

**DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN ORGANOFOSFAT
TOKSİKASYONUNDA VİTAMİN E, SELENYUM
VE VİTAMİN E-SELENYUM'UN ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ahmet BÜYÜKBEN

Danışman

Doç. Dr. Mustafa CEMEK

KİMYA ANABİLİM DALI

Temmuz 2008

**T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN ORGANOFOSFAT
TOKSİKASYONUNDA VİTAMİN E, SELENYUM VE
VİTAMİN E-SELENYUM'UN ETKİSİ**

Ahmet BÜYÜKBEN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Kimya Anabilim Dalı
Danışman
Doç. Dr. Mustafa CEMEK**

**AFYONKARAHİSAR
2008**

ONAY SAYFASI

Ahmet BÜYÜKBEN'nin yüksek lisans tezi olarak hazırladığı “**Deneysel Olarak Oluşturulan Organofosfat Toksikasyonunda Vitamin E, Selenyum ve Vitamin E-Selenyum’un Etkisi**” başlıklı bu çalışma, lisansüstü yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek oy birliği/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

.../.../.....

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Mehmet Emin BÜYÜKOKUROĞLU
(Başkan)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Mustafa CEMEK
(Danışman)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. İbrahim EROL

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nunGün
ve Sayılı Kararı ile Onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü
Doç. Dr. Zehra BOZKURT

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
TEŞEKKÜR	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Pestisitler	3
2.1.1 Pestisitlerin Sınıflandırılması	4
2.2 İnsektisitler	4
2.2.1 İnsektisitlerin Sınıflandırılması	5
2.3 Organofosfatlar	5
2.3.1 Önemli Organofosfatlar	8
2.3.2 Fenthion	9
2.3.3 Asetilkolin ve Asetilkolinesteraz	10
2.3.4 Organofosfatların Absorpsiyonu ve Biyotransformasyonu	13
2.3.5 Organofosfatların Toksik Etki Mekanizmaları	14
2.3.6 Organofosfatlar ve Reaktif Oksijen Türleri Arasındaki İlişki	16
2.4 Oksidan ve Antioksidanlar	18
2.4.1 Oksidatif Stres	19
2.4.2 Serbest Radikaller ve Oluşumları	20
2.4.3 Reaktif Oksijen Türlerinin Kaynakları	21
2.4.4 Reaktif Oksijen Türleri	22
2.4.4.1 Süperoksit Radikali	23
2.4.4.2 Hidrojen Peroksit	24
2.4.4.3 Hidroksil Radikali	25
2.4.4.4 Singlet Oksijen	26

2.4.4.5 Nitrik Oksit Radikali	27
2.4.4.6 Hipokloröz Asit	29
2.4.4.7 Diğer Reaktif Oksijen Türleri	30
2.4.5 Serbest Radikallerin Etkileri	30
2.4.5.1 Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri	31
2.4.5.2 Serbest Radikallerin DNA'ya Etkileri	32
2.4.5.3 Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri	34
2.4.5.4 Lipid Peroksidasyonu	35
2.4.6 Antioksidanlar	38
2.4.6.1 Enzimatik Antioksidanlar	40
2.4.6.1.1 Süperoksit Dismutaz	40
2.4.6.1.2 Katalaz	42
2.4.6.1.3 Glutasyon Peroksidaz	43
2.4.6.2 Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	46
2.4.6.2.1 Glutasyon	46
2.4.6.2.2 Vitamin E	49
2.4.6.2.3 Vitamin C	51
3. MATERYAL VE METOT	54
3.1 Materyal	54
3.1.1 Kimyasal Materyal	54
3.1.2 Hayvan Materyali	54
3.2 Metot	54
3.2.1 Kan Örneklerinin Alınması	55
3.2.2 Eritrosit Paketinin Hazırlanması	56
3.2.3 Biyokimyasal Analizler	56
3.2.3.1 MDA Tayini	56
3.2.3.2 GSH Tayini	56
3.2.3.3 Vitamin C Tayini	56
3.2.3.4 Glutasyon Peroksidaz Tayini	57
3.2.4 İstatistiksel Analizler	57
4. BULGULAR	58
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	63

6. KAYNAKLAR	74
ÖZGEÇMİŞ	xiv

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN ORGANOFOSFAT TOKSİKASYONUNDA VİTAMİN E, SELENYUM VE VİTAMİN E-SELENYUM'UN ETKİSİ

Ahmet BÜYÜKBEN

Afyon Kocatepe Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Mustafa CEMEK

Organofosfatlı (OP) bileşikler, sağladığı büyük faydaların yanında bilinçsiz kullanımı çok ciddi zehirlenmelere yol açmaktadır. Bu çalışmada sıklıkla kullanılan bir OP olan fenthionun meydana getirdiği toksikasyon ve biyokimyasal değişiklikler belirlendi. Bunun için oluşturulan deneysel çalışmada ratlar 5 gruba ayrıldı. Sham grubu hariç diğer tüm gruplarda fenthion (0.8 g/kg) ile toksikasyon oluşturulduktan bir saat sonra tedavi gruplarına 100 mg/kg vitamin E, 100 µg/kg selenyum, 100 mg/kg vitamin E + 100 µg/kg selenyum ve kontrol grubuna 2 ml/kg serum fizyolojik verildi. Tüm gruplarda meydana gelen oksidatif stresin, antioksidan sistem üzerindeki değişimleri kanda belirlendi. Kontrol grubuna ait malondialdehit (MDA) düzeyi en yüksek olduğu görülürken, tedavi gruplarındaki MDA değerlerinde azalma kaydedildi. Sham grubuna oranla diğer gruplardaki glutatyon seviyelerinde bir artış olmasına rağmen sadece kontrol grubu ile istatistiksel bir fark belirlendi ($p<0.01$). Vitamin C düzeyleri tedavi gruplarında, sham ve kontrol grubuna göre bir artış gösterdi. Sham ve tedavi gruplarına ait glutatyon peroksidaz düzeyleri birbirine yakın olduğu görülürken, kontrol grubuna oranla daha az oldukları kaydedildi ($p<0.001$). OP bileşiklerinin neden olduğu oksidatif stres durumunda vitamin E, selenyum ve vitamin E - selenyum koruyucu etki göstermiştir.

2008, 84 sayfa

Anahtar Kelimeler: organofosfat, fenthion, vitamin E, selenyum, oksidatif stres, antioksidan sistem

ABSTRACT

Master Thesis

EFFECT of VITAMIN E, SELENIUM and VITAMIN E-SELENIUM on EXPERIMENTAL ORGANOPHOSPHATE TOXICITY

Ahmet BÜYÜKBEN

**Afyon Kocatepe University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry**

Supervisor: Associate Prof. Dr. Mustafa CEMEK

Although organophosphates (OP) have got a lot of benefits, their unconscious usages cause serious toxicities. In this study we have investigated that fenthion, which is a kind of organophosphate, has caused toxicity and changes of oxidant-antioxidant system on treatment process. For this experimental study rats were divided 5 groups. All groups had received fenthion (0.8 g/kg) except sham group before treatments groups received 100 mg/kg vitamin E, 100 µg/kg selenium, 100 mg/kg vitamin E + 100 µg/kg selenium and control group received 2 ml/kg normal saline. Changes of oxidative stress on antioxidant system were measured in blood. Malondialdehyde (MDA) level of control group was the highest and other groups' MDA levels decreased. Even though other groups' glutathione levels increased in comparison with sham, only there was significant different between sham group and control group ($p<0.01$). In proportion to sham and control, vitamin C levels of treatment groups increased. There was no significant different between glutathione peroxidase (GPx) level of sham and GPx levels of treatment groups but they were lower than control group ($p<0.001$). Vitamin E, selenium and vitamin E - selenium had a protective effect in conditions of oxidative stress damage induced by OP compounds.

