demir; Ca: kalsiyum. Kontrol grubu, Sham (mısır yağı), Grup I (5,4 mg/kg CPF), Grup II (13,5 mg/kg CPF), Grup III (3 mg/kg Se), Grup IV (5,4 mg/kg CPF+ Se), Grup IV (13,5 mg/kg CPF+Se). ^a $p<0,05$ ve ^b $p<0,01$ kontrole kıyasla; ^c $p<0,05$ ve ^d $p<0,01$ Sham'e kıyasla; ^e $p<0,01$ Grup I'e kıyasla; ^f $p<0,05$ Grup II'ye kıyasla; ^g $p<0,05$ ve ^h $p<0,01$ Grup III'e kıyasla.

4.7.3. Böbrek Eser Element Bulguları

Klorprifosun düşük ve yüksek dozda uygulandığı gruplarda böbrek selenyum düzeyinin Se grubuna göre anlamlı azaldığı saptandı (sırasıyla; $p<0,001$ ve $p<0,05$). Böbrek Se düzeylerinin klorprifosun selenyum ile birlikte uygulandığı grup arasındaki karşılaştırılmasında, 5,4 CPF+Se grubunda 5,4 CPF grubuna göre ($p<0,01$) ve 13,5 CPF+Se grubunda 13,5 CPF grubuna göre ($p<0,05$) anlamlı artış tespit edildi. Böbrek selenyum ve bakır düzeyleri kontrole kıyasla, 5,4CPF+Se ve selenyum gruplarında anlamlı olarak arttı ($p<0,05$). 5,4 CPF+Se ve selenyum gruplarının böbrek Cu düzeyi sham grubuna kıyasla anlamlı artış gösterdi (sırasıyla; $p<0,05$ ve $p<0,01$). Düşük ve yüksek doz klorprifos uygulanan grupların böbrek Cu düzeyleri selenyum grubuna göre anlamlı olarak azaldı (sırasıyla; $p<0,05$, $p<0,01$). (Tablo 4.18).

Tablo 4.18: Böbrek dokularında ölçülen eser element konsantrasyonlarının ortalama (M) ve standart sapma (SD) değerleri (M±SD).

	Se ($\mu\text{g/g}$)	Zn ($\mu\text{g/g}$)	Cu ($\mu\text{g/g}$)	Fe ($\mu\text{g/g}$)	Ca ($\mu\text{g/g}$)
Kontrol	3,56±0,38	20,15±5,21	5,74±0,89	86,93±20,73	62,60±13,36
Sham	3,67±0,37	20,19±7,80	5,28±1,66	89,22±18,69	61,43±15,16
Grup I	3,07±0,69 ^g	15,98±3,10	5,90±1,32 ^f	82,75±17,58	53,02±12,85
Grup II	3,58±0,71 ^f	16,98±3,42	5,51±1,67 ^g	95,47±20,31	55,46±14,49
Grup III	6,89±0,92 ^a	20,21±0,81	15,85±5,34 ^{a,c}	121,94±22,78	47,91±10,53
Grup IV	6,35±1,38 ^{a,d}	18,94±1,16	14,07±4,33 ^{a,b}	136,20±28,90	62,71±23,57
Grup V	6,94±0,96 ^e	18,88±5,85	12,93±4,21	100,98±24,22	77,13±20,40

Se: selenyum; Zn: çinko; Cu: bakır; Fe: demir; Ca: kalsiyum. Kontrol grubu, Sham (mısır yağı), Grup I (5,4 mg/kg CPF), Grup II (13,5 mg/kg CPF), Grup III (3 mg/kg Se), Grup IV (5,4 mg/kg CPF+ Se), Grup IV (13,5 mg/kg CPF+Se). ^a $p<0,05$ kontrole kıyasla; ^b $p<0,05$ ve ^c $p<0,01$ Sham'e kıyasla; ^d $p<0,01$ Grup I'e kıyasla; ^e $p<0,05$ Grup II'ye kıyasla; ^f $p<0,05$ ve ^g $p<0,001$ Grup III'e kıyasla.

4.7.4. Beyin Eser Element Bulguları

Beyin dokularına ait eser element konsantrasyonlarının gruplar arası istatistiksel karşılaştırılmasında, yüksek dozda klorprifosa maruz kalan grubun kalsiyum düzeyinin selenyum grubuna göre anlamlı olarak azaldığı görüldü ($p<0,01$). Beyin Se, Zn, Cu ve Fe düzeylerinin karşılaştırılmasında ise istatistiksel fark bulunmadı. (Tablo 4.19).

Tablo 4.19: Beyin dokularında ölçülen eser element konsantrasyonlarının ortalama (M) ve standart sapma (SD) değerleri (M \pm SD).

	Se ($\mu\text{g/g}$)	Zn ($\mu\text{g/g}$)	Cu ($\mu\text{g/g}$)	Fe ($\mu\text{g/g}$)	Ca ($\mu\text{g/g}$)
Kontrol	1,49 \pm 0,44	8,72 \pm 1,78	2,10 \pm 0,69	61,87 \pm 14,49	44,08 \pm 8,71
Sham	1,51 \pm 0,55	8,70 \pm 1,89	1,84 \pm 0,62	60,07 \pm 14,58	41,47 \pm 5,37
Grup I	1,52 \pm 0,33	9,43 \pm 3,15	1,56 \pm 0,38	60,22 \pm 10,94	39,74 \pm 3,77
Grup II	1,67 \pm 0,38	11,76 \pm 2,00	2,47 \pm 0,28	81,27 \pm 14,00	30,96 \pm 5,37
Grup III	1,94 \pm 0,46	11,59 \pm 3,68	2,37 \pm 0,51	87,29 \pm 11,52	44,81 \pm 3,90
Grup IV	1,32 \pm 0,46	9,35 \pm 1,02	2,05 \pm 0,60	59,28 \pm 21,33	50,26 \pm 7,67
Grup V	1,04 \pm 0,45	9,51 \pm 3,12	2,33 \pm 0,79	66,40 \pm 24,38	41,11 \pm 9,55

Se: selenyum; Zn: çinko; Cu: bakır; Fe: demir; Ca: kalsiyum. Kontrol grubu, Sham (mısır yağı), Grup I (5,4 mg/kg CPF), Grup II (13,5 mg/kg CPF), Grup III (3 mg/kg Se), Grup IV (5,4 mg/kg CPF+ Se), Grup V (13,5 mg/kg CPF+Se).

5. TARTIŞMA

Organofosfatlı bileşikler tarımsal faaliyetlerin yaygın olduğu ülkeler başta olmak üzere dünya genelinde böcek öldürücü olarak en sık kullanılan maddelerdir. Mesleki maruziyet sebebiyle, besin zinciri yoluyla, kazara ya da intihar amaçlı maruz kalınan organofosfatlar yılda ortalama 3 milyon kişinin zehirlenmesine ve 200.000 kişinin ölümüne sebep olabilmektedir (227). En çok kullanılan organofosfatlardan biri olan klorprifos (97) memeliler tarafından hızlıca absorbe edilmekte ve metabolize olarak doku ve organlara zarar vermektedir (228).

Bu çalışmada, klorprifosa maruz kalmanın asetilkolinesteraz aktivitesi, karaciğer enzimleri, ozmotik frajilite, hematolojik parametreler, oksidan-antioksidan sistem ve eser elementler üzerine olası etkisini incelemek ve bu etkiler üzerine selenyumun rolünü araştırmak amaçlanmıştır. Gavaj işlemi öncesinde her gün tartılan sıçanların gün bazında çok değişkenlik göstermeyen ağırlıkları, haftalık sonuçlar şeklinde bulgulara sunulmuş; ancak hiçbir grupta istatistiksel açıdan anlamlı bir değişim söz konusu olmamıştır. Klorprifos uygulaması süresince sıçanların ağırlıklarının istatistiksel olarak değişmediğini beyan eden ve bulgularımızla örtüşen çalışma bulunmaktadır (229). Sıçanların vücut ağırlığıyla ilgili olarak diğer çalışmacıların raporlarını incelediğimizde klorprifosun beslenme isteğinde azalmaya yol açarak kilo kaybına neden olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (100, 230). Bununla birlikte klorprifosun vücutta yağ oluşumuna sebep olduğu ve vücut ağırlığını arttırdığına yönelik çalışmalar da bulunmaktadır (221, 231).

Çalışmamızda RBC, Hgb, Hct, WBC, Plt ve Rdw parametrelerindeki anlamlı değişikliklerin özellikle yüksek dozda klorprifos uygulaması ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Hem deney hayvanları hem de klinik vakalar üzerinde yapılan birçok çalışma organofosfatlı insektisitlerin hematolojik parametrelerde değişikliğe neden olabileceğini göstermiştir (221, 232, 233). Sıçanların yüksek dozda klorprifosa maruz kalmaları sebebiyle eritrosit sayılarında saptanan istatistiksel açıdan anlamlı azalma selenyum uygulaması ile yerini artışa bırakmıştır. Hgb ve Hct değerleri RBC ile ilişki olarak klorprifosa maruz kalınan dozun arttığı grupta, kontrol ve sham gruplarına göre anlamlı azalma göstermiştir. Hemoglobin seviyesinde, farklı klorprifos dozlarının uygulandığı gruplar arasında ve 13,5 mg/kg klorprifosun tek ve selenyum ile birlikte

uygulandığı gruplar arasında istatistiksel anlamlılık bulunmuştur. Organofosfatların kemik iliğinde hücre oluşumunu baskılayıcı etkisi Hgb'de karşılaşılan azalmanın diğer bir sebebi olabileceği gibi (234), yüksek dozda klorprifos uygulanan grubunun trombosit değerinin kontrol ve yağ gruplarına göre anlamlı şekilde artmasının da sebebi olabilir (235). Sonuçlarımızı destekleyen literatür çalışmaları bulunmaktadır (221, 236). Organofosfatlı insektisitlerin Plt seviyesini azalttığı ve bu durumun trombositopeni oluşumundan kaynaklandığını ileri süren çalışmalar da mevcuttur (231, 233, 237).

Tam kan sayım parametrelerinden biri olan Rdw eritrositlerin dağılım genişliğini ifade eder. eritrositlerin boyut varyasyon katsayısıdır. Anemilerde azalan eritrosit düzeyine artan Rdw eşlik edebilmektedir. Rdw farklı anemi türlerini birbirinden ayırmada kullanılan bir belirteçdir (238). Çalışmamızda yüksek dozda klorprifosa maruz kalan sıçanların Rdw değerinin anlamlı olarak arttığı görülmüştür. Pestisit kalıntılarının neden olduğu zehirlenmeler, hemoglobinin biyosentezinin engellenmesi ve dolaşımdaki eritrositlerin ömrünün kılmasına bağlı olarak anemi oluşturmaktadır (239-241). Hemoglobinin konsantrasyonunda azalma, klorprifosun eritropoetik doku ve hem biyosentezi üzerine etkilerinin sonucu olarak da ortaya çıkmış olabilir. Sonuçlarımız anemi bulgularını destekler niteliktedir.

Çalışmamızda klorprifosun yüksek dozda uygulanmasının, kontrole ve sham grubuna göre lökosit düzeyini arttırdığı; selenyum uygulanmasının ise bu artışı istatistiksel olarak azalttığı belirlenmiştir. WBC düzeyindeki bu artış, klorprifosun düşük doz uygulandığı gruba göre yüksek doz klorprifos grubunda daha fazladır. Bu sonuçlar lökositözün sebebinin, stres koşulları ile doğru orantılı artan lökosit mobilizasyonu olabileceğini göstermektedir. Organofosfatlı insektisitlerin lökosit değerini arttırdığı gösteren çalışmalar mevcuttur (221, 242). Klorprifosa maruz bırakılan sıçanlarda görülen lökositöz, klorprifosun yol açtığı strese karşı bağışıklık sisteminin tepkisini yansıtabilir. Klorprifosun toksik etkileri sıçanların bünyesini zayıflatır ve bu da immün yanıtı sebep olan enfeksiyonlara yol açar. Organofosfatlı insektisitlerin kanama, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, doku hasarı ve nekrozu indüklediği ve bu durumun artan WBC sayısına neden olduğu gösterilmiştir (232, 243). Bizim çalışmamız sırasında da klorprifosun yüksek doz uygulandığı grupta bulunan bazı sıçanların burun ve göz çevrelerinde kanamalar görülmüştür.

Çalışmamızda hem total proteinin hem de albüminin her iki klorprifos grubunda kontrol ve sham gruplarına göre istatistiksel olarak azaldığı, doz arttıkça azalmanın daha fazla olduğu ve sıçanları klorprifosa maruz bırakmadan önce selenyum uygulandığında bu değerlerin artarak kontrole yaklaştığı görülmüştür. Total protein düzeyindeki değişiklikler, hayvanların immunokompetans veya diğer fizyopatolojik duruma bağlı olarak değişebilen albümin ve globulin oranına bağlıdır (244). Kanda en çok bulunan plazma proteini olan ve karaciğerde üretilen albüminin üretiminin klorprifos gibi organofosfatlar sebebiyle azaldığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (245, 246). Albümin düzeylerindeki düşüşler genellikle karaciğer hastalıklarını düşündürdüğünden bu durum organofosfatın karaciğerdeki protein ve serbest amino asit metabolizmasını ve sentezini değiştirdiğine işaret etmektedir (96). Bununla birlikte parankimal karaciğer hastalıklarının, azalan Tg seviyeleriyle ilişkili olduğu bilinmektedir (247). Sonuçlarımızda, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da klorprifos uygulanan sıçanların Tg düzeylerinin diğer gruplara göre azaldığı görülmektedir. Hepatik metabolizma sırasında, sitokrom P450 (CYP 450) tarafından desülfürasyon reaksiyonu ile etkinleştirilen klorprifos, klorprifos-oksona dönüşür. CYP 450 aracılı deaminasyon reaksiyonu ile deaktive edilerek 3,5,6-trikloro-2-piridinol (TCP) oluşumu meydana gelir. TCP ve diğer reaktif ara maddelerin artan seviyeleri, fosfatazların ve amino transferazların aktivitelerinin artmasıyla karaciğer fonksiyonlarında değişikliğe sebep olur. Enzimatik aktivitelerde uzun süreli değişiklikler, hepatik dokuda yapısal ve fonksiyonel değişikliklerden sorumlu biyokimyasal ve hücresel fonksiyonların bozulmasına neden olur (248-250). Çalışmamızda klorprifosa tek başına maruz kalan gruplarda tespit edilen serum AST, ALT, ALP ve LDH artışları da hepatik hasarı göstermektedir. Karaciğere son derece özgü olan ALT hepatotoksik hasarın en güvenilir göstergelerinden biridir. Serum ALP'nin artan aktivitesi sadece karaciğer hasarı ile sınırlı kalmayıp; bağırsaklardaki, böbreklerdeki, lökositlerdeki ya da kemiklerdeki olası patolojik değişikliklerle de ilişkili olabilir. AST ise böbreklerde, hepatosit mitokondride, iskelet kasında, miyokarda ve pankreasta bulunan bir transaminazdır. Bu nedenle, artmış ALP ve AST aktivitesi klorprifosun direkt etkisi veya oksidatif hasarın bir sonucu olarak sözü edilen organların herhangi birinde meydana gelen hasara bağlı da görülebilir (251); ancak ALT, ALP ve AST'nin birlikte artması öncelikli olarak karaciğer hasarına dikkat çekmektedir. ALT, AST, ALP ve LDH aktivitelerindeki artışlar, hepatosit membran geçirgenliğinin artmasıyla birlikte normalde sitoplazmada

bulunan bu enzimlerin hücre dışına çıkarak kan dolaşımına sızmasının göstergesi olabilir (252). Hepatoselüler nekroz sebebiyle LDH'nın kana salınması da bu enzim aktivitesindeki artışın sebeplerinden biri olabilir (87).

