

T.C.
SİNOP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DİSİPLİNLERARASI ÇEVRE SAĞLIĞI ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PRENATAL DÖNEMDE ORGANOFOBOSFORLU PESTİSİTLERE MARUZ KALAN
SIÇANLARIN HİPOKAMPUSLARI ÜZERİNE KURKUMİN VE *GANODERMA*
LUCIDUM UN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

YAZAR

Kübra ERONAT

DANIŞMAN

Dr. Öğretim Üyesi Dilek SAĞIR

SİNOP – 2019

TEZ KABUL

Kübra ERONAT tarafından hazırlanan “Pretanal Dönemde Organofosforlu Pestisitlere Maruz Kalan Sıçanların Hipokampusları Üzerine Kurkumin ve *Ganoderma Lucidum*’un Etkilerinin Araştırılması” başlıklı bu çalışma, 29.07.2019 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak, jürimiz tarafından **YÜKSEK LİSANS tezi** olarak kabul edilmiştir.

Başkan **Dr. Öğr. Üyesi Banu EREN**
Ondokuz Mayıs Üniversitesi / Fen-Edebiyat Fakültesi



Üye **Dr. Öğr. Üyesi Bilge BAL ÖZKAPTAN**
Sinop Üniversitesi / Sağlık Yüksekokulu



Üye **Dr. Öğr. Üyesi Dilek SAĞIR**
Sinop Üniversitesi / Sağlık Yüksekokulu



ETİK BEYANI

Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.


Kübra ERONAT

İÇİNDEKİLER

Sayfa

İÇİNDEKİLER	i
SEMBOLLER VE KISALTMALAR LİSTESİ	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ÖZET	x
ABSTRACT	xi
TEŞEKKÜR	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Pestisitlerin Genel Özellikleri.....	5
2.2. Pestisitlerin Türleri	6
2.3. Pestisitlerin Kullanım Amaçları.....	9
2.4. Pestisitlerin Etkisi.....	11
2.4.1. Pestisitlerin Çevre ve İnsana Olumsuz Etkileri	11
2.4.2. Pestisitlerin Hayvanlara Olumsuz Etkileri.....	14
2.4.3. Pestisitlerin Çevreye Olumsuz Etkileri.....	16
2.5. Dünya’da ve Türkiye’de Pestisit Kullanımı	18
2.6. Organofosforlu Pestisitler	20
2.7. Klorpifos	21
2.7.1. Klorprifosun Moleküler Özellikleri	21
2.7.2. Klorprifosun Etki Mekanizması	22
2.7.3. Klorprifosun Toksisitesi	22
2.8. Kurkumin	23
2.8.1. Kurkumin'in Klinik Özellikleri.....	23
2.8.2. Kurkumin'in Metabolizması.....	23
2.8.3. Kurkumin'in Moleküler Özellikleri.....	24
2.8.4. Kurkumin'in Antioksidan Etkileri.....	25
2.8.5. Kurkuminin Diğer Etkileri	25
2.9. <i>Ganoderma lucidum</i>	26
2.9.1. <i>Ganoderma lucidum</i> ’un Özellikleri	26
2.9.2. <i>Ganoderma lucidum</i> ’un Kanseri Önleyici Mekanizmaları	27

	<u>Sayfa</u>
2.10. Hipokampus.....	28
2.10.1. Hipokampusun Embriyolojik Gelişimi.....	31
2.10.2. Hipokampusun Anatomik Özellikleri.....	31
2.10.3. Hipokampusun Histolojik Yapısı.....	32
2.10.4. Hipokampusun Fonksiyonları.....	33
2.11. Stereoloji	35
2.11.1. Stereolojide Tarafsızlık ve Etkinlik.....	36
2.11.2. Stereolojide Ön Çalışma	36
2.12. Sistematik Rastgele Örneklem (SRÖ).....	38
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	39
3.1. Araştırma Uygulamalarının Yapıldığı Yer.....	39
3.2. Etik Kurul İzni	39
3.3. Farelere Uygulanan Maddeler	39
3.4. Çalışmalarda Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	39
3.5. Çalışmalarda Kullanılan Aletler	40
3.6. Deney Protokolü	40
3.7. Histolojik İşlem Basamakları	42
3.7.1. Perfüzyon ve Beyin Diseksiyonu.....	42
3.7.2. Işık Mikroskopik Doku Takip İşlemi	43
3.7.3. Kesitlerin Alınması ve Kesitlerin Cresyl Fast Violet (Krezil violet) ile Boyanması	44
3.7.4. Cresyl Fast Violet (Krezil Violet) Boya Prosedürü	44
3.7.5. Kesitlerde Hipokampus Sınırının Tespiti	45
3.7.6. Kesitlerde Nöronların Tespiti.....	45
3.7.7. İmmünohistokimyasal Analizler.....	46
3.8. Stereolojik İşlem Basamakları.....	47
3.8.1. Stereolojik Metodlar.....	47
3.9. İstatistiksel Analiz.....	55
4. BULGULAR.....	56
4.1. Deney Sırasındaki Gözlemler	56
4.2. Stereolojik Bulgular	56
4.3. Histokimyasal Bulgular	58
4.3.1. Kontrol Grubu	58

4.3.2. Klorprifos Grubu.....	59
4.3.3. Klorpirfos + <i>Ganoderma lucidum</i> Grubu	59
4.3.4. Klorprifos+ Kurkumin Grubu	60
4.3.5. Kurkumin, <i>Ganoderma Lucidum</i> ve SHAM Grubu.....	60
4.4. İmmünohistokimyasal Bulgular	67
5. TARTIŞMA	69
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	75
KAYNAKÇA	77
ÖZGEÇMİŞ.....	92



SEMBOLLER VE KISALTMALAR LİSTESİ

SEMBOLLER

°C	: Celcius (Derece)
Ca ²	: Calcium (Kalsiyum)
CO ₂	: Karbondioksit
HCl	: Hydrochloric asid (Hidroklorik asit)
kg/ha	: kilogram/hektar
µm	: Mikrometre
µm ²	: Mikrometre kare
NaCl	: Natrium Chloride (Sodyum klorür)

KISALTMALAR

AChE	: Asetilkolinesteraz
ACTH	: Adrenocorticotropic hormone (Adrenokortikotropik hormon)
ADI	: Zararsız alınabilir miktarı
Ap	: Amiloid beta peptide (Amiloid beta peptit)
C-fos	: Protoonkogen protein C (Protoonkojen protein C)
CA	: Cornu ammonis
CPF	: Chlorpyrifos (Klorprifos)
CRF	: Corticotropin releasing factor (Kortikotropin salgılayıcı faktör)
CUR I	: Kurkumin
CUR II	: DimetoksiKurkumin
CUR III	: BisdemetoksiKurkumin
CUR	: Kurkumin
DDT	: Dicloro-diphenyl trichloroethane
DEHB	: Dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu
DG	: Dentat girus
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
Dust	: Toz ilaçlar
EC veya EM	: Emülsiyon konsantre ilaçlar
EEG	: Elektroensefalografi
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü

FC	: Akıcı konsantreler
G	: Granüller
G1/S	: Mitotik interfaz evreleri
GABA	: Gama-Aminobütirik asit
GFAP	: Glial fibriller asidik proteini
GFAP	: Glial fibrillary acid protein
GNL	: <i>Ganoderma Lucidum</i>
HCB	: Hekzaklorabenzenli
HK-CE	: Uygun hata katsayısı
HK	: Hata katsayısı
HSP27	: Heat shock protein (Isı şok proteini)
IL 10	: İnterlökin 10
IL 6	: İnterlökin 6
İ/R	: İskemi reperfüzyon
KONT	: Kontrol
KPF	: Klorpirifos
KPF+GNL	: Klorprifos+ <i>Ganoderma lucidum</i>
KPF+KUR	: Klorprifos+Kurkumin
KUR	: Kurkumin
LD ₅₀	: Öldürücü doz
LTP	: Long term potentiation (Uzun süreli potansiyelizasyon)
NF-κB	: Nuclear factor kappa B (Nükleer faktör kappa B)
NGF	: Neuronal growth factor (Nöral büyüme faktörü)
NMDA	: N-metil D-aspartik asit
NO	: Nitrikoksit
NPC	: Neuronal progenitor cell (Nöronal öncü hücre)
OP	: Organophosphorus pesticide (Organofosfor pestisit)
PD	: Parkinson disease (Parkinson hastalığı)
PGE2	: Prostaglandin E2
REM	: Rapid eye movement (Hızlı göz hareketi)
RLN	: Reel
RNA	: Ribonükleik asit
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SC	: Solüsyon konsantre ilaçlar

SOD	: Superoksit dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
SP	: Suda çözünebilir toz ilaçlar
SRÖ	: Sistematik rastgele örnekleme
SSS	: Santral sinir sistemi
TCPy	: 5,6-trikloro-2-piridinol
TEPP	: Tetraetil pirofosfat
TGF- β	: Transforming growth factor beta (Transforme edici büyüme faktörü beta)
THC	: Tetra Hidro Kurkumin
TNF- α	: Tumor necrosis factor alpha (Tümör öldürü faktör alfa)
USEPA	: Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı
VEGF	: Vacular endothelial growth factor (Damar endotel büyüme faktörü)
WHO	: World Health Organisation (Dünya sağlık örgütü)
WP	: Islanabilir toz ilaçlar
XD	: Ksantin dehidrogenaz
XO	: Ksantin oksidaz

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Kurkuminin metabolitleri	24
Şekil 2.2. <i>Ganoderma lucidumun</i>	27
Şekil 3.1. A. Gebe sıçanlara gavaj yoluyla ilaç verilmesi, B. Bir gebe sıçandan elde edilen yavrular.....	41
Şekil 3.2. Dört haftalık sıçanlar.....	42
Şekil 3.3. Sıçanlara, intrakardiyak perfüzyon yöntemiyle önce %0.9 NaCl daha sonra, %10'luk tamponlanmış nötral formalin verilmesi, B. Sıçan beyni diseksiyonu.....	43
Şekil 3.4. Hipokampusun CA3 bölgesindeki nöronlar. N: nöron	46
Şekil 3.5. Stereo-Investigator (sürüm 6.0, Microbrightfield, Colchester, VT).....	48
Şekil 3.6. Sayım yapılacak alanın(hipokampus) belirlenmesi ve dış hatlarının çizilmesi	49
Şekil 3.7. Dış hatları çizilen hipokampus kesiti üzerine optik parçalama prensibine göre x-y ekseninde optik disektör sondalarının yerleştirilmesi.....	49
Şekil 3.8. Optik disektör sondası (tarafsız sayım çerçevesi)	50
Şekil 3.9. Optik Disektör İçine Düşen Nöronların İşaretlenmesi	50
Şekil 3.10. Beyin dokusu kesitleri üzerine noktalı alan cetvelinin uygulanması.....	52
Şekil 3.11. Hipokampus kesitleri üzerine düşen noktaların işaretlenmesi.....	53
Şekil 4.1. Hipokampustaki toplam piramidal nöron sayısı bakımından tüm gruplar arasındaki farklılıklar grafikte gösterilmiştir	57
Şekil 4.2. Kontrol grubuna ait beyin dokusundaki hipokampusun ışık mikroskopik kesit görüntüleri. CA1, CA2, CA3 hipokampus bölgeleri, DG; dentat girus'u, beyaz ok sağlıklı nöronu göstermektedir. Boya: Krezil violet. A. X40, B. X400, C. X400, D. X1000. Boya: Krezil violet.....	61
Şekil 4.3. Klorprifos grubuna ait beyin dokusundaki hipokampusun ışık mikroskopik kesit görüntüleri. CA1, CA2, CA3 hipokampus bölgeleri, DG; dentat girus, Beyaz oklar sağlıklı nöronlara işaret ederken, beyaz ok başları dejenere nöronları göstermektedir. A. X40, B. X400, C. X400, D. X1000. Boya: Krezil violet	62
Şekil 4.4. Klorprifos+ <i>Ganoderma lucidum</i> grubuna ait beyin dokusundaki hipokampusun ışık mikroskopik kesit görüntüleri. CA1, CA2, CA3 hipokampus bölgeleri, DG; dentat girus, Beyaz oklar sağlıklı nöronlara işaret ederken, beyaz ok başları dejenere nöronları göstermektedir. A. X40, B. X400, C. X400, D. X1000. Boya: Krezil violet	63
Şekil 4.5. Klorprifos+Kurkumin grubuna ait beyin dokusundaki hipokampusun ışık mikroskopik kesit görüntüleri. CA1, CA2, CA3 hipokampus bölgeleri, DG; dentat girus, Beyaz oklar sağlıklı nöronlara işaret ederken, beyaz ok başları dejenere nöronları göstermektedir. A. X40, B. X200, C. X200, D. X1000. Boya: Krezil violet	64
Şekil 4.6. <i>Ganoderma lucidum</i> grubuna ait beyin dokusundaki hipokampusun ışık mikroskopik kesit görüntüleri. CA1, CA2, CA3 hipokampus bölgeleri, DG; dentat girus, Beyaz oklar sağlıklı nöronlara işaret ederken, beyaz ok başları dejenere nöronları göstermektedir. A. X40, B. X200, C. X400, D. X1000. Boya: Krezil violet	65

- Şekil 4.7.** Kurkumin grubuna ait beyin dokusundaki hipokampusun ışık mikroskopik kesit görüntüleri. **CA1, CA2, CA3** hipokampus bölgeleri, **DG**; dentat girus, Beyaz oklar sağlıklı nöronları göstermektedir. **A.** X40, **B.** X200, **C.** X200, **D.** X1000. Boya: Krezil violet 66
- Şekil 4.8.** GFAP (+) boyanan hücrelerin hipokampus CA bölgesindeki dağılımı. Beyaz ok: GFAP pozitif boyanan hücreler (astrositler), beyaz ok başları: nöronlar. X100 68

TABLÖLAR LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1. Bazı Avrupa Birliği ülkelerindeki birim alanda tüketilen pestisit miktarları	20
Tablo 3.1. Çiftleşme için gruplara ayrılan dişi sıçan sayıları.....	41
Tablo 3.2. Yapılan ön çalışma ile belirlenen değerler.	48
Tablo 4.1. Bütün grupların beyin dokularının hipokampuslarındaki ortalama piramidal nöron sayıları, standart sapmaları, değişim katsayıları ve her bir gruptaki sıçan sayısı	56
Tablo 4.2. Bütün grupların beyin dokularının hipokampuslarındaki piramidal hücre sayılarının gruplar arası karşılaştırmalarından elde edilen p değerleri	57
Tablo 4.3. Tüm gruptaki sıçanlara ait beyin kesitlerinde hipokampusların genelinde GFAP pozitif boyanan hücrelerin boyanma yoğunluğuna göre gruplar arasındaki skorlama	67

ÖZET

PRETANAL DÖNEMDE ORGANOFOFORLU PESTİSİTLERE MARUZ KALAN SIÇANLARIN HIPOKAMPUSLARI ÜZERİNE KURKUMİN VE *GANODERMA LUCIDUM*'UN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Klorprifos (KPF), tüm dünyada yaygın olarak kullanılan organofosforlu pestisit grubundandır. KPF'ye maruz kalmanın nörotoksositeye neden olduğu yapılan pek çok çalışma ile gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı, prenatal dönemde klorprifos maruziyetinin gelişmekte olan sıçan hipokampusu üzerindeki muhtemel etkilerine dikkat çekmek ve bu etkilerin çeşitli antioksidan maddelerle azaltılıp azaltılmayacağını ortaya koymaktır.

Her grupta 8-10 haftalık, 200-250 gr ağırlığında Wistar albino türü 3 adet gebe sıçan bulunacak şekilde 21 dişi sıçan; Klorprifos (KPF), Kurkumin (KUR), *Ganoderma Lucidum* (GNL), Klorprifos+Kurkumin (KPF+KUR), Klorprifos+*Ganoderma lucidum* (KPF+GNL) SHAM ve Kontrol (KONT) olmak üzere 7 gruba ayrıldı. Gebe dişi sıçanlara, KPF grubuna 5mg/kg klorprifos, KUR verilen tüm gruplara 100 mg/kg kurkumin, GNL verilen tüm gruplara 400mg/kg *Ganoderma lucidum* gebelikleri boyunca her gün günde bir kez olmak üzere gavaj yoluyla verildi. KUR ve KPF mısır yağı kullanılarak verildiği için SHAM grubundaki sıçanlara aynı hacimde mısır yağı gebelikleri boyunca her gün günde bir kez olmak üzere gavaj yoluyla verildi. Daha sonra, beyin dokularından alınan örnekler histopatolojik, stereolojik ve immunohistokimyasal yöntemlerle değerlendirildi. Sıçan cornu ammonis (CA)'indeki piramidal nöron sayısı optik parçalama yöntemi kullanılarak hesaplandı. Yapılan stereolojik analizler sonucunda KPF grubunun hipokampusunda piramidal nöron sayısının diğer tüm gruplardan önemli derecede azaldığı tespit edildi. Buna karşılık KPF+KUR ve KPF+GNL gruplarında ise nöron sayısının KPF grubuna göre belirgin düzeyde daha fazla olduğu belirlendi. Histopatolojik analizlerde, KPF gruplarında hücre ve çekirdek sınırı net olmayan çok sayıda hücre olduğu görülürken, KPF+KUR ve KPF+GNL gruplarındaki nöronların, kontrol grubundaki nöron yapısına daha yakın bir görünümde oldukları gözlemlendi. Ayrıca bir ara filament proteini olan glial fibriller asidik proteini (GFAP) tespit etmek için yaptığımız immünohistokimyasal analizlerde, KPF grubundaki sıçanların hipokampuslarındaki tüm alanlarda GFAP ekspresyonunun, kontrol grubuna göre oldukça fazla olduğu, KPF+KUR ve KPF+GNL gruplarında ise KPF grubuna göre daha az olduğu görüldü.

Sonuç olarak KPF'nin prenatal dönemde uygulanması beyin hipokampusunda nörotoksositeye neden olmuş, buna karşılık KUR ve GNL, KPF'nin neden olduğu bu toksiteyi indirgemıştır.

Anahtar kelimeler: Klorprifos, Kurkumin, *Ganoderma lucidum*, Hipokampus, Stereoloji

ABSTRACT

THE EFFECTS OF CURCUMIN AND *GANODERMA LUCIDUM* ON RAT WHICH WERE EXPOSED TO ORGANOPHOSPHORUS PESTICIDES DURING PRETANAL LIFE

Chlorpyrifos (CPF) is a widely used organophosphorus pesticides all over the world. Multiple studies have proved the neurotoxic effects of CPF. The purpose of this study is to highlight the potential effects of CPF exposure in rat hippocampus, which are in development stage, and whether these effects might be decreased by implementing various antioxidant substances.

Seven groups were set off. Each individual group consist of 8-10 weeks old, 200-250 gr weighing 3 pregnant female Wistar albino rats. The groups were divided as follows: Chlorpyrifos (CPF), Curcumin (CUR), *Ganoderma lucidum* (GNL), Chlorpyrifos + Curcumin (CPF+CUR), Chlorpyrifos + *Ganoderma lucidum* (CPF+GL), SHAM and control. The test subjects were administered with 5mg/kg CPF, 100mg/kg CUR and 400mg/kg GNL by using gavage once daily during pregnancy. Hence, CUR and CPF were given with corn oil together, SHAM group received once a day the same amount of corn oil only. Eventually brain tissues were excised for histopathologic, stereologic and immunohistochemical evaluation. Neuron cells in rat's cornu ammonis has been evaluated quantitative by using optic fractionator.

Stereologic analysis shows that pyramidal neuron cells in hippocampus in CPF group has decreased significantly compared to other groups. Though, neuron cells in CPF+CUR and CPF+GNL groups has increased compared to CPF group. In histopathologic examination, neuron cells in CPF group didn't have distinct cytoplasmic and nuclear borders, whereas the neuron cells in CPF+CUR and CPF+GNL groups appear to be quite similar to those in control group. In immunohistochemical evaluation, the expression rate of glial fibrillary acidic protein (GFAP), a neurofilament protein, was higher in CP group's hippocampus compared to control group, whereas in CPF+CUR and CPF+GNL groups expression rate was lower in contrast with CPF group.

The results of this study shows that exposure to CPF in prenatal life has neurotoxic effects on hippocampus, on the other hand CUR and GNL reduces CPF related toxicity.

Key Words: Chlorpyrifos, Curcumin, *Ganoderma lucidum*, hippocampus, Stereology

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın; planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ve uygulanmasında ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren değerli danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Dilek SAĞIR'a minnetle sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım boyunca maddi ve manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan aileme ve değerli eşim Dr. Öğr. Üyesi Ömer ERONAT'a da sonsuz teşekkürler ederim.

Bu çalışma, Sinop Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Koordinatörlüğü **SYO-1901-16-36** numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Kübra ERONAT

1. GİRİŞ

Artan dünya nüfusu ve küresel ısınmanın etkisi ile günümüzün önemli sorunlarından biri, besin ihtiyacını karşılayacak tarım alanlarının kısıtlı olmasıdır. FAO (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü) verilerine göre dünya üzerinde milyonlarca insan yeterli beslenme imkanına sahip değil ve bunun sonucu olarak her yıl açlıktan binlerce insan ölmektedir. Bitkiler ise besin kaynağı olarak önemli bir yere sahiptir. Ancak bu bitkilerin yetiştirilmesi esnasında karşılaşılan birçok zararlı mevcuttur. Bunlar yabancı ot, nematod, tarımsal ürünlere zarar veren mikroorganizmalar ve böcek çeşitleridir. Bitkilerle elde edilen gıda ürünleri bu zararlılar tarafından 1/3 oranında tahrip edilmektedir. Bununla birlikte artan dünya nüfusu ve küresel ısınmanın etkisiyle tarım alanları gün geçtikçe azalmaktadır (Ağar ve ark., 1991, Kligerman ve ark., 2000). Ortaya çıkan beslenme problemini çözümüyle öncelikli olarak tarım alanlarından maksimum düzeyde ürün sağlanabilmesi hedeflenmiş ve bu yöndeki çalışmalar hız kazanmıştır (Öğüt ve Seçilmiş., 2009). Bu nedenle bu zararlılara karşı mücadele oldukça önem arz etmektedir ve ekosistemi tahrip eden bu zirai ilaçlardan tamamen vazgeçmek mümkün değildir. Dünya nüfusunun beslenme ihtiyacının karşılanması, tarımda birim alandan alınan ürün miktarının artması, iyi tohum kullanımı, gübreleme, sulama, toprak hazırlama gibi faktörlerin yanında hastalık ve zararlılarla mücadele ile mümkün olmaktadır (Öncüler, 1995). Pestisitler, tarım alanlarına zarar veren nematod, yabancı ot böcek gibi zararlıları ve bitki hastalıklarıyla mücadele, tarımsal ürünlerde kalite ve verimliliğin artırılmasında, hasattan önce ve sonra kayıpların önlenmesinde önem teşkil etmektedir. Ülkemizde ve dünya üzerinde daha olumlu sonuçlar ve kesin çözüm verdiği için kimyasal ilaç kullanımı yoğundur. Bu amaçla kullanılan kimyasallar (sentetik, doğal ve biyolojik), bitki koruma ürünleri olarak ulusal mevzuata göre kullanılmaktadır (Anonim, 2010).

Türk Gıda Kodeksi bitki koruma ürünlerini; tarımsal ürünlerin üretimi, işlenmesi, depolanması, taşınması ve dağıtılması sırasında hastalığın, zararlıların, yabancı otların ve mikroorganizmaların kontrol edilmesi, uzaklaştırılması, imha edilmesi ve önlenmesi amacıyla kullanılan, bitki gelişimini düzenleyiciler dahil, kimyasal maddeler olarak tanımlamaktadır. Bitkilerin büyümesini düzenleyen, yaprak düşüren, filizlenmeyi önleyen maddeler de bu tanım kapsamına girmektedir (T.C. Resmi Gazete, 2016).

Pestisit kullanımı ise dünya üzerinde açlıkla savaş için besinlerin ve tarım arazilerinin korunması açısından ekonomik faydalar sağlamaktadırlar; ancak faydalarının yanında zararları da görmezden gelinmemelidir. Geniş bir alanda bıraktıkları kalıntılarla su, toprak, hava ve besin kirlenmesine sebep olarak, ekolojik sistemin dengesini bozmaktadır. Her ne

kadar pestisitlerin kullanılmasının bazı yararları olsa da insanlar ve diğer canlılar için potansiyel toksisitelerinden dolayı önemli sorunlara yol açmaktadır (Vural, 2005).

Başlıca pestisit gurubu olan organofosfatlar, karbamatlar, organoklorlular ve piretroidlerdir. Organofosfatlar, fosfor içeren asitlerin ester, tiol ester veya anhidrit türevleri olup tarımda, evlerde, bahçelerde ve veterinerlikte kullanılmaktadır. Organofosfatlara örnek olarak malation, paration, diazinon, forat, terbufos, fentiyon ve klorprifos gibi insektisitler; soman, sarin ve tabun gibi sinir gazları; göz tedavisi için kullanılmakta olan ekotiofat ve izofluroat ile parazitlere karşı kullanılan triklorfon sayılabilir. Organofosfatlar sinir sistemi üzerine etkisi olan kimyasallar olarak bilinmektedir (Güler ve Çobanoğlu, 2001).

Organofosforlu insektisitlerin bilinçlendirilmeden kullanımı ve insektisit artıklarının ekosisteme olumsuz yönde etkisi vardır. Bu grup insektisiklerin geniş ölçüde kullanımı hedef olmayan canlılarda zehirlenmelere ve ölümlere neden olmaktadır (Chung ve ark., 2002).

Günümüzde en çok kullanılan insektisitler arasında organik fosforlu bileşikler gelmektedir. Organik fosforlu bileşikler ilk olarak 1854 yılında Tetraetilpirofosfat (TEPP) olarak sentezlenmiştir. Bu bileşikler Almanya'da başlangıçta pestisit olarak daha sonra kimyasal silah olarak araştırılmıştır. Bu araştırmalar sırasında 1937 yılında sarin ve tabun üretilmiş, 1944'te somon bulunmuştur. Organik Fosforlu bileşikler ilk olarak 2. Dünya Savaşı'nda kimyasal silah olarak kullanılmıştır. Son yıllarda birçok organik fosforlu bileşik üretilmiştir. Organik fosforlu bileşikler hem tarımsal mücadelede hem de hayvan hastalıklarıyla mücadelede antelmantik ve insektisit olarak sıklıkla kullanılmaktadır (Bajgar, 2005).

Organik fosforlu insektisitlerden biri de klorprifostur ve tarım zararlılarının kontrolünde sıklıkla kullanılır. Klorprifos'un insan sağlığına karşı riskleri üzerine, Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (USEPA) tarafından 2000 yılında evde kullanımı yasaklanmıştır; fakat günümüzde halen tarım, ev, bahçe ve çim alanlarındaki böcek ve eklem bacaklılarla mücadele amacıyla geniş spektrumlu bir insektisit olması nedeniyle klorprifos kullanılmaktadır (Iyer ve Kaufman, 2008).

Klorpifos diğer organofosfatlardaki gibi hedef dokuda asetilkolin esterase aktivitesini inhibe ederek etkili olmaktadır (Mansour ve Mossa, 2009; Kalender ve ark., 2012). Alınan dozla bağlantılı olarak toksisitesi yüksek olan bir organofosfat olan KPF'nin, yapılan çalışmalarla mutajenik, teratojenik ve karsinojenik etkiler gösterdiği bildirilmiştir (Frag ve ark., 2003). Ayrıca klorprifosun birçok dokuda serbest oksijen radikallerinin üretimini

artırarak oksidatif strese neden olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (Amri ve ark., 2016; Attia ve ark., 2012; Shittu ve ark., 2012; Joshi ve ark., 2007). Klorprifos uygulamasının ratlarda serbest radikal oluşumunu artırdığı, özellikle perivasküler alanda artışa neden olarak mononükleer ve polimorfonükleer hücrelerin gözlenmesine neden olduğu, ayrıca kolajen miktarını artırdığı ve mast hücrelerinde hiperplaziye sebep olduğu da bildirilmiştir (Öncü ve ark., 2002).

Kurkuminin antioksidan özellikleri ile böbrek, kalp, beyin dokusu ile karaciğerde oluşan hasarlarda oksidatif stresi ve doku hasarlarını azalttığı gösterilmiştir (Thiyagarajan ve Sharma, 2006). Kurkumin antioksidan etkinliğini, ksantin dehidrogenaz (XD)'ın ksantin oksidaz (XO)'a dönüşümünün önlenmesi, lipid peroksidasyonu oluşumunun engellenmesi ve iskemik ortamda bulunan süperoksit radikallerini toplayarak göstermektedir. Kurkumin katalaz, superoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz enzimlerinin aktivitelerini artırarak hücre zarında bulunan lipidlerin peroksidasyonunu azaltır. Kurkuminin, histon modifikasyonunu azaltarak, gen ekspresyonunun kromatin düzeyindeki hasarını iyileştirdiği gösterilmiştir. Kurkumin, oksidatif stresin indüklediği nöronal hücre ölümünde belli düzeyde nöron koruyucu etki sağlamaktadır (Işık, 2000).

Ganodermataceae familyasına ait ve tıbbi bir mantar olan *Ganoderma lucidum* 2000 yıldan beri Asya ülkelerinde tüketilmektedir ve son yıllarda batı topluluklarında da ilgi görmeye başlamış ve tüketilmeye başlanmıştır. Ağaçsı dokuya sahip ve parlak bir dış yüzeyi vardır. Büyük ve siyah bir yapıya sahiptir. *Ganoderma lucidum* Latince “berrak” ya da “parlak” anlamını taşımaktadır ve mantar yüzeyinde görünen parlak görüntüyü vurgulamaktadır (Bishop ve ark., 2015). *Ganodermataceae* ailesi iki duvarlı basidiospora sahip çok porlu basidiomisetler mantarı olarak tanımlanır. Aile içinde 219 tür *Ganoderma* geniyle ilişkilendirilir. *Ganoderma* türleri, türlerin bireysel özelliklerini tanımlamak için kullanılan coğrafik temeller, konakçı özelliği, meyvenin rengi (kırmızı, siyah, mavi/yeşil, beyaz, sarı ve mor) ve şekli gibi farklı karakteristiklere sahiplerdir ve dünyanın her bölgesinde bulunabilmektedirler; ancak, morfolojik karakterler, türlerin doğal genetik gelişmesi (mutasyon, rekombinasyon vb.) ve farklı iklim şartları altında farklı coğrafik bölgelerindeki kültürlerdeki farklılıktan kaynaklanan değişimden kaynaklanmaktadır (Kao ve ark., 2013).

Organik fosforlu bileşiklerin, kalıntılarıyla oluşan durumların insan sağlığı üzerine çok sayıda olumsuz etkileri bulunmaktadır. Bunlar arasında özellikle klorprifosun gebelik dönemindeki maruziyetinin beynin hipokampus bölgesinde nasıl bir etkiye sebep olduğu bilinmemektedir. Araştırmamızda, tarımda yaygın olarak kullanılan bir pestisit çeşidi olan

organofosforlu insektisit klorprifosun gebelik döneminde uygulanmasının gelişmekte olan sinir sistemi üzerine olan muhtemel etkilerinin saptanması ve bu etkinin antioksidan maddelerle azaltılıp azaltılmayacağının araştırılması hedeflenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pestisitlerin Genel Özellikleri

Pestisitler, günümüz tarımının tamamlayıcı bir bileşenidir ve dünyanın tüm agro ekosistemlerinde üretim süreci bir ya da daha fazla pestisit uygulamasına ihtiyaç duymaktadır. Ürünlerin artışlarına bağlı olarak, meyvelerde ve sebzelerde yıllık 10–15 kez pestisit uygulaması normal bir uygulama olarak karşılanabilmektedir. Pek çok uygulamada birden çok aktif madde kullanılabilmektedir. Bu aktif maddeler özellikle yabancı ve zararlı otları öldürmek, hastalıklardan korumak için tasarlanmışlardır. Yabancı ve zararlı otların, hastalıkların tarımsal üretimlerde sebep oldukları kayıpların ortalaması %20–40 arasındadır. Bu kayıplar hasatta, kurutmada, depolamada ve işleme aşamalarında da sürmektedir. Dünya tahıl üretiminin ortalama %20’lik bir kısmı hasat öncesinde ve sonrasında kaybedilmektedir. Pestisitler, yabancı ve zararlı otların, hastalıkların neden olduğu zararları azaltmaktadır, bunun neticesinde üretim artışı sağlanmakta, kalite artmakta, ekonomik geri dönüş yükselmektedir. Pestisitlerin kullanılması 1940’lı yıllarla birlikte tarımsal üretimi arttıran en önemli bileşen olmuştur (Tiryaki ve ark., 2010).

Pestisitler; Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından, tarım ürünleri, beslenme ürünleri ve hayvan yemlerinin hazırlanması, depolanması, taşınması ve tüketime sunulması esnasında zarar veren canlıların yok edilmesi, uzaklaştırılması veya kontrol edilmesi olarak tanımlanmıştır. Yine Dünya Sağlık Örgütü; hayvanlarda bulunan eklem bacaklı, böcek gibi zarar verici etki gösterenlere karşı kullanılan kimyasallarla virüs ve diğer mikroorganizmaları kapsayıcı herhangi madde veya karışımlar olarak da tanımlanmıştır (Daş ve Aksoy, 2016).

Pestisitler, genellikle zirai ilaçların yapımlarında kullanılan etkin moleküller, bazı destekleyici maddelerle karıştırılarak uygulanır. Bu karışım formülasyon olarak adlandırılmaktadır. Formülasyon uygulaması daha güvenli, insan sağlığı ve çevre sağlığı bakımından daha az zarar verici ve daha az maliyetli bir uygulamadır.

Toksik etki gösteren bir maddenin pestisit olabilmesi için taşıması gereken özellikler aşağıda verilmiştir (Anonim, 2012):

- ✓ Biyolojik olarak aktif,
- ✓ Düşük maliyetli,
- ✓ Etkili,
- ✓ Kolayca uygulanabilen,
- ✓ Güvenilir,

- ✓ Kullanıcılar, tüketiciler ve besi hayvanları açısından güvenilir,
- ✓ Yeteri kadar kararlı (stabil),
- ✓ Hedef canlıya spesifik olarak toksik,
- ✓ Yanıcı, patlayıcı, boyayıcı etkisi, korozyon, yaban hayatına ve faydalı organizmalara zarar vermemelidir.
- ✓ Çevre için kabul edilebilir olmalıdır.
- ✓ Kolaylıkla toksik olmayan maddelere dönüşebilmelidir.

2.2. Pestisitlerin Türleri

Pestisitler hedef aldıkları canlılara göre sınıflandırılabilir. Buna göre akarlar karşı kullanılanlar akarisit, yaprak bitlerine karşı kullanılanlar afisit, toprak bakterilerinin üremesini engelleyici olarak kullanılanlar bakteriyostat, dezenfektan gaz olarak kullanılanlar fumigant, mantarlara karşı kullanılanlar fungusit, yabancı otlara karşı kullanılanlar herbisit, böcekler karşı kullanılanlar insektisit, böceklerin gelişimlerini olumsuz etkileyenler böcek gelişme düzenleyicileri, kenelere karşı kullanılanlar iksodisit, larvalara karşı kullanılanlar larvisit, yumuşakçalara karşı kullanılanlar moluskusit, maytlara karşı kullanılanlar mitisit, solucanlara karşı kullanılanlar nematisit, bitki gelişimlerini olumsuz etkileyenler bitki gelişme düzenleyicileri, kemiricilere karşı kullanılanlar rodentisit, kaçırtıcı olarak kullanılanlar repellent, pestisitlerin etkilerini güçlendirmek amacı ile kullanılanlar sinerjist olarak isimlendirilmektedirler. Bunların dışında algleri, kuşları, balık ve diğer canlıları öldürmek amacı ile kullanılan maddelere de pestisit adı verilmektedir (Daş ve Aksoy, 2016).

DSÖ kimyasal pestisitlerle sınıflandırılması uygun olmayan biyopestisitleri ayrıca tanımlamıştır. Biyopestisitlerin hayvan, bakteri, bitki ve mineral gibi doğal kaynaklardan elde edildiği, başlıca mikrobiyal, bitkisel ve biyokimyasal üç ana gruba ayrıldığını bildirilmiştir. Mikrobiyal biyopestisitler bakteri, mantar, virüs veya protozoa gibi canlılar olup, en yaygın olarak kullanılan üyesi *B. thuringiensis*'tir. Bitkisel biyopestisitler bitki genetiğine, pestisit özelliği olan mikroorganizma kaynaklı bir materyalin aktarılması ile geliştirilmişlerdir. Biyokimyasal pestisitler sentez yolu ile üretilen ve zehirli olmayan maddelerdir. Biyopestisitler az miktarlarda doğrudan hedef zararlı üzerinde etkili olup, kolay parçalanabilir özelliktedirler (Engören, 2000).

Pestisitler görünüş, fiziksel yapı, formülasyon, etkiledikleri zararlılar ve hastalıklar grubuyla bunların biyolojik dönemine, içerdikleri aktif maddelerin cinslerine ve grubuna, zehirlilik derecelerine ve kullanım tekniklerine göre çok farklı şekillerde sınıflandırılabilir.

Pestisitler daha yaygın olarak formülasyon şekillerine göre sınıflandırılmaktadır (Anonim, 2012).