2008, 84 pages

Key Words: organophosphate, fenthion, vitamin E, selenium, oxidative stress, antioxidant system

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyelerinden Doç. Dr. Mustafa CEMEK yönetiminde hazırlanarak Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne "Yüksek Lisans Tezi" olarak sunulmuştur.

Çalışmalarımın her aşamasında emek veren, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, desteğini her zaman hissettiğim çok kıymetli Hocam Sayın Doç. Dr. Mustafa CEMEK'e,

Tez çalışmam sırasında bilgi ve becerilerini esirgemeyen Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD Başkanı Sayın Doç. Dr. Mehmet Emin BÜYÜKOKUROĞLU'na,

Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölüm Başkanı Sayın Doç. Dr. İbrahim EROL ve Kimya Bölümünde görev yapan Sayın Araş. Gör. Dr. Laçine TÜR'e,

Ayrıca laboratuvar çalışmalarımda yanımda olan değerli arkadaşlarım Figen SERTKAYA, Ezgi YILMAZ ve Fatih AYMELEK'e,

Yoğun çalışmalarımın manevi desteklerini esirgemeyen ve her zaman benim yanımda olan, başarılarımı görmeyi en çok hak eden, beni hep daha da ilerilere gitmek için cesaretlendiren, sevgisi ile en büyük desteği veren AİLEM'e,

sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ahmet BÜYÜKBEN

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
CCl ₄	Karbon tetraklorür
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HOCl	Hipokloröz asit
HO ₂ [•]	Hidroperoksit radikali
LOO [•]	Lipid peroksit radikali
LOOH	Lipid hidroperoksitleri
NO [•]	Nitrik oksit
NO ₂ [•]	Nitrojen dioksit
¹ O ₂	Singlet oksijen
O ₂ ^{•-}	Süperoksit radikali
OH [•]	Hidroksil radikali
ONOO ⁻	Peroksinitrit
RO [•]	Alkoksil radikali
RO ₂ [•]	Peroksil radikali
ROOH	Organik hidroperoksitler

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
ACh	Asetilkolin
AChE	Asetil kolinesteraz
ATP	Adenozin trifosfat
CAT	Katalaz
DNA	Deoksiribonükleikasit
FAD	Flavin adenin dinükleotid
FADH ₂	İndirgenmiş flavin adenin dinükleotid
GPx	Glutatyon peroksidaz
GSH	Redükte glutatyon

GSH-Rx	Glutatyon redüktaz
GSSG	Okside glutatyon
GST	Glutatyon S-transferaz
LPO	Lipid peroksidasyonu
mAChR	Muskarinik asetilkolin reseptör
MDA	Malondialdehit
MPO	Myeloperoksidaz
nAChR	Nikotinik asetilkolin reseptör
NAD ⁺	Yükseltgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid
NADH + H ⁺	İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid
NOS	Nitrik oksit sentaz
OCI	Organoklor
OP	Organofosfat
OPH	Organofosfat hidrolaz
PUFA	Doymamış yağ asitleri
RNA	Ribonükleik asit
ROS	Reaktif oksijen türleri
Se	Selenyum
SOD	Süperoksit dismutaz
TBA	Tiobarbitürik asit
TEPP	Tetraetilpirofosfat

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekiller</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1 Organofosfatların Genel Yapıları	6
Şekil 2.2 Organofosfatların Genel Kimyasal Yapıları	7
Şekil 2.3 Parathion	8
Şekil 2.4 Malathion	8
Şekil 2.5 Diklorvos	9
Şekil 2.6 Diazinon	9
Şekil 2.7 Fenthion	10
Şekil 2.8 Nöron ve Nörotransmitterler	11
Şekil 2.9 Asetilkolin	12
Şekil 2.10 AChE enziminin ACh'i hidrolizi	12
Şekil 2.11 I. Faz Reaksiyonu ile Meydana Gelen Desülfürasyon	13
Şekil 2.12 Fenthionun Desülfürasyonu	13
Şekil 2.13 Fenthionun Hidrolizi	14
Şekil 2.14 TEPP ve Diklorvos	14
Şekil 2.15 Malakson ve Parakson	15
Şekil 2.16 Fenthionun AChE enzimini inhibisyonu	15
Şekil 2.17 Rejenerasyonun 2-PAM ile hızlandırılması	16
Şekil 2.18 ATP'nin İlk Oluşum Yeri	17
Şekil 2.19 ATP'nin İkinci Oluşum Yeri	17
Şekil 2.20 Oksidatif Stres	19
Şekil 2.21 Oksijen Molekülünün Elektron Sayısı ve Oluşan Bazı Oksidanlar	20
Şekil 2.22 L-Arjininden Nitrik Oksit Üretimi	27
Şekil 2.23 Peroksinitritin Tirozini Nitrolaması	28
Şekil 2.24 Solunum Patlaması	30
Şekil 2.25 Serbest Radikallerin Toksik Etkileri	31
Şekil 2.26 Bazı Nükleik Asit Bazlarına Reaktif Oksijen Türlerinin Etkileri.....	32
Şekil 2.27 Radyasyonun Reaktif Oksijen Türlerini Meydana Getirmesi	33
Şekil 2.28 Bazı Amino Asitlerin Reaktif Oksijenlerce Oksidasyonu	34

Şekil 2.29 Lipid Peroksidasyonu	35
Şekil 2.30 LPO'nun Zincir Şeklinde İlerlemesi ve Dallanması	37
Şekil 2.31 LPO'nun Sonlanma Basamağı	37
Şekil 2.32 Antioksidanların Hücre Komponentlerini Koruyucu Etkileri	39
Şekil 2.33 SOD	41
Şekil 2.34 Katalaz	42
Şekil 2.35 Katalaz Enziminin Katalitik ve Peroksidatik Aktiviteleri	43
Şekil 2.36 Glutasyon Peroksidaz	44
Şekil 2.37 GPx'in Katalitik Aktivasyonu	45
Şekil 2.38 Glutasyonun Geri Dönüşümü	45
Şekil 2.39 Fosfolipid Hidroperoksit Glutasyon Peroksidaz	45
Şekil 2.40 İndirgenmiş Glutasyon (GSH)	47
Şekil 2.41 Yükseltgenmiş Glutasyon (GSSG)	47
Şekil 2.42 α -tokoferol	49
Şekil 2.43 Askorbik Asit	51
Şekil 4.1 MDA (nmol/ml) değerlerinin grafiksel gösterimi	59
Şekil 4.2 GSH (mg/dl) değerlerinin grafiksel gösterimi	60
Şekil 4.3 Vitamin C (mg/dl) değerlerinin grafiksel gösterimi	61
Şekil 4.4 GPx (U/l) değerlerinin grafiksel gösterimi	62

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelgeler</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1 Bazı Reaktif Oksijen Türleri	23
Çizelge 2.2 Biyolojik sistemlerdeki antioksidanların sınıflandırılması	40
Çizelge 4.1 Tüm gruplara ait elde edilen MDA, GSH, askorbik asit ve GPx değerleri..	58

1. GİRİŞ

Dünyada 19. yüzyılın başlarında ortaya çıkan sanayileşme hamlesi, insanlık adına birçok yenilik getirdi. İleriki yıllar bu yenilikleri nasıl daha verimli ve hızlı bir şekilde sunulması gerektiği yönünde atılımlar sundu. Kimya bilimi ve sektöründe tam bu yüzyılda altın çağını yaşadı.