Toksikolojik araştırmalarda klorprifosun etkisi, organofosfatlı pestisitlerin standart bir biyolojik belirteçi olarak kabul edilen AChE aktivitesi üzerinden gözlenmektedir (253). AChE, sempatik sinapslarda, merkezi sinir sisteminde ve nöromusküler kavşaklarda nörotransmitter olarak görev yapan asetilkolinin miktarını düzenler (254). Kolinerjik sinapslarda asetilkolinin hidrolize olmasını ve bununla birlikte görevinin sonlanmasını sağlayarak impuls iletimini kontrol altında tutar (255). Enzim inhibisyonu sonucu ise asetilkolin birikerek aşırı presinaptik uyarı ile başlayan ve ölüme kadar uzanan sonuçların oluşmasına sebep olur (256). Eritrosit ve serum AChE olmak üzere farklı kolinesteraz ölçümleri mevcuttur. Organofosfat zehirlenmelerinin tespitinde eritrosit AChE ölçümleri daha spesifik olsa da ölçüm pratikliği sebebiyle serum AChE ölçümleri tercih edilmektedir. Serum AChE aktivitesi popülasyonda farklılık gösterdiğinden uygulanan tedaviye verilen cevabın gözlenmesinde bir referans aralığı yerine artan serum AChE düzeylerinin tespit edilmesi daha doğru kabul edilmektedir (74). Orta ya da ciddi seviyelerde zehirlenme bulguları görülen hastaların AChE seviyelerinin değerlendirilmesinde laboratuvar referans aralığı kriter alındığında AChE aktivite sonuçlarının normal sınırlarda bulunduğu; ancak hastaların bazal durumuna göre AChE aktivitesinin yarı yarıya azalmış olduğu yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (257). Çalışmamızda klorprifos uygulanan her iki grubun serum AChE değerlerinin kontrol, sham ve selenyum gruplarına göre istatistiksel olarak azaldığı gözlenmiştir. Beyin AChE aktivitesi incelendiğinde ise klorprifosa maruz kalan her iki grubun değerlerinin kontrol, sham ve selenyum gruplarına göre azalma eğiliminde olduğu görülse de istatistiksel anlamlılık yalnızca yüksek dozda klorprifosa maruz kalan grupta tespit edilmiştir. Klorprifos uygulanan gruplarda tespit ettiğimiz serum ve beyin AChE aktivitelerindeki bu azalmalar, enzimin inhibe olduğunu ve bu gruplardaki sıçanların organofosfat bileşiginden zehirlendiğine işaret etmektedir. Organofosfatların asetilkolinesterazın aktif bölgesinde yer alan serin aminoasitine fosfat bağıyla bağlanarak geriye dönüşümsüz bir inhibisyona sebep olduğu (40) ve lipofilik yapıda olan klorprifosun kan-beyin bariyerini geçerek okson metabolitleri aracılığı ile beyinde kolinerjik sinapslarda AChE inhibisyonuna yol açtığı ileri sürülmüştür (258). Bununla birlikte, klorprifosla birlikte selenyum uygulanan gruplarının AChE

aktivitelerinin, klorprifos gruplarına göre artarak kontrol, sham ve selenyum gruplarına yaklaştığı görülmüştür. AChE enziminin tekrardan etkili olabilmesi için ya vücutta yeniden üretilmesi veya oksim türü antimaddelerin kullanımı ile mevcut enzimin tekrardan etkili hale getirilmesi gerekmektedir (40). Bu durumda ise selenyum uygulamasının enzimin yeniden üretilmesinde ya da klorprifosun sebep olduğu inhibisyonu engelleyebilmesinde rol oynadığı düşünülebilir. Elde ettiğimiz bulgular, antioksidan özellikli farklı bileşikler kullanılarak gerçekleştirilen çalışmaların sonuçları ile örtüşmektedir (259-261).

Klorprifosun akut ve kronik intoksikasyonunun redoks proseslerini bozduğuna ve lipidlerin, proteinlerin, DNA'nın oksidasyonuna, membran hasarına, enzim inaktivasyonuna ve hatta hücre ölümüne neden olabilecek reaktif oksijen türlerinin oluşumuna yol açtığını gösteren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (8, 95, 262). Lipid peroksidasyonun değerlendirmesinde dolaylı bir yöntem olarak eritrosit ozmotik fragilitesi ölçümü kullanılmaktadır (16). Çalışmamızda yüksek dozda klorprifos grubunda maksimum ve minimum ozmotik fragilite ve % hemoliz farklarının arttığı, standart hemoliz ve hemolitik inkrement eğrilerinin 13,5 CPF grubu başta olmak üzere klorprifos uygulanan gruplarda sağa kaydığı görülmüştür. Bu durum eritrositlerin kırılabilirliğinin arttığının bir göstergesidir. Yapılan istatistik sonucu yüksek dozda klorprifosa maruz kalan sıçanların eritrosit ozmotik fragilitesinin kontrol, sham, Se ve 13,5 CPF+Se gruplarına göre istatistiksel olarak arttığı gözlenmiştir. Bu durum, eritrosit membranındaki lipid peroksidasyonun artmasıyla ilişkili olarak yüksek dozda klorprifos uygulanan grubun eritrosit membran bütünlüğünün bozulmasına bağlı olabilir. Pestisitlerin membran potansiyelini azaltma yoluyla membran bütünlüğünü bozması da söz konusu olabilir (263). Eritrosit membranlarının çoklu doymamış yağ asitlerince zengin olması, hem proteinlerinin (sitokromlar, hemoglobin) yüksek konsantrasyonlarda bulunması, pro-oksidan gibi davranan geçiş elementlerinin (Cu^{+2} , Fe^{+2}) yüksek seviyelerde olmasından dolayı eritrosit membranları lipid peroksidasyona karşı oldukça savunmasızdır (17). Serbest oksijen radikalleri, membranlarda bulunan doymamış yağ asitlerine bağlanarak lipid peroksidasyona sebep olmaktadır. Oksidatif strese duyarlılığı artan eritrositlerin membranlarına serbest radikallerin saldırıları artmakta bu da eritrositlerin hasar görmesine neden olmaktadır (264-266). Klorprifos maruziyeti sebebiyle eritrositlerin ozmotik fragilitesinin arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (267-269). Eritrositler tüm organlara oksijen taşıdıklarından yaşam döngüleri süresince

sürekli serbest radikallere maruz kalırlar (270). Klorprifos lipofilik yapıda olduğundan, hücrenel plazma membranı ile doğrudan etkileşerek ve membrandan sitoplazmaya kolayca geçerek lipid peroksidasyonu arttırabilir (271). Lipid peroksidasyon süreci, eritrositin çift katlı membranının hidrofobik özelliğini, protein ve lipidlerin etkileşimini ve afinitesini azaltarak değiştirir; böylece eritrosit membranının fonksiyon ve hemostasyonunu bozar (116). Yüksek dozda klorprifosa maruz kalmadan önce sıçanlara selenyum uygulaması yapıldığında ise tek başına yüksek dozda klorprifosa maruz kalan gruba göre eritrosit ozmotik frajilitesinin azaldığı saptanmıştır. Bu durum antioksidan özelliği olan selenyumun serbest radikallerin üretimini etkili bir şekilde önlemesi, eritrosit membran proteinindeki -SH grubunu oksidasyona karşı koruması ve böylece eritrosit membranının bütünlüğünü ve akışkanlığını koruması ile açıklanabilir (272).

Organizmada patolojik yolla veya normal metabolizma sırasında oluşan serbest radikal ürünleri ile bunlara karşı korumada rol alan antioksidan savunma sistemi arasında normal fizyolojik şartlarda bir denge söz konusudur. Bu denge, serbest radikaller tarafına kaydığında oksidatif stres oluşur. Antioksidanlar, serbest oksijen radikallerinin yok edilmesinde ve böylece oksidatif hasardan kaynaklanabilecek hasarın önlenmesinde oldukça etkilidir (273). Deney hayvanları kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalarda klorprifosun akciğer, dalak, testis, over, uterus gibi birçok dokuda toksik etkilere yol açtığı bildirilmiştir (218, 229, 230, 274). Organofosfatlı bileşikler canlı dokuların tamamına zarar verir; ancak en çok zarar gören dokuların başında karaciğer, böbrek ve beyin gelmektedir. Çünkü organofosfatlar karaciğerde biyotransformasyona uğrar, büyük ölçüde böbrekten atılır ve AChE inhibisyonuyla beyinde nörotoksik etkiye yol açar (66). Bu nedenle çalışmamızda klorprifosun hepatotoksik, nefrotoksik ve nörotoksik etkileri karaciğer, böbrek ve beyin dokularında lipid peroksidasyon ve antioksidan enzim aktiviteleri incelenerek ve sonuçların değerlendirilmesinde hematolojik ile biyokimyasal değişiklikler göz önüne alınarak açıklanmaya çalışılmıştır.

Karaciğer kan akımının yaklaşık % 75'ini sindirim kanalından absorbe edilen besinler ile toksik maddeleri karaciğere taşıyan portal venden; kalan % 25'ini ise kalpten çıkan oksijen bakımından zengin kanı taşıyan hepatik arterden sağlar (275). Karaciğer, sindirim sisteminden hepatik portal vene giren pestisitlerin karşılaştığı ilk metabolik organdır. Akut ya da kronik toksikasyon karaciğer fonksiyonlarında değişikliğe neden olarak dokuya zarar vermektedir (276). Besinlerin gerekli biçimde

metabolize olmalarını, toksik olma potansiyeline sahip zararlı maddelerin detoksifikasyona uğrayarak dışkı ya da idrarla vücuttan atılacak şekilde gelmelerini sağlayan son derece seçici ve özgül mekanizmalarla donatılmıştır. Hacminin büyük olması toksik bileşiklerin detoksifikasyonu için gerekli basamakların gerçekleşmesi için ihtiyaç duyulan bekleme süresini sağlamaktadır (277). Böbrekler ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda rol oynayan ikinci organdır. Böbreğin temel görevi vücudun gerek duymadığı metabolize ürünleri ve toksik maddeleri idrar yoluyla uzaklaştırmaktır. Bununla birlikte, asit-baz ve sıvı-elektrolit dengelerinin düzenlenmesinde; arteriyel kan basıncının hormonal dengesinin sağlanmasında; hormonların üretilmesi, metabolize edilmesi ve yıkımında; glikoneojenez ve eritrosit yapımının uyarılmasında görevlidir (122, 278).

Beyni diğer organlardan ayıran en önemli fizyolojik ve anatomik özelliği nöronal hemostazın korunması için geliştirilmiş vasküler yüzeyler ve spesifik yapıdaki damar sistemidir. Beyindeki damarsal yapının geçirgenlik özellikleri ve bariyer fonksiyonu düşünüldüğünde ilk akla gelen endotel hücrelerinin oluşturduğu kan-beyin bariyeridir. Beyni kanda bulunan toksinlerden koruyan kan-beyin bariyeri aynı zamanda nöronal hücre fonksiyonlarının ihtiyaç duyduğu besinlerin geçişini sağlayan karmaşık ve özelleşmiş bir sistemdir (279). Bir maddenin kan-beyin bariyerini geçme derecesi yağdaki çözünürlüğüne, serum proteinlerine bağlanma affinitesine, yüküne ve molekül ağırlığına bağlıdır. Madde yağda ne kadar iyi çözünürse, kan-beyin bariyerinden geçişi o kadar hızlı olur. Bunun sebebi, nörotoksik etkisi olduğu bilinen klorprifos gibi yağda çözünen maddelerin, endotel hücrelerin lipid membranlarında çabuk erimesi ve beyne basit difüzyon ile girmesidir (280, 281). Yetişkin bir bireyin merkezi sinir sistemindeki nöronların olası bir toksik etki karşısında tamamen rejenerasyona uğraması söz konusu değildir. Sağlıklı her bireyin beyinde doğumla başlayan ve yaşam boyu sabit hızla devam eden nöron kaybı söz konusudur. Bu durum daha yavaş hızla seyreden nörogenezisle rölatif olarak dengelenmeye çalışılsa da mümkün olmamaktadır. Beyinde nörotoksik madde birikimi nöronların dejenerasyonuna ve ölümünün hızlanmasına, beyin fonksiyonlarının büyük ölçüde bozularak hastalıkların oluşmasına sebep olur (282).