Formülasyon şekillerine göre;

- Islanabilir toz ilaçlar (WP)
- Toz ilaçlar (Dust)
- Solüsyon konsantre ilaçlar (SC)
- Emülsiyon konsantre ilaçlar (EC veya EM)
- Yazlık ve kışlık yağlar
- Suda çözünebilir toz ilaçlar (SP)
- Peletler
- Granüller (G)
- Toz tohum ilaçları
- Tabletler
- Aerosoller
- Sıvı tohum ilaçları
- Zehirli yemler
- Kapsül şekli verilmiş formülasyonlar
- Kuru akışkanlar
- Akıcı konsantreler (FC) (DPT, 2001; Öztürk, 1990).

Kullanıldıkları zararlı grubuna göre;

- Fungusları (mantarları) öldüren (Fungusit)
- Böcekleri öldüren (İnsektisit)
- Yabancı otları öldüren (Herbisit)
- Fungusların faaliyetini durduranlar (Fungustatik)
- Bakterileri öldüren (Bakterisit)
- Örümcekleri öldüren (Akarisit)
- Kemirgenleri öldüren (Rodentisit)
- Yaprak bitlerini öldüren (Afisit)
- Salyangozları öldüren (Mollussisit)
- Nematodları öldüren (Nematosit)
- Kuşları öldürenler ya da kaçırınlar (Auensit)
- Algleri öldürenler (Algisit)

- Çekiciler (Atrakant)
- Kaçırıcılar (Repellent) (TÇSV, 1998; Uslu ve Türkman, 1987; DPT, 2001; Öztürk, 1990).

Etki şekillerine göre;

- Bitkilerde
 - Sistemik olmayanlar
 - Yarı sistemikler
 - Sistemikler
- Zararlılarda
 - Mide zehri, zararlıların vücutlarına ağız yolu ile verilip sindirim sistemlerine geçtikten sonra zehirlenmelere neden olur.
 - Temas zehri, zararlıların ilaçlanmış yüzeylerde gezinirken vücutlarına kutikuladan nüfuz ederek etkili olan zehirlerdir.
 - Solunum zehri, gaz halinde zararlıların vücutlarının içine solunum organlarından giren zehirlerdir.

Tarımsal ilaçlar, bu sınıflandırmaların haricinde etkin madde grubuna göre de sınıflandırılırlar (Öztürk, 1990).

Bileşimindeki etkili madde grubuna göre;

- Klorlandırılmış hidrokarbonlar: Bunlar yapılarında, hidrojen, karbon ve klor atomları içeren basit bir kimyasal sınıfı oluştururlar. 1940'larda haşerat öldürücü olarak kullanılan bu ilaçlar günümüzde önemini yitirmiştir. Bu sınıftaki maddelerin çok güçlü teması ve mide zehri etkilerinin yanında, solunum sistemlerine etkileri de söz konusudur. Sistemik özellikleri ise yoktur. Çevre sorunları sebebiyle bu grubun üyeleri pek tercih edilmezler yalnızca endosulfan Türkiye'de halen kullanılmaya devam edilmektedir. Endosulfanın molekül yapısında oksijen ve kükürt atomları vardır. Yarılanma ömrü doğada 3 ila 7 gün arasındadır. Sütte, yağda ve dokularda birikmesi, grubun diğer üyelerine göre oldukça düşüktür. Vücuttan hızlı bir şekilde atılmaktadır. İnsanların üzerinde toksik etkileri daha çok sinir sistemi üzerindedir (Şenvar, 1988).
- Organik fosforlu pestisitler: Dünya üzerindeki pestisit kullanımının yaklaşık %45'i bu grup bileşiklerden oluşmaktadır. Sentezlenmelerinin kolaylığı organik fosforlu bileşiklerin çeşitliliğinin artmasına sebep olmuştur. Gruptaki etken maddelerin çözünme, buharlaşma, kalıcılık, sıcakkanlı canlılara zehirlilikleri gibi fiziko-kimyasal özellikleri dikkate değer farklılıklar göstermektedir. Bu sebeple de hemen hemen her zararlıya uygun organik fosforlu bir etken madde bulunabilmektedir. Bu pestisitler sindirim, deri ve solunum yolu

ile etkili olurlar. Organik fosforlu pestisitlerin etki mekanizmaları ve kalıcılıkları çoğunlukla fosfor atomuna bağlanan kimyasal yapıların özelliklerine bağlı bulunmaktadır. (Aydın ve Mammadov, 2017).

Bu gruptakiler oksidasyon ve hidroliz gibi kimyasal reaksiyonlardan büyük oranda etkilenirler. Asetilkolinlerin artışı insan vücudunda çeşitli yan etkilere sebep olurlar. Bunlar;

- ❖ Çizgili kas kasılması,
 - ❖ Kalp uyarılmasıyla kan basıncında artış
 - ❖ Parasempatik sistemin aşırı çalışması,
 - ❖ Kaslarda his kaybı ve felce kadar varabilen durumlar (T.C. Çalışma Bak. 2005).
- Karbamatlı insektisitler: Karbamik asit içeren bileşikler fosforlu bileşiklere oranla daha küçük bir insektisit grubunu oluştururlar. Calabar fasulyesinden sentezi yapılarak Neostigmine veya kimyasal olarak N, N-dimethyl carbamate olarak adlandırılmaktadır. Asetilkolinesteraz enzimine kimyasal yolla bağlanırlar. Yine bu enzimi engellemelerine karşın, bunu organik fosforlu insektisitlere göre farklı bir yolla yaparlar. Karbamat grubundaki bileşikler sistemik etkili ve temas yolu ile etkili olabilirler. Organik fosforular ile insanlarda zehirlenme etkileri aynı olmasının yanında, insanlar üzerindeki etkisinde daha kısa sürede enzim düzeyleri normale döner (Ünal ve Gürkan, 2001).
 - Pyrethroid (Piretroit) insektisitler: Bu gruba ait kimyasallar uzun yıllardır bilinmesine rağmen son yıllarda daha fazla ilgi görmüştür. Piretrum ekstraktı, Pyrethrum cinsine ait belli türlerin çiçeklerin öğütülmesiyle elde edilir ve %1-2 pirethrins içerir. İnsektisit olarak doğal piretrumların pek çok avantajı vardır. Bunlar, spektrumlarının geniş olması, zehirliliklerinin memelilere karşı düşük olması ve doğal şartlarda kısa zamanda dekompoze olmalarıdır. Fakat, kolay bozulmalarının yanında, üretim maliyetinin yüksekliği, üretiminin sürekli olmasındaki güçlükler doğal piretroitlerin dezavantajları arasında sayılabilir. Bazı piretroitlerin etkileri sıcaklık ile artmasına karşın, genellikle düşük sıcaklıklarda etkinlikleri daha yüksek olmaktadır. Sentetik piretroitler, kalıntı etkisi yüksek ve ışığa dayanıklı insektisitler olarak tarımsal alanda geniş kullanım alanı bulurlar. İnsanların üzerinde sistemik ve akut toksisiteyi düşük olup, zehirlenme belirtileri organik fosforlu bileşik zehirlenmeleriyle karıştırılabilmektedir (Özcan ve İkinçioğulları, 2009).

2.3. Pestisitlerin Kullanım Amaçları

Etkinliği: Kimyasal mücadele her ne kadar, tarımsal mücadelede bir yöntemse de tüm mücadele yöntemlerinin içerisinde en çok kullanılanıdır. Çünkü kimyasal mücadelenin

etkinliği yüksektir, sonuçları hızlıdır, kontrollü ve bilinçli kullanıldığı zaman ekonomiktir ve ürünü toksin salgılayan organizmalardan da koruyabilir (Delen, 2008).

Bitkisel retim: Yüksel kaliteli ve yeterli tarımsal üretimler için pestisitlerin kullanılması gerekmektedir. Pestisit kullanılmadan üretim yapılması durumunda, üretim miktarlarında %60 hatta %100'lk kayıplar görülebilmektedir (Turabi, 2007). Pestisitler, uygun şartlarda ve öneriler doğrultusunda kullanılmak şartıyla; üreticilere yüksek kazanç sağlar ve yetiştirme sezonunun ve muhafaza sresinin de uzamasını sağlar. Türkiye'de üretilen kültür bitkileri, sayıları 500'n üzerinde olan hastalıklar ve zararlıların tehdidi altındadır. Yeterli mücadele yapılmadığından toplam ürünün yaklaşık 1/3'i kaybedilmektedir (Kansu, 1994). Bu kayıpların önüne geçilmesi açısından pestisitlerin daha uzun yıllar büyük bir kullanım potansiyelinin olduğu şüphesizdir. Tarımsal üretimin pestisit kullanımıyla arttırıldığı bir gerçekliktir. Dünyada pestisit kullanımının tarımsal üretimi arttırmasının yanında kalitesi de yükselmiştir. Buğdayda, hastalıkların, yabancı otların ve böceklerin sebep olduğu kayıplar %27 civarındadır, fakat pestisitlerin kullanılmaması durumunda bu oranın %53'ler civarında olacağı düşünülmektedir. Benzer şekilde kimyasal mücadele yapılmadığında arpa kayıpları iki kat artarak %40, mısır kayıplarıysa %52'ye ulaşırdı (Dağ ve ark., 2000). Aynı şekilde pestisitlerin kullanılmasıyla, 1983-1995 yılları arasında domateste %17, buğdayda %30, pirinçte %17 ve mısırdaki %28 verim artışı görülmüştür (Delen, 2008).

Gıda temini: Son 60 yılda dünya nüfusu 5 milyar artmıştır. Tarımsal alanlar 1950'li yıllardan bugüne kadar 1,4 milyar hektar olarak sabit kalmıştır. Ekim alanının sabit kalıp nfun neredeyse 3 katına çıkması besin üretimi için tarımsal gıdaların üretimi modern tarım teknikleri ve entansif tarım ile mümkün olabilmıştir. Temel besinlerin üretimi üç katına çıkarılmıştır. Yine pestisitlerin kullanılması da bu tekniklerden biridir. Etkili ve bilinçli bitki koruma tedbirleri alınmadan entansif tarımın yapılabilme imkanı yoktur (Durmuşoğlu ve ark., 2010).

İnsan sağlığına yeterli düzeyde katkıları olan kalitesi yüksek tarımsal ürünlerin, özellikle de sağlıklı bir yaşam için gereken taze sebze ve meyvelerin üretiminde bitki koruma ürünlerinin kullanımının büyük rolü vardır. Geçmişte Avrupa'da yüz binlerce ıstıraplı ölümlere neden olmuş olan avdar mahmuzu gibi hayatı tehdit eden fungal hastalıklar ve aflatoksin gibi fungal toksinlerin sebep olduğu kanserler, tahıl ve fıstık üretiminde ve depolanmasında fungusitler kullanılarak engellenmektedir (Dağ ve ark., 2000).

Pestisit, insanlara ve çiftlik hayvanlarına zararlı böceklere karşı kullanılabilmektedir. Bununla ilgili olarak, sivrisinek ve karasinek mücadelesi son derece önemlidir. Son

dönemlerde, Kızılırmak havzasındaki Niğde, Nevşehir ve Kayseri’de, Simulium cinsi sinekler, insanlara rahatsızlık vererek bölge turizmüne olumsuz etki etmektedir. Biyolojik kökenli pestisitler kullanılarak sorun çözülmüştür (Yılmaz ve ark., 2007). Bunun dışında demiryolu ulaşımı hatlarındaki ve ilgili diğer bazı konumlarda zararlı otlara karşı total herbisitlerin kullanımı gerekmektedir.

2.4. Pestisitlerin Etkisi

2.4.1. Pestisitlerin Çevre ve İnsana Olumsuz Etkileri

Tarım ilaçlarının biyolojik olarak zararlılara karşı etkili ancak memelilere, sıcakkanlı hayvanlara, bilhassa insanlara karşı az zehirli veya zehirsiz olması arzu edilir. Bugüne kadar yapılan ve hali hazırda kullanılan ilaçlardan çok küçük bir kısmı bu nitelikleri taşımaktadır. Büyük bir kısmı hem kontrol ettikleri canlılara hem de insanlara ve memelilere karşı son derece zehirlidir. Bunların bir bölümü uygulandıkları bitki, toprak ve su ortamında uzun zaman bozulmadan kalabilen, tüm canlıların vücudunda biriken zehirlerdir. Zararlı etkilerini uzun zamanda belli etmeden yaparlar (Anonim, 2012).

İnsanlar beslenmek, giderek artan nüfusa yetecek kadar besini üretmek ve bütün olanaklarını kullanarak ürettiklerini zararlılardan ve hastalıklardan korumak için çalışmaktadırlar. Harcanan bu büyük çabanın doğurduğu sorunlar, giderek artan ilaç kalıntıları ve çevre kirliliğidir. Bu konulara bulunan ya da bulunacak olan çözümler yetersiz olmakta ve gereken hızda gelişmemektedir. Bunun nedeni ise, alınan ya da alınacak olan önlemlerin insanlara ve çevreye etkisinin özellikle uzun sürede araştırılması zorunluluğudur.

Pestisitler sadece kullanılan böceklerle karşı zehirli etki göstermeyip aynı zamanda, insalara ve diğer canlılara farklı derecelerde zararlara neden olmaktadır. Pestisitlerin insanların vücutlarına üç farklı yoldan girişi söz konusudur (Güler ve Çobanoğlu, 2001).

Ağızdan (oral): Bu tür zehirlenmeler, kazayla ortaya çıkmakla beraber büyük bir tehlike yaratmaktadırlar. Tıkanmış olan pülverizatör memelerinin üflenmesi, uygulama esnasında sigara içilmesi, ilaçlı meyvelerin yıkamadan yenilmesi bu tür zehirlenmelere örnektir. (Anonim, 2012).

Deriden (dermal): Deri yoluyla vücuda giriş pestisitlerin insan vücuduna girişinde en yaygın olanıdır. Deri yoluyla bulaşma kolay olmakla birlikte çoğunlukla belirtiler ortaya çıkıncaya dek farkedilmemektedir. Dermal yol, hava sıcaklığının yüksek ve derinin terleme sebebiyle ıslak olduğu durumlarda çok tehlikeli olmaktadır. Bunun yanında derideki yaralanmalar da alım riskini arttırmaktadır. Genellikle organik fosforlu bileşikler,

klorlanmış hidrokarbonlardan daha büyük bir hızla deri altına nüfuz edebilmektedir. Bu durumda pestisit deriden en kısa sürede yıkanması gerekmektedir (Anonim, 2012).

Solumundan (inhalasyon): Solumla pestisit alımı, püskürtülen toz veya sıvı ilaçların uygulandığında önemlidir. İlaçların hazırlanışları esnasında da bu durum önemlidir. İlaçların hazırlanma işlemlerinin kapalı alanlarda yapılmasından kaçınılmalıdır. Pestisitlerin insanların vücutlarına girişleri yukarıda belirtilen yollardan hangisiyle olursa olsun, neticede insanlarda olumsuz etkilere neden olabilmektedir. Bu da söz konusu ilaçların zehirliliklerini ortaya koymaktadır. Pestisitlerin zehirlilik durumları kronik ve akut olarak iki şekilde ortaya çıkmaktadır (Tiryaki ve ark., 2010).

Kronik (yavaş) zehirlenme: Toksik bir maddenin sürekli olarak alımıyla ortaya çıkan zehirliliktir. Tarım ilaçları kullanımı sırasında ilaçla temas genellikle kısa sürdüğünden, toksisitenin bu yönü kullanıcı bakımından çok büyük önem taşımaz. Fakat uzun süre ilaçlarla birlikte kalan, imalat sırasında, laboratuvarlarda, ambar ve depolarda, ambalaj yerlerindeki kişilerde yavaş zehirlenme olabilir. Bu toksisite şekli ilacın vücutta birikme özelliğine ve farklı zamanlarda alınan dozlara bağlıdır (Anonim, 2012).

Akut (ani) zehirlenme: Tek dozun bir seferde alınması sonucunda aniden ortaya çıkan zehirliliktir. Akut toksisite belirtileri, insan vücuduna giren maddenin özelliği ve dozuna göre değişir. Aynı yapıdaki bütün organizmalar aynı maddenin aynı dozuna karşı eşit derecede tepki göstermezler.

Pestisitlerin kullanımı esnasında insanlarda meydana gelen akut zehirlenmeler çok fazla yaygın olmayıp, daha çok kazara ve bilgisizlikler nedeniyle ortaya çıkmaktadır. Kronik zehirlenmeyse, çoğunlukla ilaçların ürünler üzerindeki kalıntılardan kaynaklanmaktadır.

Zehir etkisi doğrudan doz ile ilgili olup, sayısal ifade ile LD₅₀ (öldürücü doz) olarak ifade edilmektedir. LD₅₀ (Letal Doz 50), uygulanan popülasyonda %50 ölüm meydana getiren dozdur. Başka bir deyişle canlı ağırlığının birim kg'ına düşen mg ilaç miktarıdır (mg/kg). Elde edilen LD₅₀ değerlerinin düşük olması o ilacın zehirlilik derecesinin fazla olduğunu göstermektedir (Anonim, 2012).

Kullanılması kaçınılmaz bir zorunluluk olan pestisitlerin toprağa, bitkiye ve tohuma uygulanması sırasında maddenin kimyasal özelliklerine bağlı olarak çeşitli taşınımalar sonucunda insanlar ve çevre üzerinde olumsuz etkiler oluşmaktadır. Kullanılan pestisitlerin bir bölümü buharlaşarak atmosferde toksik madde birikimine neden olurken bir bölümü de fotokimyasal yollar ile parçalanarak toksik ya da toksik olmayan maddelere dönüşmektedir. Diğer bir bölümü ise toprakta tutunmakta, toprağı kirletmekte, toprakta kimyasal olaylar ve mikroorganizmalar tarafından mikrobiyolojik ve kimyasal

reaksiyonlara girmektedir. Bir kısmı ise yağmur, kar ve sel sularıyla toprak yüzeyinden sürüklenerek nehirleri, gölleri ve yeraltı sularını kirletmektedir. Bunun dışında bitkiler tarafından bünyelerine alınan pestisitler bitki yaprak ve meyvelerinde birikmektedir (Kuş, 2007).

Toksikologlara göre, insanlar kimyasal maddelerin oluşturduğu bir ortam içerisinde yaşamaktadırlar. Pestisitler, canlılarda farklı toksik etkiler göstermektedir. Pestisitlerin çevredeki sirkülasyonu karmaşık ve çok yönlü bir yapıdadır. Örneğin; bahçe, tarla ve orman ağaçlarının hastalıklarına ve zararlılara karşı ilaçlanmasında ilaç partikülleri havaya, toprağa, topraktan yağmurlarla yeraltı sularına ve dolayısıyla su ekosistemine karışmaktadır. Bitkilerde kalan pestisit birikintileri ise, besin yolu ile insanlara ve hayvanlara geçmekte ve ani zehirlenmelere, hatta genetik yapıları etkileyecek ve kansere neden olabilecek derecede tehlikelere sebep olabilmektedir (Erdoğan, 2010).

Hiçbir şekilde pestisit uygulaması yapılmayan kutuplarda yaşayan penguenlerde, ayıbalığı ve eskimolarda da DDT varlığının tespit edilmesi, bazı tarım ilaçlarının dünya üzerindeki dolaşımının son derece güçlü olduğunu göstermektedir (Kuş, 2007).

Klorlanmış hidrokarbonlu insektisitler, yağ dokusunda depo edildiği için gittikçe konsantre olur. Lindane ve BHC de, karaciğer ve böbrekte birikerek santral sinir sisteminde hassasiyet oluşturmaktadır. Pestisit ile kontamine olmuş ya da bekleme süresi bitmeden pestisit kalıntıları içeren gıdaların tüketilmesi kronik zehirlenmelere yol açabilmektedir. Örneğin; Güney Doğu Anadolu Bölgesi'nde heksaklorobenzenli (HCB) pestisitle ilaçlı tohum için kullanılacak buğdayı tüketen 3000 kişide karayara hastalığı görülmesi ve %3-1 oranında ölümün meydana gelmesi önemli bir zehirlenme olayıdır (Göktürk, 2007).

Bazı pestisitler, özellikle herbisitler ve klorlu hidrokarbonlar bitki, mikroorganizma, böcek ve hayvanların yaşam yerlerindeki doğal ortamın kısmen veya tamamen bozulmasına sebep olmakta ve bazı türlerin habitat içinde gelişip yaşama şansını ortadan kaldırmaktadır (Altıkat ve ark., 2009). Örneğin; çeşitli herbisitler ve BHC, normal kullanma dozlarında bile topraktaki nodozite bakterilerin sayısında belirgin bir azalma meydana getirmektedir (Göktürk, 2007).

Karada ve sularda yaşayan birçok bitki, böcek ve hayvanların, tabiatta diğer türlerle rekabet içinde olmaları sebebiyle ekosistemdeki sayıları sınırlanmıştır. Zararlı kabul edilen bir türün pestisit kullanılarak ortadan kaldırılması veya azaltılması sonunda onunla rekabet halinde olan ve bu yüzden miktarı sınırlanan diğer tür ve türlerin sayısında önemli azalışlar veya artışlar meydana gelebilmektedir.

Pestisitlerin üretimi ve kullanımı esnasında ortaya çıkan iş kazaları ilaçların insanların sağlığına karşı olumsuz etkilerinin olduğunu göstermektedir. Yanlış ilaç kullanımı ve kazalar kapsam dışı tutulursa, pestisitler ile insanların teması; ilaç üretimi, kullanma, taşıma, depolama ve ilaç kalıntısı içeren ürünlerin tüketimleri sırasında olmaktadır. Bu etkileşim sonucunda pestisit insanların vücutlarına ağız, deri ve solunum yolu ile girmektedir.

Pestisitlerin insana etkisi, kendi kimyasal yapısında ya da metabolitlerden kaynaklanabilmektedir. Metabolitlerin bir kısmı akümüle olduğu bir kısmı da olmadığı halde sinir hücrelerinde hasar bıraktığından oldukça tehlikeli sonuçlara neden olabilmektedir. Pestisit buharlarıyla yoğun havanın, solunum yoluyla bünyeye alınması ya da doğrudan deriye teması, bir müddet sonra toksik etkilerini göstermektedir (Aydın ve Mammadov, 2017).

Klorlandırılmış hidrokarbonlu pestisit grubuna giren pestisitler, vücuttaki yağ dokularında birikmekte, kronik zehirlenme ve hastalıklara neden olmaktadır. Örneğin; karaciğerdeki birikim bazen siroza dönüşebilmektedir (Erdoğan, 2010).

2.4.2. Pestisitlerin Hayvanlara Olumsuz Etkileri

Çiftlik hayvanlarının doğrudan veya dolaylı olarak pestisitler ile temaslarından olumsuz olarak etkilendiği görülmüştür. Hayvanların vücutlarına giren ilaçlar zehirlenmelere neden olmaktadır. Bunun dışında bünyede birikir ve canlıların hastalanmalarına sebep olurlar veya yumurta, et ve süt gibi hayvansal gıdalara geçerler. Bu da dolaylı yoldan tüketiciyi etkiler. Bu sebeple ilaçlama yapılan yerlerde bulunan çiftlik hayvanları bu alanlara uzak tutulmalı ve belirlenen zamandan önce buraya yaklaştırılmamalıdır. İlaçlanan hayvan yemleri de belirli bir süre sonra hayvanlara verilmelidir, aksi takdirde zehirlenmeler görülebilir. İlaçlama alanındaki hayvan yem ve su kapları uzaklaştırılmalı ya da üzeri örtülmelidir. Bunun dışında hayvanların üreme potansiyeline, gen karakterinde değişmelere ve hormonal denge durumuna olumsuz yönde etki ederler (Öztürk,1990).

Tarım ilaçlarının çoğunun önemli bir özelliği de suda değil yağlarda çözünmesidir. Yurdumuzda yapılan araştırmaya göre bazı besin maddelerinin 1 kg'ında bulunan klorlu hidrokarbon sınıfından bileşikler şöyledir (Öztürk,1990);

İç yağında	3,714 mg
Tereyağında	3,575 mg
Beyaz peynirde	1,057 mg
Sütte	0,132 mg

Ürönlere zararlı böcekleri, farklı yollarla yok eden bize yararlı olan böcekler de vardır. Bunlara asalak ve avcı böcekler denir. Bitkiyi koruyan ilaçlar bu gibi böceklerle de etki etmektedir (Öztürk,1990). Her ne kadar bazı faydalı böcekler bazı ilaçlara karşı dayanıklılık kazanmışlarsa da genel olarak bitki koruma ilaçlarından olumsuz yönde etkilenirler. Özellikle insektisit ve akarisitlerden faydalı böcek ve akarların ilaç uygulamalarından korunması; selektif ilaç kullanımı, ilaçlanmış sahaları bırakarak belirli aralıklarla sahaların ayrı kısımlarının ilaçlanması, dayanıklı oldukları hayat dönemlerinde ilaçlama yapılması ve ilaç kullanımına daha az yer verilmesi ile mümkün olabilir. Asalak ve avcı böceklerin ilaçlara karşı dayanıklı oldukları devrede ilaçlama yapılması ve ilaçların düşük dozlarda kullanılması da gerek zararlıının gerekse doğal düşmanlarının uygun çoğunlukta bulunmasını sağlayarak hem şiddetli böcek zararını hem de yararlı böceklerin tümüyle yok olmasını önleyebilir.

Arılar da böcek olduğundan, bitki koruma ilaçları arılar üzerinde de etkili olur. Arılara en çok zarar veren ilaçlar pesitistler içinde insektisitlerdir. Arı kovanlarının önünde ölü arıların görünmesi arıların zehirlenmesinin en büyük belirtisidir. Pestisitler arıları 3 yolla etkilemektedir bunlar; gumigasyon, kontakt ve mide zehridir. İnsektisit zehirlenmelerine karşı arılar farklı semptomlar göstermektedir. Arsenik zehirlenmesinde, ilk olarak kovandaki arıların hareketleri azalır, sonrasında larvalar susuzluk ve açlıktan ölmektedir. DDT zehirlenmesindeyse yaprak, dal ya da topraktaki sıcak noktalara konarlar ve temas edilmediği sürece hareketsiz kalırlar. Kısa bir süre sonra sırt üstü yatarak ölmeye başlarlar. Pestisitlerden etkilenmede arıların yaşları ve vücut büyüklükleri de rol oynamaktadır. Örneğin; son zamanlarda arıların DDT, dieldrin gibi ilaçlara karşı daha çok duyarlı olduğu bildirilmiştir. Çoğu pestisit bal arılarıyla beraber çiçeğin döllenmesinde rolü olan diğer arılara da zehir etkisi yarattığı bilinmektedir (Seçilmiş ve ark., 2012).

Bu ilaçların bal arılarına olan etkileri aşağıda sıralanan önlemler alınarak azaltılabilir:

- a) İlaçlar gerçek gereksinim duyulduğu zaman kullanılmalı
- b) Arılara tehlikesi en az olan ilaç seçilmeli
- c) İlaçlama, arıların ilaçla en az karşılaşılacağı bir zamanda, örneğin; geceleyin yapılmalı
- d) İlaçların toz formülasyonları yerine granül ya da sıvı olanlar kullanılmalı
- e) İlaçlamadan önce çevredeki arıcılara ilaçlama yapılacağı söylenmeli
- f) Kovanlar için ilaçlanma olasılığı bulunan bitkilerden uzakta güvenli bir yer seçilmeli
- g) İlaç tehlikesi olduğunda, gerek görülürse arılar kovanda tutulmalı (Öztürk,1990).

Tarım ilaçları, su içindeki veya kenarındaki bitkilerle ya da böceklerle savaş sırasında ilaçların doğrudan doğruya uygulanması, ilaçlı tıprak ve bitki yüzeylerinden ilaçların

yağmur suları ile buluşması, ilaç artıklarının akarsu veya göllere taşınımı ya da toprağa ulaşımı halinde bunların topraktaki hareketleri, uygulama aparatlarının, boş kapların su kaynaklarında yıkanmasıyla sulara erişir (Göktürk, 2007).

Pestisitlerin balıklara etkileri çok farklıdır. Direkt olarak öldürmelerinin dışında, beslenme ortamlarındaki değişimler, sudaki oksijen seviyesinin düşmesi vb. yollarla da ölüme neden olabilir. Birçok ilaçlar balıkların gelişme oranlarına, çoğalma oranlarına ve davranışlarına etki ederler, dokularını tahribata uğratabilirler. Tarım ilaçlarından etkilenen balıklar düşmanları tarafından daha kolayca avlanırlar, diğer balıklar ile daha az rekabet edebilir, mevsimsel sıcaklık değişimleri, çoğalma ve geçici açlık gibi konulara daha az dirençli hale gelirler. Balıklara, doğaya ve doğal kaynaklara zararı azaltmak için, daha az zararlı ilaçlar kullanılmalı, mümkünse suda daha çabuk bozulan, yani kalıcı olmayan ilaçlar seçilmeli, klorlandırılmış hidrokarbonlular kullanılmalıdır. En az tehlikeli olanlar seçilmeli, uygulama yöntemlerine dikkat edilmeli ve en düşük etkili doz kullanılmalıdır. İlaçların diğer sahalara bulaşması önlenmeli, yalnız ilaçlanacak alana uygulama yapılmalı, durgun su ve akarsulara bulaştırmamaya özen gösterilmelidir (Öztürk,1990).

Yabani hayvanların pestisitlerden etkilenmeleri, etrafa saçılan pestisitlerle direkt temas veya pestisit sebebiyle zehirlenip ölmüş hayvanların besinleri ile beslenmeleri neticesinde olmaktadır. Yabani hayvanların dokularında biriken pestisit artıkları, artıkların miktarlarına bağlı olarak öldürücü olmasının yanında karaciğer, böbrek, üreme organları ve diğer organlarda da hasar oluşturabilmekte, bu organların fonksiyonlarını bozmakta veya üreme potansiyellerini azaltmaktadır. Yabani hayvanlar ilaçlı tohumları veya ilaçla ölmüş olan toprak kurtları, sümüklü böcekler ve salyangozları yiyerek pestisitlerden olumsuz olarak etkilenmektedirler. Düşük dozlardaysa hayati fonksiyonlarda azalma olmaktadır (Altıkat ve ark., 2009).

2.4.3. Pestisitlerin Çevreye Olumsuz Etkileri

Pestisitlerin su ekosistemine ulaşmaları farklı yollar ile olabilmektedir. Örneğin; sulama ve drenaj kanalları içindeki ya da etrafındaki yabani otlara veya sivrisinek gibi vektör böceklerin mücadelesi esnasında bataklıklara direkt olarak uygulanan pestisit uygulamalarıyla karışmaktadır. Pestisit kullanıldığı ortamlardaki ilaçların, yağmur sularıyla toprak altı sularına ya da nehirlerle karışması yolu ile de çeşitli pestisitler akuatik bitki ve böceklerle ulaşmaktadır. Bunun dışında havadaki ilaç partiküllerinin rüzgarlarla sulara bulaşması ya da pestisit üreten fabrika atıklarının akarsulara veya durgun sulara boşaltılmasıyla denizler pestisitlerle kontamine olmaktadır (Güler ve Çobanoğlu, 2001). Pestisit ambalajı veya uygulanması için kullanılan araçların, kullanıldıktan sonra temizlik

amacıyla yıkanması esnasında da ilaç artıkları sulara karışabilmektedir. Bir su ekosistemine ulaşan pestisit su içinde dağılışı ilacın stabilitesine, formülasyonuna ve kimyasal yapısına bağlı olmaktadır. Bazı organik pestisitlerin suda erime ve homojen şekilde dağılma özellikleri çok yüksek düzeydedir. Buna karşılık bazı inorganik tuzlar suda çözünmeden çökmektedirler. Pestisit kalıntılarının suda çok az oranda bulunması halinde dahi su canlılarının besin zincirinde çok fazla önemi olan olan zooplankton ve phytoplanktonun gelişmeleri önlenabilir. Sudaki organizmaların ilacı absorbe ya da metabolize etmesi, sudaki pestisit düzeyine, organizmanın fizyolojisi, sıcaklık ve daha önceden bünyede mevcut ilaç kalıntılarına bağlıdır. Pestisitlerden ölen organizmalar dibe çökerek birikir. Çürüme sırasında açığa çıkan CO₂ ve zehirli gazlar diğer su canlılarına da zarar verir. Halen pestisit kalıntısı için açık denizlerde yakın bir tehlike söz konusu değildir. Ancak drenaj ve sulama kanalları, dar körfezler, bazı göl ve durgun sular ile kuyu sularında değişik oranlarda pestisit kalıntılarına rastlanılmaktadır. Bu konuda yapılan bir araştırmada Adana Seyhan Sulama Bölgesi'nden alınan su örneklerindeki lindan, heptachlor, aldrin ve endosülfan gibi pestisitlerin kalıntı miktarları araştırılmıştır. Su örnekleri sulama kanalı, drenaj kanalı ve kuyu suyundan alınmıştır. Araştırma sonucunda sulama kanalında maksimum lindan konsantrasyonu 0,28 µg/L, heptachlor konsantrasyonu 0,15 µg/L, aldrin konsantrasyonu 0,68 µg/L ve endosülfan konsantrasyonu 0,1 µg/L 'dir. Drenaj kanalında ise bulunan maksimum lindan konsantrasyonu 0,24 µg/L, heptachlor konsantrasyonu 0,69 µg/L, aldrin konsantrasyonu 0,90 µg/L ve endosülfan konsantrasyonu 0,27 µg/L 'dir. Kuyu suyunda bulunan maksimum lindan konsantrasyonu 0,37 µg/L, heptachlor konsantrasyonu 0,73 µg/L, aldrin konsantrasyonu 0,89 µg/L ve endosülfan konsantrasyonu 0,26 µg/L 'dir (Göktürk, 2007).

Ülkemizde 1976-1977 yılları arasında yürütülen diğer bir araştırma projesinde, İskenderun-Antalya arasındaki Akdeniz kıyı kesiminden sağlanan çeşitli balık türleri ve karides örneklerinde DDT %100, dieldrin %74,7, BHC %99,1, aldrin %86,7 ve endrin %65,5 oranında bulunmuştur. Balık etlerinde belirlenen ortalama organik klorlu insektisit düzeyi 0.339 mg/kg olarak hesaplanmıştır. Karadeniz'deki balıklarda bulunan DDT miktarı, Akdeniz'deki DDT miktarına; Akdeniz'deki BHC izomerleri, aldrin, dieldrin, endrin Karadeniz'de tespit edilen oranlara göre daha yüksek düzeylerde bulunmuştur. Karadeniz'deki pestisit kalıntılarının artmasında, Tuna Nehri'nden gelen Avrupa ülkelerine ait atıklar ile Karadeniz'e akan nehirlerin taşıdığı ilaç kalıntılarının önemi büyüktür (Göktürk, 2007).

Bitki zararlılarına ve hastalıklarına karşı pestisitler rüzgâr, yağmur gibi çeşitli abiyotik etkenler ile toprağa dolaylı yollarla ulaşabilmektedir. Toprağın içinde yaşayan ve bitkilere zarar veren böceklerle, nematodlara ve ilaçlamada esnasında tohumlara uygulanan pestisitler ise direkt olarak toprağa geçmektedir. Böylece toprakta sürekli birikmiş halde bulunan pestisitler, gıda ürünleri aracılığıyla insanları, evde beslenen hayvanları ve yabani yaşama ulaşarak ekosistemi ve insan sağlığını negatif olarak etkileyebilmektedir. Pestisitler, kullanılan ilaç grubuna, formülasyon şekline, toprak tekstürüne, ilacın absorpsiyon oranına, toprağın sıcaklık ve nemine, ilacın yağmur, sulama ya da drenaj sularıyla yıkanma özelliğine göre toprakta kalıcılık gösterir. Pestisit kalıntılarıyla kontamine olmuş topraklarda yetiştirilen ürünlerin, pestisit ilaçlarını direkt olarak topraktan aldıkları belirlenmiştir. Örneğin; aldrinle ilaçlanmış tarlalarda yetiştirilen patateslerde ve havuçlarda aldrin kalıntısı görülmüştür. Pestisitler doğrudan toprak yüzeyine ve içine uygulanabilirken, bitki üzerine ya da tohumuna da uygulanabilmektedir. Ancak, bitkilere püskürtme yoluyla uygulanan pestisitlerin (insektisitler) toprağa ulaşan artıklarının, doğrudan toprağa verilen ve karıştırılan pestisitlere (organoklorlulara) oranla daha kısa süre kalıcı oldukları belirtilmektedir (Chiapella, 2013).

Pestisitlerin topraktaki kalıcılıklarına etki eden faktörler şunlardır:

Tekstür: Topraklardaki kum oranı arttıkça pestisit kalıcılığı azalır.

Strüktür: Strüktürü iyi olan bir toprakta canlı popülasyonu ve dolayısıyla biyolojik aktivite yüksek olduğundan ilacın parçalanma oranı fazla, kalıcılığı ise az olur.

Organik Madde Kapsamı: Genel bir kural olarak, birçok pestisit kalıntısı organik maddesi yüksek topraklarda uzun süreli kalıcılık etkisi göstermektedir.

Toprak Nemi: Eğer toprakta yeterli miktarda nem varsa, bu hem pestisit moleküllerinin çözünürlüğünü arttırarak hem de mikrobiyal aktiviteyi etkileyerek topraktaki pestisit artıklarını ve dolayısıyla kalıcılıklarını da azaltmaktadır.