Kimya endüstrisinin hızla gelişimi sonucunda gerek günlük yaşantımızda, gerekse tarımda ve endüstride birçok kimyasal madde kullanılmaktadır. Bu kimyasal maddeler, bugünkü çağdaş yaşamın vazgeçilmez gereksinimlerindedir. Faydaları yanında, çeşitli nedenlerle gerek doğrudan maruz kalma gerekse kullanımları sonucu çevreye yayılarak, insanlara ve tüm ekosisteme zararları da olabilir (Vural 1996).

Organofosfat (OP) içeren kimyasallar, ülkemizde ve dünyada en sık kullanılan insektisidler olup, bu nedenle insanlarda sıklıkla zehirlenmelere yol açmaktadırlar (Kecik vd. 1993). OP'lı insektisitlerin kolay elde edilebilmesi, depolama ve kullanım sırasındaki yanlışlıklar ve yaygın kullanımları nedeniyle gelişmekte olan birçok ülkede bunlarla olan zehirlenme net bir şekilde artış göstermiştir (Chaudhry vd. 1998).

OP'lar çok lipofilik olup deri, akciğerler ve bağırsaklar tarafından kolaylıkla emilerek bütün vücut bölgelerinde dağılırlar. OP'lar asetil kolinesteraz (AChE) enzimine geri dönüşümsüz olarak bağlanıp enzimin deaktivasyon ve fosforilasyonuna neden olabilmektedirler (Chaudhry vd. 1998, Rosentock vd. 1991). Enzim inhibisyonu nedeni ile asetilkolin (ACh) nöral sinapslarda ve nöromüsküler kavşaklarda birikerek kolinerjik reseptörlerin aşırı uyarılmasına sebep olur. Bu ilk aşırı stimülasyondan sonra santral sinir sistemi, otonomik ganglion, parasempatik ve bazı sempatik sinir sonlanmalarında ve somatik sinirlerde kolinerjik sinaptik iletim felç olur (Bleecker vd. 1994, Tunçok 2000). OP zehirlenmesine bağlı olarak başta akciğerler (Luster vd. 1999) olmak üzere beyin, kalp, pankreas, böbrek ve çizgili kas dokusunda değişik derecelerde hasarlar oluşmaktadır (Vaneste vd. 1993, Peduto vd. 1996, Yürümez vd. 2007, Büyükokuroğlu vd. 2008).

Bazı çalışmalar OP toksikasyonunun, reaktif oksijen türlerini (ROS) ve lipid peroksidasyonuna (LPO) neden olduğunu göstermiştir (Bagchi vd. 1995, Gultekin vd.

2000, Yürümez vd. 2007, Büyükokuroğlu vd. 2008). ROS'lar canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbonhidrat ve deoksiribonükleik asit (DNA) gibi metabolitleri okside edebilen yıkıcı moleküllerdir. LPO ise özellikle hücre membranının komponenti olan fosfolipidlerin oksidasyonudur. Zincir reaksiyonları şeklinde ilerlediğinden hücrenin bütünlüğü için LPO büyük tehlikeye neden olabilir. Bu özelliklerinden dolayı hem ROS'ların hemde LPO'nun engellenmesi gerekir.

Antioksidanlar ROS'ların oluşturabileceği hasarları ortadan kaldırarak veya minimize ederek, radikal oluşum mekanizmalarını önleyerek, üretilen radikalleri nötralize ederek, hücre veya dokularda oluşan tahribatı onararak ve lipid peroksidasyonu gibi daha fazla radikal üretilmesine neden olan zincir reaksiyonlarını durdurarak, hücre, doku ve vücut savunmasını sağlamaktadırlar (Gutteridge 1995).

Vitamin E karaciğer, plazma ve yağ dokularında yüksek oranda bulunan ve antioksidan etkisi ile membran içinde bulunan doymamış yağ asitlerinin oksitlenmesini önleyen bir vitamindir. Böylelikle vitamin E, membranlarda meydana gelebilecek yıkımı önlemektedir (Kalaycıoğlu vd. 2000).

Selenyum (Se) ise glutatyon peroksidazın (GPx) önemli bir bileşenidir. Bu enzim, selenyum aracılığıyla tehlike arz edebilecek olan yağ asidi hidroperoksitlerinin ve hidrojen peroksitin (H_2O_2) yıkılmasını sağlar. Antioksidan olan E vitamininin, bu peroksitlerin oluşumunu durduran etkisine GPx yardımcı olur (Kalaycıoğlu vd. 2000, Yenson 1995).

Sunulan çalışmanın amacı, OP toksikasyonunda vitamin E, selenyum ve vitamin E-selenyum'un koruyucu etkisinin rat modelinde araştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

Günümüz dünyasında endüstri toplumu haline gelmek ve sanayileşmek ne kadar önemliyse tarım da o kadar öneme sahiptir. Başta ABD ve Avrupa Birliği olmak üzere birçok gelişmiş ülkeninde bu yönde yatırımlarını yönlendirmesi tarımın toplumlar için ne kadar önemli olduğunu gösterir.

Teknik ve teknolojinin ilerlemesi her sektörde olduğu gibi tarımda da etkili çözümler sunmaktadır. Ziraat faaliyetlerinde karşılaşılan en sık problemlerden biri de zararlıların oluşturduğu tahribatlardır. Bu tahribatlar hem elde edilen ürünün kalitesini düşürür hem de insan sağlığı açısından istenmeyen sonuçlara neden olabilir. Zararlıların meydana getirebileceği tahribatı minimuma indirebilmek için kimyasal madde uygulanması, kullanılan en etkili yöntemlerdendir. Ancak gerek bilinçsiz uygulanması sonucu, zararlı ile birlikte zararlının yaşadığı çevredeki diğer canlıların da yok olması, gerekse kimyasalın uygulanma anında ya da kalıntılarının temas veya oral yolla alınmasının metabolizmada oluşturacağı sorunlar, kimyasal yolla zararlılarla mücadelenin ne denli dikkatli ve bilinçli uygulanması gerektiğini ortaya koyar.