Çalışmamızda yüksek dozda klorprifosa maruz kalan grubun karaciğer, böbrek ve beyin dokularına ait MDA seviyelerinde kontrol, sham ve Se gruplarına göre anlamlı

artış; GSH ve GPx seviyelerinde ise anlamlı azalış saptanmıştır. Düşük dozda klorprifosa maruz kalan grup için yapılan aynı karşılaştırma için ise istatistiksel farklılık yalnızca GPx seviyelerinde gözlenmiştir. Düşük dozda klorprifosa maruz kalan sıçanların karaciğer ve böbrek GPx seviyeleri kontrol, sham ve Se gruplarına göre anlamlı azalma gösterirken; beyin GPx seviyeleri sham ve Se gruplarına göre anlamlı olarak azalmıştır. Klorprifos ve Se birlikte uygulanan grupların, yalnızca klorprifosa maruz kalan gruplarla karşılaştırılmalarında ise tüm dokuların MDA seviyeleri her iki dozda da azalma göstermiştir. Selenyumun GSH ve GPx ölçümleri üzerine etkisine bakıldığında, yüksek dozda klorprifos ile birlikte selenyum verilen grubun karaciğer ve böbrek GSH seviyelerinin, yüksek dozda klorprifosa maruz kalan gruba göre arttığı tespit edildi. Düşük dozda klorprifos ile birlikte selenyum verilen grubun tüm dokularında GPx seviyelerinin, düşük doz klorprifos grubuna kıyasla arttığı saptandı. Çalışmamızda klorprifosun, karaciğer, böbrek ve beyinde reaktif oksijen türlerini üreterek ve GSH, GPx antioksidan enzimlerinin biyolojik etkinliklerini azaltarak oksidatif hasarın oluşumuna yol açtığı tespit edildi. Sonuçlarımız klorprifosun lipid peroksidasyona neden olduğunu ve sıçanlarda çeşitli dokuların antioksidan durumunu değiştirdiğini gösteren daha önceki çalışmalarla uyumludur (219, 222, 283, 284).

Orgafosfatlı, organoklorlu ve karbamatlı pestisitlerin yol açtığı toksisitenin moleküler mekanizmalarından lipid peroksidasyon, serbest radikallerin biyolojik yapılara saldırısından kaynaklanan ve en sık rastlanan reaksiyonlardan birini temsil eder (97, 285). Lipid peroksidasyonunun indikatörü olan MDA seviyelerindeki artış, klorprifosun lipid peroksidasyona sebep olduğunun bir göstergesidir. Klorprifos, mitokondrilerde ve peroksizomlarda serbest radikal oluşumuna sebep olan hücre içi proteinlerden sitokrom P450 gibi enzimleri uyararak, serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek hücreleri koruyan antioksidan savunma sistemlerini inhibe ederek oksidatif strese neden olmuş olabilir (286). Karaciğer, klorprifos gibi pek çok pestisit in ve kimyasalın metabolize edildiği esas organdır. Çevresel ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda, karaciğerin hasar görme riski yüksektir ve bu durum hepatotoksisiteye neden olur (96). Klorprifosun hepatotoksisiteye neden olduğunu gösteren çalışmalarda karaciğer dokuları histopatolojik olarak incelenmiş ve kontrol grubuna kıyasla klorprifosa maruz kalan grupta mononükleer hücre infiltrasyonu, safra kanalı proliferasyonu, konjesyon, Kupffer hücre sayılarında artış, sinuzoidlerde genişleme, portal alanların bir kısmında bağ doku artışı görülmüştür (236, 287, 288).

Hücrel antioksidan durumu, oksidatif hasara duyarlılığı belirler ve genellikle oksidatif strese yanıt olarak değişir. GSH, hücrel antioksidan savunmaların merkezinde yer alır ve aktif bölgesinde selenyum bağlı GPx de dahil olmak üzere antioksidan enzimler için gerekli kofaktör gibi davranır (289, 290). GSH, oksidatif stres altında artan lipid peroksidasyon nedeniyle oluşan peroksitleri detoksife etmek için ilgili enzimler tarafından tüketilir (291). Esas görevi alkil ve hidrojen peroksitlerin çözünürlüğünü azaltmak olan GPx, GSH'yı substrat olarak kullanır (292). Sitozolda bulunan GPx, GSH'nun glutatyon disülfid (GSSG) oksidasyonu sonucu toksik hidroperoksitleri su ve alkole indirger (293, 294). İndirgenmiş glutatyon, hücre membranı ve mitokondrinin yapısında bulunur ve hücreleri GPx'le beraber oksijen stresine karşı korur, serbest radikal hasarını önler ve kimyasallarla birleşerek detoksifikasyona yardımcı olur. (295).

Klorprifosa bağlı toksisitede GSH ve GPx'in azalmasını (223, 230, 261); selenyum uygulanmasının karaciğeri lipid peroksidasyonundan ve antioksidan enzimlerdeki değişikliklerden koruduğu konu alan çalışmalar bulunmaktadır (7, 296, 297). Se uygulaması ile birlikte, GPx gibi selenyuma bağlı antioksidan enzim aktivitelerinin artması, serbest radikal aracılı lipid peroksidasyonunun azaltılmasında ve indirgenmiş glutatyonun yeniden oluşturulmasında etkili olabilir (298). Bu bulgu Ognjanovic ve ark. göre, selenyumun hidroksil radikallerinin oluşumunu önlemedeki, dokuların bütünlüğünü ve fonksiyonlarını korumadaki önemli rolü ile açıklanabilir (299).

Pestisit kullanımı olmadan ülkemizin ve hatta dünyanın şuanki nüfusunun bile yeterli beslenmesi söz konusu değilken, ekilebilir tarım arazilerin azalması ve nüfus oranının artması sebebiyle tarım sistemini pestisitler olmadan sürdürmek imkansızdır (300). Bir yandan artan nüfus oranı ve ihtiyaçları karşılamak adına yapılan girişimler diğer yandan teknolojinin ve endüstrinin gelişimi toprakta, havada ve suda kirliliğin artışına yol açmaktadır. Bu kirliliğin canlılar üzerindeki etkilerinin araştırılmasında eser elementlerin tayini önemli bulgular arasındadır. Esansiyel olan ve düşük konsantrasyonlarda bulunan eser elementler pek çok enzim için kofaktör özelliği taşıırken; hücrel fonksiyonların işleyişinde de önemli rollere sahiptir (301, 302). Organofosfat kullanımının eser element düzeylerini nasıl ve ne yönde değiştirdiğine dair çok fazla çalışma bulunmamaktadır.

Enzim sistemlerinin yapısına katılan ve kofaktör olarak rol alan esansiyel elementlerden biri de selenyumdur. Antioksidan fonksiyonuyla bilinen selenyum, oksidatif hasara karşı koruyucu olan GPx ve selenoprotein P gibi birçok metabolizmada görev almaktadır (303, 304). Çalışmamızda serum ve karaciğer selenyum düzeylerinin düşük doz klorprifosla birlikte selenyuma maruz kalan grupta kontrol, sham grubu ve grup I'e göre; selenyum grubunda ise kontrol ve sham gruplarına göre arttığı saptandı. Düşük doz klorprifos grubunun serum, karaciğer, böbrek selenyum düzeylerinin; yüksek doz klorprifos grubunun ise karaciğer ve böbrek selenyum düzeylerinin yalnızca selenyum uygulanan gruba göre azaldığı görüldü. Yüksek dozda klorprifos ile birlikte selenyum uygulanan grubun selenyum düzeyinin karaciğerde kontrol, sham grubu ve yüksek doz klorprifos grubuna göre; böbrekte ise yalnızca yüksek doz klorprifos grubuna göre arttığı bulundu. Böbrek Se düzeylerinin düşük dozla birlikte selenyuma maruz kalan grupta kontrol ve düşük doz klorprifos grubuna göre; selenyum grubunda ise kontrole göre arttığı gözlemlendi. Gerek selenyum grubunda gerekse klorprifos ile birlikte selenyum uyguladığımız gruplarda, selenyumun artışı gözlemlendi. Bununla birlikte, selenyumun diğer gruplara kıyasla klorprifosun tek başına uygulandığı gruplarda azalmış olmasının, bu gruplarda artan oksidasyon mekanizmasıyla ilgisi olabilir. Bu gruplarda lipid peroksidasyonun artması, yapısında selenyum bulunan GPx gibi antioksidan savunma sistemlerinin devreye girmesine sebep olmuş ve kullanımına bağlı olarak selenyumun seviyesi azalmış olabilir.

Çinko sahip olduğu antioksidan özelliği sayesinde serbest radikallerin ve oksidatif stresin oluşumunun engellenmesinde koruyucu rol oynar. Çinkonun antioksidan etkisinin gerçekleşmesinde iki mekanizma etkilidir: 1) çinko, bakır ve demir gibi redoks fonksiyonlarında etkili metal iyonlarıyla yarışarak onların bağlanma bölgelerine bağlanır. 2) sülfidril gruplarınca zengin olan ve serbest radikallerin zarar verici etkilerine karşı koruyucu olan metalotioninlerin yapısına katılarak sentezlenmesini uyarır (305). Çinkonun antioksidan etkisi iyi bilinse de çalışmamızda gerek serum gerekse doku çinko değerlerinde istatistiksel bir değişiklik saptanmamıştır. Bu durum, klorprifosun sebep olduğu hasarın iyileştirilmesinde bir antioksidan olan selenyumun uygulanması ve kullanılmasının yeterli olabilmesiyle ya da başka bir deyişle klorprifosun, çinkonun da tüketilmesine neden olacak kadar hasara yol açmamış olabilmesiyle açıklanabilir. 8 hafta boyunca klorprifosa (13,5 mg/kg) maruz kalan sıçanların serum ve karaciğer çinko düzeylerinde belirgin inhibisyon gözlenmiş ve

klorprifos ile birlikte sıçanlara çinko takviyesinde bulunulduğunda hem karaciğer hem de serum Zn konsantrasyonlarının normale döndüğü saptanmıştır. Klorprifos toksisitesine yanıt olarak antioksidan savunmada meydana gelen artışın çinko eksikliğine sebep olduğu öne sürülmüştür. Bu durumda çinko içeren proteinlerin, metalotiyoneinlerin ve antioksidan enzimlerin seviyelerinde toksisiteye karşı önemli derecede artış görüldüğü ve bu süreçte net bir çinko kaybının gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Toksik koşullar altındayken çinko desteğinde bulunulmasının, çinkonun kullanılarak metalotiyoneini indüklediğini bundan dolayı serbest dolaşımdaki plazma çinko konsantrasyonlarında net bir azalmanın görüldüğünü bildirmişlerdir (306). Goel ve ark. başka bir çalışmada da çinko ilavesinin klorprifos intoksifikasyonu için koruyucu olduğunu ve çinkonun metabolize edici enzimlerin aktivasyonunun düzenlenmesinde rol oynadığını öne sürmüşlerdir (100).

Biyolojik membranlarda lipid peroksidasyonu oluşması membranın bozulmasına, akışkanlığın azalmasına, membrana bağlı reseptörlerin ve enzimlerin inaktivasyonuna ve Ca^{+2} gibi iyonlara özgü geçirgenliğin artmasına neden olur. Bununla birlikte, lipid hidroperoksitler, demir veya bakır iyonlarına, bu metal iyonlarının basit şelatlarına (fosfat esterleri gibi), hem, hemoglobin ve miyoglobin de dahil olmak üzere bazı demir proteinlerine maruz bırakıldıklarında parçalanırlar (118). Redoks enzimi için kofaktör olan bakır pek çok redüksiyon ve oksidasyon reaksiyonunda rol oynar. Antioksidan savunma sisteminin yetersiz kaldığı durumlarda bakır ve demir iyonları kolaylıkla Fenton veya Haber-Weiss reaksiyonlarına katılarak hidroksil radikalinin ve dolayısıyla oksidatif stresin oluşmasına neden olurlar (302). Bakır iyonlarına (seruloplazmin ve albumin), demir iyonlarına (transferrin), hem (hemopeksin) veya hem proteinlerine (haptoglobulinler) bağlanan proteinlerin vücut sıvıları içindeki varlığı lipid peroksidasyonu ve diğer serbest radikal reaksiyonlarının hızlanmasını azaltarak hücre dışı antioksidan savunmaya önemli katkı yapmaktadır (307, 308). Ayrıca, bakır bir selenyum antagonisti (309) olmasının yanısıra selenyum ile sinerjik etki de gösterebilir ve eksikliğinde GPx aktivitesinin azalmasına da sebep olabilir (310, 311).

Çalışmamızda, selenyum grubunda ve düşük doz klorprifos ile birlikte selenyuma maruz kalan grupta hem serum hem de böbrek bakır düzeylerinin kontrol ve sham gruplarına göre anlamlı olarak arttığı saptanmıştır. Klorprifosa maruz kalan gruplarda ise böbrek bakır düzeyleri selenyum grubuna göre anlamlı azalma

göstermiştir. Bu bulgular, selenyum düzeyi ile ilişkili olarak farklı şekillerde açıklanabilir. Selenyum grubunda ve düşük doz klorprifos ile birlikte selenyuma maruz kalan grupta hem serum hem de böbrek selenyum düzeylerinin değişen bakır düzeyleri ile benzer artış göstermesi bakırın selenyum ile gösterdiği sinerjik etkinin sonucu olabilir. Sıçanlara klorprifos ile birlikte selenyum verilmesi, bir yandan Se düzeylerinin artmasına neden olurken öte yandan antagonisti olan bakır ile girdiği yarışta bakırın göreceli olarak artışına neden olmuş olabilir. Klorprifosla birlikte selenyuma maruz kalan gruplarda lipid peroksidasyonun azalması, oksidatif stresin oluşması sırasında sisteme katılan bakırın kullanımının azalmasına dolayısıyla bu gruplarda göreceli artışına sebep olmuş olabilir. Goel ve ark. kontrol, 13,5 mg/kg CPF, 227 mg/l Zn ve CPF+Zn gruplarından oluşan çalışmalarının 4. ve 8. haftalarında sıçanlardan kan alarak serum Zn, Cu, Fe düzeylerini incelemişlerdir. Her iki ölçüm sonucunda da, klorprifosa maruz kalan sıçanların serum Zn ve Fe değerleri düşerken Cu değerinin arttığını bulmuşlardır. Klorprifos ile birlikte Zn uyguladıkları grupta ise kontrole yakın sonuçlar tespit etmişlerdir. Çinko ile bakır arasında doğrudan bir korelasyon olduğunu ve çinkodaki azalışa karşı bakırın artışın bu iki metal iyonunun antagonistik özelliğinden kaynaklandığını belirtmişlerdir. İnhibe olan serum demir seviyelerinin, demirin karaciğere daha fazla taşınmasına bağlı olabileceğini bildirmişlerdir (312). Bir başka çalışmada ise klorprifos ile birlikte antioksidan olarak yine çinko verilmiş; serumda Zn, Cu, Fe, karaciğer de ise bu elementlerin dışında başka birçok element analizi gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonunda benzer şekilde klorprifos grubunun serum Zn ve Fe düzeylerinin azaldığı; Cu düzeyinin arttığı tespit edilmiştir. Klorprifos ile muamele edilen grupta ilginç bir şekilde hepatik bakır, demir ve selenyum seviyelerinin arttığı; çinko verildiğinde ise bu artışın kısmen engellenebildiği saptanmıştır. Selenyumdaki artışı bir antioksidan özelliği sebebiyle organofosfatın toksik etkisini azaltmada koruyucu etkisine yormuşlardır. Demirin ise toksikasyon sebebiyle serumda inhibe olduğunu, vücudun daha fazla demire ihtiyacı olduğu için demirin karaciğere taşındığını bildirmişlerdir. Ayrıca, biyokimyasal işlevler için demir gerektiren bazı hepatik sitokrom ve protoporfirin düzeylerinde gözlenen artışında bu durumu desteklediğini ifade etmişlerdir. Bulgularını ilginç olarak nitelendirmiş ve desteklenmesi için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulduğunu belirtmişlerdir (4). Bizim demir sonuçlarımız ise gerek serumda gerekse dokularda anlamlı bir değişim göstermemiştir. Demir

konsantrasyonları, hematolojik parametrelerde ve ozmotik frajilitedeki değişimlerden etkilenmemiştir.