Sıcaklık: Sıcaklık artışı da aynı şekilde mikrobiyal aktiviteyi arttırarak pestisitlerin parçalanmasını hızlandırıp, kalıcılıklarını azaltmaktadır.

pH: Bu faktör pestisitlerin ortamdaki kalıcılıklarında diğer faktörler kadar önemli bir rol oynamaz; ama özellikle klorlu hidrokarbon türü pestisitler asiditeye bağlı olarak çok az iyonize olmaktadır. Bununla beraber, bazı organoklorlu bileşikler yüksek pH değerlerinde daha kolay parçalanmaktadır (Gür, 1997).

2.5. Dünya’da ve Türkiye’de Pestisit Kullanımı

Küresel bazda pestisit piyasasının büyüklüğü neredeyse 45 milyar dolar, Türkiye’de ise 600 milyon dolar olduğu düşünülmektedir. Pestisit kullanım miktarları baz alındığında ilk

sırada Latin Amerika ülkeleri gelirken, takip eden ülkeler Japonya, Çin, Malezya ve Yeni Zelandadır (Plumer, 2013). Avrupa’da ise İtalya ve Hollanda yüksek oranda pestisit kullanımları ile önde gelen ülkelerdir. Türkiye’deyse pestisit kullanımının 1,3 kg/ha olduğu tahmin edilmektedir (Delen ve ark., 2005).

Geçmişteki pestisit kullanımları incelendiği zaman; küresel pestisit kullanımının 2000-2010 yılları arasında %289 arttığı görülmektedir. Ülkemizde ise 2003 yılında 29.675 ton pestisit kullanılırken 2012 yılında bu sayı 52.397 ton olmuştur. Yine 2003 yılında pestisit ithalatı 7.183 ton iken 2012’de bu miktar 22.675 tona yükselmiştir. İmalat miktarı ise 2003 yılında 23.396 ton iken, 2012 yılında 36.164 tona yükselmiştir. Ülkemizde pestisit kullanımının, büyüme trendi içerisinde olduğu görülmektedir. Dünyada ve Türkiye’de pestisit kullanımının büyümesini etkileyen temel noktalar ise; sürekli artış halinde olan nüfus, tarım arazilerindeki kalitenin azalması, iklimsel değişimler, yabancı istilacı türler, zararlı organizmaların daha geniş alana nüfuz etmesi ve yükselen pazarlardır. Bilhassa gelişmiş ülkelerde pazarın doyuma ulaşması, lüzumsuz pestisit kullanımının engellenmesine ilişkin programlar, tehlikeli pestisitlerin kullanılmasının yasaklanması ya da belli bir sınır getirilmesi büyümeyi sınırlandıran faktörlerin başında gelmektedir (Kaymak ve Serim, 2015).

Dünya üzerinde, tarımda kullanılan kimyasal pazarının %41,5’ini herbisitler, %27,1’ini insektisitler, %21,5’ini fungusitler ve %9,9’unu ise diğer kimyasalların oluşturduğu bildirilmiştir (Chakravarty, 2014). Ülkemizdeki pestisit kullanımı da dünyadaki kullanımına paralellik göstermektedir. Pestisit kullanımında Çin, Almanya, Fransa, Hindistan, Japonya ve ABD öne çıkmaktadır (Chakravarty, 2014). Ülkemiz ise pestisit kullanımı bakımından ilk onda yer almasa bile en yüksek pozitif büyümesi ile öne çıkmaktadır.

Tablo 2.1. Bazı Avrupa Birliği ülkelerindeki birim alanda tüketilen pestisit miktarları (Tiryaki ve ark. 2010)

ÜLKELER	PESTİSİT TÜKETİMİ (kg/ha)
Hollanda	13,8
Yunanistan	13,5
İtalya	9,3
İrlanda	8
İngiltere	6,4
Portekiz	6
Fransa	5,6
İsveç	4,4
Lüksemburg	4,4
Avusturya	4
Almanya	2,6
İspanya	2,3
Danimarka	1,7
Belçika	1,2
Finlandiya	1,2
Türkiye	0,7

Pestisitlerin kontrolsüz ve bilinçsiz kullanımı sonucunda, zararlı organizmalarda direnç oluşturabilme tehlikeleri ve kalıntılar yolu ile çevre ve insan sağlığına negatif etkileri muhakkak dikkate alınmalıdır. Bahsedilen bu riskler sebebiyle, bilhassa gelişmiş ülkelerde pestisitler daha kontrollü ve bilinçli bir şekilde kullanılmaktadır. Buna olanak sağlamak için, Avrupa Birliği'nde (AB) ve Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) çok sayıda kanun çıkarılmış, resmi kuruluşlar kadar sivil toplum kuruluşları da bu yönde söz sahibi duruma gelmişlerdir (Delen ve ark., 2005).

2.6. Organofosforlu Pestisitler

İkinci Dünya Savaşı'nın ardından zararlıları engellemek için kullanımına başlanan bu bileşikler en çok kullanılan insektisitlerdir. İlk organik fosforlu bileşik; tetraetil pirofosfat (TEPP)'dir. Paration da ilk organik fosforlu insektisitler arasında yer almaktadır. Organofosforlu pestisitler, "Sinir sisteminde bulunan asetilkolinin, asetik asit ve koline parçalanmasına neden olan esteraz enzimini engelleyerek parçalanmaya engel olurlar. Asetilkolinin; asetik asit ve koline dönüşmesi kasların hareketinin durmasına neden olur.

Bunun olmasını sağlayan kolinesteraz enziminin etkili olmadığı durumlarda, sürekli olarak asetilkolin sinirlere etki eder, kaslar devamlı çalışır sonuçta ise felç ve/veya ölüm meydana gelir (Öncüer, 1995).

Organofosforlu bileşikler hem direkt hem de oksidasyon sonrasında da etkili olurlar (Kansu, 1994). Organoklorürlülerin tersine akut toksisiteleri daha fazladır. Organik fosforlu bileşikler kullanıldığında ürünlerdeki ilaç kalıntısının azalacağı ancak uygulayıcılara karşı toksisitenin artacağı ifade edilmektedir (Tarım ve Köyişleri Bakanlığı İzmir İl Müdürlüğü, 1999). Suda çözünürlükleri bakımından farklılıklar gösterirler. Toprak kuruyorsa çözünme daha yavaş gerçekleşmektedir. Toprak mikroorganizmaları organik fosforuları çoğunlukla hızla metabolize ederler. Asit karakterli topraklarda hidroliz olayları daha hızlı olur (Kansu, 1994).

Paration metil ($C_8H_{10}NO_5PS$), beyaz renklidir ve kristal durumdadır. $25^{\circ}C$ 'lik sıcaklıkta suda çözünürlüğü $60 \mu gL^{-1}$ dir. Gaz ve temas etkilidir. Arılar, parazitoit predatör böcekler, av hayvanları ve balıklar için oldukça zehirlidir. İzin verilen değer, meyveler ve sebzeler için $0,2 \text{ mgL}^{-1}$ 'dir. Günlük alınabilir zararsız miktarıysa $0,002 \text{ mgkg}^{-1}$ ' dir (Öncüer, 1995).

Diazinon ($C_{12}H_{21}N_2O_3PS$), sıvı halde ve renksizdir. Suda çözünürlüğü 40 mgL^{-1} dir. Temas ve mide zehri etkilidir. Akarisitlere karşı etkendir. Bal arıları ve balıklara karşı da zehirlidir. Parazitoit böceklerle ise etkisi azdır. Günde alınabilecek zararsız miktar $0,002 \text{ mgkg}^{-1}$ 'dir. Kullanım alanı son derece geniş bir insektisittir. Meyvelerdeki ve sebzelerdeki yaprak bitlerine, ağ kurtları, prays oleae, rhagoletis cerasi, ekin güvesi gibi zararlılar için önerilmektedir (Öncüer, 1995).

Klorprifoz ($C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$), beyaz renklidir ve kristal halledir. Temas, mide zehri ve gaz etkili bir insektisittir. Toprağın altındaki zararlılara ve birçok toprak üstü zararlısı böceklerle karşı tavsiye edilmektedir. Günlük zararsız alınabilir miktarı (ADI) $0,01 \text{ mgkg}^{-1}$ 'dir. Toprakta kalıcılığı 20 ile 140 gün arasında değişmektedir (Öncüer, 1995).

2.7. Klorpifos

2.7.1. Klorprifosun Moleküler Özellikleri

Klorprifos kimyasal formülü $C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$ 'dir. Klorprifos tarım, bahçe ve orman zararlılarına karşı mücadelede sıklıkla kullanılan bir pestisittir. Bu sebeple insanların da çok fazla etkilendiği organofosfat insektisittir. Klorprifos'un metabolitleri olan klorprifos-okson ve 3,5,6-trikloro-2-pridinol klorprifos'dan daha toksiktir. Klorprifos-okson sinir kavşaklarında asetil kolin esterazını inhibe eder (Patat ve ark., 2003). Yarı ömrü 12-41

gündür. Klorprifos kalıntı analizi için yapılan çalışmalarda güneşte kurutma sonrası yarılanma ömrü 5.64 gündür (Cingöz, 2013). Cingöz'ün 2013'de yaptığı çalışmada yaş örneklerde en fazla kalıntısına rastlanan pestisit klorprifos olmuştur (maksimum kalıntı limitinin üzerinde birikmektedir (0.009 mg/kg - 0.95 mg/kg). Bağlı molekül kütlesi 350.6 g/mol hafif kokulu, renksiz, kristal formdadır. Erime noktası 42- 43,5 °C olan klorprifos pratik olarak suda çözünmez birçok organik çözücüde çözünür (Çetinkaya, 2006).

2.7.2. Klorprifosun Etki Mekanizması

Klorprifos Coloeptera, Diptera, Lepidoptera ve Homoptera'nın yanı sıra hamam böceği ve sivrisinek kontrolünde kullanılmaktadır. Toprakta veya mahsül yapraklarında turunçgil, çekirdeksiz meyveler, fındık, incir, çilek, asma, muz, patates, pancar, pirinç gibi ürünlerin dışında sera ve sera dışı süs bitkilerinin kontrolünde kullanılmaktadır (Tomlin, 1994).

Klorprifos ratlar için oral LD50 dozu 95mg/kg-270 mg/kg, koyunlar için 500504 mg/kg, tavşanlar için 1000-2000 mg/kg, tavuklar 32-102 mg/kg ve köpekler için 3g/kg dır. Farelerde doku anormallikleri ve doku kayıpları günde 45 mg/kg dozda oluşmaktadır (Christensen ve ark., 2008). Klorprifos WHO tarafından 1999 yılında "kısmen tehlikeli" olarak sınıflandırılmıştır. Ratlarda oral alımdan sonra klorprifosun %90'ı elimine edilir; idrarda %68-93 oranında görülür (72 saat uygulandığında). Dokularda birikimi çok düşük oranlarda 1mg/kg'dan düşük oranlarda birikir. İnsanda oral olarak alınınca idrarda %70 oranında görülmekte ve deri ile temas ettiğinde %1,3 oranında görülür. Ratlarda oral yolla alınınca LD 50 dozu 96-475 mg/kg, farelerde ise bu doz 100-150 mg/kg dır (Christensen ve ark., 2008).

KPF Diğer organofosfatlardaki gibi hedef dokuda asetilkolin esterase aktivitesini inhibe ederek etkili olmaktadır (Mansour ve Mossa, 2009; Kalender ve ark., 2012).

2.7.3. Klorprifosun Toksisitesi

Alınan dozla bağlantılı olarak toksisitesi yüksek olan bir organofosfat olan KPF'nin, yapılan çalışmalarla mutajenik, teratojenik ve karsinojenik etkiler gösterdiği bildirilmiştir (Farag ve ark., 2003). Ayrıca KPF'nin birçok dokuda serbest oksijen radikallerinin üretimini artırarak oksidatif strese neden olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (Amri ve ark., 2016; Attia ve ark., 2012; Shittu ve ark., 2012; Joshi ve ark., 2007). Aaerobik dokular, fizyolojik şartlar altında oksidatif metabolizmanın bir çeşidi olarak devamlı reaktif oksijen türü üretirler. Bazı hücre tiplerinde reaktif oksijen üretimi, bir patojene karşı duyarlı olabilir. Bunun yanında çoğu zaman reaktif oksijenin yüksek oranı hücrelere zararı olabilir ve DNA kırılması, enzim inaktivasyonu yapısal protein bozunumlarına ve aynı

zamanda patolojilere ve gelişimde farklılıklara neden olan lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır (Mercan ve ark., 2013).

Kolinerjik sinapslar ve nöromusküler kavşaklarda asetilkolinin hidrolizini sağlayan asetilkolin esterazının inhibe edilmesi, sinaps sonrası birimde aşırı uyarılmaya neden olarak kolinerjik toksisiteye sebep olmaktadır (Kalender ve ark., 2012).

2.8. Kurkumin

2.8.1. Kurkumin'in Klinik Özellikleri

Kurkuminin birçok farklı farmakolojik aktiviteleri ve biyolojik faydaları son yıllarda önemli ölçüde dikkat çekmiştir. Kurkuminin antioksidan, antitümör, antiinflamatuvar, antikarsinogenik, antialerjik, antidemans etkileri ve serbest radikal temizleyicisi olduğu yapılan birçok çalışmayla gösterilmiştir. Ayrıca kurkuminin anoreksia, öksürük, diabetes, karaciğer hastalıkları, romatizma, alzheimer, safra ile ilgili rahatsızlıklar, sinüzit gibi hastalıklara karşı güçlü bir ajan olduğuna inanılmaktadır (Sharma ve ark., 2001; Tohda ve ark., 2006).

Kurkuminin antioksidan özelliği, in vivo şartlarda görüldüğü gibi, in vitro Platinoksit (PtO_2) katalizörlüğünde Tetra Hidro Kurkumin'e dönüşümü ile de anlaşılmıştır (Ceulemans ve ark., 2017). Bu iki maddenin lipid peroksidasyonunu inhibe edici etkileri araştırılmış, THC'nin antioksidan sisteminin, β -diketon türeviden kaynaklandığı görülmüştür. Kurkumin, kuvvetli hidroksil radikal temizleyici olmasının yanında, süperoksit radikallerini de yakalar. Serbest radikalleri tutma özelliğinden dolayı DNA'yı oksidatif hasarlardan korur (Pandya ve ark., 2000).

Kurkuminin antitümöral ve antiinflamatuvar etkileri de bildirilmiştir. Antioksidan özelliğinden dolayı, radyasyona karşı koruyucu etkisi de vardır. (Boyd ve ark., 1990). Çeşitli deneysel yollarla oluşturulmuş tümörlerde, kurkuminin inhibisyon aktivitesi, antitümöral etkisinden kaynaklanmaktadır (Duvoix ve ark., 2005).

Kurkumin, doğal inflamasyon mediatörlerinin oluşumunu engelleyip, siklooksijenaz-2'yi inhibe ederek antiinflamatuvar etkisini gösterir (Pandya ve ark., 2000).

Kurkumin, inflamatuvar hastalıkları belirli oranlarda kontrol altında tutabildiğinden tedavide yaygın olarak kullanılmaktadır (Manson ve ark., 2000).

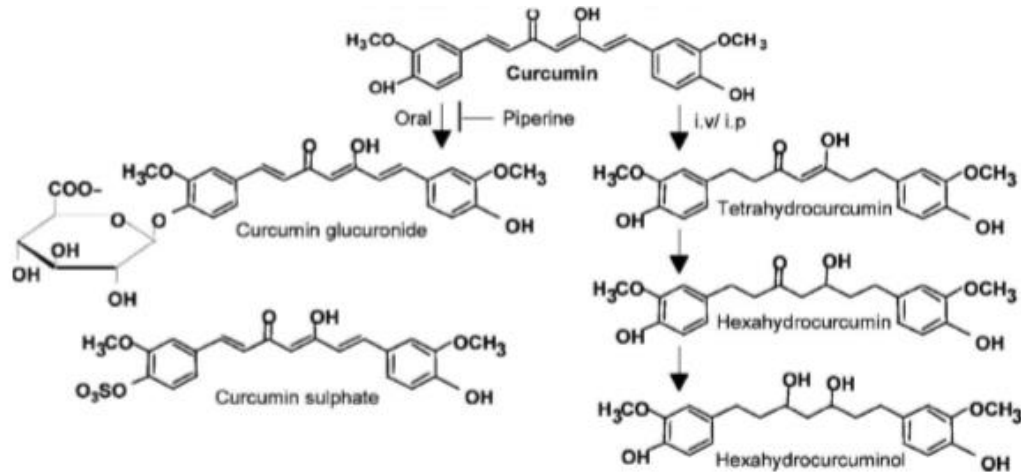
2.8.2. Kurkumin'in Metabolizması

Kurkumin suda çözünmeyen bir maddedir. Hücre zarının hidrofobik ceplerine yerleşir. Kurkumin hızlı bir şekilde hücrelere giriş yapabilmekte, hücre zarından kolaylıkla geçerek

sitoplazmaya girmektedir. Stoplazmada kümelenen kurkumin nükleusa girmez. Lipofilik özelliklerinden dolayı hücre zarı, endoplazmik retikulum ve çekirdek kılıfı gibi membranöz yapıların içinde toplanır. Kurkumin dolaşımında neredeyse hiç bulunmamaktadır (Jaruga ve ark., 1998). Kurkumin, bağırsaklardan emilimi esnasında renksiz ve daha az polar olan tetrahidrokurkumin adlı metabolite dönüşür. Tetrahidrokurkumin tüm dokulara bağırsaklardan emilerek ulaşır. Tetrahidrokurkumin karaciğerde safra yoluyla glukuronlanarak atılır (Gautam ve ark., 1998). Ağızdan alınan kurkuminin yaklaşık %75'i dışkıyla, geri kalan kısmı idrar ile atılır. Intraperitoneal uygulamalarda da vücuttan atılımı benzer şekildedir, fakat %11'i dekonjuge olarak safrayla atılır (Maheshwari ve ark., 2006).

2.8.3. Kurkumin'in Moleküler Özellikleri

Kurkuminler yapay ve doğal olmak üzere iki sınıfa ayrılır. Doğal olarak bulunan bileşikler kurkumin, demetoksikurkumin, bisdimetoksikurkumindir. Suda erimez, keton, etanol, kloroform ve asetik asit gibi maddeler ile çözünür (Araujo ve Leon, 2001). Ticari Kurkumin asetonla eritilir ve sonrasında kromatografik yöntem ile subtraksiyonlara ayrılır. %17 dimetoksikurkumin (CUR II), %3 bisdemetoksiKurkumin (CUR III) ve %77 Kurkumin (CUR I) izole edilir (Limtrakul ve ark., 1997). Yapılan araştırmalar sonucunda doğal kurkuminin antioksidan, kimyasal koruyucu vb. etkilerinin kanıtlanmasıyla araştırmacılar benzer yapıdaki ancak farklı içerikteki sentetik kurkuminlere yönelmişlerdir (Ahsan ve ark., 1999).



Şekil 2.1. Kurkuminin metabolitleri (Toptaş ve Alagöz, 2016)

2.8.4. Kurkumin'in Antioksidan Etkileri

Kurkuminin kalp, böbrek, beyin dokusuyla karaciğer iskemik reperfüzyon (İ/R) hasarında oksidatif stres ve doku hasarlanmasında azalmayı sağladığı yapılan araştırmalarla gösterilmiştir (Thiyagarajan ve Sharma, 2004). Kurkumin peroksidasyonu oluşumunun engelleyip iskemik ortamda bulunan serbest oksijen radikalleri (SOR)'ni toplayarak antioksidan etkinliğini gösterir (Miquel ve ark., 2002). Kurkumin; katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroxidaz enzimlerinin aktivitelerini artırarak hücre duvarında bulunan yağların peroksidasyonunu azaltır (Araujo ve Leon, 2001). Kurkuminlerin yapısında bulunan metoksi ve fenolik gruplarının serbest radikaller ile reaksiyona girmesinin ardından fenoksil radikali oluşur (Wright, 2002). Bunun dışında kurkumin primer metaboliti tetrahidrokurkumin, antioksidan β diketo etkiyle beraber 2 karbonil arasındaki aktif metilen karbonundaki C-C bağını yıkarak antioksidan etki yapar. Bu antioksidan etkileri ile SOR oluşumunu doğrudan ya da ksantin dehidrogenaz/ksantin oksidaz dönüşümünün inhibisyonuyla dolaylı etkiler. Fakat Kurkuminin hasar veren diğer hidroksil radikalleri ya da peroksinitrite karşı etkisi henüz tam olarak tespit edilememiştir (Manikandan ve ark., 2004).

Nitrit ve peroksinitrit kanser ve DNA hasarına yol açan yan ürünlerdir. Kronik enflamasyon ve sitokinler NO sentezini indüklemek suretiyle nitrit ve peroksinitrin oluşumuna neden olmaktadır. Yapılan araştırmalarda kurkuminin NO sentezini inhibe ettiği gösterilmiştir. Antioksidan enzimlerin aktiviteleri üzerine KUR'in etkileri doza bağımlı olarak incelendiği zaman doz artışıyla birlikte enzim aktivitelerinde artış görülmektedir. Piper J.T. ve ark., kurkuminin 1mg/kg ile 500 mg/kg arasında değişen dozlarda enzim düzeylerinde anlamlı değişiklikler bulmuşlardır (Piper ve ark., 1998). Fakat azami artış 75-500 mg/kg dozlarında sağlanmaktadır (Karaman ve Köseler, 2017).

2.8.5. Kurkuminin Diğer Etkileri

Kurkuminin potansiyel olarak kansere engel olması özelliği, kanser hücresinin dışında diğer sağlıklı bir hücreye hasar vermeden kanserli hücreleri apoptozise götürmeye sebep olmasından kaynaklanmaktadır (Duvoix ve ark., 2005). Kurkumin çoğalan bir hücrede bölünme sürecinin gecikmesine ve değişmesine sebep olmaz. Büyüme inhibisyonu doza bağlıdır ve kurkuminin uzaklaştırılması ile birlikte geri dönüşümlüdür. Kurkumin hücre siklus olaylarına etki etmektedir. Bunun nedeni ise kurkuminin büyümeyi inhibe etmesi ve ortama büyüme faktörlerinin konulmasıyla geri dönüşün olmamasıdır (Akpolat ve ark., 2010).

Kurkumin ile inhibe edilmiş kültürlerde, hücrelerin DNA içeriklerinin G1/S fazında yoğun bir şekilde olduğu gözlemlenmiştir. S fazındaki hücre sayıları ve hücre proliferasyonundaki inhibisyon hücrelerin S fazında yavaşladıklarını ya da durduklarını ve DNA sentezinin kurkuminsiz gruba göre aktif olmadığını düşündürmektedir (Singh ve ark., 1996).

Kurkumin diyet ile alındığı zaman kolonik mukozadaki siklooksigenaz ve lipooksigenazın enzim aktivitelerini inhibe etmektedir. Bunun sonucunda ise enflamatuar yanıtta rol alan araziidonik asit metabolizmasını önlemek suretiyle antiinflamatuar etkisi olduğu tespit edilmiştir (Manson ve ark., 2000).

Kurkumin atardamarları etkileyen bir hastalık olan aterosklerozun gelişimini önleme etkisi göstermektedir. Aterosklerozun gelişiminde düşük dansiteli lipoproteinlerin oksidasyonu önemli role sahiptir. Kurkuminin plazma lipoproteinler, trigliserit ve kolesterol seviyelerini azaltarak ateroskleroz gelişimini önlediği iddia edilmektedir (Ramirez ve ark., 1999).

Kurkumin potent bir antitrombotik ajandır. Bu etkisini siklooksigenaz aktivitesini inhibe ederek gerçekleştirmektedir (Shah ve ark., 1999).

Kurkuminin psoriasis hastalığı olan insanlarda topikal kullanımdan sonra histolojik, klinik ve immünolojik kriterlere göre hastalığı geriletmediği gözlemlenmiştir. Kurkuminin bu etkisinin immunomodulator, antiinflamatuar ve siklooksigenaz inhibisyonu etkilerinden dolayı olduğu iddia edilmektedir (Miquel ve ark., 2002).

2.9. *Ganoderma lucidum*

2.9.1. *Ganoderma lucidum*'un Özellikleri

Ganoderma lucidum başta Çin, Japonya ve Kore olmak üzere birçok ülkede 2000 yılı aşkın süredir çeşitli amaçlarla kullanılmıştır. *Ganodermatacea* ailesindendir ve Latince'de "parlak" anlamına gelen *lucidus* kelimesi eklenerek '*Ganoderma Lucidum*' ismi verilmiştir (Kim ve ark., 2016). Çin'de Ling-Zhi (Ölümsüzlük mantarı), Japonya'da Reishi (10000 yıl mantarı) ve Kore'de Young-Zhi (Gençlik mantarı) olarak adlandırılmaktadır. Eski Çin'de tıbbi bir bitki olarak görülmesinin yanında birçok destana konu olmuştur. Ömrü uzattığı, kansere varıncaya kadar birçok hastalığa karşı direnci arttırdığı ve tedavi ettiği düşünülerek kullanılmıştır. İmmünolojik bozukluklarda doğal tıbbi ilaç olarak kullanılmıştır (Zheng ve Chen, 2017). Bu mantarlar kahverengi renge sahiptir. Böbrek şekline benzerler, nemli ortamda yaşadıkları ve bol su içerdikleri için yüzeyleri parlaktır.



Şekil 2.2. *Ganoderma lucidum*

Ganoderma lucidumun ana bileşenleri; polisakkarit, triterpen ve peptidoglikanlardır. Yeryüzünde yaklaşık 14.000 mantar çeşidi vardır. Bunlardan yaklaşık 2.000'i zehirsizdir. Yaklaşık 25 mantar türü ticari amaçlı üretilmektedir (Soares ve ark., 2013). *Ganoderma lucidum* ticari anlamda üretilen mantar türlerindendir. Farklı formları üretilen mantarın kullanım amaçları da çeşitlilik göstermektedir.

Yapılan bazı çalışmalarda *Ganoderma lucidumun*, cerebral iskemik-reperfüzyon hasarında (Zhou ve ark., 2010), renal iskemik-reperfüzyon hasarında (Zhong ve ark., 2015), kardiyak iskemik-reperfüzyon hasarında (Lasukova ve ark., 2015) etkili olduğu gösterilmiştir. Tümöral hastalıklarda (Yang ve ark., 2014) ve karaciğer hastalıklarında (Soares ve ark., 2013) etkili olduğu görülmüştür. *Ganoderma lucidum* içerisinde etkin immünmodülatörler, antioksidanlar ve aynı zamanda kemopreventif ve tümörisidal özelliklere sahip, izole edilmiş 100'den fazla molekül bulunduğu bildirilmiştir (Gao ve ark., 2004).

2.9.2. *Ganoderma lucidum*'un Kanseri Önleyici Mekanizmaları

Ganoderma lucidum ekstresi DNA'yı oksidatif hasarlardan korur. Ayrıca sisplatinin neden olduğu böbrek hasarına karşı antioksidan etkinliği ile koruyucu olduğu tespit edilmiştir (Sheena ve ark., 2003). Deneysel in vivo çalışmalar triterpenleri ve polisakaritleri içeren GNL ekstresinin meme kanser hücreleri ve akciğer kanser hücrelerinin invaziv davranışını baskıladığı gösterilmiştir (Loganathan ve ark., 2014). Karsinogenezis ve kanser progresyonu hastanın immün sistemi ile yakından ilgilidir. T hücreleri, özellikle tümör hücrelerinin tespitinde ve ortadan kaldırılmasında önemli role sahiptir. T hücreleri ve bağışıklık sisteminin tüm elemanlarına rağmen, tümörler sağlam bir bağışıklık sisteminin varlığında bile gelişimine devam edebilmektedir. Akciğer kanserleri de dahil olmak üzere

birçok tümörde, PGE2, TGF- β , IL-10 ve VEGF gibi immunosupresif mediatörlerin düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (Sun ve ark., 2014).

Ganoderma lucidum miselinden hazırlanan özüt, birçok kanserin adjuvan tedavisinde, immun modülatör etkileri nedeniyle Japonya'da kullanılmıştır (Sakagami ve ark., 1991). *Ganoderma lucidumun* immun modülatör (Lin, 2005), anti-inflamatuar (Kov ve ark., 2008), antiviral (Zhang ve ark., 2014), antioksidatif, antiaging ve antitümör (Sanodiya ve ark., 2009) özellikleri tespit edilmiştir. Kan basıncını ve lipit seviyesini düzenlediği (Kabir ve ark., 1987), kan şekerini regüle ettiği ve immün modülatör proteinlerin üzerinde düzenleyici etki gösterdiği bildirilmiştir (Kino ve ark., 1989).

Ganoderma lucidum triterpenlerinin lipopolisakkaritler ile endotoksemi meydana getirilen farelerde IL-6 ve TNF- α üretimini baskılayarak inflammatuar cevabı inhibe ettiği gösterilmiştir. NF- κ B en yaygın kullanılan transkripsiyon faktörlerinden birisidir. Hücresel inflammatuar yanıtları, proliferasyonu ve hücre adhezyonu ile ilgili genleri düzenler. GNL polisakkaritleri proinflammatuar sitokinlerin üretimini, NF- κ B transkripsiyon yolunu inhibe ederek baskılamaktadır (Liang ve ark., 2014)

Kısacası *Ganoderma lucidum'un* içerdiği bileşikler bir taraftan tümör hücrelerine karşı sitotoksik etki yaparken, diğer taraftan konak organizmasının normal hücrelerini immün davranış bakımından düzenleyerek tedavi edici etki sağlamaktadır (Kim ve ark., 1986).

2.10. Hipokampus

Hipokampus, ön beynin yapısına katılan, gri cevher yapısında olan ve temporal korteks lateral ventrikülünün alt boynuzunun tabanı boyunca uzanan, C şeklinde kıvrılmış gri bir cevher kabartısıdır. Denizatına benzediği için bu isim verilmiştir (Yunanca hippos = at, kampi = kıvrım). “Ammon boynuzu” olarak da adlandırılır. Limbik sistemin bir parçasıdır, aynı zamanda uzun dönemli hafıza (long term memory) ve spasyal (mekansal) navigasyonda da rol alır (İzci ve Erbaş, 2015).

Hipokampus genelde hipokampal formasyon içerisinde zikredilir. Bu yapıda girus dentat, Cornu Ammonis bölgeleri CA1, CA2 ve CA3 (CA4 genellikle hilus olarak geçer ve girus dentatın bir parçası olarak düşünülür), ve "subiculum" dan oluşur. Esas sınırlı anatomiye CA1, CA2 ve CA3 bölgeleri oluşturur (Demirin, 2008).

Hipokampusa tüm duyuyla ilgili, doğrudan ya da dolaylı çok sayıda afferent lif gelir. İlk giriş CA3 bölgesinden CA1'e, oradan da subiculuma olur. CA2 bölgesi hipokampusun sadece çok küçük bir parçasını teşkil eder ve fonksiyonu genelde gözardı edilir. Fakat aslında bu alan diğerlerine nazaran epilepsi gibi durumlarda büyük oranlarda hücresel hasara karşı oldukça dirençlidir (Demirin, 2008).

Entorhinal ve peririnal korteksten bilgi getiren perforan yol hipokampusa ana bilgi girdisini oluşturur. Entorhinal korteksin 2. tabakası girus dentata ve CA3 bölgesine bilgi getirirken 3. tabaka CA1 ve subiculuma afferent sağlar. Hipokampustan ana çıktı ise CA1 ve subiculumdan kaynaklanan cingulum demeti ve fimbria/fornikstir. Duyular hipokampusu forniks yolu ile terk eder. Miyelinli liflerden oluşan forniks; talamus, hipotalamus ve septal sahada biter. Bu da hipokampusla subkortikal alanlar arasında farklı devrelerin olduğunu gösterir. Subkortikal alanlar aracılığıyla hipokampus, beyinde birçok bölgeyle iletişim durumundadır. Bu bağlantıların çokluğu; elli yıl öncesine kadar yalnızca kokuyla alakalı olduğu zannedilen hipokampusun, tek bir fonksiyon yerine, birçok beyin fonksiyonunda görev aldığını işaret etmektedir. Hareketlerin davranışa dönüşmesinde önemli rolü olan Limbik Sistem, hipokampustan çok sayıda sinyal alır. Yine hafıza ve bilhassa da kısa süreli hafızada rolü olan hipokampusün olmaması, verbal ya da sembolik anıların saklanması mümkün olmaması demektir. Tarihte birçok sorunun cevabı aranırken hipokampus fonksiyonları ihmal edilememelidir. Belki de her beyin hastalığının temelinde, hipokampusla ilgili bir fonksiyon yatmaktadır (Songur ve Özen, 2001).

Uykunun REM safhasında yakın hafıza olarak tutulan bilgilerin sağlamlaştırılması meydana gelir. Bu aşamada, hipokampusa işaret eden serotonerjik rafe nükleusları aktiftir. Derin uykuda neokorteksteki elektroensefalografi (EEG) kayıtları düzenli ve senkronize ritim gösterirken, hipokampal EEG kayıtları desenkronizedir. Uyanıklık durumundaysa neokortikal kayıtların desenkronize olmasına karşın; hipokampus düzenli ve yavaş bir ritim göstermektedir. Hipokampusün elektroensefalografi dalgaları ritmik sinüzoidal tipteki teta dalgalarıdır. Bu durum yapının spontan aktivitesini ve bilincin değişik devreler ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Songur ve Özen, 2001).

Hipokampus; long term potentiation (LTP) yani uzun süreli bir sinaptik ilişki türü olan ve seçici duyarlılık gibi konularda son derece önem arz eden bir yapıdır. Bunun dışında hipokampusün bir başka özelliği ise hipereksitabilitesidir. Örneğin zayıf elektriksel uyarılar, hipokampus bölgelerinde uyarıların kesilmesinin ardından saniyeler süren lokal epileptik nöbetlere neden olur. Bu da hipokampusün normal şartlarda da uzun süren sinyaller yaydığını gösterir (Guyton, 1987).

Hipokampusün hem karmaşık yapısı hem de beyindeki birçok bölgeyle yakın ilişkisi, fonksiyonunun açıklanmasını zorlaştırmaktadır. Bu sebeple, hipokampusün tek başına yaptığı fonksiyonları tanımlamanın yerine, karmaşık fonksiyonlardaki rolü üzerinde durmak daha doğru olacaktır. Hipokampusün, 1948 yılına kadar sadece koku ile ilgili olduğu sanılıyordu (Arıncı ve Elhan, 1995). Hipokampusün hafıza, bilhassa da kısa süreli

hafızayla ilgili olduğu bilinmektedir. Yeni bilgilerin depolanma kapasitesi kısa süreli hafızada işlenmektedir. Bu sebeple mekanizma ne olursa olsun sol ve sağ hipokampus olmadan verbal ya da sembolik uzun süreli hatıraların kalıcılığı mümkün olmaz (Serrano ve ark., 1997). Öte taraftan, sol hipokampus sözel hafıza, sağ hipokampus ise görsel hafızayla ilgili fonksiyonlarda daha fazla aktivite göstermektedir. Bu bölgelerin lezyonlarında da ilgili hafızalarda kayıplar yaşanmaktadır (Kandel ve ark., 2000).

Hipokampusün genel olarak uyarılmasıyla sakinlik, kızgınlık ya da hiperseksualitenin herhangi biri ortaya çıkmaktadır. Hafif derecede uyarılmasındaysa, uyarımın bitmesinden sonra da saniyeler boyunca süren bir epileptik nöbet gözlemlenir. Bu nöbetler esnasında birey görme, işitme, koku, dokunma vb. tarzda hallusinasyonlar tanımlar. Birey bu nöbetler sırasında bilinçlidir ve hallusinasyonların gerçek olmadığını bilir (Dere, 2000).

Enfarktüs, kanama veya cerrahi gibi mekanik ya da alkolizm, kronik malnutrisyon veya tiamin eksikliği gibi metabolik sebeplerden dolayı hipokampusun iki taraflı lezyonu sonucunda yeni anıların kaydedilememesiyle ilgili bir amnezi durumu vardır. Bu amnezi durumuna "Korsakoff Sendromu" denir. Bu bireyler hastalanmadan evvel öğrendikleri karmaşık işleri başarabilirler. Ancak bundan çok daha basit, yeni öğrenilmiş becerileri uygulayamazlar. Ayrıca geçmiş ile ilgili konfabulasyon adı verilen hayal veya konfüzyon tarzı saçma deneyimler anlatır veya cevap verirler, hatta buna kendileri de inanırlar (Barr ve Klernam, 1988). Yakın zamana kadar yaşlanma sürecinde, hipokampusdeki hücre sayısının önemli ölçüde azaldığı, bunun da yaşlılıkta görülen bunamaya neden olabileceği düşünülüyordu. Ancak, son zamanlarda yapılan çalışmalar sonucu, yaşlanma ile hipokampusteki hücre kaybı arasında istatistiki olarak anlamlı bir ilişki bulunmadığı anlaşılmıştır. Yalnız, Alzheimer Hastalığına yakalanmış insanların hipokampal CA1, CA2 ve CA3 alanlarına ait piramidal hücre sayısında bir azalma tespit edilmiştir. Hipokampus lezyonları neticesinde ortaya çıkan davranış değişikliklerinden, kortikal ve duyuşal uyarılardan gelen bilgiyi kodlayamaması sorumlu tutulmuştur (Selkoe, 1993).