2.1 Pestisitler

Tarım bitkilerinin üretimi, tüketimi ve depolanması sırasında onlara zarar veren ve kısaca “pest” olarak adlandırılan hayvansal ve bitkisel parazitlere karşı kullanılan kimyasal maddeler pestisit olarak adlandırılır (Hışıl 1981). Kimyasal maddeler, tarıma ve halk sağlığına zarar veren mikroorganizmalar ve diğer pestlerin kontrolünde yüzyıllardan beri kullanılmaktadır. Örneğin kükürt ilk kez fumigan olarak M.Ö. 1000 yıllarında Çinliler tarafından kullanılmıştır. Ancak pestisit özelliği gösteren kimyasalların sentezi ve formülasyonlarının üretimi kimya endüstrisi devrimi ile birlikte başlamış ve tüketimi kısa süre içinde büyük bir artış göstermiştir. Bu yaygın kullanımın doğal çevre ve insan sağlığı açısından yaratacağı olumsuz sonuçlar, önceden farkına varılmadığı için denetlenmemiş, yıllar sonra zehirleyici etkileri kanıtlandığından bu tür maddelerin kullanımı ve satışı bazı kurallara bağlanmıştır (Karalliedde 1999).

Pestisitlerin doğada uzun süreler kalabilmesi, seçiciliklerinin olmaması ve besin zincirleri boyunca birikme yetenekleri yüzünden, kimi bölgelerde yararlı türlerin yok olmasına, ekosistemdeki dengenin bozulmasına ve bu tür ürünlere karşı dirençli yeni soyların üremesine yol açmıştır. Pestisitlerin besinlere ve yeraltı sularına kontaminasyonu insan sağlığına olan ciddi zararlarını göz önüne sermektedir (Robey vd. 2000).

Bu tür ciddi sakıncaları ortadan kaldırmak için daha seçici ve özellikle biyolojik olarak hızlı parçalanabilen yeni pestisitler üzerine çalışılmaktadır. Biyolojik mücadele tekniklerinin gelişmesi, pestisit kullanımını geniş ölçüde sınırlayacaktır.

2.1.1 Pestisitlerin Sınıflandırılması

Pestisitler kullanım alanlarına göre sınıflandırılırlar. Bunlar insektisitler, rodentisitler, herbisitler, fungusitler ve fumigantlardır (Ellehorn vd. 1988).

Insektisitler; böcek türlerini öldürmek için kullanılır (Organofosfatlar, organoklorlular, pyretroidler).

Rodentisitler; fare, sıçan gibi kemiricileri öldürmek için kullanılır (Vakor).

Herbisitler; yabancı otları öldürmek için kullanılır (Paraquat, diquat).

Fungisitler; küf ve mantarları öldürmek için kullanılır (Dikarbamatlar).

Fumigantlar; sterilizasyon için kullanılır (Metil bromit, etilen dibromit).

2.2 İsektisitler

Tarım bitkilerine zarar veren böceklerin etkisizleştirilmesi için kullanılan insektisitler, pestisitlerin en büyük gruplarından. Toksik etkilerini sinir sistemini etkileyerek ve ROS'lar vasıtasıyla biyomolekülleri tahribata uğratarak oluştururlar (Robey vd. 2000). Böceklerin merkezi ve perifer sinir sistemleri çok gelişmiş olup, memelilerinkine benzemektedir. Bu nedenle insektisitlerin toksik etki mekanizmaları ve hedef aldıkları organlar bütün türlerde aynıdır. Ancak toksik etki şiddetli dozla doğru orantılıdır. Sinir sisteminde sodyum, potasyum, klor iyonlarının membran transportunu infere ederek (organoklorlular veya pyretroidler gibi), spesifik enzimleri inhibe ederek

(organofosfatlar veya karbamatlar gibi) veya sinir uçlarındaki kimyasal nörotransmitterleri etkileyerek nörotoksisite gösterirler (Vural 1996).

2.2.1 İsektisitlerin Sınıflandırılması

İsektisitler kimyasal yapılarına göre organoklorlular, karbamatlar, pyretroidler ve organofosfatlar olmak üzere dört ana gruba ayrılırlar (Ishaaya 2000).

Organoklorlular (OCI); yapılarında bulunan klor sebebiyle bu şekilde isimlendirilmişlerdir. Temas ve solunum yolu ile böceklere bulaşan organoklorlu isektisitler bu asalakların Ca-Mg ATPaz'larını inhibe edebilirler. Bu isektisitlerin büyük miktarda kalıntı bırakması ve kalıntıların yıllar sonra yok olmalarından dolayı kullanımları kısıtlandırılmış ve kontrol altına alınmıştır. Lindan, aldrin ve dieldrin en önemli temsilcileridir.

Karbamatlar; sindirim, temas ve solunum yoluyla bulaşıp, AChE'ı anyonik yanı ile inhibe ederek etki gösterirler. Karbaryl, karbofuran, karbosulfan ve propoxur karbamatlara örnektir.

Pyretroidler; etkilerini temas yoluyla Ca-ATPaz'ı inhibe ederek gösterirler. Uygulanan alanda zararlı dışında kalan canlı habitata olan etkisi çok azdır. Bu sebepten dolayı günümüzde çokca kullanılmaktadırlar. Permetrin, tetrametrin, piretrin, sipmetrin ve deltametrin pyretroidlerden birkaçıdır.

Organofosfatlar (OP); tarım ve ev yaşamında en sık kullanılan ve insan zehirlenmelerine en çok sebep olan isektisit grubudur.

2.3 Organofosfatlar

Organofosfatlı isektisitler, en çok kullanılan isektisit grubu olup, pestisitlerin önemli bir kısmını oluştururlar. İlk OP'lar, 1937'de Almanya'da Schrader tarafından sentezlenmiştir. Bu sentezlenen ürünlerin son derece toksik olduğu gösterilmiş ve II. Dünya Savaşı'nda Nazilerin kontrolünde tutulmuştur. Bunların bazıları kimyasal savaş silahı olarak geliştirilmiştir. Özellikle tabun ve sarinin sentezleri sır olarak saklanmıştır.

Sinir gazı ismi verilen bu OP'ların memelilere toksik olduğu gibi, insektisit özelliği olduğu anlaşılmış ve bu amaçla ilk önce tetraetilpirofosfat (TEPP) sentezlenmiştir. Daha sonraları 1944'de Schrader daha dayanıklı bileşikler olan paration ve paraoksonu sentezlemiştir. Bu yıllardan sonra da OP'lı insektisitlerin üretimi ve kullanımı artış göstermiştir. Günümüzde 200 den fazla farklı organofosfatlı ester yapısında aktif madde bulunmaktadır (Ellehorn 1988).

OP'lı insektisitler, genel olarak fosforik asidin amid veya tiyol türevleridirler. Şekil 2.1'de de görüldüğü üzere OP'lar, bir fosfor atomu, buna doğrudan veya oksijen veya kükürt ile bağlanmış alkil grupları (R_1 ve R_2) ve süstitüe veya dallanmış alifatik, aromatik veya heterosiklik bir gruptan (X) oluşmaktadır (Maroni vd. 2000).