Sinir sisteminde bilgi aktarımı nöronlar tarafından aksiyon potansiyelleri ile iletilir. Sinyali gönderen presinaptik hücrede meydana gelen aksiyon potansiyelinin ilerleyerek akson ucuna ulaşmasıyla depolarizasyon gerçekleşir. Oluşan depolarizasyon burada bulunan voltaj kapılı kalsiyum kanallarının aktifleşmesini sağlar. Ekstrasellüler ortamda kalsiyumun miktarının fazla olması, hücre içine kalsiyum iyonlarının girişini artırır. Hücre içi kalsiyum artışı, aktin filamentleri ile birbirine bağlı veziküllerin koparak serbest kalmalarını sağlar. Serbestleşen veziküller membranlarının eriyip presinaptik membranla birleşmesinin ardından içerdikleri asetilkolini eksositoz yoluyla sinaptik aralığa boşaltır. Sinaptik aralıkta yayılan asetilkolin, difüzyonla postsinaptik membrana ilerleyerek membran yüzeyindeki asetilkolin reseptörlerine bağlanır. Bu durum, iyon kanallarının açılmasıyla birlikte hücre içine sodyum girişine izin verirler. Sodyum kanal proteinlerinin dış yüzeyine tutunan kalsiyum iyonları, sahip oldukları pozitif yük sayesinde sodyum kapılarının açılabilmesi için gereken voltajın ayarlanmasında kanal proteinlerinin elektriksel durumunu değiştirerek etki eder. Hücre içi sodyum girişi, postsinaptik membranda depolarizasyonun oluşmasına ve fizyolojik fonksiyonların gerçekleşmesini sağlar (313, 314).

Çalışmamızda serum kalsiyum düzeylerinde istatistiksel anlamlılık saptanırken; dokularda herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Yüksek dozda klorprifosla birlikte selenyuma maruz kalan grubun kalsiyum seviyesi, yalnızca yüksek dozda klorprifosa ve selenyuma maruz kalan gruplara kıyasla anlamlı olarak azalmıştır. Kalsiyumun bu grupta azalmasının, ACh salınımının azaltılmasına yönelik bir sonuç olduğunu düşünmekteyiz. Bulgularımız arasında yüksek dozda klorprifosun, AChE aktivitesinde anlamlı azalmaya sebep olduğuna değinmiştik. Bu azalma, klorprifosun AChE'ye bağlanarak onu inhibe etmesinin; bununla birlikte ACh'nin birikmesinin dolayısıyla iletinin sonlanmayarak sürekli devam eden kasılmalarının oluşmasının sayısal bir göstergesi niteliğindedir. Serum kalsiyum seviyesi azalma göstererek, daha az miktarda ACh vezikülünün serbest kalmasına dolayısıyla reseptöre bağlanan ACh miktarının azalmasına yönelik bir savunmanın gerçekleşmesinde rol almış olabilir. Serum kalsiyum seviyesinde karşılaştığımız azalmanın doğrudan AChE aktivitesiyle ilişkili olabileceğini ve bu sonucun AChE aktivitesindeki bulgumuzu desteklediğini

düşünmekteyiz. Yüksek dozda klorprifosla birlikte selenyuma maruz kalan grubun hem serum AChE aktivitesi hem de serum kalsiyum düzeyleri açısından kontrol, sham ve selenyum gruplarına kıyasla anlamlı değişiklik göstermemiş olması klorprifosun neden olduğu zararın indirgenmesinde selenyumun etkinliğini gösterir niteliktedir.

Bu çalışmada klorprifosun kan parametrelerinde, karaciğer enzimlerinde, AChE ve eser elementler düzeylerinde değişime neden olabildiği, oksidan stres yoluyla antioksidan savunma sistemde değişikliğe yol açabildiği, kısaca hepatik, nefropatik ve nöropatik etkilere sebep olabildiği görülmüştür. Selenyumun ise klorprifosun sebep olduğu bu etkileri tümüyle olmasa da büyük ölçüde azalttığı gözlenmiştir. Bu nedenlerden dolayı, klorprifos kullanımından mümkün olduğunca kaçınılmalı, bu konuda toplum bilinci kazandırılmalı, asgari oranda ve kontrol altında tüketim sağlanmalı. Bu önlemlerin yanı sıra, selenyum gibi antioksidan özelliği olan preparatların da zararı azaltma yönünde etkili olabileceği kanatındeyiz.

KAYNAKLAR

1. Prakasam A, Sethupathy S, Lalitha S. Plasma and RBCs antioxidant status in occupational male pesticide sprayers. *Clin. Chim. Acta.* 2001; **310**: 107–112.
2. Sun F, Chen HS. Monitoring of pesticide chlorpyrifos residue in farmed fish: investigation of possible sources. *Chemosphere* 2008; **71**: 1866–1869.
3. Aygun D, Doganay Z, Altintop L, Guven H, Onar M, Deniz T, Sunter T. Serum acetylcholinesterase and prognosis of acute organophosphate poisoning. *J Toxicol Clin Toxicol* 2002; **40(7)**: 903-10.
4. Goel A, Chauhan DP, Dhawan DK. Protective Effects of Zinc in Chlorpyrifos induced Hepatotoxicity: A Biochemical and Trace Elemental Study. *Biol. Trace Elem. Res.* 2000; **74**: 171–183.
5. Kammon AM, Brar RS, Banga HS, Sodhi S. Patho-biochemical studies on hepatotoxicity and nephrotoxicity on exposure to chlorpyrifos and imidacloprid in layer chickens. *Vet. Arhiv.* 2010; **80(5)**: 663–672.
6. Demir F, Uzun FG, Durak D, Kalender Y. Subacute chlorpyrifos-induced oxidative stress in rat erythrocytes and the protective effects of catechin and quercetin. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2011; **99(1)**: 77-81.
7. Heikal TM, El-Sherbiny M, Hassan SA, Arafa A, Ghanem HZ. Antioxidant effect of selenium on hepatotoxicity induced by chlorpyrifos in male rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2013; **4(4)**: 603-609.
8. Yu F, Wang Z, Ju B, Wang Y, Wang J, Bai D. Apoptotic effect of organophosphorus insecticide chlorpyrifos on mouse retina in vivo via oxidative stress and protection of combination of vitamin C and E. *Experimental and Toxicologic* 2008; **59**: 415-423.
9. Verma RS, Mehta A, Srivastava N. Comparative studies on chlorpyrifos and methyl parathion induced oxidative stress in different parts of rat brain: Attenuation by antioksidant vitamins. *Pesticide Biochemistrty and Physiology* 2009; **95**: 152-158.
10. Aly N, El-Gendy K, Mahmoud F, El-Sebae AK. Protective effect of vitamin C aganist chlorpyrifos oxidative stress in male mice. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2010; **97(1)**: 7-12.
11. Sies H. Oxidative stress: introduction. In: Sies H (ed) *Oxidative stress: oxidants and antioxidants*, Academic, San Diego, CA, USA; 1991.
12. Kehrer JP. Free radicals as mediator of tissue injury and disease. *Crit Rev Toxicol* 1993; **23**: 21–48.

13. El-Gendy KS, Aly NM, Mahmoud FH, Kenawy A, El-Sebae AK. The role of vitamin C as antioxidant in production of oxidative stress induced by imidacloprid. *Food Chem Toxicol* 2010; **48(1)**: 215-221.
14. Uzum A, Toprak O, Gumustas MK, Ciftci S, Sen S. Effect of vitamin E therapy on oxidative stress and erythrocyte osmotic fragility in patients on peritoneal dialysis and hemodialysis. *J. Neph* 2006; **19**: 739-745.
15. Brzezińska-Slebodzińska E. Erythrocyte osmotic fragility test as the measure of defence against free radicals in rabbits of different age. *Acta Vet Hung* 2001; **49(4)**: 413-419.
16. Chihuailaf RH, Contreras PA, Wittwer FG. Pathogenesis of oxidative stress: Consequences and evaluation in animal health. *Vet Méx* 2002; **33(3)**: 265-283.
17. Rai DK, Rai PK, Rizvi S, Watal G, Sharma B. Carbofuran-induced toxicity in rats: protective role of vitamin C. *Exp Toxicol Pathol* 2009; **61**: 531-535.
18. Özmen Y, Aygören E, Dursun HY, Karaca S, Kismir A. ve Türkmen Z. İSO Dokuzuncu Kalkınma Planı, Tarım İlaçları Çalışma Grubu Raporu, Ankara, 2009; 2007-2013.
19. Büyükben A. Deneysel Olarak Oluşturulan Organofosfat Toksikasyonunda Vitamin E, Selenyum ve Vitamin E-Selenyum'un Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar, 2008.
20. Keskin, İ.F. Türkiye'de Çiğ Sütlerde Bazı Organik Fosforlu İsektisit Kalıntılarının İncelenmesi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2008.
21. Ecobichon DJ. Toxic effects of pesticides. In: The basic science of Poisons Casarett and Doull's toxicology. Ed: Amdur MO, Doull J, Klaassen CD. 4th Ed. Pergamon Press, New York, NY, USA, 1991. pp. 565-622.
22. McEven FL, Stephenson GL. The use and significance of pesticides in the environment. New York, John Wiley & Sons Pub 1979. pp. 538.
23. Robey WC, Meggs WJ. Insecticides, herbicides, rodenticides. Emergency Medicine. (5 nd ed), McGraw Hill Company, New York, 2000; 1174-1176.
24. Bakal NH. Malatyon İsektisitinin *Poecilia Reticulata* (PETERS, 1859) Üzerindeki Akut Toksik Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2010.
25. Turhan B. Karbendazim ve Klorpirifos' un meyve ve sebze örneklerinde hplc/fd ile eş zamanlı tayini. Yüksek Lisans Tezi, Bozok Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Yozgat, 2014.
26. Cook JL, Baumann P, Jackman AJ. ve Stevenson D. Pesticide Characteristics that Affect Water Quality, Texas University- Texas Agricultural Extension Service, USA, 1993. (URL: www.co.denton.tx.us/dept/aes.htm).

27. Güley M. ve Vural N. Toksikoloji. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları; 1978.
28. Güler Ç. ve Çobanoğlu Z. Pestisitler. Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi, Ankara, Türkiye, 1997. pp. 52.
29. Güvensoy G. Fate of Pesticides on Soil and Their Impact on Water Environment. Yüksek Lisans Tezi, İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2000.
30. Vogue P, Kerle E, Jenkins J. Oregon State University Extension Pesticide Properties Database. Oregon State University Extension Service; 1994.
31. Burçak AA. İlaç, Alet ve Toksikoloji Araştırma Çalışmaları. (İnternette). Erişim Tarihi: 20.11.2016,
http://www.tarim.gov.tr/TAGEM/Belgeler/SUNULAR/%C4%B0la%C3%A7,%20Alet%20ve%20Toksikoloji%20Ara%C5%9Ft%C4%B1rma%20%C3%87al%C4%B1%C5%9Fmalar%C4%B1_Dr.%20A.Alev%20Bur%C3%A7ak.pdf#search=tagem%20alev%20bur%C3%A7ak
32. Ögüt S. Isparta yöresinde üretilen elma ve kirazlardaki pestisit kalıntıları ile bu ürünlerin tarımı ile uğraşanların kanlarında pestisit kalıntıları ve paraoksonaz enzim seviyelerinin belirlenmesi. Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Isparta, 2012.
33. Kiziewicz B. and Czezuga B. Bioaccumulation of organochlorine pesticides in the trophic chain alga-freshwater fish. *Acta Ichthyologica et Piscatoria* 2002; **32(1)**: 41-51.
34. Kumbur H, Özer Z, Özsoy HD. Tarım ilaçlarının (Pestisitlerin) Çevresel Etkileri ve Mersin İli'nde Kullanım Düzeyleri. In: GAP, IV. Tarım Kongresi, Bildiri Kitapçığı, 2005; 702–707.
35. Tankiewicz M, Fenik J, Biziuk M. Determination of organophosphorus and organonitrogen pesticides in water samples. *Trends in Analytical Chemistry* 2010; **29**: 1050-1063
36. Sağlam H. Melen Havzasında Pestisit Uygulamaları ve Pestisitlerin Biyolojik Bozunma, Yüzeysel Akış ve Sızma Yüzdelerinin Tahmini. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2008.
37. Elersek T. ve Filipic M. Organophosphorous Pesticides - Mechanisms of Their Toxicity, Pesticides - The Impacts of Pesticides Exposure, Stoytcheva, M. (ed.). Intech, 2011. pp.243-260.
38. Watson HD. Food Chemical Safety, Volume 1: Contaminants, First Edition, CRC Press LLC, New York, NY, USA, 2001.
39. Uzun FG. Ratlarda Klorprifos'un hepatotoksik etkisi ve kuersetin ve kateşin'in koruyucu rolü. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara 2012.