İnhibitör GABAerjik nöronların ölümü inhibisyonunda azalmaya neden olur. Bu azalma, bilhassa CA3 alanındaki dentat granül ve piramidal hücrelerinde patolojik hipereksitabiliteye neden olur (Serrano ve ark., 1997). Ayrıca hipokampusta nöbetlere bağlı olarak oluşan hücre ölümlerinin altında yatan moleküler mekanizmada, glutamat reseptör alt tipi NMDA ve intraselüler haberleşme ile nöron ölümüne neden olan eksitotoksik mekanizma en kuvvetli muhtemel mekanizma olmakla beraber, yine de nöronların ölümü tam olarak aydınlatılamamıştır. Nöbetler, çoğu hipokampal nöronda hücreşel onkojenik gen (c-fos) gibi bir erken genin ekspresyonuna neden olur ve c-fos

yineleyen şiddetli nöbetler ile ölmek üzere olan bazı hipokampal nöronlarda gecikmeli olarak uyarılır. Bu son görüş, c-fos geni ekspresyonunun nöronların ölümüne katkıda bulunabileceğini iddia edilmektedir. Bazı araştırmalar alkolün ve B vitamini eksikliğinin, hipokampusteki nöronlarda hasara yol açtığını göstermiştir (Aktan, 1997).

2.10.1. Hipokampusun Embriyolojik Gelişimi

Koroid fissür kavisinin dış parçasından gelişen hipokampusun gelişimi nöral progenitör hücrelerin göç etmesi ve çoğalması ile başlar (Kempermann, 2015). Temporal lobun medial yüzeyinde, gestasyonel yaşamın 13 ve 14. haftalarında hipokampal fissür ile çevrili henüz katlanmamış bir yapı vardır. Bunu takiben, dentat girusun ve CA'nın katlanması 15. ve 16. haftalarda başlasa da hipokampal sulkus açık kalmıştır. CA1, CA2 ve CA3 alanları çizgisel olarak seyretnmektedir (Isaacson, 2002).

18. ve 20. haftalarda fetal hipokampus, erişkin hipokampusu gibi görünür. Embriyonel hayatta kalınlaşan hemisfer duvarının yanısıra, ventrikülün medial kenarına doğru meydana gelen çıkıntı hipokampusu oluşturur (Kempermann, 2015). Ayrıca 11-19. embriyonik günlerde, hipokampusun CA bölgesinde bulunan piramidal nöronların çoğu gelişirken, 17. embriyonal günden başlayarak postnatal dönem boyunca, dentat girus bölgesinde bulunan granüler nöronların gelişimi devam eder (Gokcimen ve ark., 2007).

2.10.2. Hipokampusun Anatomik Özellikleri

Hipokampusu, tüm ventriküler yüzeyi kendi hücrelerinin aksonlarıyla oluşmuş olan "alveus" tabakası örter. Alveustan gelip fimbriyaya dâhil olan lifler, miyelinli liflerden oluşan fornixin başlangıcını oluşturur. Medialde alveus lifleri birbirine yaklaşır ve ön ucu hippocampinin beyaz cevherinde sonlanan, "fimbria hippocampi" yi meydana getirir ve arka ucu alveus ile birlikte crus fornicis'i meydana getirir. CA olarak da adlandırılan hipokampus, hücresel düzeydeki değişikliklerden ötürü CA1, CA2, CA3 ve CA4 olarak 4 farklı alana ayrılmıştır (Barr ve Klerman, 1988; Amaral ve Insausti, 1990). CA2 büyük piramidal nöronların dizilimi ile oluşmuş bir bölge olup histolojik kesitlerde bir bant biçiminde gözlenir. Dağınık diziliimli piramidal nöronlara sahip CA3 bölgesi, CA1 bölgesine Schaffer kollateral lifleri ile bağlanmıştır. Ayrıca, CA1 bölgesine gelen bilgilerin bir kısmı entorhinal korteksten gelir. Bu bağlamda, CA1 bölgesi CA3 ve entorhinal korteksten gelen bilgileri karşılaştırarak herhangi bir uyumsuzluk olup olmadığını kontrol eder (Tien ve ark., 1992). Uzaysal öğrenme ve bellek için önemli olan CA1 subikulumu, CA4 ise dentat girusa yakın olan bölgelerdir. CA3 ile dentat girus arasında yer alan CA4 bölgesi ise dentat girusun hilusu olarak bilinmektedir. Bu bölgedeki nöronlar CA3 bölgesi

ve entorhinal korteksten bilgileri alır. CA1 ve CA3 arasındaki güçlü bağlantı referans hafızada oldukça önemlidir. Hipokampal formasyonun en gelişmiş bölgesi hipoksik hasara duyarlıdır (Amaral ve Insausti, 1990). Bununla birlikte, CA2 ve CA3 bölgeleri ise hipoksik hasara dirençli bir bölgedir (Amaral ve Insausti, 1990). CA1 ve CA3'deki nöron sayıları adölesan dönemden sonra artar. Bu durum, adölesan dönemde uzaysal öğrenme ve bellek gelişiminin bir kanıtıdır (Suzuki ve ark., 2005).

Hipokampus, posterior serebral arter ve buradan çıkan dallar ile beslenir. Arteriyel yönden oldukça zengindir (Erdem ve ark., 1993). CA1 ve CA2 bölgeleri geniş ventral intrahipokampal arterler ile beslenirken, CA3 ve CA4 bölgeleri, küçük ventral intrahipokampal arterler ile beslenir (Tatu ve Vuillier, 2014). Ayrıca, dentat girusun distal kısmı ventral hipokampal arterin dalları tarafından beslenir. Öte yandan, hipokampus venöz drenajı, subependimal intrahipokampal ve sulkal venlerin süperfisyal hipokampal venlere drene olmasıyla gerçekleşir. Bu venler tarafından oluşan 2 adet venöz ark, önde inferior ventriküler ven aracılığı ile arkada ise medial atrial ven ile bazal vene drene olur (Tatu ve Vuillier, 2014).

2.10.3. Hipokampusun Histolojik Yapısı

Hipokampusun histolojik yapısı incelendiğinde aselüler olan apikal seviyede; stratum lakünozum, stratum radiatum, stratum lusidumdan oluşurken granüler hücrelerin bulunduğu bazal seviyede; alveus, stratum pyramidalis ve stratum orienssten oluştuğu ortaya konmuştur (Ahmed ve Mehta, 2009). Beynin filogenetik olarak en eski bölgesi olan hipotalamusta ve beynin diğer bölgelerinde yoğun bir nöral ağ bulunmaktadır. En derinde yer alan tabaka olan alveus, ventrikül yüzeyine yakın lokalizedir ve subikulum ile hipokampusa ait piramidal nöronların aksonlarını içerir. Fimbria/fornikse uzanan aksonlar alveus bölgesinden geçer (Barry ve ark., 1995). Ayrıca, subkortikal alandan gelen alveus lifleri hipokampusa geçerek CA1 bölgesi ve subikulumun iç tabakasına uzanırlar. Piramidal nöronların bazal dendritleri ile internöronların yer aldığı bir tabaka olan stratum oriensde yer alan birçok nöronun aksonu alveus liflerine katılır. Diğer aksonlar ise stratum molekülaireye kadar uzanmaktadır (Barry ve ark., 1995). Hücresel yönden yoğun olan stratum lusidumda motor tip piramidal nöronlar çoğunlukta bulunur ve bu tabaka sadece CA3 bölgesinde bulunmaktadır. Ayrıca bu tabakada, dentat girustaki granüler hücreler ile CA3 bölgesinde bulunan piramidal nöronlar arasında bağlantı sağlayan beyindeki en gelişmiş ağ olan yosunsu (mossy) lifler bulunur. Bu lifler, CA1 ve CA2 bölgelerinde bulunmaz (Barry ve ark., 1995).

2.10.3.1. Stratum Poliforme (Oriens)

Hipokampus'un en dış tabakası olup; stratum oriens olarak da adlandırılan bu tabaka, alveus ile stratum pyramidale arasında bulunur. Stratum oriens'lerin içinde ağırlıklı olarak piramidal hücre yapıları bulunur. CA3 piramidal hücrelerin aksonları hem karşıda hem de aynı taraftaki üst piramidal bölgenin aşağı kesimlerinde sona erer (Totterdell ve Hayes 1987).

2.10.3.2. Stratum Piramidale

Piramidal ve golgi tip II hücrelerinin çoğunlukta bulunduğu stratum pyramidalis kısmında piramidal hücrelerin gövdeleri bulunur. Piramidal hücrelerin tabanları ise hipokampusun ventriküler yüzeyine yöneliktir. Bazal ve apikal dentritleri hipokampusün en ince tabakalarından biri olan stratum lucidum'a uzanırken, aksonları stratum oriens'ten geçerek alveus liflerine katılır. Hipokampus'a asıl şeklini veren stratum pyramidalis tabakasında bulunan piramidal nöronların dizilim şeklidir. Stratum pyramidalis tabakasında, birçok internöronun gövdesi ve yosunsu (mossy) lifler ile yapılan sinapslar bulunmaktadır (Raisman ve ark., 1965).

2.10.3.3. Stratum Molekölare

Stratum molekölare'de piramidal nöronların apikal dentritik uzantıları ve perforan lifler bulunur (Raisman ve ark., 1965; Barry ve ark., 1995). Hipokampal bölge içerdiği nöron tipleri ve bulundurduğu nöronal ağ yoğunluğu nedeniyle en çok araştırma yapılan bölgedir (Erdem ve ark., 2016). Hipokampusun histolojisi, anatomisi ve fonksiyonları ile ilgili kapsamlı bir bilgiye ulaşmak mümkün olsa da bu konudaki çalışmalar artan bir ivme ile araştırılmakta ve güncellenmektedir (Carpenter ve Sutin, 1983).

2.10.3.4. Stratum Radiatum

Stratum radiatum, komissural ve septal lifler ile Schaffer kollateral liflerini içerir. Ayrıca bu tabakanın yüzeyinde bazı internöronlar da bulunur (Raisman ve ark., 1965). İnce bir tabaka olan stratum lakünozum genellikle en yüzeysel tabaka olan stratum molekölare ile birlikte anılır ve Schaffer kollateral liflerini içerir. Ayrıca, bu tabakada, süperfisyal tabakadan entorhinal kortekse uzanan lifler de bulunmaktadır (Raisman ve ark., 1965).

2.10.4. Hipokampusun Fonksiyonları

Hipokampusun fonksiyonlarına ilişkin araştırmalar uzun süredir yapılmaktadır. Fakat hem yapısının karmaşıklığı hem de beyindeki birçok bölgeyle yakın ilişkisinin ve yoğun

bağlantısının olması, hipokampusun fonksiyonlarının tam olarak açıklanmasını zorlaştırmaktadır (Nolte, 1988).

Hipokampusun 1948 yılına değin sadece koku almayla ilgili bir merkez olduğu düşünülmüştür. Bu düşüncenin sebebi olfaktor bulbustan direkt sinir lifleri aldığına ilişkin yaygın olan inanış olmuştur (Songur ve Özen, 2001). Ancak ilerleyen zamanlarda yapılan çalışmalarda koku yollarının gelişmediği insanlarda, hipokampusun normal olarak geliştiği gözlenmiştir. Bunun dışında hipokampusun gelişimi ile olfaktor bulbus paralel doğrultuda olmadığı da görülmüştür. Fakat kokunun bilhassa formatio reticularis ve hipokampusla olan anatomik bağlantıları sonraları daha açık bir şekilde ortaya konmuş ve bu neticede zihinsel uyanıklık, dikkati ve hafızayı etkilediği düşünülmüştür. Entorhinal korteks ve olfaktor korteksten başlayan bazı lifler hipokampusa gelir. Bu bağlantının varlığı kokunun belleği etkileyebileceği düşüncesini ortaya çıkarmıştır. Günümüzdeyse hemen her tür duyuusal uyarının hipokampusu aktifleştirdiği bilinmektedir (Zhang ve ark., 2013).

Hipokampusun fonksiyonlarıyla ilgili olarak ilk bilimsel çalışmalar 1957'de Scoville ve Milner'in insan hafızasında hipokampusun önemli rol oynadığını bulmasıyla başlamıştır (Scoville ve Milner, 1957). Bilhassa 2000'li yıllardan sonra yapılan çalışmalar daha çok hipokampusun kendi içerisindeki ve çevre dokularla bağlantılarına doğru kaymıştır (Wixted ve ark., 2014).

Hipokampus hipotalamus, ventral talamus ve limbik sistemin diğer bölgelerine sinyal gönderir (Sendrowski ve Sobaniec, 2013). Böylece, limbik sistemi etkileyen hipokampus, hareketlerin davranışa dönmesine katkıda bulunmuş olur. Bundan ötürü hipokampusun, gelen duyuusal sinyalleri içinden geçiren ilave bir kanal rolü oynadığı ifade edilebilir.

Hipokampusun hafıza, özellikle de kısa süreli hafızayla ilgili olduğu bilinmektedir. Kısa süreli hafıza, yeni bilgilerin depolanma kapasitelerini ifade eder. Bu sebeple mekanizma ne olursa olsun sol ve sağ hipokampus olmadan verbal ya da sembolik uzun süreli hafızanın kalıcılığı mümkün değildir. Öte taraftan, sol hipokampus sözel hafıza, sağ hipokampus ise görsel hafızayla ilgili fonksiyonlarda daha fazla aktivite göstermekte ve bu bölgelerde yaşanan lezyonlarda da sözü edilen hafızalarda kayıplar oluşmaktadır (Carpenter ve Sutin, 1983).

Hipokampusun endokrin fonksiyonu üzerinde de durulmaktadır (Troen ve ark., 2008). Kortizol adrenal korteksten üretilen ve kan yolu ile tüm bedene yayılan bir hormondur. Kortizol beyinde, özellikle de hipokampustaki reseptörlere bağlanır. Hipokampustaki reseptörler, yeteri miktarda kortizolle bağlandığı zaman, hipotalamus üzerinde negatif feedback etkisi yaparak, kortikotropin salgılatıcı hormon (CRF) salınımını inhibe

etmektedir. Bu yol ile hipokampus, kortizolü belirli düzeyde tutarak, amigdalanın aktive ettiği stres cevabını regüle eder. Hipokampus yeterince işlevsel ise stres reaksiyonu durdurulabilir. Ancak bununla beraber uzamış stres, hipokampusun işlevini bozabilir. Uzun süren stresin hipokampustaki dendritleri büzdüğü ve bunun neticesinde hipokampusta hücrelerin ölümüne sebep olduğu görülmüştür. Dendritlerin büzüşmesi daha çok hipokampusun CA3 bölgesinde olurken, bu esnada dentat girusta nörogenesis durur. Hipokampus ve septumun, beynin davranışsal inhibitör ağı olduğu düşünülmektedir. Hipokampusun stresli durumlarda aktive olduğu düşünülmektedir. Fakat bu teori tartışmalıdır (Saransaari ve Oja, 1997). Bunun haricinde hipokampusun ön bölgesinde östradiol konsantre eden nöronlar tespit edilmiştir. Sıçan deneylerinde ise hipokampusun uyarılmasıyla ovülasyonda inhibisyon olduğu gösterilmiştir. Bunun dışında fornixin kesilmesiyle ACTH (adrenokortikotropik hormon) salınımında bozukluk tespit edilmiştir. Bunların haricinde hipokampusun aşağıdaki fonksiyonlara da katıldığı kabul edilmektedir (Songur ve Özen, 2001):

1. İç organlara ait aktivitenin düzenlenmesi,
2. Heyecan uyandıran reaksiyonların ya da heyecanın kontrolü,
3. Serebral korteks üzerine olan retiküler aktivitenin ayarlanması.

Hipokampus, hareketlerin davranışlara dönüşmesinde önemli rolü bulunan limbik sistemde yer almaktadır. Bunun dışında hafıza ve özellikle de “kısa süreli hafıza” üzerinde önemli rolü bulunmaktadır. Yön bulma konusunda oldukça etkilidir. Alzheimer hastalığında beyin içinde ilk etkilenen yerlerden biri hipokampustur. (Padurariu ve ark., 2012). Bu yüzden Alzheimer hastalığında hafıza bozuklukları ve dezoryantasyon erken belirtilerdendir. Oksijen yetmezliği, ensefalit ve medial temporal lob epilepsisi de hipokampus hasarına neden olabilir (Kaiboriboon ve Hogan., 2002).

2.11. Stereoloji

Stereoloji, üç boyutlu örneklerin (biyolojik yapılar, metalurjik örnekler vb.) iki boyutlu kesitlerinden elde edilen verilere dayanarak, onların gerçekteki üç boyutlu özellikleri ile ilgili bilgilerin elde edilmesini ve yorumlar yapılmasını sağlayan bilim dalıdır. (Ünal ve ark., 2002).

Biyolojik yapılarla ilgili çalışmalarda, sayısal verilerin önemi büyüktür. Özellikle hücre, çekirdek, mitokondri vs. gibi doku bileşenlerinin sayısı, karşılaştırmalı çalışmalar, toksikoloji ve gelişim biyolojisi başta olmak üzere, yapısal nicelik ile fonksiyon arasındaki ilişkilerin incelendiği tüm dallarda önemli veriler sağlar (Gundersen, 1986). Bir organ veya yapıdaki belli bazı partiküllerin sayılarını belirlemek için yıllar boyunca değişik metotlar

kullanılmıştır. Modern stereolojik metotların ortaya çıkmasına kadar olan süreç içerisinde gerçekleştirilmiş olan çalışmalarda, yapılardan elde edilmiş kesit veya dilimler üzerinde ilgilenilen taneciklerin (hücre, çekirdek vb.) izdüşümleri sayılmış ve bir takım düzeltme faktörlerinin de kullanılmasıyla, ilgilenilen taneciğin gerçek sayısının bulunmasına çalışılmıştır (Abercrombie, 1946; Weibel, 1969; Haug, 1986). Sözü edilen düzeltme faktörleri terimi, aslında, çok önceleri fark edilmiş olan bir yanlışlığı düzeltmek amacıyla ortaya atılmış olan bir dizi düşünceyi kapsamaktadır. Stereolojik prensiplerin jeoloji disipliniinde başlayıp biyolojik bilimler üzerinden süren yolculuğu sayesinde ki, bugün tarafsız ve etkin bir dizi metotla, gerçek tanecik sayısına ulaşılabilir (Haug, 1986).

2.11.1. Stereolojide Tarafsızlık ve Etkinlik

Stereolojik çalışmaların esasını, tarafsız örnekleme planları oluşturmaktadır. Herhangi bir yapı üzerinde gerçekleştirilen herhangi bir niceliksel çalışmayı istatistiksel anlamda güvenli kılan en önemli öge, bileşenler üzerinde yapılan örnekleme ve ölçümlerin **tarafsız** (unbiased; ölçümler sonucu gerçek değerden sistematik sapma göstermeyecek şekilde) olmasıdır. Dolayısıyla tüm stereolojik yöntemler, istatistiksel bir yapıya ve buna bağlı olarak da birtakım kurallara bağlıdır (Gundersen ve Jensen, 1987; West, 1999; Gundersen ve ark., 1999).

Stereolojideki önemli bir prensip de **etkinlik** prensibidir. Bunun anlamı, sadece gerektiği kadar birey ve örnek kullanarak, yeterli doğrulukta sonuçlar elde etmeyi sağlamaktır. Herhangi bir sayısal niceliği kesin bir biçimde tespit etmenin en iyi yolu, popülasyonun tümünü örnek olarak alıp, niceliği tümüyle ölçmektir (örneğin bir organda bulunan hücrelerin sayısını belirlemek için organın içerdiği tüm hücreleri teker teker saymak gibi). Fakat bu tip bir yaklaşımın uygulanması biyolojik yapılar için genellikle olası değildir. Mümkün olsa da sonuçların elde edilmesi çok fazla zaman alacağından, sonuçların pratik bir değeri kalmayacaktır. Bundan dolayı, hız ve doğruluğu optimum düzeyde birleştirebilen bir ölçüm ve karşılaştırma yöntemine ihtiyaç duyulmuştur. Modern stereolojinin de bize sağladığı tam olarak budur (Gundersen ve Jensen, 1987; West, 1999; Gundersen ve ark., 1999).

2.11.2. Stereolojide Ön Çalışma

Stereolojik çalışmalarda asıl çalışmaya başlamadan önce bir ön çalışma yapılarak çalışmanın tamamında kullanılacak bir örnek plan belirlenmektedir. Önçalışmada istenen hata miktarına göre yaklaşık olarak ne sıklıkta bir örnekleme yapılması gerektiği saptandıktan sonra bu örnekleme çalışmadaki diğer tüm bireyler için de aynı şekilde

uygulanmaktadır (Canan, 1998). Belirlenen bu çalışma planı daha sonra aynı tür bireylerde ve aynı organ veya doku üzerinde yapılacak diğer stereolojik çalışmalar için de kullanılmaktadır. Diğer bir ifadeyle eğer yapılması düşünülen çalışmaya benzer bir çalışma planı daha önce kaynaklarda mevcut ise yeniden bir örnekleme planı yapmak gerekemeyebilir. Ancak stereolojik çalışma yapan araştırmacıların bir kısmı kendi çalışmaları için her zaman bir örnekleme planı yapmayı tercih etmektedirler (Canan, 1998).

Ön çalışmanın mantığı deneme-yanılma yöntemine benzeyen bir tarzdadır. Birkaç hayvan üzerinde yapılacak değişik sıklıktaki örneklemler istatistiksel analizlere tabi tutularak, en uygun örnekleme teması belirlenmektedir ve bu tema daha sonra tüm çalışmaya aynen uygulanmaktadır.

Yapılacak istatistiksel analizlerin başında, çalışmanın içerdiği toplam hata miktarının hesaplanması gelmektedir. Örnekleme ile çalışan bir ölçüm yöntemi gerçekte belli bir miktar hata payına da sahip olmaktadır. Hata miktarı, yapılan örnekleme miktarına göre değişmektedir. Çok fazla sayıda örnek alınan sık bir örnekleme üzerinden yapılan hesaplamalar daha düşük bir hata miktarına sahip olurken, daha seyrek ve az örnek alınarak yapılan çalışmalarda hata miktarı daha fazla olmaktadır. Bir çalışmadaki toplam hata miktarı hata katsayısı (Coefficient of Error) ile belirlenir. Genellikle, 0.05 değerinin altında bir hata katsayısı, stereolojik bir çalışmanın güvenilirliği için yeterli kabul edilmektedir (Gundersen ve Jensen, 1987; West, 1999; Gundersen ve ark., 1999).

Hata katsayısını 0.05 değerinin altında ya da bu değerde tutabilmek için çoğu zaman grupta en az 5 hayvanın olması gerekmektedir (Hayvan sayısının ise, biyolojik varyasyona bağlı hata katsayısı $1/2 \cdot n$ 'dir) (Gundersen ve Jensen, 1987). Çalışılan denek sayısını artırmak elbette ki gerçek değere daha fazla yaklaşmayı sağlayacaktır, fakat çok fazla sayıda denekte çalışmak, hem stereolojik metodların "etkinlik" prensibine uymamakta, hem de deney hayvanlarının fazla miktarda harcanmasını gerektirdiğinden çoğu zaman tercih edilmemektedir. Bu durumu, istatistiksel bir bakış açısından düşünmek gerekir ve bu nokta hiçbir zaman gözardı edilmemelidir. Yapılan çalışmalarda hesaplanan değerlerin birbirlerinden olan farkı manasında düşünülebilecek hata katsayısı, biyolojik çalışmalar için hiçbir zaman "sıfır"a indirilmemektedir. Bunun sebebi, bu değere en büyük katkısı olan unsurun, çalışılan organların alındığı canlılar arasında bulunan "biyolojik değişkenlik (varyasyon)" olmasıdır. Yani, yapılan çalışmalarda, tek bir birey için örnekleme sayısı ne kadar arttırılırsa arttırılsın, biyolojik varyasyondan, yani canlılar arasındaki sayısal ve yapısal farklılıklardan kaynaklanan hesaplama hatasını belli bir sabit değerin altına

indirmek olanaksız olmaktadır (Gundersen ve Jensen, 1987). Dahası, biyolojik varyasyonun hata payına katkısı, çalışılan organizmaya göre de değişmektedir. Sözelimi, sıçanlarda yapılan bir çalışmada, istenilen hata katsayısı, 5 adet hayvanın çalışmaya dahil edilmesi ile sağlanabilirken, aynı hata katsayısı değerini insan örneklerinden elde edebilmek için ~25 örnek üzerinde çalışmak gerekmektedir (West, 1993). Dolayısıyla, yapılan her çalışma belli bir hata katsayısı sınırı içinde gerçekleştirilmekte ve bu sınırlar içinde elde edilen veriler, araştırmacı için yeterli güvenilirlikte olmaktadır.

2.12. Sistematik Rastgele Örneklem (SRÖ)

Stereolojik metodların en önemli stratejik temelini “**Sistematik Rastgele Örneklem**” (SRÖ) modeli oluşturmaktadır. Bu model, temelde bileşenlerine ayrılarak incelenmesi gereken yapılarda bir örneklem yapılacağı zaman, tüm bileşenlerine yapıyı temsil edebilme açısından eşit olasılıklı şans verilmesi temeline dayanmaktadır. Çalışmalarda doğru sonuca ulaşmanın şartlarından en başta geleni işlemlerin her aşamasında sistematik rastgele örneklem koşuluna bağlıdır. Burada “**sistematik**” sözcüğü ile ilgilenilen bölgede yapılan bir ön çalışma sonucunda elde edilen veriler doğrultusunda örneklemenin tekrar edilen periyodu, “**rastgele**” sözcüğüyle ise belirlenen periyodun ilk elemanının tarafsız bir biçimde seçilmesi anlatılmaktadır (Ünal ve ark., 2002). Örneğin; çalışılan biyolojik yapı için 1/6 oranında bir örneklem yapılacaksa, kesit alma işlemi sırasında her altıncı kesit seçilerek, elimizdeki yapının disektör sayımına uygun gelen sistematik bir örneği elde edilmiş olunur. Bu sistematik örneği rastgele oluşturmak için ise, ilk 6 kesitten bir tane kesitin rastgele seçilip alınması ve bundan sonra gelecek olan her altıncı kesiti almaya devam ederek, eldeki dokusal yapının sona erinceye kadar kesitin alınmaya devam edilmesi gerekmektedir. (Ünal ve ark., 2002). İşlem basamağı içinde rastgele alınan bir başlangıç noktası, kendisinden sonra alınacak olan kesitler için sistematik örneklemeyi de rastgeleleştirmektedir (Ünal ve ark., 2002).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Araştırma Uygulamalarının Yapıldığı Yer

Bu çalışmanın tüm deneysel içerikli uygulamaları ve işlem basamakları Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi (DEHAM), Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı, Sinop Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu Araştırma Laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

3.2. Etik Kurul İzni

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun B.30.2.ODM.0.20.09.00-050.04-137 sayılı izni ile yapıldı.

Çalışmamızda çiftleşmeye bırakılmak üzere toplam 21 adet dişi *Wistar albino* cinsi sıçan (210-250 gr) kullanıldı. Bu gebeliklerden elde edilen yavrulardan ise toplam 42 adet erkek sıçan çalışmada kullanıldı. Tüm hayvanlar steril, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık deney hayvanları ünitesi ortamında, 55-60 °C nem ve 19-22 °C oda sıcaklığında bakım ve beslenmeye tabii tutuldu. Tüm gruplardaki hayvanlara ad- libitum, sınırsız yem ve musluk suyu tüketme imkânı sağlandı.

3.3. Farelere Uygulanan Maddeler

Çalışmamızda kullandığımız Klorprifos ve Kurkumin Sigma firmasından, *Ganoderma lucidum* ekstraktı sıvı halde ticari formda temin edildi. Sıçanlara Klorprifos 5 mg/kg dozunda, Kurkumin 100 mg/kg dozunda ve *Ganoderma lucidum* 400 mg/kg dozunda gebeliğin birinci gününden itibaren doğum olana kadar her gün günde bir kez gavaj yoluyla uygulandı.

3.4. Çalışmalarda Kullanılan Kimyasal Maddeler

Disodyum Hidrojen Fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$),

Potasyum Dihidrojen Fosfat (KH_2PO_4),

Sodyum Klorür (NaCl), Entellen ve Parafin Merck W. Germany Firmasından,

Absollü etil alkol ve Ksilen Riedel-de Haën Firmasından,

Formaldehit, Lab Scan Analytical Sciences Firmasından,

Creysl violet, Sigma Aldrich Firmasından,

Glasiyal asetik asit, Sigma Aldrich Firmasından,

Ketamin, Sigma Aldrich firmasından temin edildi.

3.5. Çalışmalarda Kullanılan Aletler

Sartorius CP 224 S hassas terazi,

Electromag M 6040 BP inkübatör,

Reichert-Jung 2030 Rotary mikrotom,

Cyberscan 500 pH metre,

Parafin su banyosu,

Leica D 1000 ışık mikroskobu,

Leica DFC 290 görüntü aktarım aparatı,

Dell Inspiron bilgisayar,

Jencons ScientificvLlimited su arıtma cihazı,

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında bulunan stereoloji analiz sistemi.

3.6. Deney Protokolü

Çalışma genel olarak üç aşamada gerçekleştirildi;

- **1. Aşama:** Dişi sıçanların deneysel gruplara uygun olarak ayrılması ve deney grubundaki dişi sıçanlara ilaç uygulaması,
- **2. Aşama:** Gebe kalan sıçanlardan elde edilen yavruların deney planına uygun olarak ayrılması ve 4 haftalık olana kadar kafeslerde bakılması,
- **3. Aşama:** 4 haftalık sakrifiye edilen sıçanların etik kurallara uygun olarak diseke edilen beyinlerine stereolojik metodlara uygun olarak gerekli histolojik işlemlerin uygulanması ve hazırlanan preparatların aynı metot kurallarına göre değerlendirilmesiydi.

1. Aşama: Dişi sıçanların deneysel gruplara uygun olarak ayrılması ve deney grubundaki dişi sıçanlara ilaç verilmesi.

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden alınan 21 adet dişi *Wistar albino* cinsi sıçan (210-250 gr) Tablo 3.1'de gösterildiği gibi 7 gruba ayrıldı.

Tablo 3.1. Çiftleşme için gruplara ayrılan dişi sıçan sayıları

Çalışma Grupları	Dişi sıçan sayısı (n)
1. grup: Sağlıklı kontrol grubu	3 adet
2. grup: Klorprifos uygulanan grup	3 adet
3. grup: Klorprifos + Kurkumin uygulanan grup	3 adet
4. grup: Klorprifos+ <i>Ganoderma lucidum</i> uygulanan grup	3 adet
5. grup: Sadece Kurkumin uygulanan grup	3 adet
6. grup: Sadece <i>Ganoderma lucidum</i> uygulanan grup	3 adet
7. grup: SHAM grubu	3 adet

Çiftleşme için bir kafese iki dişi iki erkek sıçan koyuldu. Gebelik tayini için ölçüt vajinal plak oluşumu kabul edildi. Bu doğrultuda, çiftleşmeye bırakıldıkları günden itibaren hergün dişi sıçanlarda maternal tıkaç oluşup oluşmadığı kontrol edildi ve vajinal plak oluşumu gözlenen sıçanların gebeliğin birinci gününde oldukları kabul edildi. İlaç uygulanacak gruplardaki hayvanlara gebeliğin birinci gününden itibaren gebeliğin son gününe kadar günde bir kez olmak üzere her gün belirlenen dozlarda ilaç gavaj yoluyla verildi (Şekil 3.1). Kontrol grubundaki gebe sıçanlara hiçbir işlem uygulanmadı.



Şekil 3.1. A. Gebe sıçanlara gavaj yoluyla ilaç verilmesi, B. Bir gebe sıçandan elde edilen yavrular

2. Aşama: Gebe kalan sıçanlardan elde edilen yavruların deney planına uygun olarak ayrılması ve sakrifiye edilecekleri güne kadar kafeslerde bakılması.

Tüm dişi sıçanların gebelik dönemleri 21-24 gün sürdü. Her bir dişi sıçandan en az 5 en fazla 13 yavru elde edildi. Bunlardan sadece erkek sıçanlar çalışmaya dahil edildi. Her

grup için 6 adet erkek yavru sıçanın doğum tarihleri not alınarak 4 haftalık olana kadar aynı koşullarda muhafaza edilerek bakımları yapıldı. (Şekil 3.2)



Şekil 3.2. Dört haftalık sıçanlar

3. Aşama: Etik kurallara uygun olarak diseke edilen beyinlere stereolojik metotlara uygun olarak gerekli histolojik işlemlerin uygulanması ve hazırlanan preparatların aynı metot kurallarına göre değerlendirilmesi.

3.7. Histolojik İşlem Basamakları

3.7.1. Perfüzyon ve Beyin Diseksiyonu

Belirlenen günlerde tüm sıçanlar perfüze edilerek beyin dokuları çıkarıldı. Bu amaç için önce sıçanlar, ketamin HCl ile derin anestezi altına alınarak sırt kısmı ızgaraya gelecek şekilde tespit edildi. Makas yardımıyla diyaframın altından, yukarı-sağa ve sola doğru ilerleyerek göğüs kafesi açıldı, kalp ortaya çıkarıldı. Kalp çalışır durumdayken, sol ventriküle 0,5 cc heparin enjeksiyonu yapıldı. Daha sonra kalbin sol ventrikülüne cam bir kanül ile girildi. Perfüzyon sırasında kanın dışarı akması için kalbin sağ atriumu kesildi. Sağ atriumdan çıkan kanın rengi berraklaşınca kadar (yaklaşık 1–2 dakika) kanül aracılığı ile intrakardiyak yoldan önce %0,9'luk serum fizyolojik sonra tamponlanmış

%10'luk nötral formalin verilerek tespit sağlandı (Şekil 3.3). Deney aşamasında kullanılan tüm sıçanların kafatasları çok dikkatli bir uygulama ile etik kurallara uygun olarak açılarak beyin dokuları çıkarıldı. Çıkarılan bu beyin dokuları %10'luk tamponlanmış nötral formalin tespit solüsyonu içerisine gruplar halinde ve ayrı ayrı olarak etiketlenip yerleştirildi. Alınan bütün dokular 7-10 gün fiksatifte bekletildikten sonra sıçanların beyinleri rutin histolojik doku takip işlemlerinden geçirilerek bloklandı.



Şekil 3.3. Sıçanlara, intrakardiyak perfüzyon yöntemiyle önce %0.9 NaCl daha sonra, %10'luk tamponlanmış nötral formalin verilmesi, **B.** Sıçan beyni diseksiyonu

3.7.2. Işık Mikroskopik Doku Takip İşlemi

%10'luk tamponlanmış nötral formaline alınan beyin dokuları fiksasyon süreci sonunda sırasıyla şu işlemlerden geçirildi;

- **Akarsuda yıkama;** Doku kasetlerine alınan dokular, temiz ve akar haldeki çeşme suyu altında gece boyunca yıkamaya alındı. (Bu süre 16-18 saat kadardır ve dokunun fiksatifte kalış süresine göre değişir).

- **Dehidratasyon;** bu işlem için dokular alkol serilerinden geçirildi. Bunun için ise şu işlem basamakları takip edildi;

1. %70'lik etil alkolde 1 gece,
2. %80'lik etil alkolde 1 saat,
3. %96'lık etil alkol'de 1 saat,
4. %96'lık etil alkolde 1 saat,

5. %100'lük etil alkolde 1 saat,
6. %100'lük etil alkol de 1 saat bekletildi.
- **Şeffaflaştırma;** Bu işlemler için;
7. Ksilende ½ saat,
8. Yeni bir ksilende ½ saat bekletildi,
9. Boncuk parafinde oda sıcaklığında (19-22°C) 1 gece yani yaklaşık 12 saat bekletildi,
10. Boncuk parafinde 56-60°C'lik etüvde 1 saat,
11. 56-60°C'lik etüvde yeni hazırlanmış boncuk parafinde 2 saat bekletildi.
- **Bloklama**
12. Son işlem olarak beyin dokuları etiketlenerek L demirlerine gömüldü.

3.7.3. Kesitlerin Alınması ve Kesitlerin Cresyl Fast Violet (Krezil violet) ile Boyanması

Kesit almaya başlamadan önce üzerlerine kesit alınacak lamlara özel bir yapıştırıcı (%10'luk jelâtin (100 ml saf suda 10 gr jelâtinin çözündürülmesi ile elde edildi) ve %10'luk formalinin birebir karıştırılarak hazırlanması ile elde edilen sıvı sürüldü. Üzeri yapıştırıcı ile kaplanan lamalar 1 saat süreyle 37 °C'deki etüvde kurutuldu. Lamaların bu şekilde hazırlanması her kesit alınmasından önce tekrarlandı (Aslan, 1999).

Elde edilen parafin bloklardan daha sonraki bölümlerde açıklanacak olan stereolojik örnekleme uygun olarak kesitler alındı. Kesitler 37-42 °C'deki distile suya bırakıldı ve daha önceden hazırlanmış olan lamlara alınarak, 56-60 °C'deki etüv içinde parafin eriyinceye kadar yaklaşık 12 saat süreyle bekletildi.