Şekil 2.1 Organofosfatların genel yapıları (Maroni vd. 2000)

OP'lar fosfatlar, fosforotiyoatlar, fosforoditiyoatlar, fosfonatlar, fosforoamidatlar ve fosforofluoridatlar olmak üzere 6 ana gruba ayrılırlar. Fosfatlar kükürt taşımayan organofosfatlardandır. Fosforotiyoatlar bir adet kükürt taşıırken, fosforoditiyoatlar iki adet kükürt bulundururlar. Eğer R_1 doğrudan, R_2 ise oksijen veya kükürt ile fosfota bağlanırsa fosfonatlar olarak isim alırlar. Karbon atomu, fosfora amino grubu (-NH) ile bağlanırsa fosforoamidat tipi OP'lı insektisit ortaya çıkar. Temel fosfat grubuna sadece florun bağlandığı yapılar ise fosforofluoridatlardır. Şekil 2.2'de OP'ların genel kimyasal yapıları ve isimlendirilmeleri gösterilmiştir (Vural 1996).

Tip	Kimyasal Yapı	Örnekler
Fosfat	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{R}_1\text{O} \diagup \text{P} - \text{OX} \\ \text{R}_2\text{O} \diagdown \end{array}$	Diklorvos TEPP
Fosfonat	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{R}_1 \diagup \text{P} - \text{OX} \\ \text{R}_2\text{O} \diagdown \end{array}$	Triklorfon Butonat
Fosforotiyoat	$\begin{array}{c} \text{S} \\ \\ \text{R}_1\text{O} \diagup \text{P} - \text{OX} \\ \text{R}_2\text{O} \diagdown \end{array}$	Paration Fenthion
Fosforotiyoat (S-süstitüentli)	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{R}_1\text{S} \diagup \text{P} - \text{OX} \\ \text{R}_2\text{O} \diagdown \end{array}$	Ometoat Profenofos
Fosforoditiyoat	$\begin{array}{c} \text{S} \\ \\ \text{R}_1\text{O} \diagup \text{P} - \text{SX} \\ \text{R}_2\text{O} \diagdown \end{array}$	Malation Dimetoal
Fosforoamidat	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{R}_1\text{O} \diagup \text{P} - \text{N} \begin{array}{l} \diagup \text{R}' \\ \diagdown \text{R}'' \end{array} \\ \text{R}_2\text{O} \diagdown \end{array}$	Fenamifos Fosthietan
Fosforotiyoamidat	$\begin{array}{c} \text{S} \\ \\ \text{R}_1\text{O} \diagup \text{P} - \text{N} \begin{array}{l} \diagup \text{R}' \\ \diagdown \text{R}'' \end{array} \\ \text{R}_2\text{O} \diagdown \end{array}$	Izofenvos
Fosforotiyoamidat (S-süstitüentli)	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{R}_1\text{S} \diagup \text{P} - \text{N} \begin{array}{l} \diagup \text{R}' \\ \diagdown \text{R}'' \end{array} \\ \text{R}_2\text{O} \diagdown \end{array}$	Metamidofos
Fosforofluoridat	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{R}_1\text{O} \diagup \text{P} - \text{F} \\ \text{R}_2\text{O} \diagdown \end{array}$	Dizopropil Fosfat

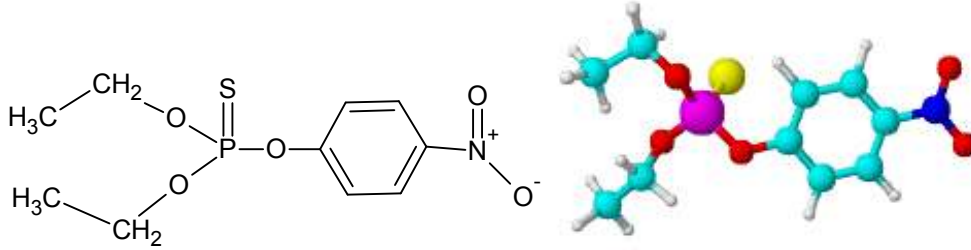
Şekil 2.2 Organofosfatların genel kimyasal yapıları (Vural 1996)

2.3.1 Önemli Organofosfatlar

Parathion, malathion, diklorvos, diazinon ve fenthion en iyi bilinen OP'lardandır.

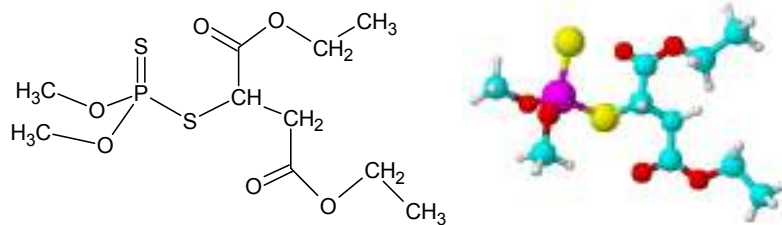
Parathion; dietil parathion olarak bilinen, fosforotiyoat türünde bir organofosfattır (Şekil 2.3). 1940'larda Schrader tarafından sentezlenen parathion, canlı organizmalar için yüksek toksisiteye sahiptir. Bundan dolayı pek çok ülkede kullanımı ya yasaklanmış ya da sınırlandırılmıştır.

Temas ve oral yolla absorbe edilen parathion, sinir sisteminin işleminde stratejik görevi olan AChE enzimini inhibe ederek sinir sisteminde bozukluklar meydana getirir. Absorbe edilen parathion hızlı bir şekilde metabolize olarak paraksona dönüşür. Parakson baş ağrısına, görmeye bozukluğa, şiddetli kusma ve diareye, titreme ve kasılmalara, duylardaki hassasiyetin kaybolmasına ve sonunda ölüme sebep verir (Meister 1987, Hayes vd. 1990).



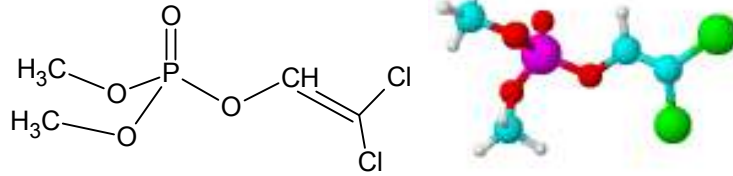
Şekil 2.3 Parathion

Malathion; bir fosforoditiyoat olup, AChE'ye irreversibl bağlanarak enzimin etkinliğini ortadan kaldırmaktadır (Şekil 2.4). Dünyada sıklıkla kullanılsa da, zamanla kendinden 60 kat daha fazla toksik olan malaksona dönüşmesi malathionun ne denli bilinçli kullanılması gerektiğini gösterir (Kaya vd. 2002).