40. Robey WC, Meggs WJ. Insecticides, Herbicides and Rodenticides. Tintinalli JE, Kelen GD, Stapczynski JS, eds. *Emergency Medicine (6th ed): a Comprehensive Study Guide*. McGraw Hill Company, New York, 2004. pp. 1134-1143.
41. Alper Y. Organofosfat toksikasyonuna karşı royal jelly koruyucu ve tedavi edici etkilerinin araştırılması. Yüksek lisans tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyon, 2013.
42. Costa LG. Current issues in organophosphate toxicology. *Clinica Chimica Acta* 2006; **366**: 113.
43. Gupta, RC. *Toxicology of Organophosphate & Carbamate Compound*. Elsevier Academic Pres, 2006.
44. WHO. The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification: 2009. (İnternette) Erişim: 18.11.2016, http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides_hazard_2009.pdf?ua=1.
45. UNECE. GHS (Rev.3) Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS). Annex 2: Classification and labelling summary tables. (İnternette) 2009. Erişim tarihi:18.11.2016, http://www.unece.org/fileadmin/DAM/trans/danger/publi/ghs/ghs_rev03/English/06e_annex2.pdf.
46. Güven M. Organik Fosfor Zehirlenmeleri. *Yoğun Bakım Dergisi* 2004; **4(2)**: 113-121.
47. Katz KD, Brooks DE. Organophosphate Toxicity. (İnternette) 2016. Erişim tarihi: 25.11.2016, <http://emedicine.medscape.com/article/167726-overview>.
48. (http://faculty.pasadena.edu/dkwon/chap%208_files/textmostly/slide58.html)
49. Demirdöğen BC. Organofosfatlı-pestisit-zehirlenmeleri ve serum paraoksonaz 1 (Pon1) enziminin organofosfat metabolizmasındaki rolü. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 2010; **67(2)**: 97-112.
50. Johnson MK, Jacobsen D, Meredith TJ, et. al. Evaluation of antidotes for poisoning by organophosphorus pesticides. *Emerg Med* 2000; **12**: 22-37.
51. Kwong TC. Organophosphate pesticides: Biochemistry and clinical toxicology. *The Drug Monit* 2002; **24**: 144-149.
52. Luft FC. Insecticides and atherosclerosis. *J Mol Med* 2001; **79**: 415-416.
53. Costa LG, Cole TB, Jarvik GP, Furlong CE. Functional genomics of the paraoxonase (PON1) polymorphisms: Effects on pesticide sensitivity, cardiovascular disease, and drug metabolism. *Annu Rev Med* 2003; **54**: 371-92.
54. Varó I, Serrano R, Pitarch E, Amat F, López FJ, Navarro JC. Bioaccumulation of chlorpyrifos through an experimental food chain: study of protein HSP70 as

- biomarker of sublethal stress in fish. *Arch Environ Contam Toxicol* 2002; **42(2)**: 229-35.
55. Özerol E. Sitokrom P450 Monooksijenaz Enzim Sistemleri. *Journal of Turgut Özal Medical Center* 1996; **3(3)**: 257-275.
 56. Eyer P, Szinicz L, Thiermann H, Worek F, Zilker T. Testing of antidotes for organophosphorus compounds: *Experimental procedures and clinical reality. Toxicology* 2007; **233(1-3)**: 108–19.
 57. Pediatric Environmental Health Specialty Unit (PEHSU), Department of Environmental & Occupational Health Sciences University of Washington opchild@u.washington.edu (<http://depts.washington.edu/opchild/acute.html>), 2007.
 58. Yüzügüllü M. Akut organofosfat zehirlenmelerinde kardiyak ve nöromusküler etkilenim. Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Acil Tıp Anabilim Dalı, Adana, 2012.
 59. Güven M, Sungur M. Organophosphorus poisonings and future directions. *Current Topics in Toxicology* 2005; **2**: 57-65.-59
 60. Joshi S, Biswas B, Malla G. (2005). Management of organophosphorus poisoning. *Update in Anaesthesia* 2005; **19**: 1-2.
 61. Sevim M. Akut organofosfat zehirlenmelerinin kronik dönemde endokrin sistem üzerine etkilerinin araştırılması. Tıpta Uzmanlık Tezi, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri, 2013.
 62. Aminoff MJ. Effects of toxins and physical agents on the nervous system: effects of occupational toxins on the nervous system. In: Bradley WG, Daroff RB, Fenichel GM, Jankovic J, eds. *Bradley: Neurology in Clinical Practice*. 5th ed. Philadelphia, Pa: Butterworth-Heinemann Elsevier, 2008.
 63. Ford MD. Acute poisoning. In: Goldman L, Ausiello D, eds. *Cecil Medicine*. 23rd ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier, 2007.
 64. Kara IH, Guloglu C, Karabulut A, Orak M. Sociodemographic, clinical, and laboratory features of cases of organic phosphorus intoxication who attended the Emergency Department in the Southeast Anatolian Region of Turkey. *Environ Res* 2002; **88**: 82-88.
 65. Willems JL, De Bisschop HC, Verstraete AG, Declerck C, Christiaens Y, Vanscheeuwyck P, Buylaert WA, Vogelaers D, Colardyn F. Cholinesterase reactivation in organophosphorus poisoned patients depends on the plasma concentrations of the oxime pralidoxime methylsulphate and of the organophosphate. *Arch Toxicol* 1993; **67(2)**: 79-84.
 66. Clark RF. Insecticides: organic phosphorus compounds and carbamates. *Goldfrank's Toxicological Emergencies*. 7th edn. McGraw-Hill Professional; New York, 2002; 1346–1360.

67. Tunç T. Organofosfat bileşiği ethion'un eritrosit reolojisindeki etkileri: Vinpocetin ve karnozinin koruyucu rollerinin karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı, Kayseri, 2013.
68. Weidler DJ. Myocardial damage and cardiac arrhythmias afterintracranial hemorrhage: a critical review. *Stroke* 1974; **5**: 759-64.
69. Choi PT-L, Quinonez, LG, Cook DJ. Acute Organophosphate insecticide poisoning. *Clinical Intensive Care* 1995; **6**: 5.
70. Agrawal D, Sultana P, Gupta GS. Oxidative damage and changes in the glutathione redox system in erythrocytes from rats treated with hexachlorocyclohexane. *Food Chem Toxicol* 1991; **29**: 459-462.
71. Karalliedde L, Senanayake N. (1989). Organophosphorus insecticide poisoning. *Br J Anaesth* 1989; **63**: 736-750.
72. Güven M, Bayram F, Unluhizarci K, Kelestimur F. Endocrine changes in patients with acute organophosphate poisoning. *Hum Exp Toxicol* 1999; **18**: 598-601.
73. Güven M, Dogukan A, Taskapan H, Çetin M. Leucocytosis as a parameter in management of organophosphate intoxication. *Turkish Journal of Medical Sciences* 2000; **30**: 499-500.
74. Savaş AY. Organofosfat zehirlenmelerinde kurkumin, sülforafan ve intralipidin etkilerinin değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Acil Tıp Anabilim Dalı, Tokat, 2015.
75. Sert Aİ. Anestezi yoğun bakım ünitesinde takip edilen organofosfat zehirlenme olgularının retrospektif olarak incelenmesi. Tıpta Uzmanlık Tezi, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Diyarbakır, 2013.
76. Alp H, Karakuş A, Çelik MM, Başarslan SK. Organofosfat Zehirlenmesinde Yeni Bir Tedavi Yaklaşımı:Fitoterapi. *Mustafa Kemal Üniv.Tıp Derg* 2012; **3**: 9.
77. Roberts DM, Aaron CK. Management of acute organophosphorus pesticide poisoning. *BMJ* 2007; **334(7594)**: 629-634.
78. Gözkeser E, Yüksel S, Atalay H. Geç dönem Pralidoksim uygulamasına yanıt veren organofosfat zehirlenmesi olgusu. *Pamukkale Tıp Dergisi* 2013; **6(1)**: 26-29.
79. Şahin D, Odabası K, Sahin H, Karakaya C, Ustun Y. and Noyan T. Theprevelance of pancreatitis in organophosphatepoisonings. *Human & Experimental Toxicology* 2002; **21**: 175-177.
80. Karalliedde L. Organophosphorus poisoning and anaesthesia. *Anaesthesia* 1999; **54**: 1073-1088.

81. Zhou Y. Intravenous lipid emulsions combine extracorporeal blood purification: a novel therapeutic strategy for severe organophosphate poisoning. *Med Hypotheses* 2010; **74**: 309.
82. Eddleston M, Buckley NA, Eyer P, Dawson AH. Management of acute organophosphorus pesticide poisoning. *Lancet* 2008; **371**: 597-607.
83. Lamfon HA. Effect of Selenium on Chlorpyrifos-Induced Thyroid Toxicity in Albino Rats. *Research in Endocrinology* 2014; **2014**: 1-11.
84. Cometa MF, Buratti FM, Fortuna S, Lorenzini P, Volpe MT, Parisi L, Testai E, Meneguz A. Cholinesterase inhibition and alterations of hepatic metabolism by oral acute and repeated chlorpyrifos administration to mice. *Toxicology* 2007; **234**: 90-102.
85. Joshi SC, Mathur R, Gulati N. Testicular toxicity of chlorpyrifos (an organophosphate pesticide) in albino rat. *Toxicology and Industrial Health* 2007; **23**: 439-444.
86. Ambali SF, Abbas SO, Shittu M, Dzenda T, Kawu MU, Salami SO. ve Ayo JO. Effects of gestational exposure to chlorpyrifos on implantation and neonatal mice. *Journal of Cell and Animal Biology* 2009; **3(4)**: 50-57.
87. Mansour SA, Mossa AH. Oxidative damage, biochemical and histopathological alterations in rats exposed to chlorpyrifos and the antioxidant role of zinc. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2010; **96**: 14-23.
88. Pohanish RP. Sittig's Handbook of pesticides and agricultural chemicals. Second edition, William Andrew Publishing, Norwich, NY, USA, 2015.
89. Ekmekyapar F, Tosun C, Ataçoğlu I. Klorprifosun daphnia magna kullanarak toksisitesinin araştırılması ve çevresel risk değerlendirmesi. *Niğde Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi* 2014; **3(1)**: 1-8.
90. Özmen F. Ratlarda Klorprifos'un ince bağırsak dokusu üzerine histopatolojik etkisi ve kuersetin ve kateşin'in koruyucu rolü. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2010.
91. Armenta S, Quintas G, Garrigues S, Guardia M. A validated and fast procedure for FTIR determination of cypermethrin and chlorpyrifos. *Talanta* 2005; **67**: 634-639.
92. Timchalk C, Busby A, Campbell JA, Needham LL, Barr DN. Comparative pharmacokinetics of the organophosphorus insecticide chlorpyrifos and its major metabolites diethylphosphate, diethylthiophosphate and 3,5,6-trichloro-2-pyridinol in the rat. *Toxicology* 2007; **237**: 145-157.
93. Ma T. ve Chambers, JE. Kinetic Parameters of Desulfuration and Dearilation of Parathion and Chlorpyrifos by Rat liver Microsomes. *Food Chem. Toxicol* 1994; **32(8)**: 763-767.

94. Heilmair R, Eyer F, Eyer P. Enzyme-based assay for quantification of chlorpyrifos oxon in human plasma. *Toxicology Letters* 2008; **181**: 19-24.
95. Verma RS, Mehta A, Srivastava N. In vivo chlorpyrifos induced oxidative stress: Attenuation by antioxidant vitamins. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2007; **88**: 191-196.
96. Ncibi S, Othman MB, Akacha A, Krifi MN, Zourgi L. Opuntia ficus indica extract protects against chlorpyrifos-induced damage on mice liver. *Food and Chemical Toxicology* 2008; **46**: 797-802.
97. Mansour SA, Mossa AH. Lipid peroxidation and oxidative stress in rat erythrocytes induced by chlorpyrifos and the protective effect of zinc. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2009; **93**: 34-39.
98. Saulsbury MS, Heyliger SO, Wang K, Johnson DJ. Chlorpyrifos induces oxidative stress in oligodendrocyte progenitor cells. *Toxicology* 2009; **259**: 1-9.
99. Zhao Q, Dourson M, Gadagbui B. A review of the reference dose for chlorpyrifos. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 2006; **44**: 111-124.
100. Goel A, Dani V, Dhawan DK. Zinc mediates normalization of hepatic drug metabolizing enzymes in chlorpyrifos-induced toxicity. *Toxicology Letters* 2007; **169**: 26-33.
101. Tian Y, Ishikawa H, Yamaguchi T, Yamauchi T, Yokoyama K. Teratogenicity and developmental toxicity of chlorpyrifos. Maternal exposure during organogenesis in mice. *Reprod Toxicol* 2005; **20(2)**: 267-70.
102. Jeong S, Kim B, Kang H, Ku H, Cho J. Effect of chlorpyrifos-methyl on steroid and thyroid hormones in rat F0- and F1-generations. *Toxicology* 2006; **220**: 189-202.
103. Li Q, Kobayashi M., Kawada T. Chlorpyrifos induces apoptosis in human T cell. *Toxicology* 2009; **255**: 53-57.
104. Vizi ES. Role of high-affinity receptors and membrane transporters in nonsynaptic communication and drug action in central nervous system. *Pharmacol Rev* 2000; **52**: 63-90.
105. Kandel ER, Schwartz JH, Jessell MT. Principles of neuronal science, McGraw Hill, New York, USA, 2000.
106. Nelson DL, Cox MM. Lehninger principles of biochemistry. Fourth Edition, W. H. Freeman & Company, 2004.
107. Holley AE, Cheeseman KH. Measuring free radical reactions in vivo. *Br.med bull* 1993; **49(3)**: 494-505.
108. Gracy RW, Talent JM, Kong Y, Conrad CC. Reactive oxygen species: The unavoidable environmental insult? *Mutation Research* 1999; **428(1-2)**: 17-22.