3.7.4. Cresyl Fast Violet (Krezil Violet) Boya Prosedürü

1. Lamlara alınan kesitler, ksilende 4 seri halinde ve her seri 10 dakika olacak şekilde uygulandı,
2. %100'lük absolute etil alkol'de 10 dakika bekletildi,
3. %96'lık etil alkol'de 10 dakika bekletildi,
4. %80'lik etil alkol'de 10 dakika bekletildi,
5. %70'lik etil alkol'de 10 dakika bekletildi,
6. Distile suda 10 dakika bekletildi,
7. %1'lik Krezil Violet boyasında 15 dakika süreyle boyandı,
8. Distile su'da 1-2 dakika süreyle bekletildi ve dışarıda hafif kurutuldu,

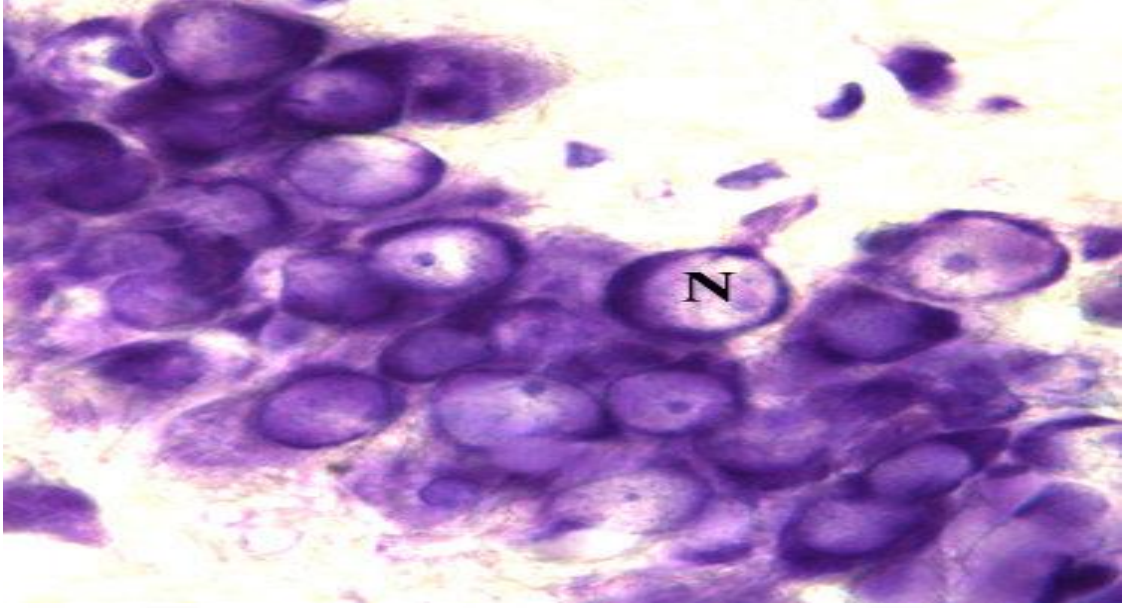
9. %96'lık Etil alkol'de boyanın koyuluğu gidip rengin çoğu ortamdan uzaklaşınca kadar tutuldu,
10. Krezil violet ayrıştırıcısında (60 ml kloroform + 44 ml %96'lık Etil alkol ve 9 damla Glasiyal asetik asit içeren) çekirdek ve Nissl cisimciklerinin farklılaşması sağlanıncaya kadar tutuldu,
11. %96'lık etil alkolde 5 dakika bekletildi,
12. %100'lük absolute etil alkolde 10 dakika bekletildi,
13. Ksilende 10 dakika bekletildi,
14. Yeni bir ksilende 1 saat bekletildi.
15. Sonuç olarak kesitleri alınan lamalar kurumadan entellan yapıştırıcı damlatılarak uygun lamellerle kapatıldı.

3.7.5. Kesitlerde Hipokampus Sınırının Tespiti

Daha önce yapılan çalışmalar incelendiğinde hipokampus sınırlarının farklı şekillerde belirlendiği görülmüştür (Barnea ve Nottebohm, 1996). Bu çalışmada vertikal olarak alınan kesitlerde hücre büyüklükleri veya yoğunlukları hipokampus sınırının belirlenmesinde esas olarak kabul edildi.

3.7.6. Kesitlerde Nöronların Tespiti

Krezil-violele yapılan boyamalarda nöronlar, pembe-eflatun zeminde yuvarlak ya da oval şekilde görülmektedir. Sitoplazmaları tipik olarak dar halka şeklinde, çekirdekleri ökromatik, çekirdekçikleri ise sıklıkla iki belirgin tanecik şeklinde gözlenmektedir. Kesitlerde genellikle büyük nöronlara rastlandı. Ancak küçük boyutlarda nöronlar da mevcuttu (Şekil 3.4)



Şekil 3.4. Hipokampusun CA3 bölgesindeki nöronlar. N: nöron

3.7.7. İmmünohistokimyasal Analizler

GFAP boyanacak poly-L-lizinli pozitif yüklü lamlara alınan doku örnekleri avitin-biotin peroksidaz tekniği kullanılarak boyanmıştır. Bir gece etüvde deparafinizasyon için 50 °C’de bekletilen kesitler, ksilende berraklaştırılıp, alkol içerisinde rehidrate edilmiştir. Antijeni açığa çıkarmak için, 10 mM sitratlı tampon (pH: 6) içerisinde mikrodalga fırında 400 watta 20 dakika ısıtılmıştır. Aynı tampon içerisinde 30 dakika oda ısısında soğumaya bırakılmıştır. Dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak için kesitlere %3’lük hidrojen peroksit çözeltisi damlatılıp 15 dakika bekletilmiştir. Daha sonra kesitlerin immünohistokimyasal olarak boyanması ile tüm boyama basamaklarını sabit ısı ve koşullarda gerçekleştiren tam otomatik immünohistokimya cihazında (VENTANA, Benchmark/I.T., Ventana Medical Systems, USA) gerçekleştirilmiştir. Otomatik boyama yapılan kesitlere primer antikor olarak GFAP monoklonal antikor (Roche, Klon adı EP672Y, kullanıma hazır, dilüsyon 1/100), kullanılarak hedeflenen protein görünür hale getirilmiştir. Antikorlar ile inkübasyon süreleri 2 saat olarak uygulanmıştır. Sonra sırasıyla %70’lik alkolde 2 dakika, %80’lik alkolde 2 dakika, %95’lik alkolde 2 dakika ve absolü alkolde 2 dakika bekletilmiştir. Oda sıcaklığında kuruduktan sonra ksilolde, 15 dakika bekletilen kesitler entellan ile kapatılmıştır.

İmmünohistokimyasal boyanma değerlendirilirken her olguda her bir antikor için kesitin tamamı ışık mikroskopunda incelenmiştir.

3.8. Stereolojik İşlem Basamakları

3.8.1. Stereolojik Metodlar

Bu çalışmada daha önce giriş kısmında kısaca bahsedilen stereolojik metodlardan birisi olan parçalama prensibi ile optik disektör kombinasyonu kullanarak mikroskopik kesitler üzerinde nöron sayım hesaplamaları yapıldı. Bu kombinasyona göre sayı hesaplamaları için aşağıda anlatılacağı gibi belirli stratejiler belirlendi.

3.8.1.1. Kesit Örnekleme İşlemi

Parçalama prensibini gereğince organda **sistematiik rastgele bir örnekleme** gerçekleştirildi. Örnekleme yapılırken dikkat edilmesi gereken temel prensip uygun bir hata katsayı değerinin (0,05 veya daha az) elde edilmesi olup gerekli işlemler bu kural dikkate alınarak gerçekleştirildi (Gundersen ve Jensen, 1987).

Uygun hata katsayısının (HK-CE) belirlenmesi işlemlerindeyse stereolojinin prensipleri gereği bir pilot uygulama yapıldı. Bu uygulamada **kontrol gruplarına** ait beyin dokularında parçalama prensibi esas gereğince sistematiik rastgele bir örnekleme gerçekleştirildi. Daha önceden, beyinde hipokampustaki piramidal hücre sayısının hesaplandığı çalışmalar dikkate alınarak örnekleme aralığı 1/6 oranında kabul edildi (**Sistematiik**). Bu örnekleme aralığıyla beyin bloklarından 20 µm kalınlığında kesitler alınarak, 1/6 oranında sistematiik şekilde ve tekdüze rastgele bir örnekleme yapıldı. Bunun için beyin dokusundan elde edilen ilk 6 kesit arasından bir kesit rastgele seçildi (**Rastgele**). Diğer kesitler ise başlangıçta seçilen kesit üzerine 5 kesit atlanıp 6. kesitin alınmasıyla gerçekleştirildi. Yukarıda belirtilen esaslar gereği bu gruplardaki sıçanların beyin bloklarından ortalama 20-25 kesit elde edildi.

Ön çalışma ile tespit edilen ve çalışmada kullanılan örnekleme oranları ve ölçüm sırasında kullanılan değerler Tablo 3.2’de verilmiştir. Örneklemeyi takiben kesitlerdeki hipokampus nöronları, stereoloji analiz sisteminde, optik parçalama yöntemi kullanılarak sayıldı.

Tablo 3.2. Yapılan ön çalışma ile belirlenen değerler

Kesit örnekleme oranı	1/6
Tarafsız sayım çerçevesi alanı	$30 \times 30 = 900 \mu\text{m}^2$
Adım aralığı	200 μm
Adım alanı	$200 \times 200 = 40000 \mu\text{m}^2$
Optik disektör yüksekliği(h)	10 μm
Üst ve alt güvenlik kuşağı	2 μm
Sayım yapılan objektif büyüklüğü	100x/1,35
Sayım yapılan ortalama kesit sayısı	20

3.8.1.2. Kesitler Üzerinde Sayısal Yoğunluk Hesaplaması

Optik disektörler doku veya organlarda hücre sayısı hesaplamak için kullanılan bir metottur. Bu çalışmada, sayım hesaplamasında kullanılan optik disektörler içeren ve kesitlerde optik parçalama yapabilen özel bir yazılım içeren Stereo-Investigator (sürüm 6.0, Microbrightfield, Colchester, VT) kullanıldı (Şekil 3.5)

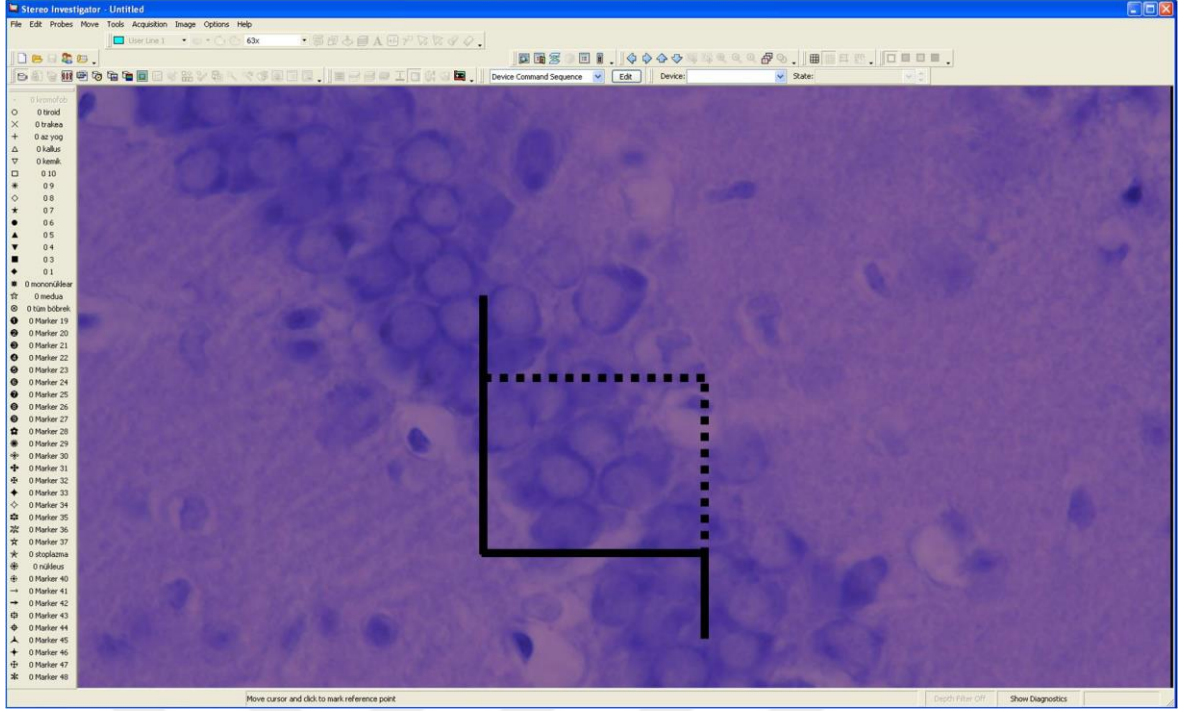


Şekil 3.5. Stereo-Investigator (sürüm 6.0, Microbrightfield, Colchester, VT)

Sözü edilen cihaz (Şekil 3.5) **kameralı bir mikroskop**, mikroskop tablasını hareket ettiren **motorize sistem** ve bunların kullanımı kontrol eden **yazılımı barındıran** bir bilgisayardan oluşmaktadır. Çalışmada, yukarda tarif edilen örnekleme biçimiyle elde edilen kesit serileri (bir hayvana ait) ilki mikroskop tablasına yerleştirdikten sonra kesit üzerinde ölçüm yapacağımız alanın dış hatlarını program yardımıyla çizildi (Şekil 3.6). Son olarak sözü edilen uygulama sırasıyla diğer tüm kesitlere de uygulandı. Ölçüm yapılacak alanlar

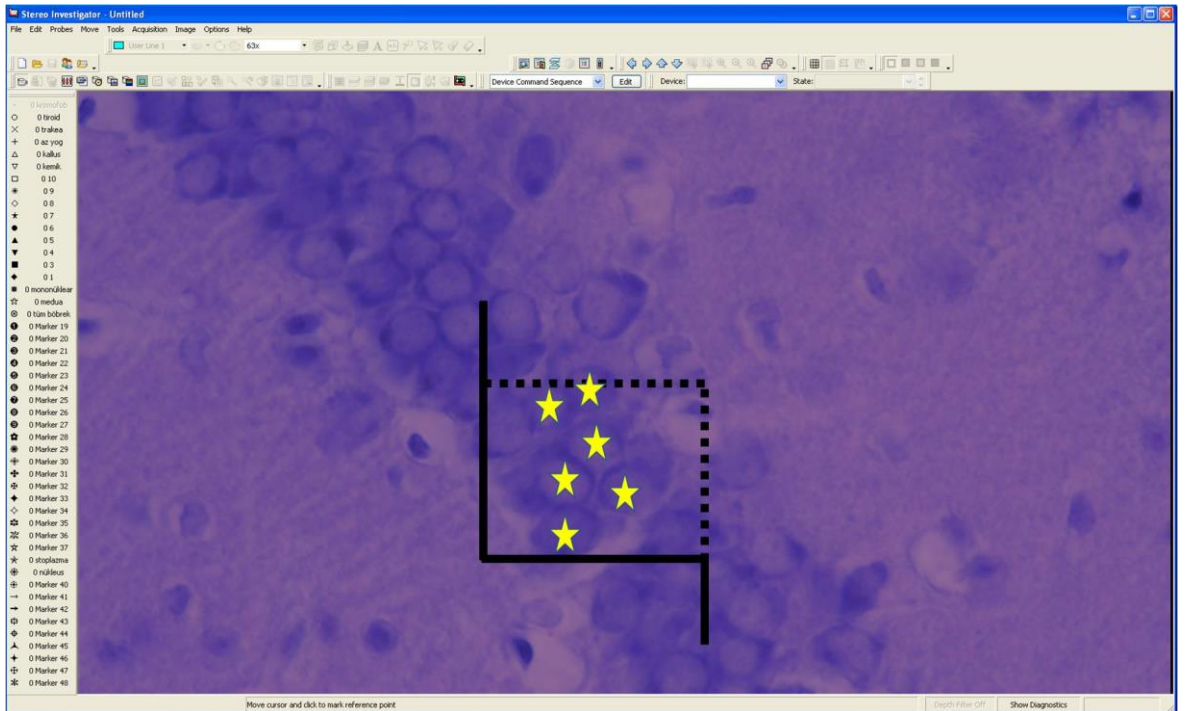
The screenshot shows the Stereo Investigator software interface. The main window displays a 3D reconstruction of a brain section, with a grid of points forming a curved path. A list of markers is visible on the left side of the window. A 'Macro View' window is open in the bottom right corner, showing a zoomed-in view of the path. The status bar at the bottom indicates coordinates (2513.06, 549.60, 1.29) and a scale of 10.37.

49



Şekil 3.8. Optik disektör sondası (tarafsız sayım çerçevesi)

Çalışmamızda kullanılan optik disektörlerin büyüklüğü ve optik parçalamada belirlenen adım aralıkları uygun bir hata katsayısı değerine göre belirlendi (Gundersen, 1986). Sonraki aşamalarda, beyin kesitleri üzerindeki optik disektör içine gelen nöronlar işaretlendi (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. Optik Disektör İçine Düşen Nöronların İşaretlenmesi

Belirli bir hacime sahip olan optik disektör sondası (tarafsız sayım çerçevesi) içine düşen noktalar işaretlendikten sonra, aşağıda ifade edilen formül (Sterio, 1984) yardımıyla kesitlerdeki sayısal yoğunluk yazılım tarafından otomatik olarak ölçüldü.

$$N_v = \frac{\sum Q}{\sum v_{(dis)}} = \frac{\sum Q}{h \cdot \sum a}$$

Formüldeki;

N_v : Sayısal yoğunluk

$\sum v_{(dis)}$: Optik Disektör Sondalarını Toplam Hacimi,

h : Optik Disektör Sondasının Yüksekliği (kalınlığı),

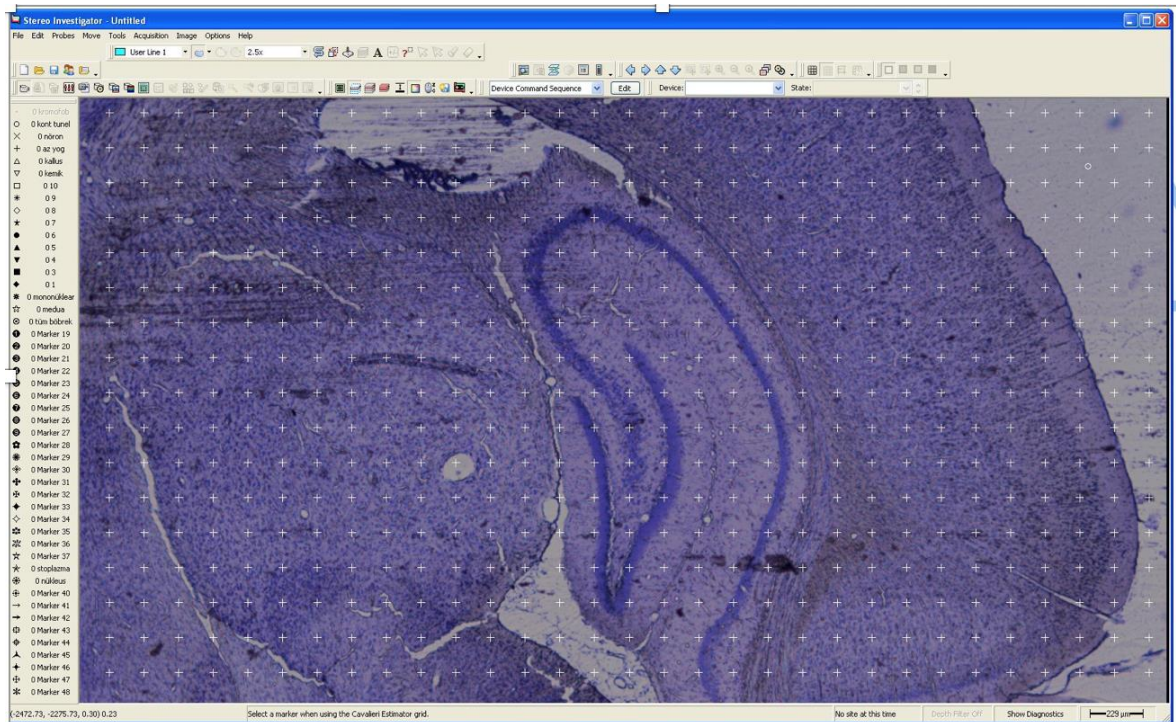
$\sum a$: Optik Disektör Sondalarının Toplam Alanı,

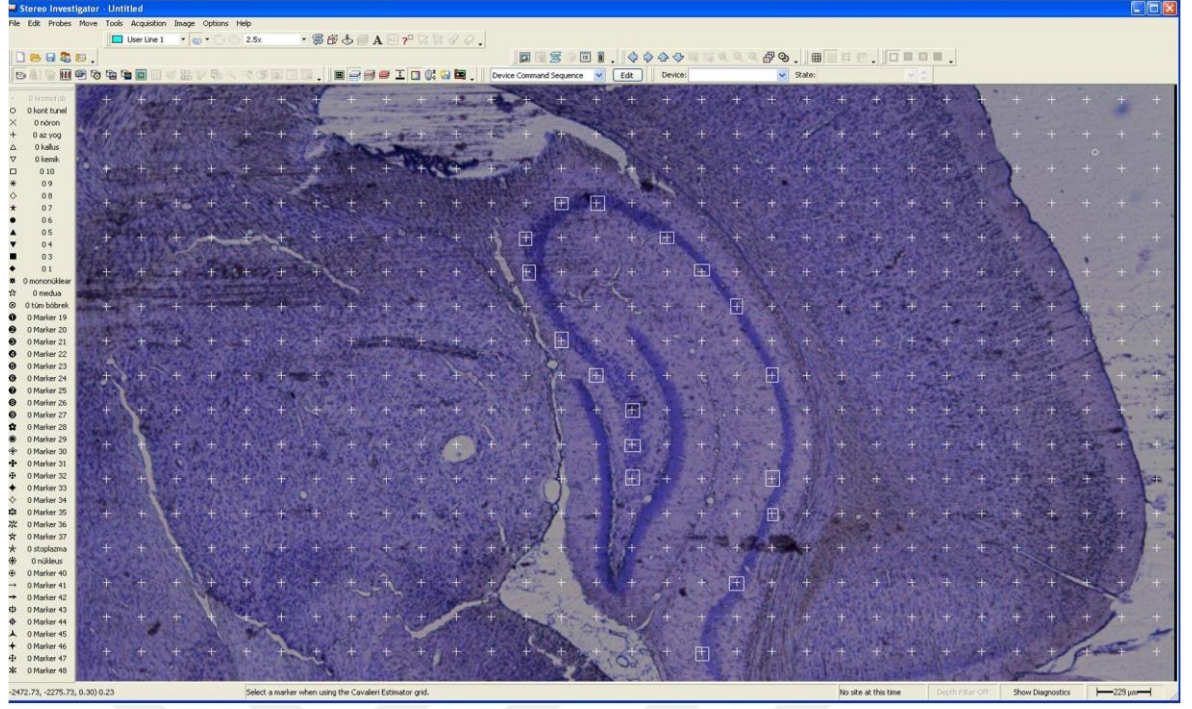
$\sum Q$: Optik Disektör Sondalarının İçine Düşen Toplam Nöron Sayısı.

Diğer kesitler içinde aynı işlem uygulandıktan sonra, her bir denekteki toplam nöron sayısı yukarıdaki formül yardımıyla elde edildi.

3.8.1.3. Kesitler Üzerinde Alan Ölçümü ve Hipokampus Toplam Hacmin Hesaplaması

Cavalieri metodu doku veya organların hacmini hesaplamak için kullanılan özel bir metottur. Bu çalışmamızda, Cavalieri metodu ile alan hesaplaması yapılan bir noktalı alan cetveli içeren özel bir yazılıma sahip Stereo-Investigator (Microbrightfield, Colchester, VT) olarak isimlendirilen bir alet sistemi kullanıldı. Bu alet ve sistemi, dijital kameralı bir mikroskop, mikroskop tablasını hareket ettiren motorize bir sistem ve bunların kullanımı kontrol eden yazılımı bünyesinde bulunduran gelişmiş bir bilgisayardan oluşur. Çalışmamızda, tüm beyin dokularındaki hipokampuslardan örneklenen kesitlerin ilk başlangıç preparatını mikroskop tablasına yerleştirdik ve daha sonra kesit üzerinde ölçüm yapacağımız hipokampus'un dış hatlarının renk değişimlerine ve kesitine göre üzerinde çizimler yaptık. Daha sonraki aşamada, birbirinden eşit aralıklarla ayrılmış noktalardan oluşan sistematik nokta dizgelerini içeren noktalı alan cetveli (Şekil 3.10) rastgele bir açıyla bilgisayarda kesit üzerine bırakıldı.





Şekil 3.11. Hipokampus kesitleri üzerine düşen noktaların işaretlenmesi

Tüm gruptaki diğer preparat kesitleri için de aynı işlemler uygulandı. Son olarak ise Cavalieri prensibine uygun olarak aşağıdaki toplam hacim formülüne göre yazılım tarafından otomatik olarak toplam hacim hesaplanması yapıldı.

$$\hat{V}_{toplaml} = V_1 + V_2 + ...V_n$$

Formülün simgeleri:

V_{Toplam} = toplam hacim

V_1 = birinci preparat kesitinin hacmi

V_2 = ikinci preparat kesitinin hacmi

V_n = sonuncu preparat kesitinin hacmi

3.8.1.4. Toplam Nöron Sayısının Hesaplanması

Hesaplamanın en son basamağı olarak, her bir beyin kesitindeki hipokampustaki toplam nöron sayısı aşağıda verilen formüle uygun olarak hesaplandı;

$$N = \hat{V}_{\text{toplamlam}} \times N_V$$

Bu formüldeki ifadeler;

N= referans hacim,

V_{toplamlam}= toplam hacim,

a/p= bir noktanın temsil ettiği alan ve

N_V= nöron sayısal yoğunluğudur.

3.8.1.5. Hata Katsayı ve Hesaplanması

Beyin preparatlarında her grup içindeki her birey için yapılan hesaplamaların kesinliği veya ortalama hata katsayısı (HK), aşağıdaki aşama aşama verilen eşitliklerden yararlanılarak hesaplandı.

1. Aşama:

$$\text{Noise}_{\text{var}} = \sum Q$$

ΣQ; Fiziksel disektörlerin üzerine düşen nöron sayısını ifade eder.

2. Aşama:

$$\text{Var}_{\text{SRS}} \left(\sum_{i=1}^n a \right) = (3 \cdot (A - \text{Noise}) - 4 \cdot B + C) / 240$$

$$\text{Var}_{\text{SRS}} \left(\sum_{i=1}^n a \right)$$

Bu şekilde elde edilen değişkenlikler, kesit örneklemesinde uygun bir varyasyonu elde etmek için gerekli kesit sayısını verir.

3. Aşama:

$$\text{ToplamVar} = \text{Noise} + \text{Var}_{\text{SRS}}$$

4. Aşama:

$$\text{HK}(\sum Q) = \frac{\sqrt{\text{ToplamVar}}}{\sum Q}$$

Bu çalışmada, toplam hata katsayısı yukarıdaki formüldeki gibi hesaplanmaktadır. Hata katsayısı hesaplaması ise, bir deney hayvanında yapılan örneklemin, bireyler arasındaki farklılıkları hesaba katılmaksızın, ne kadar kesinlikli bir sonuçla hesaplama yapabileceği hakkında niceliksel bir değer ortaya koymaktadır. Bir sonraki aşamada ise, tüm çalışmanın bütün bireyleri her bir grubu için ayrı ayrı değişim katsayısını (Coefficient of variation) hesaplamaktır:

$$DK = \frac{\sqrt{\frac{\text{Standart Sapma}}{n-1}}}{\sum Q} = \frac{\sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{n-1}}}{\sum Q}$$

Değişim katsayısı için genellikle 0.10 değeri kabul edilirken, hata katsayısı için ise genellikle 0.05 sayısı kabul edilen değerdir. Bu iki değer altında yer alan hesaplama sonuçları, çalışmanın yeterli kesinlikte olduğunun niceliksel kanıtıdır. Bu çalışmamızda uygun değişim katsayıları ve hata katsayıları esas alınarak yapıldı.

3.9. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences for Windows) 15.0 programı kullanıldı. Verilerin gruplar arası karşılaştırılmasında nonparametrik Kruskal Wallis testi kullanıldı. Sonuçlar %95 güven aralığında $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı, $p > 0,05$ düzeyinde ise istatistiksel olarak anlamsız olarak değerlendirildi. Grupların ikili karşılaştırmalarında ise nonparametrik Mann-Whitney U testi kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Deney Sırasındaki Gözlemler

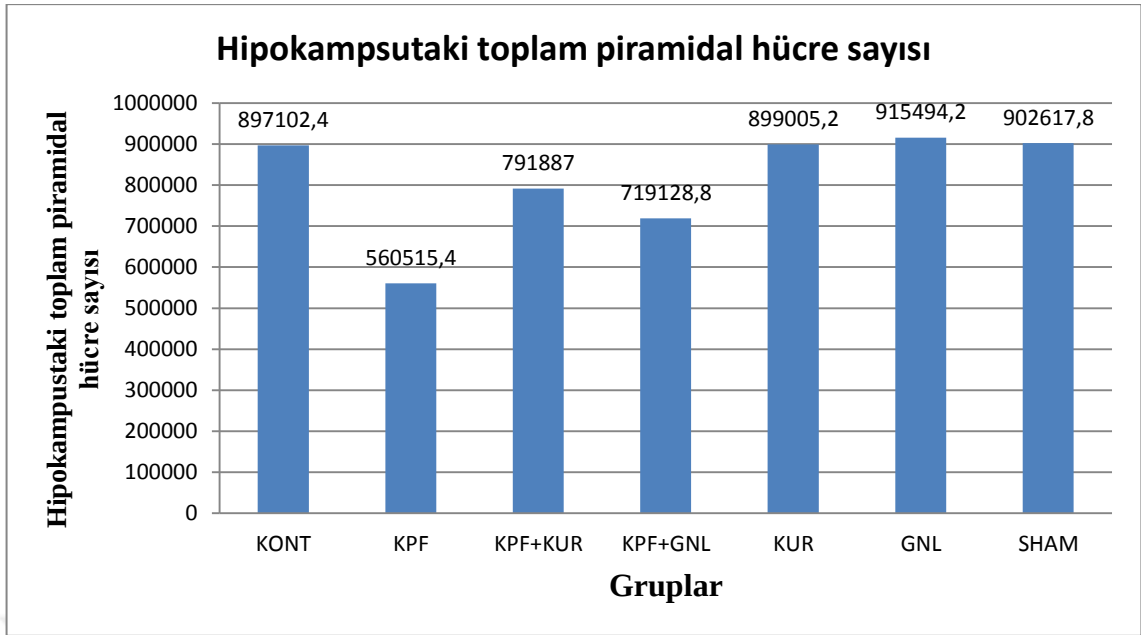
Çalışma sırasında, kontrol ve deney gruplarına ait gebe sıçanlardan elde edilen yavru sayısı ve doğan yavrulardaki gözle görülür bir anomali olup olmadığı (göz, kulak, burun, ağız, uzuvlar, parmaklar, kuyruk, genital organlar hem mevcudiyetleri hem görünüşleri hem de sayıları bakımından) çıplak gözle gözlemlenerek değerlendirildi. Yapılan gözlemler sonucunda klorprifos verilen gebe sıçanlardan iki tanesinin gebelikleri, biri 15. Günde diğeri ise 17. Günde sonlandı ve doğan yavrular kafeslerin içinde ölü ve parçalanmış olarak bulundu. Diğer gruplardaki sıçanlarda gebelikleri boyunca herhangi dikkat çekici bir değişikliğin olmadığı belirlendi.

4.2. Stereolojik Bulgular

Bütün grupların beyin dokusunun hipokampuslarındaki CA bölgesinin stereolojik olarak hesaplamalarından elde edilen toplam piramidal nöron sayıları, standart sapmaları ve değişim katsayıları Tablo 4.1 ve Şekil 4.1’de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Bütün grupların beyin dokularının hipokampuslarındaki ortalama piramidal nöron sayıları, standart sapmaları, değişim katsayıları ve her bir gruptaki sıçan sayısı

Gruplar	Ortalama Toplam Sayı $\pm$ SS	DK	Denek sayısı (n)
KONT	897102,40 $\pm$ 24057,741	0,05	6
KPF	560515,40 $\pm$ 18313,785	0,06	6
KPF+KUR	791887,00 $\pm$ 9520,084	0,02	6
KPF+GNL	719128,80 $\pm$ 23384,838	0,06	6
KUR	899005,20 $\pm$ 11503,420	0,02	6
GNL	915494,20 $\pm$ 12543,256	0,02	6
SHAM	902617,80 $\pm$ 13822,397	0,03	6



Şekil 4.1. Hipokampustaki toplam piramidal nöron sayısı bakımından tüm gruplar arasındaki farklılıklar grafikte gösterilmiştir

Tablo 4.2. Bütün grupların beyin dokularının hipokampuslarındaki piramidal hücre sayılarının gruplar arası karşılaştırmalarından elde edilen p değerleri

İkili Gruplar	p Değerleri
KONT- KPF	0,000*
KONT- KPF+KUR	0,003*
KONT-KPF+GNL	0,000*
KONT-KUR	1,000
KONT-GNL	0,987
KONT- SHAM	0,000*
KPF-KPF+KUR	0,000
KPF-KPF+GNL	0,000*
KPF-KUR	0,000*
KPF-GNL	0,000*
KPF- SHAM	0,000*
KPF+KUR-KPF+GNL	0,070
KPF+KUR-KUR	0,002*
KPF+KUR- GNL	0,000*
KPF+KUR- SHAM	0,001*
KPF+GNL- SHAM	0,000*
KPF+GNL- KUR	0,000*
KPF+GNL- GNL	0,000*
KUR- GNL	0,992
KUR- SHAM	1,000
GNL-SHAM	0,998

Hipokampusta gruplara ait toplam nöron sayısının stereolojik analizinin istatistiksel değerlendirmesi sonucunda, KPF grubuna ait sıçanların hipokampuslarındaki ortalama nöron sayısında, çalışmadaki diğer tüm gruplardaki ortalama nöron sayısına göre azalma olduğu görülmüştür ($p < 0,05$).

KPF+KUR, KPF+GNL gruplarının ortalama nöron sayıları ile KPF grubu arasında bir karşılaştırma yapıldığında; bahsedilen gruplardaki ortalama nöron sayısının KPF grubundaki ortalama nöron sayısından daha fazla olduğu ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. KPF+KUR grubundaki ortalama nöron sayısı, KPF+GNL grubundaki sıçanlardan fazla olmasına rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). KPF+KUR, KPF+GNL gruplarının ortalama nöron sayıları ile KONT grubu arasında bir karşılaştırma yapıldığında; bahsedilen gruplardaki ortalama nöron sayısının KONT grubundaki ortalama nöron sayısından daha az olduğu ($p < 0,05$) tespit edilmiştir. KPF+KUR, KPF+GNL gruplarının ortalama nöron sayıları ile KUR, GNL ve SHAM grupları arasında ikili karşılaştırmalar yapıldığında bahsedilen gruplardaki nöron sayısının KUR, GNL ve SHAM gruplarındaki ortalama nöron sayısından daha az olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$).

KUR grubundaki ortalama nöron sayıları ile KONT, GNL ve SHAM gruplarındaki ortalama nöron sayısı arasında bir karşılaştırma yapıldığında bahsedilen tüm gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).

4.3. Histokimyasal Bulgular

Tüm deney gruplarından elde edilen beyin hipokampus kesitlerinin CA bölgelerinde krezil violet boyama yapılmış olup kesitler ışık mikroskopuyla incelenmiştir. Bunun sonucunda tüm deney gruplarından elde edilen bulgular aşağıda sunulmaktadır:

4.3.1. Kontrol Grubu

Kontrol grubundaki sıçanlardan elde edilen hipokampus örnekleri bilinen olgun hipokampus yapısını yansıtan histolojik görünüme sahipti. CA1 bölgesindeki piramidal hücrelerin, tipik olarak üçgenimsi şekilde oldukları, genellikle küçük ve dağınık yerleşim gösterdikleri gözlemlendi. Ayrıca bu bölgenin diğer bölgelere göre küçük ve yoğun olduğu dikkati çekti (Şekil 4.2).

CA'nın ikinci parçası olan CA2 bölgesinde ise yoğun bir şekilde yerleşim gösteren büyük ve ovoid piramidal hücrelerin varlığı dikkati çekti. CA'nın üçüncü parçası olan CA3 bölgesindeki piramidal hücrelerin CA2 bölgesindeki piramidal hücrelere benzerlik gösterdiği ancak yoğunluklarının daha az olduğu belirlendi (Şekil 4.2)

Hilal biçimli dentate girus bölgesi nöron kümesi şeklindeydi ve kolaylıkla seçilebilmekteydi. Hipokampus nöronları piramidal şekilde olup ökromatik çekirdekli ve bazofilik sitoplazmalıydı. Çekirdeğin içerisinde bir veya iki adet çekirdekçik dikkati çekmekteydi (Şekil 4.2).

4.3.2. Klorprifos Grubu

Klorprifos grubundaki sıçanlardan elde edilen hipokampus örneklerinde CA1 bölgesi normal yapıdaki nöronların az sayıda olmasıyla karakterizedydi. Bu gruplarda yer alan hücrelerin hücre sınırları net bir şekilde ayırt edilememekteydi. Bunun yanı sıra bu bölgede dar stoplazmalı ve koyu boyanmış çekirdeğe sahip nöronlar ile çok sayıda dejenere olmuş hücre artığı yapılar gözlemlendi (Şekil 4.3).