Şekil 2.4 Malathion

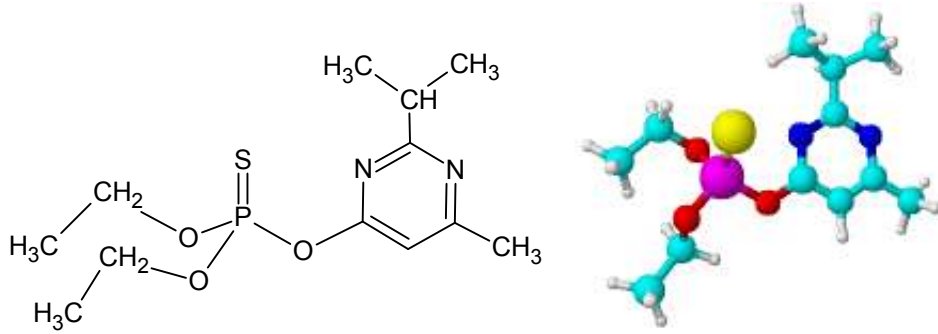
Diklorvos; solunum ve temas yoluyla absorbe olan ve diğer OP'lar gibi güçlü toksisiteye sahip bir insektisittir (Şekil 2.5). Ancak diğerlerinden farkı, toksisite durumunda semptomlarının daha hızlı seyretmesidir. Evlerde ve fabrikalardaki kuru gıdalara musallat olan güve, kurt ve örümceklere karşı en etkin insektisittir (Gallo vd. 1991, U.S. Public Health Service, 1995).



Şekil 2.5 Diklorvos

Diazinon; ilk olarak 1956 yılında İsviçre firması olan Ciba-Geigy tarafından tiyofosforik asidin esterinden geliştirildi (Şekil 2.6). Toksik etki mekanizması diğer OP'lı insektisitler gibi AChE'nin inhibisyonuna dayanır. Özellikle hamam böcekleri ve karıncalar ile yapılan mücadelede önemli bir silahtır (Hayes vd. 1990, Gallo vd. 1991).

Literatürdeki birçok organofosfat çalışmasında toksikasyon ajanı olarak kullanılan diazinon, en çok bilgi sağlanan insektisitlerden biri olma özelliğine sahiptir.



Şekil 2.6 Diazinon

2.3.2 Fenthion

DMTP (O,O-dimethyl O-4-methylthio-m-tolyl phosphorothioate) olarak da bilinen ve bir fosforotiyoat olan fenthion (Şekil 2.7) ilk olarak 1960 yılında Alman Bayer şirketi tarafından geliştirildi. Çıktığı yıllarda evcil hayvanlardaki dış parazitleri yok etmek için

spreyler ve şampuanların bileşimine katıldı. Daha sonraları çiftlik hayvanları için de aynı uygulama yapılmaya başlandı. Diğer OP'lara göre daha az toksik olması ve daha az kalıntı bırakması nedeniyle günümüzde pek çok tarımsal faaliyette pestlerden kurtulmak için fenthionun kullanılması tercih edilmektedir (Yavuz vd. 1999).

Diğer OP'lar gibi fenthionunda en belirgin özelliği hedef enzim niteliğindeki AChE ile yapısal bütünleşme konumunda olmasıdır. Aslında fenthion AChE enziminin doğal substratı ACh'nin yerini almaktadır. Bunun sonucunda ortamdaki AChE miktarı inhibe edilmiş olur. İnaktive edilmesi gereken nörotransmitter ACh oranı artar ve bu artma kolinerjik reseptörlerin aşırı uyarılmasına neden olur. Zamanla bu uyarılma artarak kolinerjik iletim felç olur (Yavuz vd. 1999).

Genel ve fiziksel özellikleri (U.S. Public Health Service, 1995);

Görünüşü: Saf fenthion renksiz bir sıvı iken teknik fenthion ise sarı-kahverengi rengine, yağimsi ve sarımsak kokulu bir likittir.

UIPAC İsmi: O,O-dimethyl O-4-methylthio-m-tolyl phosphorothiaote

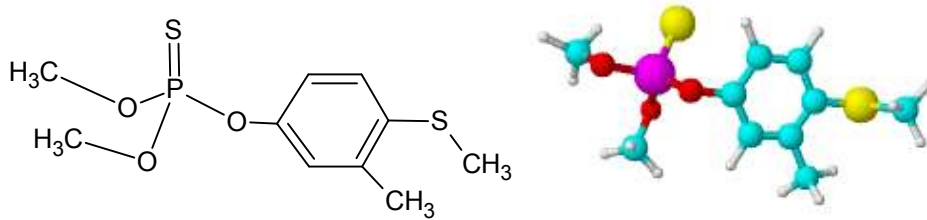
Moleküler Ağırlığı: 278.33

Sudaki Çözünürlüğü: 2 mg/L (20 °C'de)

Erime Noktası: 7.5 °C

Kaynama Noktası: 87 °C (0.01 mm Hg'da)

Buharlaştırma Basıncı: 4 mPa (20 °C'de), 10 mPa (30 °C'de)



Şekil 2.7 Fenthion

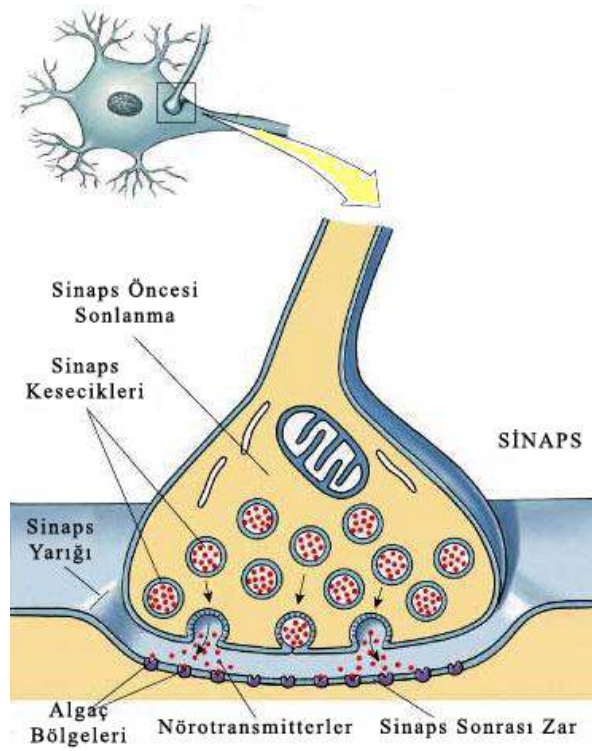
2.3.3 Asetilkolin ve Asetilkolinesteraz

Sinir sistemi nöron adı verilen sinir hücrelerinden meydana gelmektedir. İnsan vücudunda sadece nöronlardan oluşan tek hat halinde sinirler olabileceği gibi sinapslarla

bağlantılı ardışık sinirlerde mevcuttur. Bu tür sinirler tek parçalara göre çok daha fazladır (Kandel vd. 2000).

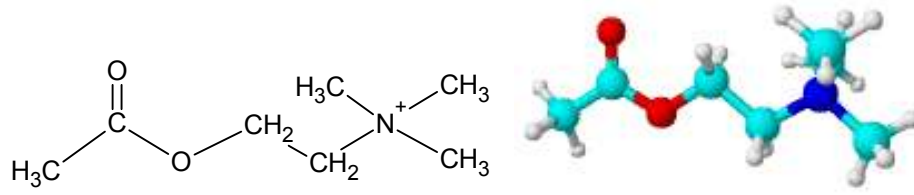
Nörotransmitterler nöronlar arasında veya bir nöron ile başka bir tür hücre arasında iletişimi sağlayan kimyasallardır. Sinir sistemi boyunca ileti bu kimyasallar vasıtası ile taşınır (Kandel vd. 2000).