- 109.Sen CK. Antioxidant and redox regulation of cellular signaling: introduction. *Med Sci Sport Exerc* 2001; **33**: 368-370.
- 110.Kısaçam S. Gastrit ve mide kanseri hastalarında kan malondialdehit (MDA) ve redükte glutatyon (GSH) düzeylerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Genel Biyoloji Anabilim Dalı, Kars, 2010.
- 111.Fridovich I. The biology of oxygen radicals. *Science* 1978; **201**: 875-877.
- 112.Karabulut B, Kabakçı T. Serbes Radikaller. *Akademi* 1995; **1**: 28-35.
- 113.Karakuş F. Endojen melatoninin ve pinealektomili ratlarda eksojen melatoninin organofosfat insektisit fenthion ile oluşturulan toksisite üzerine koruyucu etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıp Fizyoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, 2015.
- 114.Darley-USmar V, Wiseman H, Halliwell B. Nitric oxide and oxygen radicals: a question of balance. *FEBS Lett.* 1995; **369(2-3)**: 131-5.
- 115.Genç H. Fetal plasentasyon aşamasında serum prostanoid ve lipid hidroperoksid düzeylerinin preeklampsi gelişimiyle ilişkisinin incelenmesi. Tıpta Uzmanlık Tezi, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul, 2008.
- 116.Dargel R. Lipid peroxidation—a common pathogenic mechanism? *Exp. Toxicol. Pathol.* 1991; **44**: 169–181.
- 117.Uysal Z. Hepsidin ve Demir Metabolizması. Türk Hematoloji Derneği, 6. İlk Basamak Kursu, Ankara 2007.
- 118.Gutteridge J, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends Biochem Sci* 1990; **15(4)**: 129-35.
- 119.Bulmuş FG. Kronik hiperhomosisteinemi oluşturulan ratlarda alfa-lipoik asidin plazma ve çeşitli dokularda oksidan antioksidan sistem üzerine etkilerinin araştırılması. Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Elazığ, 2006.
- 120.Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yayınları, Konya 1995.
- 121.Porter, NA. Chemistry of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1998; **105**: 273-282.
- 122.Onat T, Emerk K, Sözman EY. İnsan Biyokimyası, Palme Yayıncılık, Ankara 2002.
- 123.Benzer F, Ozan ST. Fasciola hepatica ile Enfekte Koyunlarda Lipid Peroksidasyonu, Antioksidant Enzimler ve Nitrik Oksit Düzeyleri. *Turk J Vet Anim Sci* 2003; **27**: 657-661.

- 124.Halliwell B. Drug antioxidant effects.A basis for drug selection? *Drugs* 1991; **42(4)**: 569-605.
- 125.Yalçın AS. Serbest radikaller ve patolojik etkileri. *Sendrom* 1992; **4**: 40-43.
- 126.Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press Inc., New York, 1999. pp. 936.
- 127.Bhagavan NV. Medical biochemistry. Harcourt Acedemic Press, Kanada, 2002.
- 128.Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993; **49**: 481-493.
- 129.Tür L. Karbon tetraklorür ile karaciğer hasarı oluşturulan ratlarda *matricaria chamomilla* L.'nin karaciğer üzerine koruyucu etkilerinin araştırılması. Doktora Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyon, 2008.
- 130.Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamlıoğlu M, Başpınar N, Tiftik AM. Biyokimya. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara 2000.
- 131.Mills GC. Hemoglobin catabolism, glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. *J Biol Chem* 1957; **229**: 189-197.
- 132.Malone WF. Studies evaluating antioxidants and beta carotene as chemopreventives. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 305-313.
- 133.Wood ES. ve Simith CA. Molecular and cell biochemistry. Chapman & Hall, Hong Kong, 1991.
- 134.Bulut S. Kronik organofosfat intoksikasyonu oluşturulan ratlarda n-asetilsisteinin arka kök gangliyon hücrelerinde kalsiyum sinyali ve oksidatif stres üzerine etkilerinin araştırılması. Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Isparta, 2011.
- 135.Burch RE, Kahn HKJ, Sullivan JF. Newer aspects of the roles of zinc, manganese, and copper in human nutrition. *Clin. Chem* 1975; **21(4)**: 501-520.
- 136.King JS. A burgeoning branch of clinical analysis. *Clin. Chem* 1975; **21(4)**: 467-468.
- 137.Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's Biochemistry, 25th Edition, McGraw-Hill, Health Profession Division, USA, 2000.
- 138.Soetan KO, Olaiya CO, Oyewole OE. The importance of mineral elements for humans, domestic animals and plants: A review. *African Journal of Food Science* 2010; **4(5)**: 200-222.
- 139.Uzun, H. Ders Notları. (İnternette). Erişim Tarihi: 01.07.2017. (<http://194.27.141.99/dosya-depo/ders-notlari/hafize-uzun/t%FDp%20dersleri/DEM%DDR%2C%20% C7%DDNKO.ppt>)

- 140.Kaiser H. Guiding concepts relating to trace analysis. *Pure. Appl. Chem* 1973; **6**: 35-61.
- 141.Tinggi U. Selenium: its role as antioxidant in human health. *Environ Health Prev Med* 2008; **13(2)**: 102–108.
- 142.Mahan DC. Organic selenium sources for swine-how do they compare to inorganic selenium sources. Biotechnology in the feed industry. Proceedings of Alltech's Tenth Annual Symposium. Nottingham University Press, United Kingdom, 1994. pp. 323-334.
- 143.Fox MJ. Selenium: Nutritional Implications and Prospects for Therapeutic Medicine. *Meth Find Exp Clin Pharmacol* 1992; **14(4)**: 275- 287.
- 144.Barceloux DG. Selenium. *J Toxicol Clin Toxicol* 1999; **37(2)**: 145-72.
- 145.Shiobara Y, Yoshida T, Suzuki KT. Effects of dietary selenium species on Se concentrations in hair, blood, and urine. *Toxicol Appl Pharmacol* 1998; **152**: 309–314.
- 146.Foster SJ, Kraus RJ, Ganther HE. The metabolism of selenomethionine, S-methylselenocysteine, their selenonium derivatives, and trimethylselenonium in the rat. *Arch Biochem Biophys*; 1986; **251**: 77–86.
- 147.Meuillet E, Stratton S, Prasad CD, Goulet AC, Kagey J, Porterfield B, Nelson MA. Chemoprevention of prostate cancer with selenium: an update on current clinical trials and preclinical findings. *J Cell Biochem* 2004; **91**: 443–458.
- 148.Spyrou G, Björnsted M, Skog S, Holmgren A. Selenite and Selenate Inhibit Human Lymphocyte Growth via Different Mechanisms. *Cancer Research* 1996; **56**: 4407-4412.
- 149.Kılıçlı F. Hashimoto tiroiditi ve papiller tiroid kanseri arasındaki ilişkide serum selenyum, süperoksit dismutaz, katalaz ve tiyobarbiturik asit reaktif substans düzeylerinin rolü. Yan Dal Uzmanlık Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı, Sivas, 2011.
- 150.Hatfield DL, Gladyshev VN. How selenium has altered our understanding of the genetic code. *Mol Cell Biol* 2002; **22**: 3565–3576.
- 151.Kılınç ÖO. İlave organik ve inorganik selenyum preparatlarının ve ilave vitamin E' nin yumurta tavuklarında verim ve bazı kan parametrelerine,yumurta selenyum içeriğine ve plazma glutasyon peroksidaz enzim aktivitesine etkisinin belirlenmesi. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı, Konya, 2013.
- 152.Van Campen DR. Trace elements in human nutrition. In: Mortvedt JJ, Cox FR, Shuman LM, Welch RM, editors. Micronutrients in Agriculture. 2 Baskı. SSS Book series, 1991. pp. 663-701.

153. Johnson LJ, Meacham SL, Kruskall LJ. The antioxidants-vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids. *J Agromedicine* 2003; **9(1)**: 65-82.
154. Brown KM, Arthur JR. Selenium selenoproteins and human health: a review. *Public Health Nutrition* 2001; **4**: 593-599.
155. Türkiye'ye özgü besin ve beslenme rehberi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü. Erişim Tarihi: 16.03.2017, http://www.bdb.hacettepe.edu.tr/TOBR_kitap.pdf.
156. Church DC, Pond WD. Basic animals nutrition and feeding. 2. Baskı. Canada. John Wiley and Sons Inc. 1982. pp. 174-177.
157. Raymond JS. Selenium metabolism and function. *J. anim. Sci* 1986; **4**: 42-49.
158. Underwood EJ. Trace element in human and animal nutrition. 4. baskı. Academic Press Inc. New York, 1977. pp. 303-346.
159. Kallistratos G, Evangelou A, Agnantis N, Fasske E, Karkabounas S, Donos A. Enhancement of the antineoplastic effect of anticarcinogens on benzo(a)pyrene-treated Wistar rats, in relation to their number and biological activity. *Cancer Let* 1994; **7**: 153-165.
160. Yang G, Chen J, Chen W. Selenium-related endemic diseases and the daily selenium requirement in humans. *World Review of Nutrition and Dietetics* 1988; **55**: 98-105.
161. Dumont JE, Corvilain B, Contempre B. The biochemistry of endemic cretinism: roles of iodine and selenium deficiency and goitrogens. *Molecular and Cellular Endocrinology* 1994; **100**: 163-166.
162. Ullery DE. Basis for regulation of selenium supplements in animal diets. *J. Anim. Sci* 1992; **70**: 3922-3927.
163. Öztürk B. Sıçanlarda alüminyumun farklı doz ve sürelerde uygulanmasının eritrosit ozmotik fragilitesi ve eser elementler üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyofizik Anabilim Dalı, İstanbul, 2011.
164. Belgemen T, Akar N. Çinkonun yaşamsal fonksiyonları ve çinko metabolizması ile ilişkili genler. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* 2004; **57(3)**: 161-166.
165. Fukada T, Yamasaki S, Nishida K. Zinc homeostasis and signaling in health and diseases: Zinc signaling. *J Biol Inorg Chem* 2011; **16(7)**: 1123-1134.
166. Salgueiro MT, Zubilliga B.M. Zinc as an essential micronutrient: a review. *Nutrition Research* 2000; **20(5)**: 737-755.
167. Roohani N, Hurrell R, Kelishadi R. and Schulin R. Zinc and its importance for human health: An integrative review. *J Res Med Sci* 2013; **18(2)**: 144-157.

- 168.Kuru A. Bleomisin uygulanan ratlarda coq10'in tüylerdeki iz mineral düzeyleri üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Van, 2011.
- 169.Pastacı N. Diyet ile alınan çinkonun metallothionein seviyesine etkisi. YÜKSEK LİSANS Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyofizik Anabilim Dalı, İstanbul, 2010.
- 170.Jurowski K, Szewczyk B, Nowak G, and Piekoszewski W. Biological consequences of zinc deficiency in the pathomechanisms of selected diseases. *J Biol Inorg Chem* 2014; **19**: 1069–1079.
- 171.Plunkett ER. Handbook of Industrial toxicology. Chemical Publishing Company Inc. New York; 1966.
- 172.Sürücüoğlu MS. Kardiyovasküler hastalıklarda mineral ve iz elementlerin önemi. *Beslenme ve diyet dergisi*, 1992; **21(1)**: 71–82.
- 173.King JC, Shames DM, Woodhouse LR. Zinc homeostasis in humans. *The Journal of Nutrition* 2000; **130**: 1360-1366.
- 174.Lönnerdal B. Dietary Factors Influencing Zinc Absorption. *J. Nutr* 2000; **130(5)**: 1378S-1383S.
- 175.Faa G, Nurchi VM, Ravarino A, Fanni D, Nemolato S, Gerosa S, Eyken PV, Geboes K. Zinc in gastrointestinal and liver disease. *Coordination Chemistry Reviews* 2008; **252**: 1257–1269.
- 176.Fredlunda K, Isakssonb M, Rossander-Hulthen L, Almgrena A, Sandberg AS. Absorption of zinc and retention of calcium: Dose-dependent inhibition by phytate. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 2006; **20**: 49–57.
- 177.Powell SR. The Antioxidant Properties of Zinc. *The Journal of Nutrition* 2000; **130(5)**: 1447S-1454S.
- 178.Halsted JA, Smith JC, Irwin MI. A conspectus of research on zinc requirements of man. *The Journal of Nutrition* 1974; **104(3)**: 345-378.
- 179.Insel P, Turner RE, Ross D. Nutrition. Second ed. Canada: Jones and Bartlett Publishers; 2004.
- 180.Sullivan JB, Krieger GR. Clinical Environmental Health and Toxic Exposures. 2nd Edition; 2001.
- 181.Zargar AH, Shah NA. Copper, zinc and magnesium levels in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Postgrad Med* 1998; **74**: 665-668.
- 182.Viktorinova A, Toserova E. Altered metabolism of copper, zinc and magnesium is associated with increase levels of glycated hemoglobin in patients with diabetes mellitus. *Metabolism Clinical and Experimental* 2009; **58**: 1477-1482.

- 183.Özdemir S. Behçet hastalarının kan ve serumlarındaki eser elementler ile viskozite ve eritrosit deformabilitesi değerlerinin, sağlıklı kişilerin benzer parametrelerine ait değerler ile karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Biyofizik A.D., İstanbul, 1996.
- 184.Aktay G, Söylemezoğlu T. Metalloiyoneinlerin Toksikolojik Önemi. *Fabad J. Pharm. Sci* 2001; **26**: 197-203.
- 185.Reinhold GJ. Trace elements-A selective survey. *Clin Chem* 1975; **21(4)**: 476-500.
- 186.Göral V. Wilson Hastalığı: 2010. *Güncel gastroenteroloji* 2010; **14(2)**: 66-75.
- 187.Sherwood RA, Pippard MJ, Peters TJ. Iron homeostasis and the assessment of iron status. *Ann Clin Biochem* 1998; **35**: 693-708.
- 188.Chulilla JAM, Colás MSR, Martín MG. Classification of Anemia for Gastroenterologists. *World Journal Gastroenterol* 2009; **15**: 4627-4637.
- 189.Ayçiçek A. Demir eksikliği anemisi tedavisinde iki ve üç değerlikli demirin oksidan ve antioksidan etkilerinin araştırılması. Uzmanlık Tezi, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Hematolojisi ve Onkolojisi Bilim Dalı, Şanlıurfa, 2012.
- 190.Barutçu A. Demir eksikliği anemisi olan doğumsal siyanotik kalp hastalıklı çocuklarda demir tedavisi öncesi ve sonrası pro-bnp düzeyleri ve kardiyak fonksiyonların karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Adana, 2016.
- 191.Lansowsky P. Manuel of Pediatric Hematology and Oncology, Fourth ed., Academic Pres, Elsewier, USA; 2005. pp. 31-46.
- 192.Vural H, Erel Ö, Koçyiğit A, Sabuncu T. Demir eksikliği anemisi eritrositlerinde oksidatif stres. *Genel Tıp Dergisi* 1997; **7(2)**: 77-80.
- 193.Aksoy M. Beslenme Biyokimyası. Ankara: Hatipoğlu Yayınevi; 2000.
- 194.Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Molecular Biology of the Cell: Fourth Edition.Garland Publishing INC; 2002. pp: 852-862.
- 195.Washington DC. Diet and Health Implications for Reducing Chronic Disease Risk, Committee on Diet and Health Food and Nutrition Board Commission on Life Sciences Nasional Research Council, National Academy Press; 1989.
- 196.Simzari K. 18-30 yaş arası iran kadınlarında beslenme durumu, kalsiyum ve kalsiyum emilimine yardımcı olan diğer besin öğeleri tüketiminin değerlendirilmesine yönelik bir araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Beslenme Bilimleri Programı, Ankara, 2009.
- 197.Goldberg G. Plants: Diet and Health. UK: Blackwell Publishing Press, 2003.