Hipokampus CA2 bölgesinin genel yapısı incelendiğinde ökromatik özelliği kaybolmuş çekirdekler, dar sitoplazmalı ve koyu boyanmış çekirdeğe sahip nöronlar gözlemlendi. Ayrıca nöronların çoğunda hücre sınırları belirgin değildi ve boyut olarak küçülmüşlerdi (Şekil 4.3).

Hipokampus CA3 bölgesinde hücrelerin çoğunda hücre sınırları net bir şekilde ayırt edilememekteydi, ayrıca fazla sayıda dar stoplazmalı ve koyu boyanmış çekirdekli nöronlar saptandı. Niteliksel olarak hücre çekirdeklerinin boyutlarında da azalma olduğu tespit edildi (Şekil 4.3).

Diğer tüm gruplarla kıyaslandığında kesitlerde büyük oranda hücre azalması olduğu niteliksel olarak fark ediliyordu.

4.3.3. Klorprifos + *Ganoderma lucidum* Grubu

Bu gruba ait sıçanların hipokampus kesitlerinin CA1, CA2 ve CA3 bölgeleri incelendiğinde, hücre ve çekirdek sınırı net olarak gözlemlenebilen hücre sayısının KPF gruplarına göre fazla olduğu görüldü. Ancak nöronların morfolojilerindeki bu düzelmenin KPF+KUR grupları ile kıyaslandığında daha az olduğu tespit edildi. Bu gruba ait sıçanların hipokampuslarının tüm CA bölgelerindeki piramidal nöronları kontrol, KUR, GNL ve SHAM grupları ile kıyaslandığında ise koyu boyanmış çekirdek ve sitoplazma sınırları iyi seçilemeyen nöronların olduğu tespit edildi. Bu gruptaki kesitlerde koyu boyanmış çekirdek sayısı ve dejenere olmuş hücre artığı yapılarının sayısı KPF grubuna kıyasla daha az ancak KPF+KUR gruplarına göre daha fazlaydı. Kesitlerde yapılan niteliksel değerlendirmeler sonucunda Kurkumin'in, *Ganoderma lucidum*'dan daha etkin bir şekilde nöron koruyucu etki gösterdiği belirlendi (Şekil 4.4).

4.3.4. Klorprifos+ Kurkumin Grubu

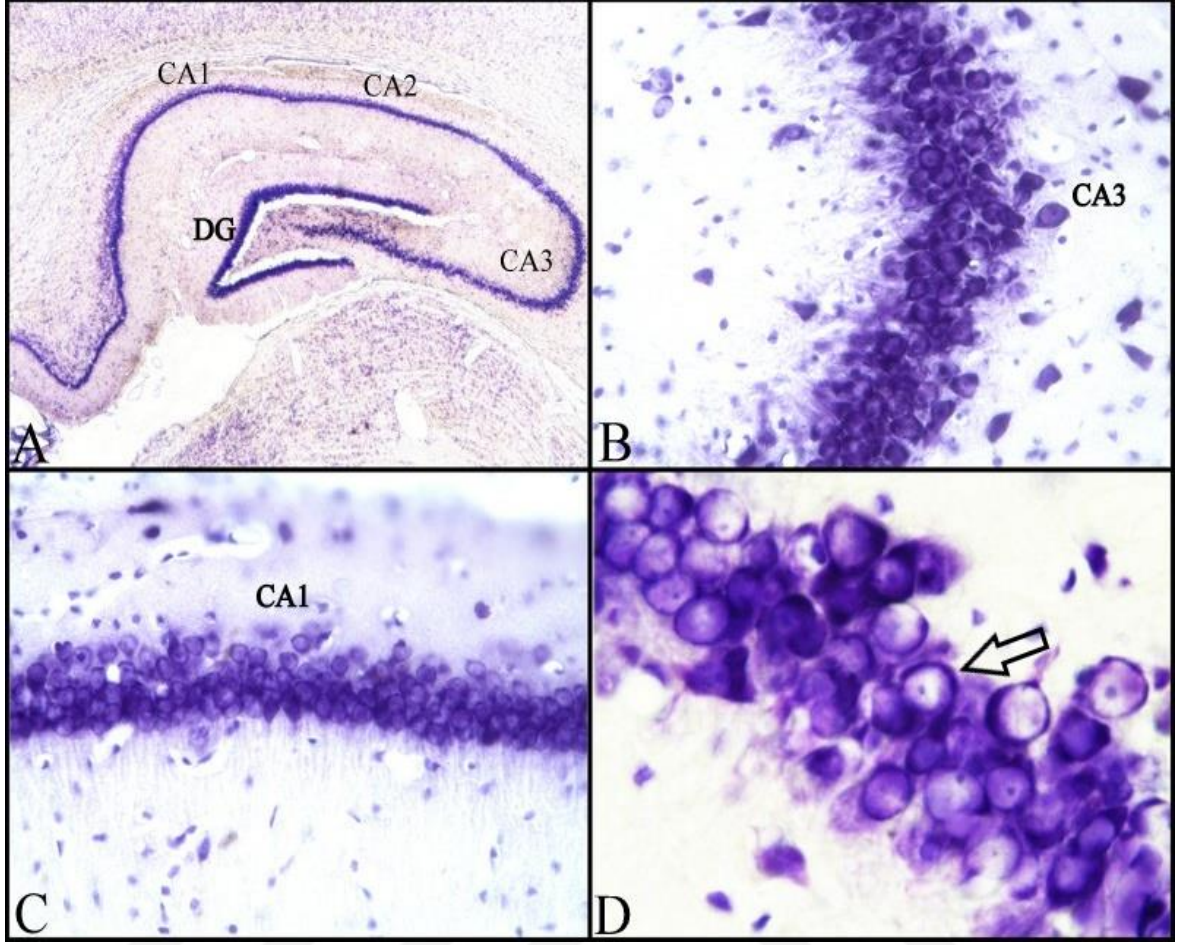
Bu gruba ait sıçanların hipokampus kesitlerinin CA1, CA2 ve CA3 bölgeleri incelendiğinde, hücre ve çekirdek sınırı net olarak gözlenebilen hücre sayısının KPF gruplarına göre fazla olduğu görüldü. Ayrıca kesitlerdeki nöronların sayısal yoğunluklarının da KPF grubuna göre niteliksel olarak daha fazla olduğu oldukça belirgindi. Bu gruba ait sıçanların hipokampuslarının tüm CA bölgelerindeki piramidal nöronları kontrol, KUR, GNL ve SHAM grupları ile kıyaslandığında ise az miktarda da olsa koyu boyanmış çekirdek ve sitoplazma sınırları iyi seçilemeyen nöronların olduğu tespit edildi (Şekil 4.5).

4.3.5. Kurkumin, *Ganoderma Lucidum* ve SHAM Grubu

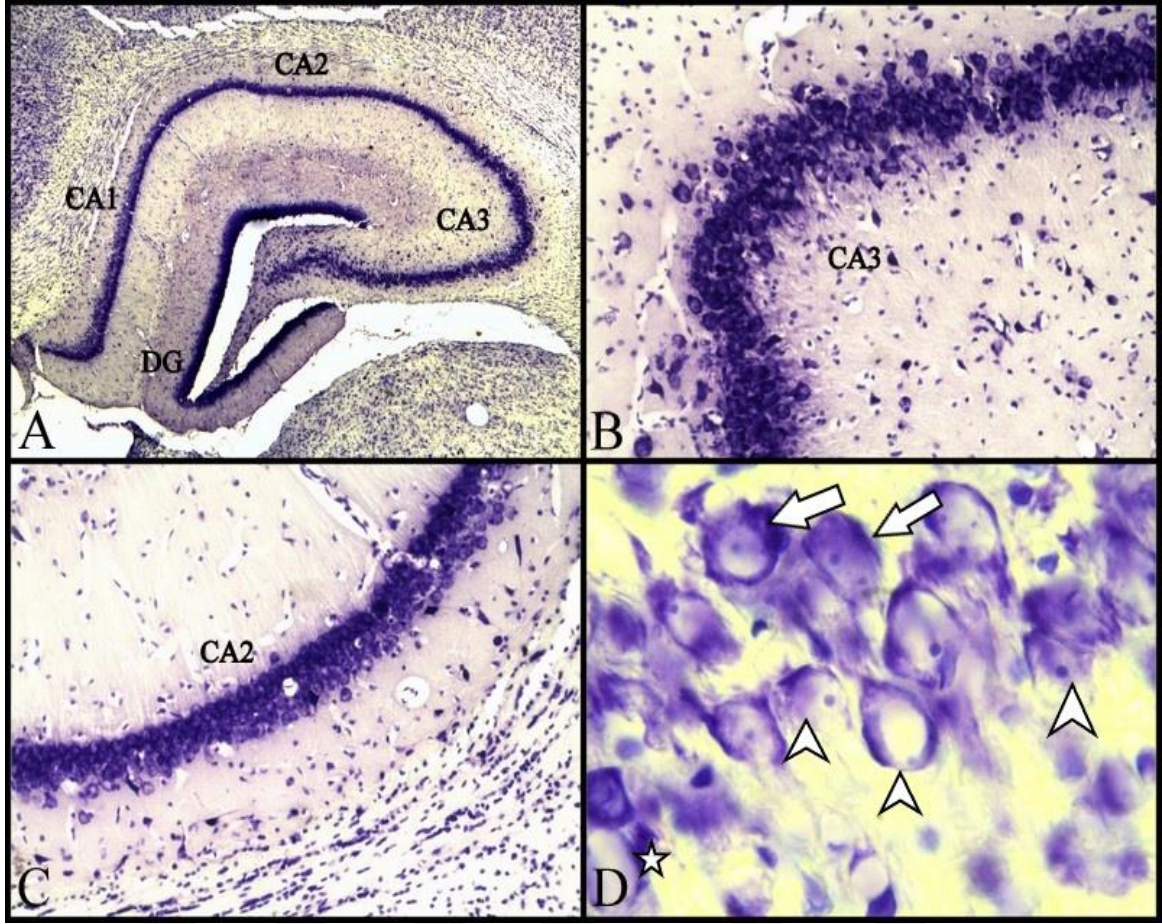
KUR, GNL ve SHAM gruplarına ait kesitlerde, hipokampus CA1 bölgesinin genel yapısının ve nöronların normal görünümde olduğu, nöronların perikaryonlarının sınırlarının belirgin olduğu saptandı. GNL grubunda ise KUR, Kontrol ve SHAM gruplarına göre daha fazla sayıda koyu boyanmış çekirdek ve sitoplazma sınırları iyi seçilemeyen nöronlar gözlemlendi.

KUR, GNL ve SHAM gruplarına ait deneklerin hipokampus CA2 bölgelerinde hücreler düzgün şekilli olup sağlıklı görünümdeydi.

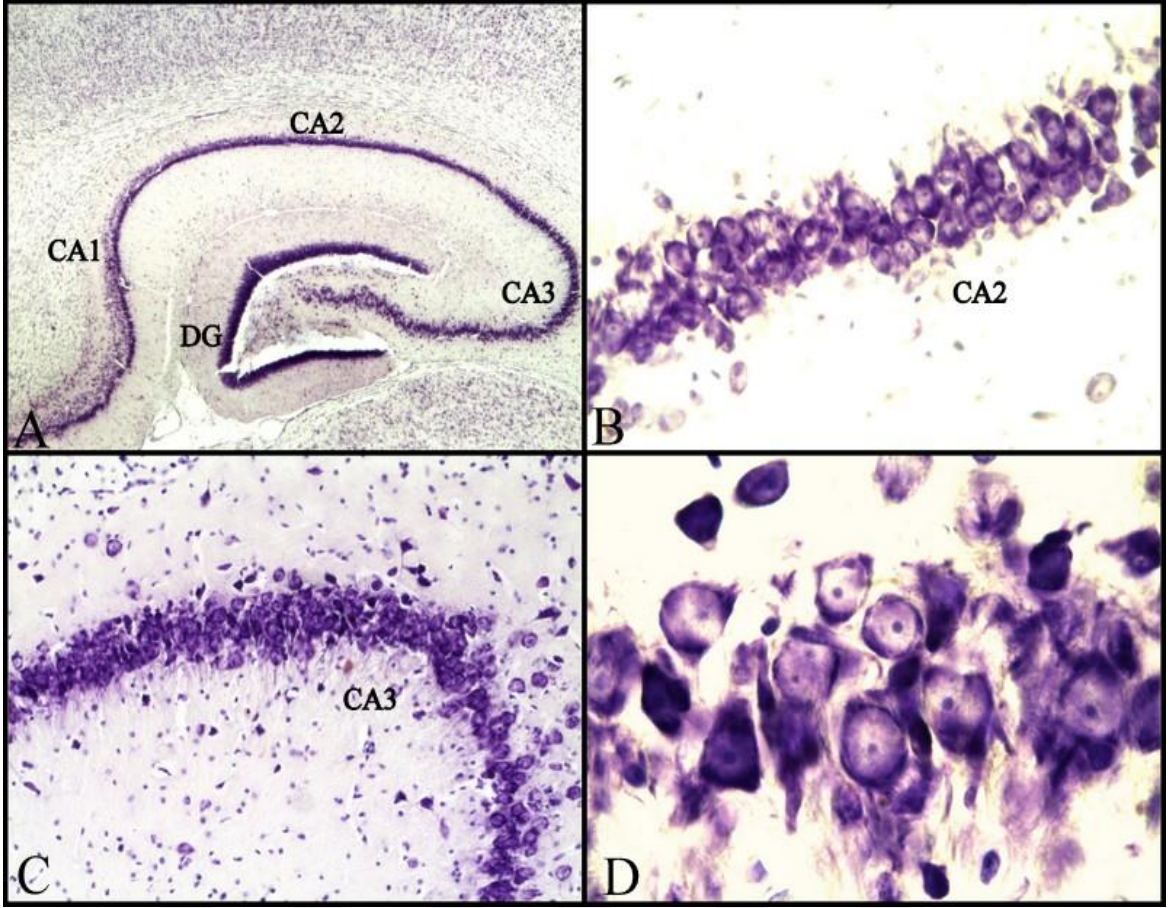
KUR, GNL ve SHAM gruplarına ait deneklerin hipokampus CA3 bölgesinin genel yapısının ve nöronların morfolojilerinin normal görünümde olduğu gözlemlendi. GNL gruplarında ise KUR grubuna göre daha fazla sayıda koyu boyanmış çekirdek ve sitoplazmaları hasarlı görünümlü nöronlar gözlemlendi (Şekil 4.6 ve 4.7).



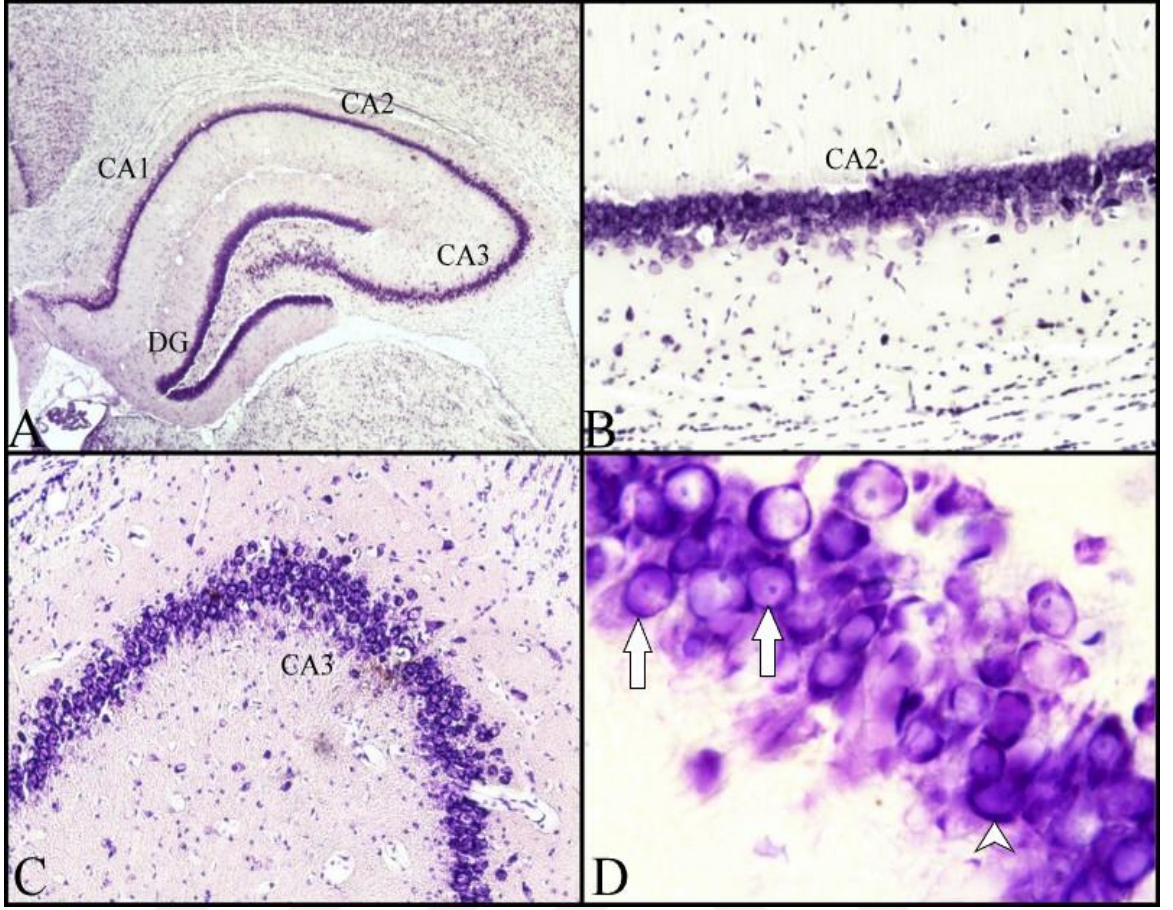
Şekil 4.2. Kontrol grubuna ait beyin dokusundaki hipokampusun ışık mikroskopik kesit görüntüleri. **CA1, CA2, CA3** hipokampus bölgeleri, **DG**; dentat girusu, beyaz ok sağlıklı nöronu göstermektedir. Boya: Krezil violet. **A.** X40, **B.** X400, **C.** X400, **D.** X1000. Boya: Krezil violet



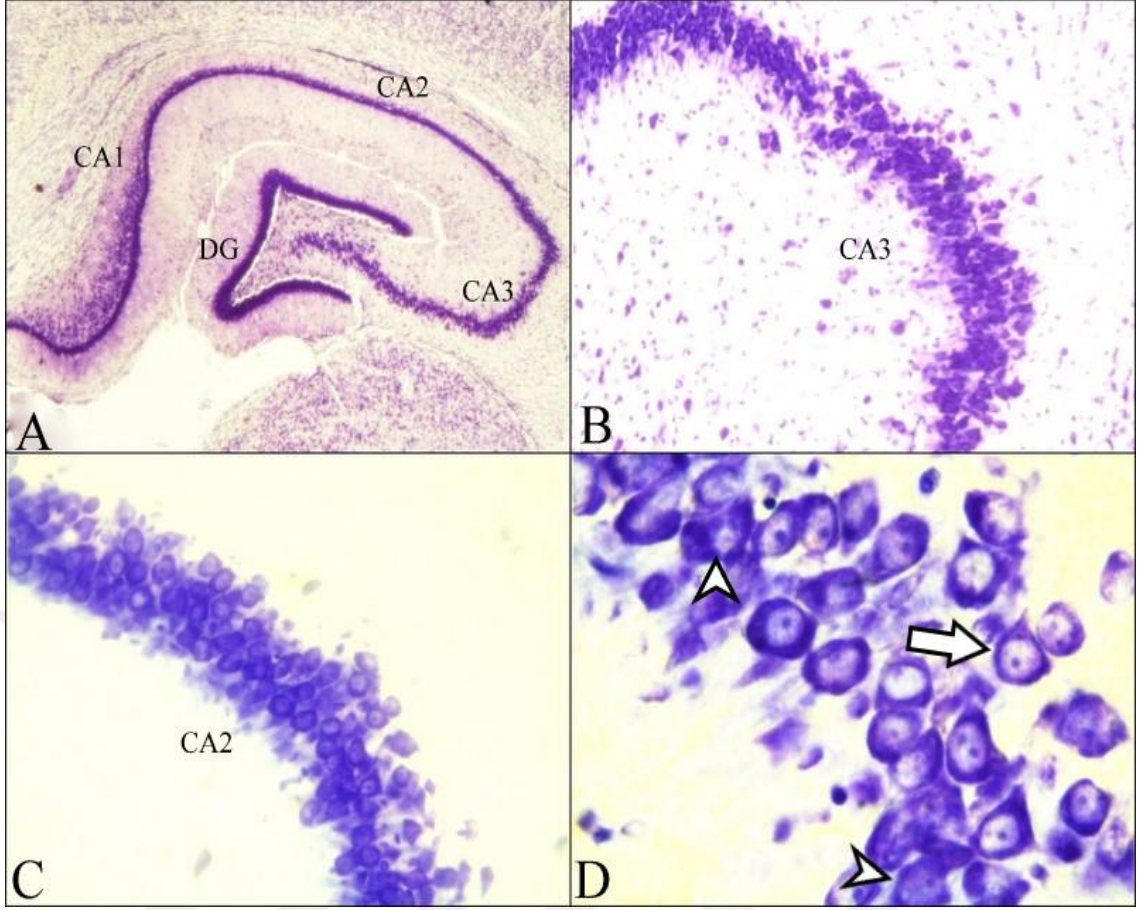
Şekil 4.3. Klorprifos grubuna ait grubuna ait beyin dokusundaki hipokampusun ışık mikroskopik kesit görüntüleri. **CA1**, **CA2**, **CA3** hipokampus bölgeleri, **DG**; dentat girus, Beyaz oklar sağlıklı nöronlara işaret ederken, beyaz ok başları dejenere nöronları göstermektedir. **A.** X40, **B.** X400, **C.** X400, **D.** X1000. Boya: Krezil violet



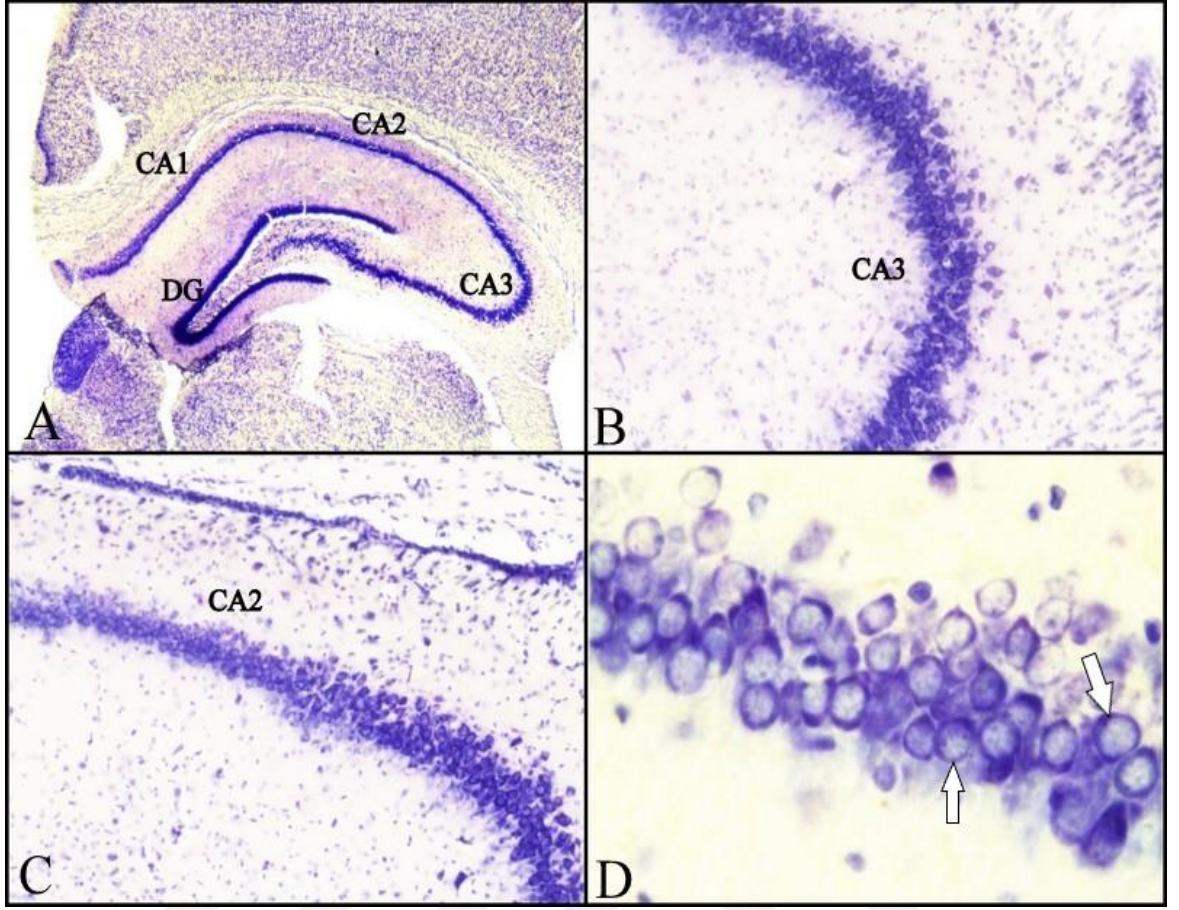
Şekil 4.4. Klorprifos+*Ganoderma lucidum* grubuna ait beyin dokusundaki hipokampusun ışık mikroskopik kesit görüntüleri. **CA1**, **CA2**, **CA3** hipokampus bölgeleri, **DG**; dentat girus, Beyaz oklar sağlıklı nöronlara işaret ederken, beyaz ok başları dejenere nöronları göstermektedir. **A.** X40, **B.** X400, **C.** X400, **D.** X1000. Boya: Krezil violet



Şekil 4.5. Klorprifos+Kurkumin grubuna ait beyin dokusundaki hipokampusun ışık mikroskopik kesit görüntüleri. **CA1, CA2, CA3** hipokampus bölgeleri, **DG**; dentat girus, Beyaz oklar sağlıklı nöronlara işaret ederken, beyaz ok başları dejenere nöronları göstermektedir. **A.** X40, **B.** X200, **C.** X200, **D.** X1000. Boya: Krezil violet



Şekil 4.6. *Ganoderma lucidum* grubuna ait beyin dokusundaki hipokampusun ışık mikroskopik kesit görüntüleri. **CA1, CA2, CA3** hipokampus bölgeleri, **DG**; girus, Beyaz oklar sağlıklı nöronlara işaret ederken, beyaz ok başları dejenere nöronları dentat göstermektedir. **A.** X40, **B.** X200, **C.** X400, **D.** X1000. Boya: Krezil violet



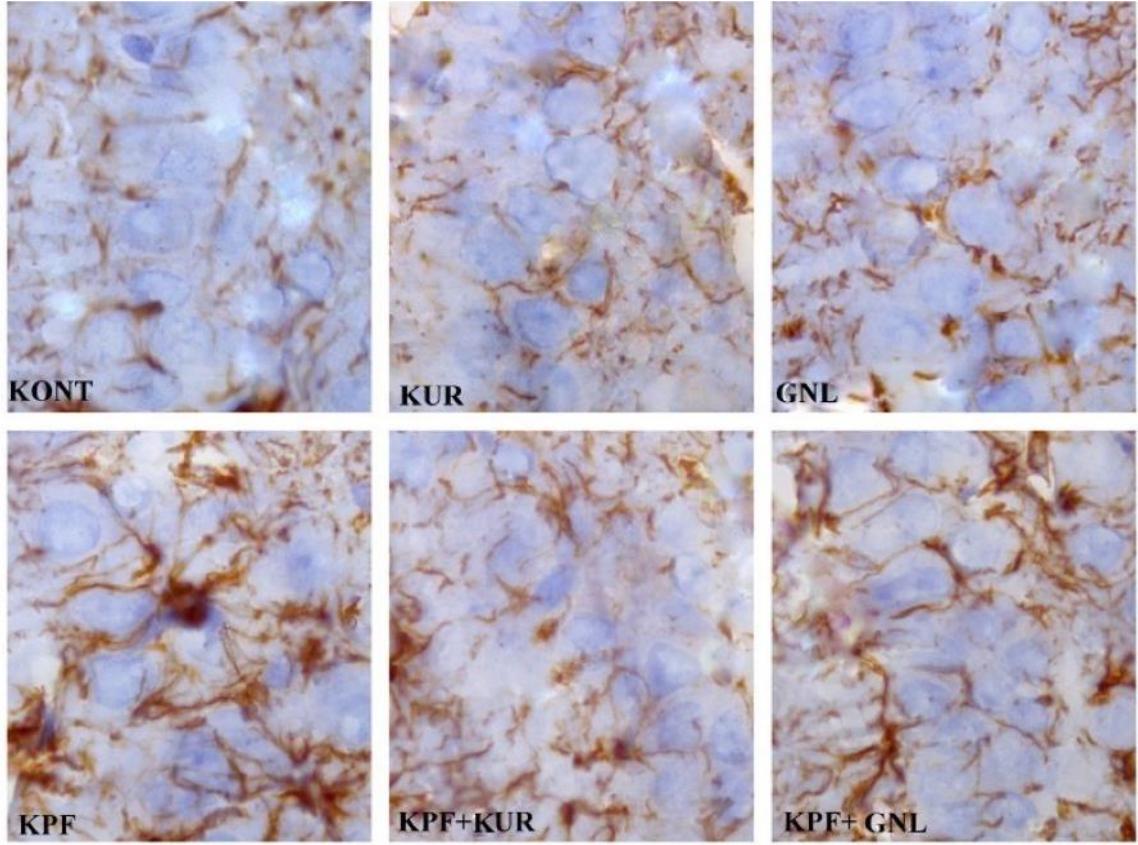
Şekil 4.7. Kurkumin grubuna ait beyin dokusundaki hipokampusun ışık mikroskopik kesit görüntüleri. **CA1, CA2, CA3** hipokampus bölgeleri, **DG**; dentat girus, Beyaz oklar sağlıklı nöronları göstermektedir. **A.** X40, **B.** X200, **C.** X200, **D.** X1000. Boya: Krezil violet

4.4. İmmünohistokimyasal Bulgular

Tüm gruplardaki sıçanlara ait beyin kesitlerinde hipokampusların genelinde GFAP pozitif boyanan hücrelerin boyanma yoğunluğuna göre gruplar arasında skorlama yapıldı (Tablo 4.3.). İncelenen kesitlerde klorprifos (KPF) uygulanan gruptaki sıçanlara ait hipokampusların genelinde diğer tüm gruplara göre GFAP pozitif boyanan hücrelerin yoğunluğundaki artış dikkat çekiciydi. Ayrıca bu hücrelerin sitoplazmik uzantılarının arttığı ve çok sayıda dala ayrıldığı gözlemlendi. Kontrol ve KUR grupları arasında belirgin bir fark gözlenmezken, GNL grubunda KONT grubuna göre kısmen biraz daha fazla GFAP pozitif boyanan hücre olduğu görüldü. KPF+KUR ve KPF+GNL gruplarında ise KONT grubuna göre GFAP pozitif boyanan hücrelerin yoğunluğu artmışken, bahsedilen gruplarda KPF grubuna kıyasla bu artışın çok daha az olduğu belirlendi. Ayrıca KPF+KUR ve KPF+GNL gruplarında GFAP pozitif boyanan hücrelerin sitoplazmik uzantıları da KPF grubunda olduğu kadar dallanmış ve uzamış değildi (Şekil 4.8).

Tablo 4.3. Tüm gruplardaki sıçanlara ait beyin kesitlerinde hipokampusların genelinde GFAP pozitif boyanan hücrelerin boyanma yoğunluğuna göre gruplar arasındaki skorlama

	KONT	KUR	GNL	KPF	KPF+KUR	KPF+GNL	SHAM
GFAP (+) boyanan hücre yoğunluğu	+	+	++	++++	+++	+++	+
+ ; hafif (hipokampus genelinin %1-25' lik kısmında) ++ ; orta (Hipokampus genelinin %25-50'lik kısmında) +++ ; şiddetli (Hipokampus genelinin %50-75'lik kısmında) ++++ ; çok şiddetli (Hipokampus genelinin %75-100 kısmında)							



Şekil 4.8. GFAP (+) boyanan hücrelerin hipokampus CA bölgesindeki dağılımı. Beyaz ok: GFAP pozitif boyanan hücreler (astrositler), beyaz ok başları: nöronlar. X100

5. TARTIŞMA

Tarımsal ürünlerin zarar görmesini engellemek ve yaşantımızdaki haşaratlarla mücadele etmek için kullanılan pestisitlerin insan sağlığı üzerine etkileri azımsanamayacak kadar fazladır. Pestisit türleri içerisinde organofosfat insektisitlerin bilinçsiz, rastgele ve aşırı miktarda kullanılmaları ciddi anlamda insan sağlığını tehdit eden bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır (Chung ve ark., 2002).

Günümüzde pestisit kullanımı çok yaygın hale gelmiş olup, evlerimizde, bahçelerimizde böcek ve eklem bacaklılarla mücadelede bilinçsiz bir şekilde kullanılmaktadır. Önlenemeyen pestisit kullanımı bilim insanlarını pestisitlerin insanlar üzerindeki olumsuz etkilerinin ortaya konulmasını araştıran çalışmalara yöneltmiştir. Bugüne kadar bu konuda birçok çalışma yapılmış ve bu kimyasalların insanlar ve hayvan modelleri üzerinde çok ciddi toksik etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (Hancock ve ark., 2007; Braquenier ve ark., 2010). Son yıllarda özellikle lösemi gibi çocukluk döneminde görülen kanser türlerinin artış göstermiş olması ve bu hastalığa yakalanan çocukların genellikle kırsal kesimde tarımla uğraşan ailelerin çocukları olması, yine bu bölgelerde yaşayan insanların gebeliklerinde, düşüklerin, doğum anomalilerinin oluşması akıllara gebelik döneminde veya çocukluk döneminde pestisitlere maruz kalmanın bu tarz sorunların oluşma olasılığını artırma ihtimalini getirmiştir. Nitekim son yıllarda pestisitlerle hayvan modellerindeki gelişimsel toksikoloji üzerine yapılan çalışmalar, fetal gelişim üzerinde toksik etkilere sahip olduklarını göstermiştir (Farak ve ark., 2003; YingTian ve ark., 2005; Burattia ve ark., 2011).

Klorprifos (KPF, o, o-dietil o-3,5,6-trikloro-2-piridil fosforotioat), tüm dünyada yaygın olarak kullanılan bir organofosforlu pestisittir (OP) (Morgan et al., 2005). KPF, 15 ve 30 saatlik kısa bir biyolojik yarı ömürle hızlı bir şekilde metabolize olur (Barr ve Angerer, 2006). 3,5,6-trikloro-2-piridinol (TCPy) çevre ve insan vücudunda KPF'nin başlıca metabolitidir (Morgan ve ark. 2005). KPF ve metabolit TCP'si, maternal kan, maternal idrar, göbek kordon kanı ve meconium gibi çeşitli biyolojik örneklerde tanımlanmıştır (Liao ve ark., 2011; Whyatt ve ark., 2009). Erken yaşamda yaygın KPF maruziyeti göz önüne alındığında, KPF'nin küçük çocuklar üzerindeki olumsuz sağlık etkilerine odaklanmak zorunludur. Erken çocukluk döneminde otizm ve dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu (DEHB) gibi nörogelişimsel bozukluklar, yaşam boyu sakatlığa neden olabilir (Grandjean ve Landrigan, 2014). Genel olarak, kritik gelişme dönemleri sırasında çevresel nörotoksik kimyasallara maruz kalma kalıcı olarak normal beyin fonksiyonlarının yeniden programlanmasına ve dolayısıyla beyin hasarına yol açabilir (Grandjean ve Landrigan,

2006). Hayvan çalıřmalarında, dūřuk seviyeli KPF'ye maruz kalma, sistemik toksisite eřiřinden dūřuk olsa bile, çeřitli olumsuz nōrogeřiřimsel eksikliklere neden olduđu gōsterilmiřtir (Slotkin ve Seidler, 2005). Çok sayıda alıřma, DNA sentezinin inhibisyonu, gen transkripsiyonu, hūcre farklılařması ve sinaptogenezi, beyin bōlgelerinin yapısının deęiřmesi ve tiroid hormon sinyalinin deęiřtirilmesi gibi çeřitli mekanizmaların, kemirgenlerde KPF'ye maruz kalmanın nōrotoksik etkilerinde rol oynayabileceğini gōstermiřtir. (Cole ve ark., 2011; Crumpton ve ark., 2000; Juberg ve ark., 2013). Fetūřler ve kūuk çocuklar olgunlařmamıř olduđundan ve hızla geliřtiđinden, KPF'nin nōrotoksik etkilerine eriřkinlerden daha duyarlı olabilirler (Eskenazi ve ark., 2007). Bu konuda yapılan pek çok çalıřma ile dođum öncesi ve dođum sonrası KPF risklerinin çocukların geliřimsel kritik noktalarıyla bađlantılı olduđu kanıtlanmıřtır (Saunders ve ark., 2012). Prenatal dōnemde KPF'ye maruz kalma ve çocuklarda nōrogeřiřim ūzerine epidemiyolojik çalıřmalar transplasental maruziyet ūzerine odaklanmıřtır. Ancak bu çalıřmaların sonuçları henūř tam olarak netlik kazanmamakla beraber, birçođu KPF maruziyetinin nōrogeřiřimi negatif etkilediğini bildirmiřtir (Gonzalez-Alzaga ve ark., 2014; Mink ve ark., 2012).