Nöronlar boyunca elektrik sinyali şeklinde ilerleyen ileti, sinaps öncesinde bulunan ve aktif zon adı verilen bölüme gelince zondaki voltaj kaplı Ca^{+2} kanalları açılır. Ca^{+2} konsantrasyonu artmasıyla nörotransmitter içeren sinaps kesecikleri, sinaps öncesi zar ile birleşir ve nörotransmitter maddeler sinaps boşluğuna salınır. Daha sonra transmitterler boşluğu geçerek sinaps sonrası zarda bulunan reseptörlere bağlanırlar ve bağlandıkları yeni hücrede yeni bir elektriksel ileti oluştururlar (Vizi 2000).



Şekil 2.8 Nöron ve nörotransmitterler

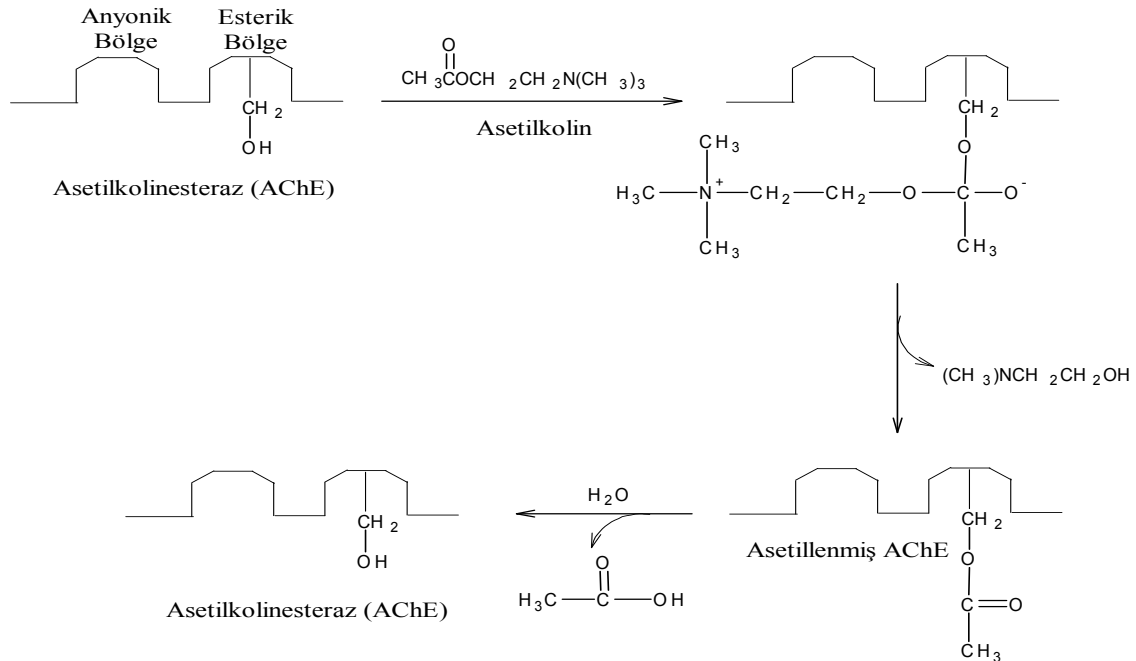
Nörotransmitterler hızlı etkili, yavaş etkili ve hem hızlı hem yavaş etkili transmitterler olmak üzere üç gruba ayrılırlar. İlk keşfedilen nörotransmitterlerden olan asetilkolin (ACh) hem hızlı hemde yavaş etki gösterebilme özelliğine sahiptir (Nelson vd. 2004).



Şekil 2.9 Asetilkolin

ACh'n iki tip reseptörü mevcuttur. Bunlardan nikotinik ACh reseptörlerle (nAChR) iskelet kası miyonöral kavşaklar, otonomik gangliyonlar ve merkezi sinir sisteminde hızlı nörotransmisyon gösterirken, muskarinik ACh reseptörlerle (mAChR) düz kas miyonöral kavşaklarda ve salgı bezlerinde yavaş nörotransmisyon gösterir (Nelson vd. 2004).

Membrandaki ACh'nin görevini tamamladıktan yani elektriksel iletiyi diğer nörona aktardıktan sonra deaktive edilmesi gerekir. Aksi takdirde sürekli kendi reseptörlerini stimüle edecek ve diğer nörona gereksiz ve aşırı elektriksel iletiler oluşturacaktır. Bunun için nöronal ve nöronal olmayan hücrelerden asetilkolinesteraz (AChE) salgır. AChE enziminin ortamdaki ACh'ni deaktive etme görevi bulunur. ACh molekülünün anyonik kısmı önce AChE'nin esterik kısmına bağlanarak hidroliz olur (Şekil 2.10) ve aktivitesi ortadan kalkar (Kryger vd. 2000).

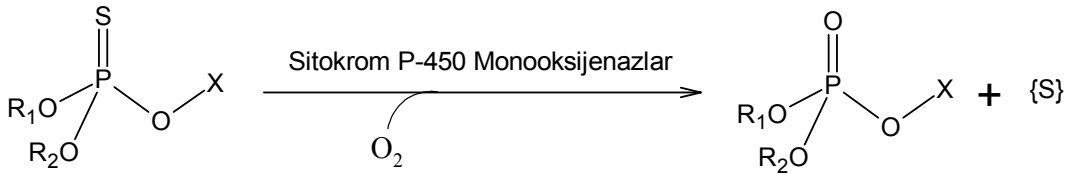


Şekil 2.10 AChE enziminin ACh'i hidrolizi

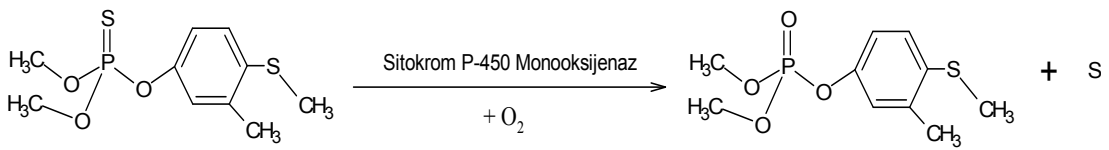
2.3.4 Organofosfatların Absorpsiyonu ve Biyotransformasyonu

OP'lı insektisitler inhalasyon ve gastrointestinal yolla absorbe olabildikleri gibi, deri yoluyla da önemli derecede absorbe olabilirler. Toksik etkilerinden biri, AChE enzimini inhibe etmesine dayanır. Bu sebeple antikolinesterazlar olarak da bilinirler (Chaudhry vd 1998, Rosentock vd 1991).

Toksik etkileri biyotransformasyonları ile yakından ilgilidir. "P=S" bağı içeren OP'lar aktif AChE inhibitörü değildirler. Aktivasyon için "P=S" nin "P=O" ya yani okson metabolitlerine okside olmaları gerekmektedir. I. faz reaksiyonu (Şekil 2.11 ve Şekil 2.12) ile sitokrom P-450 monooksijenazlarca katalizlenen oksidasyon başta karaciğer olmak üzere akciğer ve beyinde gerçekleşir. Reaksiyonda oksijen "P=S" grubuna bağlanarak, molekülün rezonans şeklinde elektronları kendine çeker ve sonuçta kükürdün anorganik kükürt şeklinde ayrılmasına neden olur (Manahan 2003).