198. Robinson H, Mueller H ve Weigley S. Basic Nutrition, (N. Kholdi, Çev.). Tahran: Salemi Yayınevi; 2004.
199. Rakıcıoğlu N. Kalsiyum, D vitamini ve osteoporoz. 1. Basım, Ankara; 2008.
200. Baysal A. Beslenme. (10. Baskı). Ankara: Hatipoğlu Yayınevi; 2004.
201. Kaya A. Editör: Sözen, T. Metabolik kemik hastalıkları: hipokalsemi. Ankara; 2013. pp. 13-25.
202. Gürlek A. Editör: Sözen, T. Metabolik Kemik Hastalıkları: Hiperkalsemi. Ankara; 2013. pp. 6-12.
203. Simmons A. Hematology. *A Combined Theoretical and Technical Approach* 1997; **19**: 283-286.
204. Williams WJ, Beutler E, Erslev AJ, Lichtman MA. Hematology. 4. Edition International edition ed; 1991. pp. 1726-1727.
205. Karabulut İ. Toluenin in vitro ve in vivo olarak eritrosit zar stabilitesine etkisi. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2007.
206. Brecher G, Bessis M. Present Status of Spiculed Red Cells and Their Relationship to the Discocyte-Echinocyte Transformation: A Critical Review. *Blood* 1972; **40(3)**: 333-344.
207. Tiftik N. İnsan eritrositlerinde rho/rho-kinaz sinyal ileti mekanizmasının fonksiyonel önemi. Doktora Tezi, Mersin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji Anabilim Dalı, Mersin, 2009.
208. Chiu D, Kuypers F, Lubin B. Lipid peroxidation in human red cells. *Semin Hematol* 1989; **26(4)**: 257-276.
209. Jain SK. The accumulation of malonyldialdehyde, a product of fatty acid peroxidation, can disturb aminophospholipid organization in the membrane bilayer of human erythrocytes. *J Biol Chem* 1984; **259(6)**: 3391-3394.
210. Shinar E, Rachmilewitz E. Oxidative denaturation of red blood cells in thalassemia. *Semin Hematol* 1990; **27(1)**: 70-82.
211. Jain SK, Mohandas N, Clark MR, Shohet SB. The effect of malonyldialdehyde, a product of lipid peroxidation, on the deformability, dehydration and ⁵¹Cr-survival of erythrocytes. *Br J Haematol* 1983; **53(2)**: 247-255.
212. Jain SK. Hyperglycemia Can Cause Membrane Lipid Peroxidation and Osmotic Fragility in Human Red Blood Cells. *The Journal Biological Chemistry* 1989; **264(35)**: 21340-21345.
213. Srour MA, Bilto YY, Juma M, Irhimeh MR. Exposure of human erythrocytes to oxygen radicals causes loss of deformability, increased osmotic fragility, lipid

- peroxidation and protein degradation. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* 2000; **23**: 13-21.
214. Allegra M, Gentile C, Tesoriere L, Livrea MA. Protective effect of melatonin against cytotoxic actions of malondialdehyde: an in vitro study on human erythrocytes. *Journal of Pineal Research* 2002; **32**: 187-193.
215. Suboh SM, Bilto YY, Aburjai TA. Protective effects of selected medicinal plants against protein degradation, lipid peroxidation and deformability loss of oxidatively stressed human erythrocytes. *Phytotherapy Research* 2004; **18**: 280-284.
216. Worthing CR. and Walker SB. The pesticide Manual, 8th ed., British Crop Protection Council Thornton Heath, UK; 1987.
217. Kalender Y, Kaya S, Durak D, Uzun FG, Demir F. Protective effects of catechin and quercetin on antioxidant status, lipid peroxidation and testis-histoarchitecture induced by chlorpyrifos in male rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 2012; **33**: 141-148.
218. Hassani S, Sepand MR, Jafari A, Jaafari J, Rezaee R, Zeinali M, Tavakoli F, Razavi-Azarkhiavi K. Protective effects of curcumin and vitamin E against chlorpyrifos-induced lung oxidative damage. *Hum Exp Toxicol* 2015; **34(6)**: 668-76.
219. Xu MY, Wang P, Sun YJ, Wu YJ. Metabolomic analysis for combined hepatotoxicity of chlorpyrifos and cadmium in rats. *Toxicology* 2017; **384**: 50-58.
220. Xu MY, Sun YJ, Wang P, Xu HY, Chen LP, Zhu L. and Wu YJ. Metabolomics analysis and biomarker identification for brains of rats exposed subchronically to the mixtures of low-dose cadmium and chlorpyrifos. *Chemical Research in Toxicology* 2015; **28**: 1216-1223.
221. Ezzi L, Belhadj SI, Haouas Z, Sakly A, Grissa I, Chakroun S. vd. Histopathological and genotoxic effects of chlorpyrifos in rats. *Environ Sci Pollut Res Int* 2015; **23(5)**: 4859-4867.
222. Yazdinezhad A, Abbasian M, Hojjat Hosseini S, Naserzadeh P, Agh-Atabay AH, Hosseini MJ. Protective effects of Ziziphora tenuior extract against chlorpyrifos induced liver and lung toxicity in rat: Mechanistic approaches in subchronic study. *Environ Toxicol* 2017. doi: 10.1002/tox.22432.
223. Saoudi M, Hmida IB, Kammoun W, Rebah FB, Jamoussi K, Feki AE. Protective effects of oil of Sardinella pilchardis against subacute chlorpyrifos-induced oxidative stress in female rats. *Arch Environ Occup Health* 2017; **10**: 1-8.
224. Suess J, Limentan D, Damashek W, Dolloft JM. A quantitative method for determination and charting of erythrocyte hypotonic fragility. *Blood* 1954; **3**: 1290-1303.

225. Beutler E. ve Kelly BM. The effect of sodium nitrite on red cell GSH. *Experientia* 1963; **19**: 96-97.
226. Buege J.A. ve Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1978; **52**: 302-10.
227. Jeyaraatnam J. Acute pesticide poisoning: a major global health problem. *World Health Stat Q* 1990; **43**: 139–144.
228. Zayed SMAD, Farghaly M, El-Maghraby S. Fate of ¹⁴C-chlorpyrifos in stored soybeans and its toxicological potential to mice. *Food and Chemical Toxicology* 2003; **41**: 767-772.
229. Wang P, Wang J, Sun Y-J, Yang L. Wu, Y-J. Cadmium and chlorpyrifos inhibit cellular immune response in spleen of rats. *Environmental Toxicology* 2017; **32**(7): 1–10.
230. Abolaji AO, Ojo M, Afolabi TT, Arowoogun MD, Nwawolor D, Farombi EO. Protective properties of 6-gingerol-rich fraction from *Zingiber officinale* (Ginger) on chlorpyrifos-induced oxidative damage and inflammation in the brain, ovary and uterus of rats. *Chemico-Biological Interactions* 2017. doi: 10.1016/j.cbi.2017.03.017.
231. Ambali SF, Ayo JO, Esievo KAN ve Ojo SA. Hemotoxicity Induced by Chronic Chlorpyrifos Exposure in Wistar Rats: Mitigating Effect of Vitamin C. *Veterinary Medicine International* 2011; **2011**: 1-7.
232. Celik I, ve Suzek H. The hematological effects of methyl parathion in rats. *J. Hazard. Mater* 2008; **153**: 1117-1121.
233. Elsharkawy EE, Yahia D, El-Nisr NA. Sub-chronic exposure to chlorpyrifos induces hematological, metabolic disorders and oxidative stress in rat: Attenuation by glutathione. *Environ Toxicol. and Pharma* 2013; **35**: 218-227.
234. Chatterjee S, Basak P, Chaklader M, Das P, Pereira JA, Chaudhuri S, Law S. Pesticide induced alterations in marrow physiology and depletion of stem and stromal progenitor population: an experimental model to study the toxic effects of pesticide. *Environ Toxicol* 2014; **29**(1): 84-97.
235. Suzuki Y, Shimizu H, Nagae Y, Fukumoto M, Okonogi H, Kadokura M. Micronucleus test and erythropoiesis: effect of cobalt on the induction of micronuclei by mutagens. *Environ. Mo. Mutagen* 1993; **22**: 101–106.
236. Uzun FG, Kalender Y. Chlorpyrifos induced hepatotoxic and hematologic changes in rats: The role of quercetin and catechin. *Food and Chem. Toxicology* 2013; **55**: 549-556.
237. Ambali SF, Abubakar AT, Shittu M, Yaqub LS, Anafi SB. ve Abdullahi A. Chlorpyrifos-induced alteration of hematological parameters in Wistar rats: ameliorative effect of zinc. *Research Journal of Environmental Toxicology* 2010; **4**(2): 55–66.

- 238.Riedl J, Posch F, Königsbrügge O, Lötsch F, Reitter E-M, Eigenbauer E, Marosi C, ve ark. Red Cell Distribution Width and Other Red Blood Cell Parameters in Patients with Cancer: Association with Risk of Venous Thromboembolism and Mortality. *PLoS One* 2014; **9(10)**: e111440.
- 239.Betrosian A, Balla M, Kafiri G, Kofinas G, Makri R, ve Kakouri A. Multiple system organ failure from organophosphate poisoning. *J.Clin.Toxicol* 1995; **33(3)**: 257-260.
- 240.Jyostana AP, Arun JP, Sanjay PG. Biochemical effects of various on sprayers of grape gardens. *Indi. J.Clin.Biochem* 2003; **18(2)**: 16-22.
- 241.Patil JN, Patil AJ, Govindwar SP. Biochemical effects of various pesticides on sprayers of grape gardens. *Indian J Clin Biochem* 2003; **18(2)**: 16–22.
- 242.Celik I, Yilmaz Z, Turkoğlu V. Hematotoxic and hepatotoxic effects of dichlorvos at sublethal dosages in rats. *Environ. Toxicol* 2009; **24**: 128-132.
- 243.Kalender Y, Uzunhisarcikli M, Ogutcu A, Acikgoz F, Kalender S. Effects of diazinon on pseudocholinesterase activity and haematological indices in rats: The protective role of Vitamin E. *Environ Toxicol Pharmacol* 2006; **22(1)**: 46-51.
- 244.Petterino C, Argentino-Storino A. Clinical chemistry and haematology historical data in control Sprague-Dawley rats from pre-clinical toxicity studies. *Exp Toxicol Pathol* 2006; **57(3)**: 213-219.
- 245.Yousef MI, Award TI, Mohamed EH. Deltamethrin-induced oxidative damage and biochemical alterations in rat and its attenuation by vitamin E. *Toxicology* 2006; **227**: 240-247.
- 246.Ogutcu A, Suludere Z, Kalender Y. Dichlorvos-induced hepatotoxicity in rats and the protective effects of vitamins C and E. *Environ Toxicol Pharmacol* 2008; **26(3)**: 355-61.
- 247.Kalender S, Ogutcu A, Uzunhisarcikli M, Acikgoz F, Durak D, Ulusoy Y, Kalender Y. Diazinon-induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes. *Toxicology* 2005; **211(3)**: 197-206.
- 248.Khan IA, Reddy BV, Mahboob M, Rahman MF, Jamil K. Effect of phosphorothionate on the reproductive system of male rats. *J Environ Sci Health* 2001; **36**: 445–456.
- 249.Tang J, Cao Y, Rose RL, Brimfield AA, Dai D, Goldstein JA, Hodgson E. Metabolism of chlorpyrifos by human cytochrome PCYP isoforms and human, mouse, and rat liver microsomes. *Drug Metab Dispos* 2001; **29**: 1201–1204.
- 250.Ambali S, Akanbi O, Igbokwe N, Shittu M, Kawu AJ. Evaluation of sub-chronic chlorpyrifos poisoning on haematological and serum biochemical changes in mice and protective effect of vitamin C. *J Toxicol Sci* 2007; **32**: 111.

251. Manna S, Bhattacharyya D, Mandal TK, Das S. Repeated dose toxicity of deltamethrin in rats. *Indian Journal of Pharmacology* 2004; **37(3)**: 160–164.
252. Gokcimen A, Gulle K, Demirin H, Bayram D, Kocak A, Altuntas I. Effects of diazinon at different doses on rat liver and pancreas tissues. *Pest Biochem Physiol* 2007; **87**: 103–108.
253. Sharma S. ve Chadha P. Induction of neurotoxicity by organophosphate pesticide chlorpyrifos and modulating role of cow urine. *Springerplus* 2016; **5(1)**: 1344.
254. Sancho E, Fernandez-Vega C, Sanchez M, Ferrando MD, Andreu-Moliner E. Alterations on Ache Activity of The Fish *Anguilla Anguilla* as Response to Herbicide-Contaminated Water. *Ecotoxicol Environ Saf* 2000; **46(1)**: 57-63.
255. Kamal KM, Al-Jafari AA. Acetylcholinesterase Inhibition By Diazinon: A Dual Substrate Model for Kinetic Study. *Journal of Physiology-Paris* 1998; **26**: 105–119.
256. Nemcsok J, Bálint T, Fazakas J, Katai F, Kiss I, Hieu L, Kufcsak O, Láng G, Polyhos C, Szabo I, Szegletes T. The Contribution of A Pyrethroid Insecticide to The Massive Eel (*Anguilla anguilla*) Devastation, in Lake Balaton, in 1995. *Acta Biol Hung* 1999; **50(1-3)**: 161-167.
257. Midtling JE, Barnett PG, Coye MJ, Velasco AR, Romero P, Clements CL, O'Malley MA, Tobin MW, Rose TG, Monosson IH. Clinical management of field worker organophosphate poisoning. *West J Med* 1985; **142**: 514-518.
258. Jortner BS. Effect of stress at dosing on organophosphate and heavy metal toxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2008; **233**: 162–167.
259. Singh V, Panwar R. In vivo antioxidative and neuroprotective effect of 4-Allyl-2-methoxyphenol against chlorpyrifos-induced neurotoxicity in rat brain. *Mol Cell Biochem* 2014; **388(1-2)**: 61-74.
260. Türkmen R, Özdemir M. Klorprifos-Etil Uygulanan Diyabetli Ratlarda Likopenin Antioksidan ve Hipoglisemik Etkilerinin Araştırılması. *Kocatepe Vet J* 2015; **8(1)**: 1-17.
261. Uchendu C, Ambali SF, Ayo JO, Esievo KAN. The protective role of alpha-lipoic acid on long-term exposure of rats to the combination of chlorpyrifos and deltamethrin pesticides. *Toxicology and Industrial Health* 2017; **33(2)**: 159–170.
262. Eaton DL, Daroff RB, Autrup H, Bridges J, Buffler P, Costa LG, Coyle J, McKhann G, Mobley WC, Nadel L, Neubert D, Schulte-Hermann R, Spencer PS. Review of the toxicology of chlorpyrifos with an emphasis on human exposure and neurodevelopment. *Crit Rev Toxicol* 2008; **2**: 1-125.
263. Kaya E. Klorprifos ve deltamethrin'in kan ve beyin lipid peroksidasyon ve antioksidan enzim aktivitelerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, 2005.