Klorprifosun prenatal dōnemde beyin gelişimi ūzerindeki etkilerini tam anlamıyla ortaya çıkarmak ve kalıcı bir hasara yol açıp açmadığını belirlemek için daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır. Ayrıca pesitisitlerin beyin gelişimi ūzerine muhtemel etkilerini azaltan, ortadan kaldıran veya kısmen engelleyebilen bileşiklerin saptanması da onemlidir. Sunulan çalışmada, prenatal dōnemde klorprifosa maruziyetin hipokampustaki negatif etkileri ūzerinde değişik antioksidanların kullanılmasıyla bu maddelerin koruyucu olup olmadığını stereolojik ve histopatolojik yaklaşımlar kullanılarak anlaşılmaya çalışılmıştır.

Çalışmamızın sonuçları stereolojik olarak incelendiğinde, KPF gruplarına ait hipokampustaki ortalama piramidal nōron sayısında çalışmadaki diğer tūm gruplara kıyasla istatistiksel olarak onemli derecede azalma gōzlenmiřtir. Bu gruba ait kesitlerin histopatolojik incelemesinde ise, normal yapıdaki nōronların az sayıda olduğu, bu gruplarda yer alan hūcrelerin hūcre sınırlarının net bir şekilde ayırt edilemediğini, bunun yanı sıra dar stoplazmalı ve koyu boyanmış çekirdeğe sahip nōronlar ile çok sayıda dejenere olmuş hūcre artığı yapılar olduğu gōzlenmiřtir.

Birçok alıřma, ağır metaller ve pesitisitler gibi endūstriyel kimyasalların insan toksisitesinde oksidatif stresin kilit rolūne iřaret etmektedir (Terry, 2012; Farina ve ark., 2013); özellikle, asetilkolinesteraz (AChE) inhibisyonunun yanı sıra, oksidatif stresin indūksiyonu, hem akut hem de kronik organofosfat (OP) pestisit maruziyetine aracılık eden ana mekanizmalar arasındadır (Terry, 2012, Soltaninejad ve Abdollahi, 2009).

Çeşitli çalışmalar KPF'nin hücre kültüründe ve ayrıca farklı hayvan model dokularında oksidatif stresini indüklediğini göstermiştir (Abdollahi ve ark., 2004; Salyha, 2013; Verma ve Srivastava, 2001). KPF'nin neden olduğu oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretiminin artırılması, antioksidan savunmaların tükenmesi ve DNA hasarı, protein oksidasyonu ve lipid peroksidasyonu gibi hücresel oksidatif hasarlarla sonuçlanan antioksidan enzim fonksiyonunun bozulması gibi çeşitli mekanizmalarla aracılık eder (Chiapella ve ark., 2013; Ma ve ark., 2013). Kronik veya subkronik maruz kalmada oksidatif stresin indüklenmesinin KPF toksisitesinin ana mekanizması olduğu bildirilmiştir (Lukaszewicz-Hussain, 2010). Öte yandan, KPF bir lipofilik ajandır, bu nedenle kan-beyin bariyerinden kolayca geçebilir. KPF temel olarak nörotoksik bir ajan olarak bilinir ve beyin KPF toksisitesinin ana hedefidir.

Hayvan modelleriyle ilgili yapılan birçok gelişimsel çalışma, kronik KPF'ye maruz kalmanın, belirgin AChE inhibisyonu yokluğunda bile beyin gelişimini ve nöronal morfogenezini değiştirebileceğini bildirmiştir (Slotkin ve ark., 2012; Timofeeva ve ark., 2008; Viñuela ve ark., 2010). Genç hayvanlarda KPF'nin nörotoksik etkileri hakkındaki araştırma verileri özellikle ilgi çekicidir, çünkü pestisit sinir farklılaşmasını destekleyen gen seviyelerinde değişiklikler ortaya çıkarmaktadır (Betancourt ve ark., 2007). Beyin gelişimi için kritik olan iki faktörün, NGF'nin (Sinirsel büyüme faktörü) ve RLN'in (Reelin) ifadesinin hem düşük hem de yüksek KPF konsantrasyonlarına maruz kalan yenidoğan sıçanların beyinlerinde önemli ölçüde azaldığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. NGF ve Reelin proteininin normal nöronal süreçlerin ve sinaptik plastisitenin oluşturulması için önemli olduğu bilinmektedir. Ayrıca, Reelin sinir hücrelerini uygun konumlarına taşınması için tetikler.

Beyinde yapılan karşılaştırmalı histolojik bir çalışmada, KPF'nin, beyin korteksindeki sinir progenitörlerinin bölünme düzlemi yönelimi üzerindeki etkileri vurgulanmıştır; pestisite maruz kalmanın, hücre küçülmesi ve apoptozis ile ilişkili doğal olmayan yatay mitotik bozulmalara neden olduğu bildirilmiştir (Chen ve ark., 2014). Ayrıca, çok sayıda çalışma Parkinson hastalığı (PD) riskini, pestisit maruziyeti ile, özellikle de klorprifos ile ilişkilendirmiştir (Freire ve Koifman, 2012).

Çalışmamızda KPF gruplarındaki sıçanların hipokampuslarındaki piramidal nöron sayısının azalması ve morfolojilerindeki değişimler KPF'nin beyinde oksidatif hasara neden olduğunu, nöron kök hücrelerinin farklılaşmasını baskıladığını ve nöronlarda apoptozise neden olduğunu gösteren çalışmaları desteklemektedir.

Çalışmamızda KPF+KUR gruplarına ait sıçanların hipokampuslarındaki ortalama piramidal nöron sayısında KONT, KUR, GNL ve SHAM gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalma gözlenirken, KPF gruplarına göre istatistiksel olarak önemli derecede fazla olduğu belirlenmiştir. Aynı gruba ait hipokampus kesitlerinin histopatolojik incelemesinde ise, hücre ve çekirdek sınırı net olarak gözlenebilen hücre sayısının KPF gruplarına göre fazla olduğu, KONT, KUR, GNL ve SHAM grupları ile kıyaslandığında ise az miktarda da olsa koyu boyanmış çekirdek ve sitoplazma sınırları iyi seçilemeyen nöronların olduğu görülmüştür.

Prenatal dönemde KPF'ye maruz bırakılan beyin dokusu üzerinde KUR'nin etkisini gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır, bu nedenle KPF ve KUR ilişkisi üzerindeki çalışmamız özgündür. Diğer taraftan mevcut literatürlere bakıldığında KUR'nin antioksidan, anti-inflamator, anti-apoptotik, anti-poliferatif, anti-kanser, antidepresan, immünomodülatör ve nöron koruyucu özellikleri olduğu görülecektir (Wang ve ark., 2008; Tham ve ark., 2010; Reeta ve ark., 2010).

Diyetle alınan KUR'nin inflamasyon belirteçlerini ve oksidatif hasarı azalttığı belirlenmiştir. Ayrıca Alzheimer hastalığında bellek eksikliğine sebep olan beta amiloidi azalttığı hayvan modellerinde tespit edilmiştir (Yang ve ark., 2005). Bu gibi doğal farmakolojik özelliklerinden dolayı KUR'nin bilişsel hasarların önlenmesinde kullanılması tavsiye edilir. Herhangi bir yan etkisi bulunmamaktadır (Reeta ve ark., 2010). Oksijen radikallerinin türevleri olan reaktif oksijen tiplerinin bilişsel ve nöron hasarı üzerine olan etkileri ayrıntılı olarak incelenmiştir (Berr ve ark., 2000; Serrano ve Klann, 2004). Yaşla ilişkili hafızada görülen eksiklikler beyin ve plazma antioksidanlarının azalışıyla ilişkilendirilir. Bu yüzden antioksidan tedavisi, hasarlanmış beyinde nöron korunmasını arttırmak için uygun bir yöntemdir.

Kim ve ark., (2008) yaptıkları çalışmada kurkuminin farelerin nöral progenitor hücreleri (NPC) ve yetişkin hipokampal nörojenezi üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada Kurkuminin yetişkin farelere uygulanması, kurkuminin yetişkin hipokampal nörojenezi arttırdığına işaret eden hipokampusun dentat girusundaki yeni üretilen hücrelerin sayısında önemli bir artışa yol açmıştır. Araştırmacılar yaptıkları bu çalışma ile kurkuminin gelişimsel ve erişkin hipokampal nörojenezi ve nöralplastisiteyi ve onarımı artırabilecek biyolojik aktiviteyi stimüle edebileceğini göstermişlerdir.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgular, KUR'un iyi bir antioksidan (Zhao ve ark., 2008; Ataie ve ark., 2010; Srivastava ve ark., 2011) ve nöron koruyucu (Wang ve ark., 2008;

Tham ve ark., 2010; Reeta ve ark., 2010) olduğunu belirten diğer çalışmaların sonuçlarıyla uyum göstermektedir.

Ganoderma lucidum, geleneksel Çin tıbbında uzun ömürlülüğü arttırmak için kullanılan iyi bilinen bir bitkidir ve genel sağlık için faydalıdır (Lin, 2005; Sliva 2004). Son yıllarda yapılan çalışmalar ile, *Ganoderma lucidum*'un (GNL) ekstratları izole edilmiştir (Wubshet ve ark., 2012; Pan ve ark., 2013) ve bu ekstraktlar ilaçlarda ve diyet takviyelerinde sıkça kullanılmıştır. GNL'nin bileşenleri arasında esas olarak ergosterol, triterpenoitler, doymamış yağ asitleri ve polisakaritler bulunmaktadır. Tüm bunlar arasında polisakaritler, farmakolojik olarak aktif olan ana bileşendir. GNL ekstraktlarının etkileri, doğal immün yanıtların desteklenmesi, kanser hücresi göçünün baskılamasının yanı sıra hücre çoğalmalarının modülasyonlarıyla da ilişkilidir (Zhao ve ark., 2004; zhang ve ark., 2010). Son yıllarda yapılan çalışmalar GNL'nin nöroprotektif etki gösterdiğini ve amiloid beta (Ap) peptidine bağlı nörotoksisiteyi belirgin şekilde azalttığını göstermiştir (Lai ve ark., 2008). Bunun yanı sıra elde edilen sonuçlar, GNL sporlarının sıçanlara önceden uygulanmasının, hipokampusu oksidatif hasarlardan da koruyabileceğini göstermiştir (Zhou ve ark., 2012).

Yapılan son çalışmalar ile, *Ganoderma lucidum*'un in vitro oksidatif stresi azalttığı, nöronal farklılaşmayı indüklediği (Zhao ve ark., 2005) ve nöroprotektif olduğu gösterilmiştir. *Ganoderma lucidum* ekstraktı, aktif mikroglialardan proinflamatuvar ve sitotoksik faktörlerin ekspresyonunu düşürmüş ve dopaminerjik nöronları inflamatuvar ve oksidatif hasara karşı etkili bir şekilde korumuştur. (Huang ve ark., 2010).

Prenatal dönemde KPF'ye maruz bırakılan beyin dokusu üzerinde GNL'nin etkisini gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır, bu nedenle KPF ve GNL ilişkisi üzerindeki çalışmamız özgündür. Bu çalışmada KPF+ GNL grubundaki sıçanların hipokampuslarındaki piramidal hücre sayısının KPF grubuna göre önemli derecede fazla olduğu tespit edildi. Ayrıca bu gruptaki kesitlerde koyu boyanmış çekirdek sayısı ve dejenere olmuş hücre artışı yapılarının sayısının KPF grubuna kıyasla daha az olduğu gözlemlendi. Elde edilen bu sonuçlar *Ganoderma lucidumun* nöronal farklılaşmayı indüklediğini ve oksidatif hasara karşı nöronları etkili bir şekilde koruduğunu gösteren çalışmaları desteklemektedir.

Bir ara filament proteini olan glialfibriller asidik protein (GFAP), SSS'de astrosit hücrelerinde eksprese edilir ve astrosit aktivasyonunun bir işareti olarak kullanılır (Zhang ve ark., 2012). Reaktif astrogliosis, oksidatif stres gibi zararlı uyaranların neden olduğu SSS hasarına cevaben ve beraberinde nöropatolojik süreç olarak ortaya çıkar. Bu

değişikliklere SSS hasarı bölgelerinde aktif astrositlerin bir işareti haline gelen GFAP seviyesindeki çarpıcı artışlar eşlik eder (Goodlett ve ark., 1993). Çalışmamızdaki en belirgin bulgulardan biri, KPF verilen gruplarda aktif mikroglia varlığını gösteren GFAP ekspresyonunun hipokampusun tüm alanlarındaki artışıydı. Çalışmamızın stereolojik sonuçlarında KPF gruplarının hipokampuslarında piramidal hücre sayısının önemli derecede azalırken aynı grupta hipokampusun tüm alanlarında GFAP ekspresyonu artmıştır. Bu durum şu şekilde açıklanabilir; Ca^{2+} akışına bağlı reaktif astrositoz (Lee ve ark., 2000) çeşitli SSS hasarlarından sonra ortaya çıkar (Eng ve ark. 1992) ve bu astrositlerin hasarlanmaya erken tepkisidir (Little ve O'Callaghan, 2001). Nöron ve glial hücre etkileşimi (Verkhratsky ve Kettenmann, 1996), Ca^{2+} aracılı nöronal aktivite ve sinaptik iletimin düzenlenmesi için esastır. KPF'ye maruz kalma yoluyla sinyal iletiminin değişmesinden sonra Ca^{2+} homeostazının dengesizliği, beyinde apoptozis oluşmasına neden olabilir.

Çalışmamızda antioksidan olarak kullandığımız KPF+GNL ve KPF+KUR gruplarında ise GFAP ekspresyonunun KPF gruplarına göre daha az olduğu belirlenmiştir. *Ganoderma lucidum* ekstratının, aktive olan mikrogliyalardan proinflatuar ve sitotoksik faktörlerin ekspresyonunu indirdiği ve dopaminerjik nöronları enflamatuar ve oksidatif hasara karşı koruduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Huang ve ark. 2010). Ekinci ve ark (2018)'de yaptıkları çalışmada spinal kord hasarında glial hücre ekspresyonunun arttığını, *Ganoderma lucidum*'un ise glial hücre ekspresyonunu indirdiğini, ayrıca çekirdekteki DNA ve apoptotik değişiklikleri de azalttığını belirtmişlerdir. Yine yapılan pekçok çalışma ile kurkuminin, nöronal hasardan kaynaklanan glial aktivasyonunu azalttığı bildirilmiştir (Yang ve ark., 2008; Tripanichkul ve Jaroensuppaperch, 2012). Bachettia ve ark. (2012) de yaptıkları çalışmada in vitro oluşturdukları Alexander hastalığı modelinde kurkuminin GFAP ekspresyonu ve GFAP filament organizasyonu üzerine etkisini değerlendirmişlerdir. Araştırmacılar elde ettikleri sonuçlar ile kurkuminin doza bağlı olarak hem HSP27'yi (small heat shock proteins) hem de alfaB-kristalini indükleyebildiğini, endojen GFAP'nin hem RNA'sının hem de proteininin ekspresyonunu azaltabildiğini, filamentöz organizasyonu iyileştirdiğini göstermişlerdir.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz stereolojik, histokimyasal ve immünohistokimyasal sonuçlar birbirini destekler nitelikte olmakla beraber, literatürde mevcut diğer çalışmaların sonuçları ile de uyumludur.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

✓ KPF grubuna ait sıçanların hipokampuslarındaki ortalama nöron sayısında, çalışmadaki diğer tüm gruplardaki ortalama nöron sayısına göre azalma olduğu görülmüştür ($p<0,05$).

✓ KPF+KUR, KPF+GNL gruplarının ortalama nöron sayıları ile KPF grubu arasında bir karşılaştırma yapıldığında; bahsedilen gruplardaki ortalama nöron sayısının KPF grubundaki ortalama nöron sayısından daha fazla olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir

✓ KUR, KONT, GNL ve SHAM gruplarındaki ortalama nöron sayısı arasında gruplar arasında ikili karşılaştırma yapıldığında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

✓ KPF grubuna ait kesitlerin histopatolojik incelemesinde ise, normal yapıdaki nöronların az sayıda olduğu, bu gruplarda yer alan hücrelerin hücre sınırlarının net bir şekilde ayırt edilemediği, bunun yanı sıra dar stoplazmalı ve koyu boyanmış çekirdeğe sahip nöronlar ile çok sayıda dejenere olmuş hücre artığı yapıları olduğu gözlenmiştir.

✓ Çalışmada KPF+KUR gruplarına ait sıçanların hipokampuslarındaki kesitlerinin histopatolojik incelemesinde ise, hücre ve çekirdek sınırı net olarak gözlenebilen hücre sayısının KPF gruplarına göre fazla olduğu, KONT, KUR, GNL ve SHAM grupları ile kıyaslandığında ise az miktarda da olsa koyu boyanmış çekirdek ve sitoplazma sınırları iyi seçilemeyen nöronların olduğu görülmüştür.

✓ KPF+GNL grubundaki kesitlerin histopatolojik incelemesinde koyu boyanmış çekirdek sayısı ve dejenere olmuş hücre artığı yapılarının sayısının KPF grubuna kıyasla daha az olduğu gözlenmiştir.

✓ GNL grubundaki kesitlerin histopatolojik incelemesinde KUR, Kontrol ve SHAM gruplarına göre daha fazla sayıda koyu boyanmış çekirdek ve stoplazma sınırları belirgin olmayan nöronlar gözlenmiştir.

✓ KPF verilen gruplarda aktif mikrogliya varlığını gösteren GFAP ekspresyonunun hipokampusun tüm alanlarında arttığı gözlenmiştir. KPF+GNL ve KPF+KUR gruplarında ise GFAP ekspresyonunun KPF gruplarına göre daha az olduğu belirlenmiştir. KUR ve SHAM gruplarında GFAP ekspresyonu KONT grubuna benziyorken, GNL grubunda GFAP ekspresyonunun KONT grubuna göre kısmen daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

✓ Kesitlerde yapılan niteliksel değerlendirmeler sonucunda Kurkumin'in, *Ganoderma Lucidum*'dan daha etkin bir şekilde nöron koruyucu etki gösterdiği belirlenmiştir.

Çalışmamızda prenatal dönemde klorprifosa maruziyetin hipokampustaki negatif etkileri üzerinde değişik antioksidanların kullanılmasıyla bu maddelerin koruyucu olup olmadığı stereolojik ve histopatolojik yaklaşımlar kullanılarak anlaşılmaya çalışılmıştır.

Sonuç olarak, prenatal dönemde klorprifosa maruziyet sonucunda hipokampusta gözlenen hücre kaybının GNL ve KUR ile azaltıldığı yani bu antioksidanların hücre düzeyinde koruyucu etki gösterdikleri histopatolojik, immünohistokimyasal ve stereolojik analiz bulgularımızla gösterilmiştir. Bu bağlamda tez çalışmamız, bu konuda yapılacak olan çalışmalar için literatüre yeni veriler sunmaktadır.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgular ve literatürde incelediğimiz çalışmaların sonuçlarını değerlendirdiğimizde, gebelik dönemi, yeni doğan ve çocukluk dönemleri gibi insanların çevresel faktörlere karşı hassas olduğu dönemlerde pestisitlere maruz kalmanın beyin gelişimini olumsuz etkilediğini ve beyinde kalıcı hasarlara neden olabileceğini söyleyebiliriz. Bu nedenle dünyada artan nüfus ile birlikte tarım ürünü ihtiyacının da artması nedeniyle her geçen gün kullanım oranının daha da arttığı pestisitlerin kullanımı konusunda toplumun bilinçlendirilmesi gerekmektedir. Ayrıca günümüzde insanların pestisitlere maruziyetten kaçınmaları neredeyse mümkün olmadığından pestisitlerin doku ve organlar üzerinde oluşturduğu hasarların mekanizmalarını anlamak ve bu hasarları önlemek için daha fazla bilimsel çalışma yapılması gerekmektedir.

KAYNAKÇA

- Abercrombie M. 1946. Estimation of nuclear populations from microtomesections. *Anat Rec*, 94, 239-47.
- Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S., & Rezaie, A. 2004. Pesticides and oxidative stress: A review. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 10(6), Ra141–Ra147.
- Ahmed, O. J., Mehta, M. R. 2009. The hippocampal rate code: anatomy, physiology and theory. *Trends Neurosciences*, 32 (6): 329-338.
- Ahsan, H., Parveen, N., Khan, N. U., Hadi, S. M. 1999. Pro-oxidant, anti-oxidant and cleavage activities on DNA of curcumin and its derivatives demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. *Chem Biol Interact*, 121(2): 161-75.
- Aktan, Z.A. 1997. Limbik Sistem. *Sendrom*, 9 (1): 65-9.430.
- Akpolat, M., Topçu Tarladaçalışır, Y., Uz YH., Sapmaz Metin, M., Kızılay, G. 2010. Kanser Tedavisinde Curcuminin Yeri. *Yeni Tıp Dergisi*, 27: 142-147.
- Altıkat, A., Turan, T., Ekmekyapar Torun, F., Bingöl, Z. 2009. Türkiye’de Pestisit Kullanımı ve Çevreye Olan Etkileri. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 40 (2), 87-92.
- Ağar, S., Aydınoglu, H., Temel O., İkizunal, K., Ece, H. 1991. Pestisit kullanımının tarihçesi, bugünü ve geleceği. *Türk. Entomol. Derg.*, 15 (4): 247 – 256.
- Amri, N., Hammouda, A. Rahmouni, F., Chokri, M.A., Chaabane, R., Selmi, S., Rebai, T., Badraoui, R. 2016. Reproductive effects in hybrid sparrow from a polluted area in Tunisia: Oxidative damage and altered testicular histomorphology. *Ecotox. Environ., Safe*. 129: 164–170.
- Amaral, DG., Insausti, R., Zola-Morgan, S., Squire, LR., & Suzuki, W. 1990. The perirhinal and parahippocampal cortices in memory function. In *Proceedings of Vision, Memory and the Temporal Lobe*, pp. 149-161.
- Anonim, 2012. http://www.megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Pestisitler.pdf (Erişim tarihi: 01.02.2019)
- Araujo, C. C., Leon, L. L. 2001. Biological activities of *Curcuma longa*. *L Mem Inst Oswaldo Cruz*, 96 (5): 723-8.
- Arıncı, K., Elhan, A. 1995. *Anatomi*. Ankara, Güne Kitabevi.
- Aslan H. 1999. Bir ve yedi günlük civcivlerin hippocampuslarında toplam nöron sayısının optik parçalama metodu ile hesaplanması. *Uzmanlık Tezi*, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Ataie, A., Sabetkasaei, M., Haghparsat, A., Hajizadeh Moghaddam, A., Ataie, R., Nasiraei Moghaddam, S. 2010. An investigation of the neuroprotective effects of Curcumin in a model of Homocysteine-induced oxidative stress in the rat’s brain, *DARU*, 18-2.
- Attia, A. A., El-Mazoudy, R.H., El-Shenawy, N.S. 2012. Antioxidant role of propolis extract against oxidative damage of testicular tissue induced by insecticide chlorpyrifos in rats. *Pest.Biochem. Physiol.* 103: 87–9.3.
- Aydın, Ç., Mammadov, R. 2017. İnsektisit Aktivite Gösteren Bitkisel Sekonder Metabolitler ve Etki Mekanizması. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 21: 30-37.

- Barnea A., Nottebohm F. 1996. Recruitment and replacement of hippocampal neurons in young and adult chickadees: an addition to the theory of hippocampal learning (neurogenesis/neuronal overproduction). *Neurobiology*, 93, 714–718.
- Bachettia, T., Zannia, E.D., Balbib, P., Ravazzolo, R., Sechid, G., Ceccherinia, I. 2012. Beneficial effects of curcumin on GFAP filament organization and down-regulation of GFAP expression in an in vitro model of Alexander disease. *Experimental Cell Research*, 318 (2012) 1844–1854.
- Bajgar, J. 2005. Laboratory diagnosis of organophosphates/nerve agent poisoning. *Klin Biochem Metab*, 13: 40-7.
- Braquénier, J., Quertemont, E., Tirelli, E., Plumier J. 2010. Anxiety in adult female mice following perinatal exposure to chlorpyrifos. *Neurotoxicology and Teratology*, 32: 234–239.
- Burattia, M.F., Angelis, G.D., Ricceri, L., Venerosi, A., Calamandrei, G., Testaia, E. 2011. Foetal and neonatal exposure to chlorpyrifos: Biochemical and metabolic alterations in the mouse liver at different developmental stages. *Toxicology*, 280: 98–108.
- Barr, D.B., Angerer, J. 2006. Potential uses of biomonitoring data: a case study using the organophosphorus pesticides chlorpyrifos and malathion. *Environ. Health Perspect.* 114 (11), 1763-1769.
- Barr, M.L., Klerman, J.A. 1988. *The human nervous system*. Philadelphia: JB Lippincott Comp, 5: 266-269.
- Barry, W., Anigbogu, N.C., Williams, C., Edwards, G.M. 1995. Fourier transform Raman spectroscopy of interactions between the penetration enhancer dimethyl sulfoxide and human stratum corneum. *International Journal of Pharmaceutics*, 125 (2): 265-282.
- Betancourt, A.M., Filipov, N.M., Carr, R.L. 2007. Alteration of neurotrophins in the hippocampus and cerebral cortex of young rats exposed to chlorpyrifos and methyl parathion. *Toxicol. Sci.* 100, 445–455.
- Berr, C., Balansard, B., Arnaud, J. 2000. Cognitive decline is associated with systemic oxidative stress: the EVA study. *J. Am. Geriatr. Soc.*, 48, 1285-129.
- Bishop, K.S. ve ark. 2015. From 2000 years of *Ganoderma lucidum* to recent developments in nutraceuticals. *Phytochemistry*, Volume 114; 56-65.
- Boyd, A. J, Sherman, I. A, Saibil, F. G, Mamelak, M. T. 1990. The protective effect of gamma-hydroxybutyrate in regional intestinal ischemia in the hamster. *Gastroenterology*, 99 (3): 860-2.
- Canan, S. 1998. Geçici serebral iske mi sonrası civciv hippocampusunda meydana gelen nöron sayısı değişimlerinin optik fraksiyonlama yöntemi ile araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Carpenter, M. B., Sutin, J. 1983. *Human Neuroanatomy*. Maryland, Williams & Wilkins Press, (8th ed).
- Chakravarty, S. 2014. World Agrochemical and Pesticide Market to Grow 8.7% annually from 2014 to 2018. *Market Research Reports*, 2014 Jun 05.
- Chung, M. K., Kim, J.C., Han, S.S. 2002. Developmental toxicity of flupyrifos, a new organophosphate insecticide in rats, *Food and Chemical Toxicology*, 40: 723-729.

- Cingöz, Ş. 2013. Kurutma İşleminin Bazı Pestisit Kalıntıları Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bil. Ens. Gıda Mühendisliği A.B.D. Tokat.
- Cole, T.B., Beyer, R.P., Bammler, T.K., Park, S.S., Farin, F.M., Costa, L.G., Furlong, C.E. 2011. Repeated developmental exposure of mice to chlorpyrifos oxon is Associated with paraoxonase 1 (PON1)-modulated effects on cerebellar gene expression. *Toxicol. Sci.* 123 (1), 155-169.
- Crumpton, T.L., Seidler, F.J., Slotkin, T.A. 2000. Developmental neurotoxicity of chlorpyrifos in vivo and in vitro: effects on nuclear transcription factors involved in cell replication and differentiation. *Brain Res.* 857 (1e2), 87-98.
- Chiappella, G., Flores-Martin, J., Ridano, M. E., Reyna, L., Magnarelli de Potas, G., Panzetta-Dutari, G. M., & Genti-Raimondi, S. 2013. The organophosphate chlorpyrifos disturbs redox balance and triggers antioxidant defense mechanisms in JEG-3 cells. *Placenta*, 34(9), 792–798.
- Chen, X.P., Chen, W.F., Wang, D.W. 2014. Prenatal organophosphates exposure alternates the cleavage planeorientation of apical neural progenitor in developing neocortex. *PLoS ONE*, 9, e95343.
- Cheung, W. M., Hui, W. S., Chu, P. W., Chiu, S. W., & Ip, N. Y. 2000. Ganoderma extract activates MAP kinases and induces the neuronal differentiation of rat pheochromocytoma PC12 cells. *FEBS Lett.*, 486(3):291-6.
- Christensen, C.J., Silberberg, A., Hursh, S.R., Huntsberry, M.E., Riley A.L. 2008. Essential value of cocaine and food in rats, tests of the exponential model of demand. *Psychopharmacology*. 198(2):221–29.
- Ceulemans, L. J., Verbeke, L., Decuypere, J. P., Farré, R., De Hertogh, G., Lenaerts, K., Jochmans, I., Monbaliu, D., Nevens, F., Tack, J., Laleman, W., Pirenne, J. 2017. Farnesoid X Receptor Activation Attenuates Intestinal Ischemia Reperfusion Injury in Rats. *PLoS One*. 2017 Jan 6;12(1): 0169331.
- Çetinkaya, M.A. 2006. Etefon ve klorprifos etil' in tek ve bir arada etkilerinin rat bağırsak kasında in vitro olarak araştırılması. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, (86).
- Çiftçiöğlu, G. 2006. Çevre ve Gıdalardaki Pestisit Kalıntıları. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 32 (3): 81-90.
- Dağ, S.S., Aykaç, V.T., Gündüz, A., Kantarcı, K., Şişman, N. 2000. Türkiye' de Tarım İlaçları Endüstrisi ve Geleceği, V. Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi Bildirileri. 2. Cilt, TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, Ankara, s. 933-958, 17-21, Ocak.
- Dağlıoğlu, N. 2004. Akut Organofosfatlı Pestisit Entoksikasyonlarının Sıçanlarda Deneysel Olarak Gösterilmesi. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi, Adana.
- Daş, Y. K., Aksoy, A. 2016. Pestisitler, Türkiye Klinikleri. *JV et Sci Pharmacol Toxicol-Special Topics*, 2 (2).
- Delen, N., Durmuşoğlu, E., Guncan, A., Güngör S. N., Turgut, C., Burçak, Alev. 2005. Türkiye'de Pestisit Kullanımı, Kalıntı ve Organizmalarda Duyarlılık Azalışı Sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongre, 3-7 Ocak, Ankara.
- Delen, N. 2008. Fungisitler. Ankara. Nobel Yayın Dağıtım.

- Demirin, H. 2008. Bazı Yağ Diyetlerinin Sıçan Hipokampus Dokusunun Yağ Asiti Kompozisyonu ve NMDA Reseptör Alt birimleri Üzerine Etkisi. Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Isparta, 63.
- Dere, F. 2000. Nöroanatomi. Nobel Tıp Kitabevi. Adana.
- Dinçel, A., Demli, F., Uzun, R., Alatan, F. 2008. Pestisit Zehirlenme Şüphesi İle Gıda Toksikolojisi Laboratuvarına Gönderilen Numunelerin GC-MS ile Analizi- Examination of Food Samples Sent to the Food Toxicology Laboratory for Pesticide Contamination by GC-MS. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 65 (1): 7-15.
- Durmuşoğlu, E., Tiryaki, O., Canhilal, R. 2010. Türkiye’de Pestisit Kullanımı, Kalıntı ve Dayanıklılık Sorunları. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Bornova/İzmir, Erciyes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Melikgazi/Kayseri.
- Duvoix, A., Blasius, R., Delhalle, S., Schnekenburger, M., Morceau, F., Henry, E et al. 2005. Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. Cancer Lett, 223(2): 181-90.
- Devlet Planlama Teşkilatı. 2001. Sekizinci Beş Yıllık Kalkınma Planı, Kimya Sanayi Özel İhtisas Komisyonu Raporu Tarım İlaçları Alt Komisyonu Raporu, DPT: 2591 ÖİK: 603, Ankara.
- Ekinci, A., E., Ozevren, H., Bilgiç, BE., Ekinci, C., Deveci, S., Deveci, Engin., 2018. Neuroprotective Effects of Ganoderma lucidum on Spinal Cord Injury. Int. J. Morphol., 36 (1): 175-179.
- Eng, L.F., Yu, A.C.H., Lee, Y.L. 1992. Astrocytic response to injury. Prog. Brain Res. 94, 353–365.
- Engören, A. T. 2000. Narlıdere ve Balçova İlçesi Sera Çalışanlarının Pestisit Kullanım Durumları. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adli Tıp Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, İzmir.
- Erdem, A., Yaşargil, G. 1993. Roth P: Microsurgical anatomy of the hippocampal arteries. J Neurosurg, 79(2): 256-265.
- Erdem Koç, G., Kaplan, S., Altun, G., Gümüş, H., Deniz, Ö., Aydın, I., Onger, M.E., Altunkaynak, Z. 2016. Neuroprotective effects of melatonin and omega-3 on hippocampal cells prenatally exposed to 900 MHz electromagnetic fields. International Journal of Radiation Biology, 92 (10): 590-595.
- Erdoğan, B.Y. 2010. Samsun’da Yaygın Olarak Kullanılan Pestisitlerin Sağlığa ve Çevreye Etkileri. Alinteri, 19 (B): 28-35
- Eskenazi, B., Marks, A.R., Bradman, A., Harley, K., Barr, D.B., Johnson, C., Morga, N., Jewell, N.P. 2007. Organophosphate pesticide exposure and neurodevelopment in young Mexican-American children. Environ. Health Perspect. 115 (5), 792-798.
- Farina, M., Avila, D.S., Da, Rocha J. B. T., Aschner, M. 2013. Metals, oxidative stress and neurodegeneration: a focus on iron, manganese and mercury. Neurochemistry International. 2013;575–594.
- Freire, C., Koifman, S. 2012. Pesticide exposure and Parkinson’s disease: Epidemiological evidence of association. Neurotoxicology 2012, 33, 947–971.
- Farag, A.T., El Okazy, A.M., El-Aswed, A.F. 2003. Developmental toxicity study of chlorpyrifos in rats. Reproductive Toxicology, 17: 203–208.

- Gao, Y., Tank, W., Gao, H., Lan, J., Zhou, S. 2004. Chemopreventive and tumoricidal properties of ling zhi mushroom *ganoderma lucidum* (w. Curt.: Fr.) lloyd (aphyllophoromycetideae). Part i. Preclinical and clinical studies (review). International Journal of Medicinal Mushrooms, 6.
- Gokcimen, A., ve ark. 2007. Effect of prenatal exposure to an anti-inflammatory drug on neuron number in cornu ammonis and dentate girus of the rat hippocampus: A stereological study. Brain research. 1127. 185-92. 10.1016.
- Grandjean, P., Landrigan, P. J. 2014. Neurobehavioural effects of developmental toxicity. Lancet Neurol. 13 (3), 330-338.
- Grandjean, P., Landrigan, P.J. 2006. Developmental neurotoxicity of industrial chemicals. Lancet 368 (9553), 2167-2178.
- Gonzalez-Alzaga, B., Lacasa~na, M., Aguilar-Gardu~no, C., Rodríguez-Barranco, M., Ballester, F., Rebagliato, M., Hern andez, A.F. 2014. A systematic review of neurodevelopmental effects of prenatal and postnatal organophosphate pesticide exposure. Toxicol. Lett. 230 (2), 104-121.
- Goodlett, C. R., Leo, J. T., O'Callaghan, J. P., Mahoney, J. C., Batı, J.R. 1993. Transient cortical astrogliosis induced by alcohol exposure during the neonatal brain growth spurt in rats. Brain Res Dev Brain Res. 1993; 72(1):85-97.
- Gautam, S. C., Xu, Y. X., Pindolia, K. R., Janakiraman, N., Chapman, R.A. 1998. Nonselective inhibition of proliferation of transformed and nontransformed cells by the anticancer agent curcumin (diferuloylmethane). Biochem Pharmacol, 55(8):1333-7.
- Gonzalez-Alzaga, B., Lacasa~na, M., Aguilar-Gardu~no, C., Rodríguez-Barranco, M., Ballester, F., Rebagliato, M., Hern andez, A.F. 2014. A systematic review of neurodevelopmental effects of prenatal and postnatal organophosphate pesticide exposure. Toxicol. Lett. 230 (2), 104-121.
- Göktürk, F.A. 2007. Pestisit End strisi Atıksularının Fenton Prosesi İle Arıtım. Yüksek Lisans Tezi, T.C. Sel uk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü I  evre M hendisliği Anabilim Dalı, Konya, 81.
- Gundersen, H.J.G. 1986. Stereology of arbitrary particles. J Microsc, 143, 3-45.
- Gundersen, H.J.G., Jensen, E.B. 1987. The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. J. Microsc., 147, 229-63.
- Gundersen, H.J.G., Jensen, E.B., Kieu, K., Nielsen, J. 1999. The efficiency of systematic sampling in stereology-reconsidered. J. Microsc., 193, 199-211.
- Guyton, A.C. 1987. Textbook of Medical Physiology (Türkçe 1. baskı). İstanbul. Mercek Yayıncılık.
- Güler,  .,  obanoğlu, Z. 2001. Pestisitler.  evre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi, TC Sağlık Bakanlığı Sağlık Projesi Genel Koordinatörlüğü, TC Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, No:52, Ankara 1997.
- G r, K., 1997. Toprak Biyokimyası Ders Notları. Selçuk Universitesi Ziraat Fakültesi Yayınları Konya
- Haug, H. 1986. History of neuromorphometry. J Neurosci Methods, 18, 1-17.
- Heming, J.C., Davis, A. C., Robinson, W. B. 1954. Flavor and color evaluation of canning crops grown in soil treated with insecticides. J. of. Food Tech. 8, 227.