264. Urano S. The role of vitamin E in blood and cellular ageing. In: Lester P, Fuch J (eds.) Vitamin E in health and disease. New York, NY: Marcel Decker; 1993.
265. Combs GF. The vitamins: fundamental aspects in nutrition and health. 2nd ed. San Diego, CA: Academic Press; 1988.
266. Surai PF. Review of cellular antioxidant defences— vitamin, mineral, enzyme antioxidant defences. Meeting of Society of Feed Technologists, UK; 2001.
267. Ambali SF, Ayo JO, Ojo SA, Esievo KAN. Vitamin E protects rats from chlorpyrifos-induced increased erythrocyte osmotic fragility in Wistar rats. *Food Chem Toxicol* 2010; **48**: 3477-3480.
268. Chidiebere U, Ambali SF, Ayo JO, Esievo KAN. Acetyl-L-carnitine attenuates haemotoxicity induced by subacute chlorpyrifos exposure in Wistar rats. *Der Pharmacia Lettre* 2011; **3(2)**: 292-303.
269. Uchendu C, Ambali SF, Ayo JO, Esievo KAN, Umosen AJ. Erythrocyte osmotic fragility and lipid peroxidation following chronic co-exposure of rats to chlorpyrifos and deltamethrin, and the beneficial effect of alpha-lipoic acid. *Toxicology Reports* 2014; **1**: 373-378.
270. López-Revuelta A, Sánchez-Gallego JI, Hernández- Hernández A, Sánchez-Yagüe J, Llanillo M. Membrane cholesterol contents influence the protective effects of quercetin and rutin in erythrocytes damaged by oxidative stress. *Chemico-Biological Interactions* 2006; **161**: 79-91.
271. Hazarika A, Sarkar SN, Hajore S, Kataria M, Malik JL. Influence of malathion pretreatment on the toxicity of anilofos in male rats: Biochemical interaction study. *Toxicology* 2003; **185**: 1-8.
272. Zhu LZ, He YP, Piao JH, Cai QY, Sun CP, Chang JZ, Wu K, Cong JP. Difference of Antioxidative Effect Between Vitamin E and Selenium. *Lipid-Soluble Antioxidants: Biochemistry and Clinical Applications*, Part of the series Molecular and Cell Biology Updates; 1992. pp. 92-104.
273. Aydın A, Sayal A, İşimer A. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemi. *Gülhane Askeri Tıp Akademisi Yayınları*, Ankara, 2001; **20**: 38-53.
274. Mosbah R, Yousef MI, Maranghi F, Mantovani A. Protective role of Nigella sativa oil against reproductive toxicity, hormonal alterations, and oxidative damage induced by chlorpyrifos in male rats. *Toxicology and Industrial Health* 2014; **32(7)**: 1-12.
275. Gryspeerdt S, Van Hoe L, Marchal G, Baert AL. Evaluation of hepatic perfusion disorders with double-phase spiral CT. *Radiographics* 1977; **17**: 337-348.
276. Al-Attar AM. Vitamin E attenuates liver injury induced by exposure to lead, mercury, cadmium and copper in albino mice. *Saudi J Biol Sci* 2011; **18(4)**: 395-401.

277. Atik U. Mark's Temel Tıbbi Biyokimyası: Klinik Yaklaşım. (Erden-İnal, M., Atik, U., Aksoy, N., Haşimi, A.) Karaciğer Metabolizması, 2.Baskı, Öncü Basımevi, İstanbul; 2007. pp. 842.
278. Klahr S. Structure and function of the kidney. Cecil Textbook of Medicine. Wyngaarden JB, Smith LL (eds). WB Saunders Company, Philadelphia; 1988. pp. 508-520.
279. Zlokovic BV. Neurovascular pathways to neurodegeneration in Alzheimer's disease and other disorders. *Nature Reviews Neuroscience* 2011; **12**: 723-738.
280. Pardridge WM. Drug delivery to the brain. *J. Cereb. Blood Flow Metab* 1997; **17**: 713-731.
281. Köksel T, Güteryüz A. Kan beyin bariyeri. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2001; **1**: 94-99.
282. Abbott NJ. Dynamics of CNS barriers: evolution, differentiation, and modulation. *Cell Mol Neurobiol* 2005; **25(1)**: 5 – 23.
283. Nasr HM, El-Demerdash FM, El-Nagar WA. Neuro and renal toxicity induced by chlorpyrifos and abamectin in rats: Toxicity of insecticide mixture. *Environ Sci Pollut Res Int* 2016; **23(2)**: 1852-1859.
284. Tanvir EM, Afroz R, Chowdhury M, Gan SH, Karim N, Islam MN, Khalil MI. A model of chlorpyrifos distribution and its biochemical effects on the liver and kidneys of rats. *Hum Exp Toxicol* 2016; **35(9)**: 991-1004.
285. Gültekin F, Ozturk M, Akdogan M. The effect of organophosphate insecticide chlorpyrifos-ethyl on lipid peroxidation and antioxidant enzymes (in vitro). *Archives of Toxicology* 2000; **74**: 533-538.
286. Karaoz E, Gültekin F, Akdogan M, Oncu M, Gokcimen A. Protective role of melatonin and a combination of vitamin C and vitamin E on lung toxicity induced by chlorpyrifos-ethyl in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology* 2002; **54**: 97-108.
287. Öncü M, Gültekin F, Karaöz E, Altuntaş İ, Delibaş N. Klorprifos-Etil Tarafından Oluşturulan Oksidatif Hasarın Sıçan Karaciğerine Etkileri. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2002; **22(1)**: 50-5.
288. Tripathi S, Srivastav AK. Liver profile of rats after long-term ingestion of different doses of chlorpyrifos. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2010; **97**: 60-65.
289. Mascio PD, Murphy ME, Sies H. Antioxidant defense system: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *Am. J. Clin. Nutr* 1991; **53**: 194–200.
290. Hayes JD, Flanagan JU, Jowsey IR. Glutathione transferases. *Annu. Rev Pharmacol Toxicol* 2005; **45**: 51–88.

- 291.Cathcart RF. Vitamin C: the nontoxic, nonrate-limited, antioxidant free radical scavenger. *Med. Hypothesi* 1985; **18**: 61–77.
- 292.Bebe FN, Panemangalore M. Exposure to low doses of endosulfan and chlorpyrifos modifies endogenous antioxidants in tissues of rats. *Journal of Environmental Science and Health B* 2003; **38**: 349–363.
- 293.Köksal C, Konukoğlu D, Ercan M, Arslan C, Kazımoğlu K, Bozkurt K. Periferik arter hastalarında lipit peroksidasyonu ve antioksidan kapasite. *Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahi Dergisi* 1999; **7**: 244-246.
- 294.Hammadeh ME, Flippas A, Hamad MF. Reactive oxygen species and antioxidant in seminal plasma and their impact on male fertility. *International Journal of Fertility and Sterility* 2009; **3**: 87-110.
- 295.Zal F, Mosfatavi-Pour Z, Vessal M. Comparison of the effects of vitamin E and/or quercetin in attenuating chronic cyclosporine A-induced nephrotoxicity in male rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 2007; **34**: 720-724.
- 296.Combs GF, Combs SB. The nutritional biochemistry of selenium. *Ann. Rev. Nutr* 1984; **4**: 257–80.
- 297.McPherson A. Selenium vitamin E and biological oxidation. In: Cole DJ, Garnsworthy PJ, editors. Recent advances in animal nutrition. Oxford: Butterworth and Heinemann's; 1994. pp. 3– 30.
- 298.Gan L, Liu Q, Xu HB, Zhu YS, Yang XL. Effects of selenium overexposure on glutathione peroxidase and thioredoxin reductase gene expressions and activities. *Biol Trace Elem Res.* 2002; **89(2)**: 165-75.
- 299.Ognjanovic BI, Markovic SD, Pavlovic SZ, Zikic RV, Stajin AS, Saicic ZS. Effect of chronic cadmium exposure on antioxidant defense system in some tissues of rats: protective effect of selenium. *Physiol. Res* 2008; **57**: 403–411.
- 300.Kaymak S, Serim AT. Pestisit Sektöründe Araştırma ve Geliştirme. *Fruit Science* 2015; **2(1)**: 27-34.
- 301.Deveci T. Gaziantep'te atık sulardan etkilenen toprak ve bitkilerde eser element (cu, co, mn ve zn) ve fe konsantrasyonlarının icp-ms ile tayini. Yüksek Lisans Tezi, Kilis 7 Aralık Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Kilis, 2012.
- 302.Kendirici M. Alzheimer hastalarının saç ve tırnaklarında eser element düzeyleri.Tıpta Uzmanlık Tezi, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı, Kayseri, 2013.
- 303.Watts DL. The Nutritional Relationships of Selenium. *Journal of Orthomolecular Medicine* 1994; **9(2)**: 111-117.
- 304.Şimşir İY, Özgen AG. Troid ve Selenyum. *Türk Jem* 2010; **14**: 76-79.

- 305.Rostan EF, DeBuys HV, Madey DL, vd. Evidence supporting zinc as an important antioxidant for skin. *Int J of Dermatol* 2002; **4**: 606-611.
- 306.Goel A, Dhawan DK. Zinc supplementation prevents liver injury in chlorpyrifos-treated rats. *Biol Trace Elem Res.* 2001; **82(1-3)**:185-200.
- 307.Halliwell B. ve Gutteridge JMC. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. *Arch. Biochem. Biophys* 1986; **246**: 501-514.
- 308.Gutteridge JMC. ve Smith A. Antioxidant protection by haemopexin of haem-stimulated lipid peroxidation. *Biochem. J* 1988; **256**: 861-866.
- 309.Jensen L. Modification of a selenium toxicity in chicks by dietary silver and copper. *J. Nutr* 1975; **105**: 769.
- 310.L'abbe MR, Fischer PWF, Chavez ER. Changes in selenium and antioxidant status during DMBA induced mammary carcinogenesis in rats. *J. Nutr.* 1989; **119**: 766-771.
- 311.Zidenberg-Cherr S, Keen CL. Essential trace elements in antioxidant processes. Trace elements, micronutrients, and free radicals. Dreosti JE, Ed. Humana Press, NJ; 1991. pp. 107-127.
- 312.Goel A, Dani V, Dhawan DK. Role of zinc in mitigating the toxic effects of chlorpyrifos on hematological alterations and electron microscopic observations in rat blood. *Springer* 2006; **19(5)**: 483–492.
- 313.Guyton AC, Hall JE. Editör: Çavuşoğlu, H., Çağlayana Yeğen, B. Tıbbi Fizyoloji, 11.Basım, Nobel Tıp Kitabevleri; 2007.
- 314.Özçelik D. Sinaptik İleti Biyofiziği. Biyofizik Ders Notları. (Editör: Dursun, Ş.). İstanbul Üniversitesi Basım ve Yayınevi Müdürlüğü, İstanbul; 2010. pp. 487-496.

ETİK KURUL KARARI



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 2015/ 79

05/11/2015

Sayın: Prof. Dr. Semra ÖZDEMİR
İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

Karar No _____ 2015/ 79

Başvuru _____ : 23.10.2015

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, aşağıda çalışma materyali belirtilen, **Araştırma Görevlisi Bahar ÖZTÜRK KURT**'a ait "Klorprifos Uygulanan Sıçanlarda Selenyumun Olası Koruyucu Etkisinin Hematolojik, Histopatolojik ve Oksidan Sistem Açısından Değerlendirilmesi" isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul ilkelerine uygun bulunmuştur.

Çalışılacak Hayvanın	Türü	Sıçan
	Cinsiyeti	Erkek
	Sayısı	56
Proje Başlangıç/Bitiş Tarihi		Kasım 2015/Şubat 2018

Prof. Dr. Alev AKDOĞAN KAYMAZ
İÜ HADYEK Başkanı

Prof. Dr. Mehmet YALDIRIK
Üye

Prof. Dr. Ufuk ÇAKATAY
Üye

Prof. Dr. İlhan İLKILIÇ
Üye

Doç. Dr. Alper OKYAR
Üye

Yardı. Doç. Dr. Altan ARMUTAK
Üye

Uzm. Vet. Hek. Fatma TEKELİ
Üye

Dr. Burak OLGUN
Mak. Yük. Müh.
Üye

Avukat Selma DEMİR
Üye

İNTİHAL RAPORU SONUCU

KLORPRİFOS UYGULANAN SIÇANLARDA SELENYUMUN OLASI KORUYUCU ETKİSİNİN HEMATOLOJİK PARAMETRELER OKSİDAN SİSTEM VE ESER ELEMENT DÜZEYLERİ AÇISINDAN İNCELENMESİ

ORJİNALLIK RAPORU

%7

BENZERLİK ENDEKSİ

%5

İNTERNET
KAYNAKLARI

%4

YAYINLAR

%2

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	kutuphane.ksu.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
2	Submitted to Yüzüncü Yıl Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
3	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	<%1
4	Eylem Taskin. "The Protection of Selenium on Adriamycin-Induced Mitochondrial Damage in Rat", Biological Trace Element Research, 01/12/2012 Yayın	<%1
5	kutuphane.pamukkale.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
6	KARACA, Turan, KARABOĞA, İhsan, BAYIROĞLU, Fahri, COMBA, Bahat, CEMEK, Mustafa and AYAZ, Ahmet. "Effects of green	<%1