- Hancock, S., Ehrich, M., Jonathan Hinckley, J., Pung, T., Jortner, B. S. 2007. The effect of stress on the acute neurotoxicity of the organophosphate insecticide chlorpyrifos. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 219: 136–141.
- Huang, S. Q., Li, J. W., Wang, Z., Pan, H. X., Chen, J. X., & Ning, Z. X. 2010. Optimization of alkaline extraction of polysaccharides from *Ganoderma lucidum* and their effect on immune function in mice. *Molecules*, 15 (5): 3694-708.
- Isaacson, R. L. 2002. Unsolved Mysteries: The Hippocampus. *Behavioral and Cognitive Neuroscience Reviews*, 1(2), 87–107.
- İşık, A. T. 2000. Streptozinle Oluşturulan Deneysel Alzheimer Modelinde Curcumin Tedavisinin Etkinliği. Yandal Uzmanlık Tezi. Genel Kurmay Başkanlığı, GATA, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Iyer, P., Kaufman, F. 2008. Evidence on the developmental and reproductive toxicity of Chlorpyrifos. Reproductive and Cancer Hazard Assessment Branch Office of Environmental Health Hazard Assessment California Environmental Protection Agency.
- İzci, Y., Erbaş, Y.C. 2015. Hipokampus: Yapısı ve Fonksiyonları. *Türk Nöroşir Derg.*, 25: 3, 287-295.
- Jaruga, E., Salvioli, S., Dobrucki, J., Chrul, S., Bandorowicz-Pikula, J., Sikora E et al. 1998. Apoptosis-like, reversible changes in plasma membrane asymmetry and permeability, and transient modifications in mitochondrial membrane potential induced by curcumin in rat thymocytes. *FEBS Lett*, 433 (3): 287-93.
- Joshi, S.C., Mathur, R., Guluta, N. 2007. Testicular toxicity of chlorpyrifos (an organophosphate pesticide) in albino rat. *Toxicol. Ind. Health.*, 23: 439-444.
- Juberg, D.R., Gehen, S.C., Coady, K.K., LeBaron, M.J., Kramer, V.J., Lu, H., Marty, M.S., 2013. Chlorpyrifos: weight of evidence evaluation of potential interaction with the estrogen, androgen, or thyroid pathways. *Regul Toxicol Pharm* 66 (3), 249-263.
- Kabir, Y., Yamaguchi, M., Kimura, S. 1987. Effect of Shiitake (*Lentinus edodes*) and Maitake (*Grifola fondosa*) Mushrooms on Blood Pressure and Plasma Lipids of Spontaneously Hypertensive Rats. *J Nutr Sci Vitaminol*, Tokyo, Oct; 33 (5): 341-6.
- Kaiboriboon, K., Hogan, R.E. 2002. Hippocampal shape analysis in status epilepticus associated with acute encephalitis. *AJNR Am J Neuroradiol*, 23 (6): 1003-1006.
- Kalender, Y., Kaya, S., Durak, D., Uzun, F.G., Demir, F. 2012. Protective effects of catechin and quercetin on antioxidant status, lipid peroxidation and testishistoarchitecture induced by chlorpyrifos in male rats. *Environ.Toxicol. Phar.* 33:141-148.
- Kandel, E.R., Schwartz, J.H., Jessel, T.M. 2000. *Principles of Neural Science* 4th ed. New York: Mc Graw-Hill Comp.
- Kansu, A. 1994. Genel Entomoloji, Kıvanç Basımevi, Ankara.
- Karaman, B.E., Köşeler, E. 2017. Zerdeçalın Kronik Hastalıklarla İlişkisi. *Başkent Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*, 2(2), 96-112.
- Kaymak, S., Serim, A.T. 2015. Pestisit Sektöründe Araştırma ve Geliştirme, *Meyve Bilimi*, ISSN: 2148-0036, Vol. (Issue): 2(1) S. 27-34.
- Kempermann, G., Song, H., Gage, F.H. 2015. Neurogenesis in the Adult Hippocampus. *Cold Spring Harb Perspect Biol.*, 7(9): a018812.

- Kim, J.W., Kim, H.I., Kim, J.H., Kwon, O.C., Son, E.S., Lee, C.S., Park, Y.J. 2016. Effects of Ganodermanondiol, a New Melanogenesis Inhibitor from the Medicinal Mushroom *Ganoderma lucidum*. *Int J Mol Sci*, 2016 Oct 27;17 (11).
- Kim, T., Gen, S., Hee, R. P., Mikyung, P., Min-Sun Kim, H., Sik, K., Hae, Y. C., Mark, P. M., and JaewonLee. 2008. Curcumin Stimulates Proliferation of Embryonic Neural Progenitor Cells and Neurogenesis in the Adult Hippocampus *S So Jung The Journal Of Biological Chemistry*. VOL. 283, NO. 21, pp. 14497–14505.
- Kim, M.Ja., Kim, H.W., Lee, Y.S., Shim, M.J., Choi, E.C., Kim, B.K. 1986. Studies on Safety of *Ganoderma lucidum*. *Korean Journal of Mycology*. 14 (1): 49-59.
- Kao ve ark. 2013. The planarian regeneration transcriptome reveals a shared but temporally shifted regulatory program between opposing head and tail scenarios. *BioMed Central*, (11): 14, 797.
- Kligerman, A.D., Doerr, C.L., Tennant, A.H., Peng, B. 2000. Genotoxicity studies of three triazine herbicides: in vivo studies using the alkaline single cell gel (SCG) assay. *Mutation Research*, 471:107.
- Kino, K., Yamashita, A., Yamaoka, K., Watanabe, J., Tanaka, S., Ko, K., Shimizu, K., Tsunoo, H. 1989. Isolation and characterization of a new immunomodulatory protein, ling zhi-8 (LZ8), from *Ganoderma lucidum*. *J Biol Chem*, Jan 5; 264 (1): 472-8.
- Kov, H.H., Hung, C.F., Wang, J.P., Lin, C.N. 2008. Antiinflammatory triterpenoids and steroids from *Ganoderma lucidum* and *GANODERMA tsugae*. *Phytochemistry*. 2008; 69: 234– 239.
- Kuş, S.F. 2007. Afyonkarahisar İli İçme Suları İle Eber Ve Karamık Gölü Sularındaki Organoklorlu Pestisit Kalıntılarının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji ABD, Afyonkarahisar, 64.
- Kük, M. 2008. Avrupa Birliği’nde Çevreye Duyarlı Tarım Politikaları Ve Türkiye’nin Durumu. Doktora Tezi, T.C. Ankara Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Sosyal Çevre Bilimleri Anabilim Dalı, Ankara, 203.
- Lasukova, T.V., Maslov, L.N., Arbuzov, A.G., Burkova, V.N., Inisheva, L.I. 2015. Cardioprotective Activity of *Ganoderma lucidum* Extract during Total Ischemia and Reperfusion of Isolated Heart. *Bull Exp Biol Med*, Apr; 158 (6): 739-41.
- Lai, CS-W., Yu, M-S., Yuen, W-H., So, K-F., Zee, S-Y., Chang, RC-C. 2008. Antagonizing beta-amyloid peptide neurotoxicity of the anti-aging fungus *Ganoderma lucidum*. *Brain Res*. 1190:215–24. Netherlands.
- Lee, Y.B., Du, S., Rhim, H., Lee, E.B., Markelonis, G.J., Oh, T.H., 2000. Rapid increase in immunoreactivity to GFAP in astrocytes in vitro induced by acidic pH is mediated by calcium influx and calpain I. *Brain Res*. 864, 220–229.
- Liang, C.J., Lee, C.W., Sung, H.C., Chen, Y.H., Chiang, Y.C., Hsu, H.Y., Tseng, Y.C., Li, C.Y., Wang, S.H., Chen, Y.L. 2014. *Ganoderma lucidum* Polysaccharides Reduce Lipopolysaccharide Induced Interleukin-1 β Expression in Cultured Smooth Muscle Cells and in Thoracic Aortas in Mice. *Evid Based Complement Alternat Med.*, 305149.
- Limtrakul, P., Lipigorngoson, S., Namwong, O., Apisariyakul, A., Dunn, F.W. 1997. Inhibitory effect of dietary curcumin on skin carcinogenesis in mice. *Cancer Lett*, 116 (2): 197-203.

- Lin, Z.B. 2005. Cellular and molecular mechanisms of immuno-modulation by *Ganoderma lucidum*. J. Pharmacol. Sci, 99: 144–153.
- Liao, H., Hsieh, C., Chiang, S., Lin, M., Chen, P., Wu, K. 2011. Simultaneous analysis of chlorpyrifos and cypermethrin in cord blood plasma by online solid-phase extraction coupled with liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. J. Chromatogr. B 879 (21), 1961-1966.
- Little, A.R., O'Callaghan, J.P. 2001. Astroglialosis in the adult and developing CNS: is there a role for proinflammatory cytokines? Neurotoxicology 22, 607–618.
- Loganathan, J., Jiang, J., Smith, A., Jedinak, A., Thyagarajan-Sahu, A., Sandusky, G.E., Nakshatri, H., Sliva, D. 2014. The mushroom *Ganoderma lucidum* suppresses breast-to-lung cancer metastasis through the inhibition of pro-invasive genes. Int J Oncol. 2014 Jun; 44(6) :2009-15.
- Lukaszewicz-Hussain, A. 2010. Role of oxidative stress in organophosphate insecticide toxicity–Short review. Pesticide Biochemistry and Physiology, 98(2), 145–150.
- Ma, P., Wu, Y., Zeng, Q., Gan, Y., Ye, J.X., Yang, X. 2013. Oxidative damage induced by chlorpyrifos in the hepatic and renal tissue of Kunming mice and the antioxidant role of vitamin E. Food Chem. Toxicol. 58: 177–183.
- Maheshwari, R.K., Singh, A.K., Gaddipati, J., Srimal, R.C. 2006. Multiple biological activities of curcumin. Life Sci, 78 (18): 2081-7.
- Manikandan, P., Sumitra, M., Aishwarya, S., Manohar, B.M., Lokanadam, B., Puvanakrishnan, R. 2004. Curcumin modulates free radical quenching in myocardial ischaemia in rats. Int J Biochem Cell Biol, 36 (10): 1967-80.
- Manson, M.M., Gescher, A., Hudson, E.A., Plummer, S.M., Squires, M.S., Prigent, S.A. 2000. Blocking and suppressing mechanisms of chemoprevention by dietary constituents. Toxicol Lett, 113: 499-505.
- Mansour, S.A., Mossa, A.H. 2009. Lipid peroxidation and oxidative stress in rat erythrocytes induced by chlorpyrifos and the protective effect of zinc. Pestic. Biochem. Phys., 93: 34-39.
- Mercan, L., Sirkecioğlu, N., Aksakal, E., Bayır, M., Bayır, A., Aras, M., Ekinci, D. 2013. Goose fat, a promising nutrient for fish feeding, activates antioxidant enzymes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Environ. Toxicol. Phar. 36: 964–971.
- Miquel, J., Bernd, A., Sempere, J. M., Diaz-Alperi, J., Ramirez, A. 2002. The curcuma antioxidants: pharmacological effects and prospects for future clinical use. Arch Gerontol Geriatr, 34 (1): 37-46.
- Mink, P.J., Kimmel, C.A., Li, A.A. 2012. Potential effects of chlorpyrifos on fetal growth outcomes: implications for risk assessment. J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev. 15 (4), 281-316.
- Morgan, M.K., Sheldon, L.S., Croghan, C.W., Jones, P.A., Robertson, G.L., Chuang, J.C., Wilson, N.K., Lyu, C.W. 2005. Exposures of preschool children to chlorpyrifos and its degradation product 3,5,6-trichloro-2-pyridinol in their everyday environments. J. Expo. Anal. Environ. Epidemiol. 15 (4), 297-309.
- Morphol, Int. J. Ekinci, A., Ozevren, H., Bilgiç, B. E., Ekinci, C., Deveci, S., Deveci, E. 2018. Neuroprotective Effects of *Ganoderma lucidum* on Spinal Cord Injury. 36 (1): 175-179.

- Nolte, J. 1988. The Human Brain, An intraduction to its functional anatomy. St. Louis, Toronto, C.V. Mosby Company. (2nd ed).
- Öğüt, S., Seçilmiş, H. 2009. Tarım İlaçlarının (Pestisitler) Olası Çevresel Etkileri. Uluslararası Davraz Kongresi, 24-27 Eylül.
- Öncüer, C. 1995. Tarımsal zararlılarla savaş yöntemleri ve ilaçları. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Bornova - İzmir, 259:117-125.
- Öncü, M., Gültekin, F., Karaöz, E., Altuntaş, İ., Delibaş, N. 2002. Klorprifos –Etil Tarafından Oluşturulan Oksidatif Hasarın Sıçan Karaciğerine Etkileri. Türkiye Klinik Bilimleri, 22: 50-55.
- Özcan, N., İkinciogulları, D. 2009. Ulusal Zehir Danışma Merkezi 2008 yılı çalışma raporu özeti. Turk Hij Den Biyol Derg, 66.
- Öztürk, S. 1990. Tarım İlaçları. Hasad Yayıncılık, İstanbul, 11-171.
- Öztürk, S., Özge, N. 1978. Bitki Koruma İlaçları. Hasad Yayıncılık, İstanbul, 10-107.
- Padurariu, M., Ciobica, A., Mavroudis, I., Fotiou, D., Baloyannis, S. 2012. Hippocampal neuronal loss in the CA1 and CA3 areas of Alzheimer's disease patients. Psychiatr Danub, 24 (2): 152-158.
- Pan, K., Jiang, Q., Liu, G., Miao, X., Zhong, D. 2013. Optimization extraction of Ganoderma lucidum polysaccharides and its immunity and antioxidant activities. Int J Biol Macromol. 2013; 55: 301–6. Netherlands.
- Pandya, U., Saini, M.K., Jin, G.F., Awasthi, S., Godley, B.F., Awasthi, Y.C. 2000. Dietary curcumin prevents ocular toxicity of naphthalene in rats. Toxicology Letters 115/195-204.
- Patat, S., Akça, H., Kaleli, S., Karakoyun, İ., Koçak, A., Gültekin, F. 2003. Klorprifos-etil'in HEPG2 hücre dizilerinde hücre canlılığına etkisi ve melatonin koruyucu etkisi. SDÜ tıp fakültesi dergisi, 10 (3):39-43.
- Piper, J.T., Singhal, S.S., Salameh, M.S., Torman, R.T., Awasthi, Y.C., Awasthi, S. 1998. Mechanisms of anticarcinogenic properties of curcumin: the effect of curcumin on glutathione linked detoxification enzymes in rat liver. Int J Biochem Cell Biol, 30 (4): 445-56.
- Plumer, B. 2013. We've covered the world in pesticides. Is that a problem? Economic policy, Washington Post, 2013 Aug 18.
- Ramirez-Tortosa, M.C., Mesa, M.D., Aguilera, M.C., Quiles, J.L., Baro, L., Ramirez Tortosa, C.L., et al. 1999. Oral administration of a turmeric extract inhibits LDL oxidation and has hypocholesterolemic effects in rabbits with experimental atherosclerosis. Atherosclerosis, 147 (2): 371-8.
- Raisman, G., Covan, WM. 1965. Commissural and association of the hippocampus. Powell TPS: The extrinsic afferent, Brain 88: 963-966.
- Rauh, V.A., Garfinkel, R., Perera, F.P., Andrews, H.F., Hoepner, L., Barr, D.B., Whitehead, R., Tang, D., Whyatt, R.W. 2006. Impact of prenatal chlorpyrifos exposure on neurodevelopment in the first 3 years of life among inner-city children. Pediatrics 118 (6), 1845-1859.
- Reeta K. H., Mehla J., Gupta Y. K. 2010. Curcumin ameliorates cognitive dysfunction and oxidative damage in phenobarbitone and carbamazepine administered rats, European Journal of Pharmacology, 644, 106-112.

- Sakagami, H., Aoki, T., Simpson, A., Tanuma, S. 1991. Induction of immunopotential activity by a protein-bound polysaccharide, PSK (review). *Anticancer Res.* 1991 MarApr; 11 (2): 993-9.
- Salyha, Y. T. 2013. Chlorpyrifos leads to oxidative stress-induced death of hippocampal cells in vitro. *Neurophysiology*, 45(3), 193–199.
- Sanodiya, B.S., Thakur, G.S., Baghel, R.K., Prasad, G.B., Bisen, P.S. 2009. *Ganoderma lucidum*: A potent pharmacological macrofungus. *Curr. Pharm. Biotechnol.*, 10: 717–742.
- Saransaari, P., Oja, S.S. 1997. Taurine release from the developing and ageing hippocampus: Stimulation by agonists of ionotropic glutamate receptors. *Mech Ageing Dev*, 99 (3): 219- 232.
- Saunders, M., Magnanti, B.L., Correia, C.S., Yang, A., Alamo-Hernandez, U., Riojas-Rodriguez, H., Calamandrei, G., Koppe, J.G., Krayner, V.K.M., Keune, H., Bartonova, A. 2012. Chlorpyrifos and neurodevelopmental effects: a literature review and expert elicitation on research and policy. *Environ. Health* 11 (Suppl. 1), S5.
- Scoville, W.B. 1957. Milner B: Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 20(1):11- 21.
- Selkoe, D.J. 1993. Physiological production of the beta-amyloid protein and the mechanism of the alzheimer's disease. *Trends Neurosci*, 16: 403- 9.
- Şeçilmiş Canbay, H., Ögüt, S., Yılmaz, M., Küçüköner, E. 2012. Seçilen Bazı Pestisitlerin Bal Örneklerinde Analizi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 16-1,1-5.
- Sendrowski, K., Sobaniec, W. 2013. Hippocampus, hippocampal sclerosis and epilepsy. *Pharmacol Rep* 65(3):555-565.
- Serrano, C.P., Sanches, A.J.C., Garcia, G.T. 1997. Mesial temporal sclerosis (I): histological data, physiopathological hypothesis end etiological factors. *Rev Neurol*, 25 (140): 584-9.
- Serrano F., Klann E. 2004. Reactive oxygen species and synaptic plasticity in the aging Hippocampus, *Ageing Res. Rev.*, 3, 431–443.
- Shah, B.H., Nawaz, Z., Pertani, S.A., Roomi, A., Mahmood, H., Saeed, S.A., et al. 1999. Inhibitory effect of curcumin, a food spice from turmeric, on platelet-activating factor and arachidonic acid-mediated platelet aggregation through inhibition of thromboxane formation and Ca²⁺ signaling. *Biochem Pharmacol*, 58 (7): 1167-72.
- Sharma, R.A., Ireson, C.R., Verschoyle, R.D., Hill, K.A., Williams, M.L., Leuratti, C., ve ark. 2001. Effects of dietary curcumin on glutathione S-transferase and malondialdehyde DNA adducts in rat liver and colon mucosa: relationship with drug levels. *Clin Cancer Res*, 7(5): 1452-1458.
- Sheena, M., Ajith, A., Janardhanan, K. 2003. Prevention of nephrotoxicity induced by the anticancer drug Cisplatin, using *Ganoderma lucidum*, a medicinal mushroom occurring in South India. *Curr Sci*, 85: 478–82.
- Shittu, M., Ayo, J.O., Ambali, S.F., Fatihu, M.Y., Onyeausi, B.I., Kawa. M.U. 2012. Chronic chlorpyrifos-induced oxidative changes in the testes and pituitary gland of Wistar rats: Ameliorative effects of vitamin C. *Pest.Biochem. Physiol.* 102:79–85.

- Sliva, D. 2004. Cellular and physiological effects of *Ganoderma lucidum* (Reishi). *Mini Rev Med Chem.* 2004; 4:873–9. Netherlands.
- Singh, A.K., Sidhu, G.S., Deepa, T., Maheshwari, R.K. 1996. Curcumin inhibits the proliferation and cell cycle progression of human umbilical vein endothelial cell. *Cancer Lett*, 107 (1): 109-15.
- Slotkin, T.A., Seidler, F.J. 2005. The alterations in CNS serotonergic mechanisms caused by neonatal chlorpyrifos exposure are permanent. *Brain Res Dev Brain Res* 158 (1e2), 115-119.
- Slotkin, T.A., Card, J., Seidler, F.J. 2012. Chlorpyrifos developmental neurotoxicity: Interaction with glucocorticoids in PC12 cells. *Neurotoxicol. Teratol.* 34, 505–512.
- Soares, A.A., de Sá-Nakanishi, A.B., Bracht, A., Costa, S.M., Koehnlein E.A., de Souza, C.G. 2013. Peralta RM. Hepatoprotective effects of mushrooms, *Molecules.* Jul 1;18 (7): 7609- 30.
- Soltaninejad K, Abdollahi M. 2009. Current opinion on the science of organophosphate pesticides and toxic stress: a systematic review. *Med Sci Monit.* 15: RA75–A90.
- Songur, A.O. ve Özen, A. 2001. Hipokampus. *T. Klinik Tıp Bilimleri*, 21: 427-31.
- Srivastava, R. M., Singh, S., Dubey, S. K., Misra, K., Khar, A. 2011. Immunomodulatory and therapeutic activity of curcumin, *International Immunopharmacology*, 11, 331–341.
- Sterio D.C. 1984. The unbiased estimation of number and size of arbitrary particles using the disector. *J. Microsc.*, 134, 127-36.
- Sun, L.X., Li, W.D., Lin, Z.B., Duan, X.S., Li, X.F., Yang, N., Lan, T.F., Li, M., Sun, Y., Yu, M., Lu, J. 2014. Protection against lung cancer patient plasma-induced lymphocyte suppression by *Ganoderma lucidum* polysaccharides, *Cell Physiol Biochem*, 33 (2): 289-99.
- Suzuki, M. Hagino, H. Nohara, S. Zhou, SY. Kawasaki, Y. Takahashi, T. Matsui, M. Seto, H. Ono, T. Kurachi, M. 2005. Male-specific volume expansion of the human hippocampus during adolescence. *Cereb Cortex*, 15 (2):187–193.
- Şenvar, C. 1988. Pestisit Kalıntıları, Çevre 88. Dördüncü Bilimsel ve Teknik Çevre Kongresi, 5-9.
- Tarım ve Köyişleri Bakanlığı İzmir İl Müdürlüğü. 1999. Bitki Koruma El Kitabı, İl Müdürlüğü Yayınları No: 352 İzmir.
- Tatu, L., Vuillier, F. 2014. Structure and vascularization of the human hippocampus. *Front Neurol Neurosci*, 34:18-25.
- T.C. Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı. 2005. Zirai Mücadele İlaçları Üretimi Yapılan İşyerlerinde İş Sağlığı ve Güvenliği Proje Denetimi Değerlendirme Raporu. İş Teftiş Kurulu Başkanlığı, Ankara.
- T.C. Resmi Gazete. 2016. Türk Gıda Kodeksi Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği, Sayı: 28366, Tarih: 25 Kasım.
- TÇSV. 1998. Türkiye'nin Çevre Sorunları 91. Türkiye Çevre Sorunları Vakfı Yayını, Ankara.
- Tiziana, B., Eleonora, D. Z., Pietro, B., Roberto, R., Gian Pietro, S., Isabella, C. 2012. Beneficial effects of curcumin on GFAP filament organization and down-regulation of

- GFAP expression in an in vitro model of Alzheimer disease, *Experimental Cell Research* 318: 1844–1854.
- Tohda, C., Nakayama, N., Hatanaka, F., Komatsu, K. 2006. Comparison of anti-inflammatory activities of six curcuma rhizomes: a possible curcuminoid independent pathway mediated by curcuma phaeocaulis extract. *Evid Based Complement Alternat Med.* 3 (2): 255-260.
- Tomlin, C. 1994. The pesticide manual: A world compendium. 10th edn, British Crop Protection Council & Royal Society of Chemistry, Bath, UK.
- Totterdell, S., Hayes, L. 1987. Non-pyramidal hippocampal projection neurons: a light and electron microscopic study. *Journal of Neurocytology*, 16(4): 477–485.
- Toptaş, B., Ateş Alagöz, Z. 2016. Kurkumin ve Analoglarının Anti Kanserojen Etkileri - Anticarcinogenic Effects of Curcumin and Its Analogs. *Ankara Ecz. Fak. Derg.*, 40 (2): 58-82.
- Troen, A.M., Shea-Budgell, M., Shukitt-Hale, B., Smith, D.E., Selhub, J., Rosenberg, I.H. 2008. B-vitamin deficiency causes hyperhomocysteinemia and vascular cognitive impairment in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105:12474–12479.
- Thiyagarajan, M., Sharma, S. S. 2004. Neuroprotective Effect of Curcumin in Middle Cerebral Artery Occlusion Induced Focal Cerebral Ischemia in Rats, *Life Sci.*, 74 (8), 969-85.
- Terry, A.V. 2012. Functional consequences of repeated organophosphate exposure: potential non-cholinergic mechanisms. *Pharmacology and Therapeutics*. 2012 ; 355–365.
- Timofeeva, O.A., Sanders, D., Seemann, K., Yang, L., Hermanson, D., Regenbogen, S. 2008. Persistent behavioral alterations in rats neonatally exposed to low doses of the organophosphate pesticide, parathion. *Brain Res. Bull.* 2008, 77, 404–411.
- Tien, D., Felsberg, G., Crain, B. 1992. Normal Anatomy of the Hippocampus and Adjacent Temporal Lobe: High-Resolution Fast Spin-Echo MR Images in Volunteers Correlated with Cadaveric Histologic Sections. *Pictorial Essay*, 159: 1309-1313.
- Tiryaki, O., Canhilal, R. Sümer Horuz, S. 2010. Tarım İlaçları Kullanımı ve Riskleri. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26(2): 154-169.
- Tham, C. L., Liew, C. Y., Lam, K. W., Mohamad, A. S., Kim, M. K., Cheah, Y.K., Zakaria, Z. A., Sulaiman, M. R., Lajis, N. H., Israf, D. A. 2010. A synthetic curcuminoid derivative inhibits nitric oxide and proinflammatory cytokine synthesis, *Eur. J. Pharmacol.* 628, 247-254.
- Turabi, M.S. 2007. Bitki Koruma Ürünlerinin Ruhsatlandırılması. *Tarım İlaçları Kongre ve Sergisi, TMMOB Zir. Müh. Odası ve TMMOB Kimya Müh Odası, Bildiriler Kitabı*, s:50-61, 25-26.
- Tripanichkul, Jaroensupparach, Em-orn. 2012. Curcumin Protects Nigrostriatal Dopaminergic Neurons and Reduces Glial Activation in 6-Hydroxydopamine Hemiparkinsonian Mice Model. *Wanida. International Journal of Neuroscience*, 122, 263–270.
- Uslu, O. ve Türkman A. 1987. Su Kirliliği ve Kontrolü. T.C. Başbakanlık Çevre Genel Müdürlüğü Yayınları Eğitim Dizisi I, Ankara.
- Ünal, G., Gürkan, M.O. 2001. İnsektisitler Kimyasal Yapıları, Toksikolojileri ve Ekotoksikolojileri. Ankara, pp 159.

- Ünal, B., Aslan, H., Canan, S., Şahin, B., Kaplan, S. 2002. Biyolojik Ortamlardaki Objelerin Sayımı Yapılırken Kullanılan Eski (Taraflı) Metodların Önemli Hata Kaynakları ve Çözüm Önerileri. *T Klin Tıp Bilimleri*, 22 (s) 1-6.
- Vural, N. 2005. Toksikoloji. Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Yayınları, No:73, Ankara Üniversitesi Basımevi, ISBN: 975-482-289-1. Ankara.
- Verma, R. S., Srivastava, N. 2001. Chlorpyrifos induced alterations in levels of thiobarbituric acid reactive substances and glutathione in rat brain. *Indian Journal of Experimental Biology*, 39(2), 174–177.
- Viñuela, A., Snoek, L.B., Riksen, J.A.G., Kammenga, J.E. 2010. Genome-Wide Gene Expression Analysis in Response to Organophosphorus Pesticide chlorpyrifos and Diazinon in *C. elegans*. *PLoS ONE* 2010, 5, e12145.
- Verkhratsky, A., Kettenmann, H. 1996. Calcium signaling in glial cells. *Trends Neurosci.* 9, 346–352.
- Wang R., Xu Y., Wu H. L., Li Y. B., Li Y .H., Guo J. B., Li X. J. 2008. The antidepressant effects of curcumin in the forced swimming test involve 5HT1 and 5-HT2 receptors, *Eur. J. Pharmacol*, 578, 43–50.
- Weibel, E.R. 1969. Stereological principles for morphometry in electron microscopiccytology. *Int Rev Cytol*, 26, 235-302.
- West, M.J. 1993. New stereological methods for counting neurons. *Neurobiol. Aging*, 14, 275-85.
- West, M.J. 1994. Advances in the study of age-related neuron loss. *Seminars in Neuroscience*, 6, 403–411.
- West, M.J., Qstergaard, K., Andreassen, O.A., Finsen, B., 1996. Estimation of the number of somatostatin neurons in the striatum: An in situ hybridization study using the optical fractionator method. *The Journal of Comparative Neurology*, 370 (1): 11-22
- West, M. J. 1999. Stereological methods for estimating the total number of neurons and synapses: issues of precision and bias. *Trends. Neurosci.*, 22, 51-61.
- Whyatt, R.M., Garfinkel, R., Hoepner, L.A., Andrews, H., Holmes, D., Williams, M.K., Reyes, A., Diaz, D., Perera, F.P., Camann, D.E., Barr, D.B. 2009. A biomarker validation study of prenatal chlorpyrifos exposure within an inner-city cohort during pregnancy. *Environ. Health Perspect.* 117 (4), 559-567.
- Wilson, N.K., CHUANG, J.C., LYU, C. 2001. Levels of persistent organic pollutants in several child day care centers, *J Expo Anal Environ Epidemiol*, 11, 449-458.
- Wixted, J.T., Squire, L.R., Jang, Y., Papesch, M.H., Goldinger, S.D., Kuhn, J.R., Smith, K.A., Treiman, D.M., Steinmetz, P.N. 2014. Sparse and distributed coding of episodic memory in neurons of the human hippocampus. *Proc Natl Acad Sci* 111(26):9621- 9626. U S A.
- Woollett, K., Maguire, E.A. 2012. Exploring anterograde associative memory in London taxi drivers. *Neuroreport* 23(15):885-888.
- Wubshet, S.G., Johansen, K.T., Nyberg, N.T., Jaroszewski, J.W. 2012. Direct (13)C NMR detection in HPLC hyphenation mode: analysis of *Ganoderma lucidum* terpenoids. *J Nat Prod*, 75: 876–82. United States.
- Wright, J.S. 2002. Predicting the antioxidant activity of curcumin and curcuminoids. *J Mol Struct*, 591 (1-3): 207-17.

- Yang, G., Yang, L., Zhuang, Y., Qian, X. & Shen, Y. 2014. Ganoderma lucidum polysaccharide exerts anti-tumor activity via MAPK pathways in HL-60 acute leukemia cells. *J Recept Signal Transduct Res.* 20, 1–8.
- Yang F., Lim G. P., Begum A. N., Ubeda O. J., Simmons M. R., Ambegaokar S. S., Chen P. P., Kayed R., Glabe C. G., Frautschy S. A., Cole G. M. 2005. Curcumin inhibits formation of amyloid beta oligomers and fibrils, binds plaques, and reduces amyloid in-vivo, *J. Biol. Chem.*, 280, 5892–5901.
- Yang, S. Zhang, D., Yang, Z., Hu, X., Qian, S., Liu, J., Wilson, B., Block, M. 2008. Curcumin Protects Dopaminergic Neuron Against LPS Induced Neurotoxicity in Primary Rat Neuron/Glia Culture *Jau-Shyong Hong Neurochem Res*, 33:2044–2053.
- Ying Tian, Hitoshi Ishikawa, Tomoko Yamaguchi, Toru Yamauchi, Kazuhito Yokoyama Teratogenicity and developmental toxicity of chlorpyrifos Maternal exposure during organogenesis in mice *Reproductive Toxicology* 20 (2005) 267–271
- Yılmaz, A., İnci, A., Tunçbilek, A.Ş., Yeşilöz, H., Koçak, O., Şirin, Ü., İça, A., Yıldırım, A., Demircioğlu, A., Düzlü, Ö. 2007. Orta Kızılırmak Havzasında (*Simulium* (*Wilhelmia*) *lineatum*) (Diptera: Simuliidae) İstilası. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 4 (2), 91-96.
- Zhang, W., Tao, J., Yang, X., Yang, Z., Zhang, L., Liu, H., Wu, K., Wu, J. 2014. Antiviral effects of two Ganoderma lucidum triterpenoids against enterovirus 71 infection. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 449: 307–312.
- Zhang, S.J., Ye, J., Couey, J.J., Witter, M., Moser, E.I., Moser, M.B. 2013. Functional connectivity of the entorhinal-hippocampal space circuit. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 369 (1635): 201-205.
- Zheng, D.S. Chen, L.S. 2017. Triterpenoids from Ganoderma lucidum inhibit the activation of EBV antigens as telomerase inhibitors. *Exp Ther Med.* Oct; 14 (4): 3273-3278.
- Zhong, D., H., Liu, M., Li, X., Huang, M., Zhou, H., Lin, S., Lin, Z., Yang, B. 2015. Ganoderma lucidum polysaccharide peptide prevents renal ischemia, reperfusion injury via counteracting oxidative stress. *Sci Rep.* Nov 25; 5: 16910.
- Zhou, Z.Y., Tang, Y.P., Xiang, J., Wua, P., Jin, H.M., Wang, Z., Mori, M., Cai, D.F. 2010. Neuroprotective effects of water-soluble Ganoderma lucidum polysaccharides on cerebral ischemic injury in rats. *J Ethnopharmacol*, 2010 Aug 19;131 (1): 154-64.
- Zhou, Y., Qu, Z., Zeng, Y., Lin, Y., Li, Y., Chung, P., et al. 2012. Neuroprotective effect of preadministration with Ganoderma lucidum spore on rat hippocampus. *Exp Toxicol Pathol.* 64: 673–80. Germany.
- Zhao, H. B., Wang, S. Z., He, Q. H., Yuan, L., Chen, A. F., Lin, Z. B. 2005. Ganoderma total sterol (GS) and GS1 protect rat cerebral cortical neurons from hypoxia/reoxygenation injury. *Life Sci.*, 76 (9): 1027-37.
- Zhao, J., Zhao, Y., Zheng, W., Lu, Y., Feng, G., Yu, S. 2008. Neuroprotective effect of curcumin on transient focal cerebral ischemia in rats, *Brain Research*, 1229, 224-232.
- Zhang, XY., Chen da, C., Xiu, MH., Haile, CN., Luo, X. 2012. Cognitive And Serum BDNF Correlates Of BDNF Val66Met Gene Polymorphism In Patients With Schizophrenia and Normal Controls. *Hum Genet.*, 131 (7): 1187–1195.

- Zhao H-B, Lin S-Q, Liu J-H, Lin Z-B. 2014. Polysaccharide extract isolated from ganoderma lucidum protects rat cerebral cortical neurons from hypoxia/reoxygenation injury. J Pharmacol Sci. 2004; 95:294-8. Japan.
- Zhang, J., Tang, Q., Zhou, C., Jia, W., Da Silva, L., Nguyen, L. D. 2010. GLIS, a bioactive proteoglycan fraction from Ganoderma lucidum, displays antitumour activity by increasing both humoral and cellular immune response. Life Sci., 87: 628-37. Netherlands.
- Zhou, Y., Qu, Z., Zeng, Y., Lin, Y., Li, Y., Chung, P. 2012. Neuroprotective effect of preadministration with Ganoderma lucidum spore on rat hippocampus. Exp Toxicol Pathol, 64: 673–80. Germany.
- Zhao, H. B., Wang, S. Z., He, Q. H., Yuan, L., Chen, A. F. & Lin, Z. B. 2005. Ganoderma total sterol (GS) and GS1 protect rat cerebral cortical neurons from hypoxia/reoxygenation injury. Life Sci., 76(9):1027-37, 2005.



ÖZGEÇMİŞ

1. Kişisel Bilgiler

Ad Soyad	Kübra ERONAT
Doğum Tarihi	07.03.1989
Doğum Yeri	ERZİNCAN
E-posta Adresi	yldrm.kubra@gmail.com

2. Eğitim Bilgileri

Lisans	Erciyes Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi
Yüksek Lisans	Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Disiplinlerarası Çevre Sağlığı ABD

3. İş Deneyimi

2012-2015	Sinop Üniversitesi - Genel Sekreterlik -
2015 - Halen	T.C. Hazine Müsteşarlığı Kamu Finansman Genel Müdürlüğü

4. Yayınlar, Çalışmalar

Bildiri	Dilek SAĞIR, Kübra ERONAT, 2018. Investigation of the Protective Effect of Curcumin on Damage in The Livers of Rats Applied With Chlorpyrifos in Pregnancy Period. V. International Multidisciplinary Congress of Eurasia. 24-26 Haziran Barcelona / İspanya.
Proje	Prenatal Dönemde Organofosforlu Pestisitlere Maruz Kalan Sıçanların Hipokampusları Üzerine Kurkumin Ve <i>Ganoderma Lucidum</i> 'un Etkilerinin Araştırılması - Araştırmacı -