Şekil 2.11 I. faz reaksiyonu ile meydana gelen desülfürasyonu

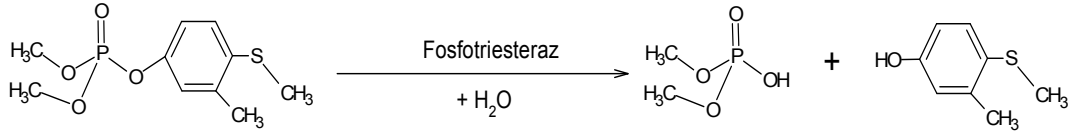


Şekil 2.12 Fenthionun desülfürasyonu

Aktivasyon sonucunda oluşan okson arametabolitleri aril veya alifatik hidrolazlar tarafından hidroliz olurlar (Şekil 2.13). Söz konusu enzimler, memeli hücrelerinde olduğu halde böceklerin birçoğunda yoktur. Bu nedenle OP'lı insektisitlere böcekler daha duyarlıdır (Vural 1996).

OP'ların hidrolizi bitki ve memelilerin dokularında yaygın olarak bulunan birçok hidrolaz enzimi tarafından gerçekleştirilir. Enzimlerin aktivitesi, insektistteki

sübstitüente göre değişmektedir. Bu durum insektisit detoksifikasyon hızını da yapıya bağlı olduğunu gösterir. OP'ların etkisizleştirilmesinde en büyük rol oynayan enzim, organofosfat hidrolaz (OPH) olarak da bilinen fosfotriesterazdır. Bu enzimin mevcudiyeti memelilerde toleransı, böceklerde ise rezistansı sağlar (Vural 1996).

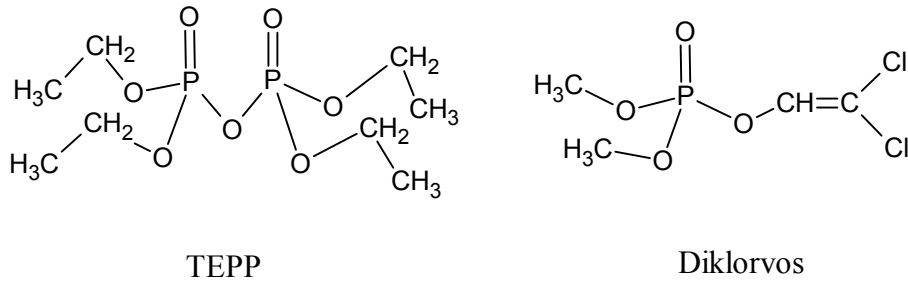


Şekil 2.13 Fenthionun hidrolizi

2.3.5 Organofosfatların Toksik Etki Mekanizmaları

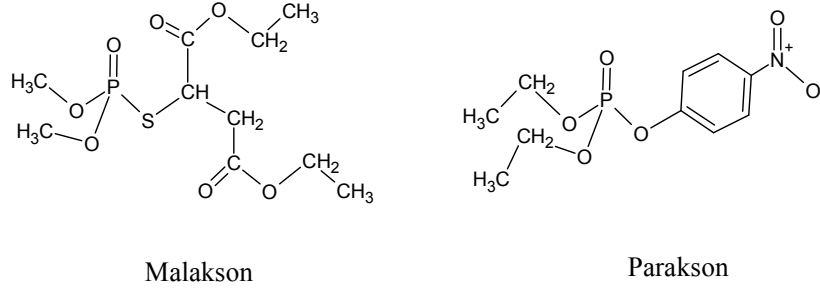
OP'lı insektisitler sadece okson şekline döndükten sonra inhibitör özelliği kazanırlar. Bundan yola çıkılacak olunursa iki tip OP bulunur. Bunlar direkt etkili OP'lar ve indirekt etkili OP'lardır.

Direkt etkili OP'lar hiç bir biyotransformasyona gerek duymaksızın kolinesterazı inhibe etme özelliğine sahiptirler. Tetraetilpirofosfat (TEPP) ve diklorvos (Şekil 2.14) direkt etkili OP'lara örnek gösterilebilir.



Şekil 2.14 TEPP ve diklorvos

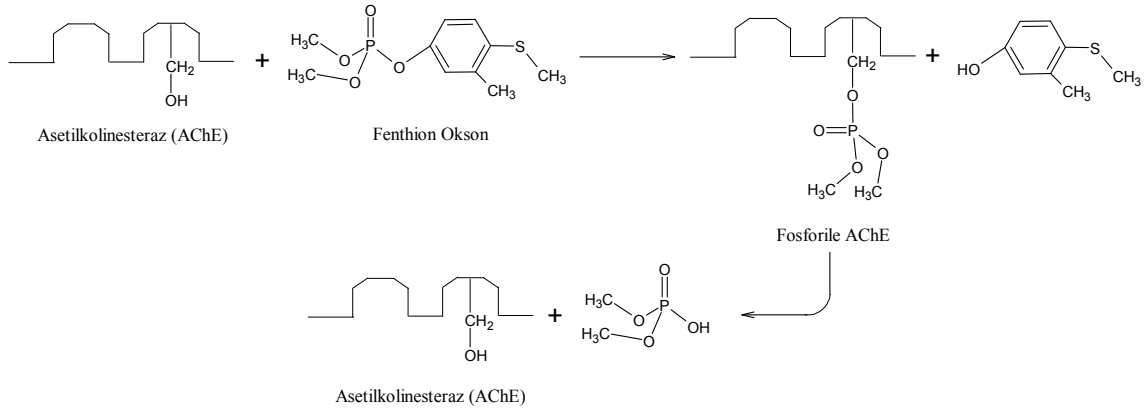
İndirekt etkili OP'lar ise yapılarında kükürt atomu bulundururlar ve bu yüzden aktif olabilmeleri için biyotransformasyona uğrayarak okson şekillerini alırlar. Örneğin malathion malaksona, parathion paraksona (Şekil 2.15) dönüşümüne aktifleşir (Vural 1996).



Şekil 2.15 Malakson ve Parakson

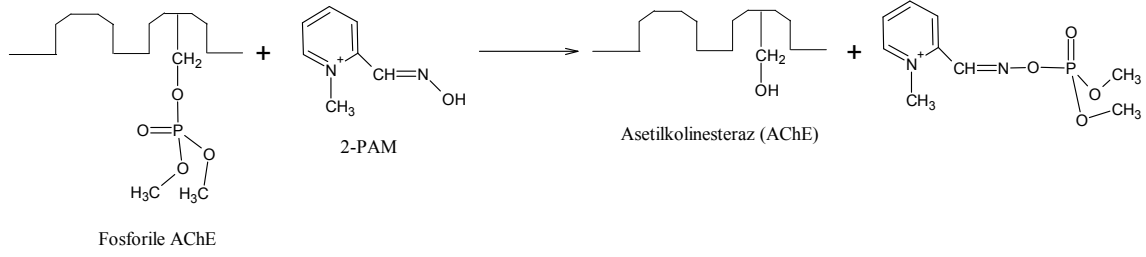
Bir nörotransmitter olan ACh'nin sinaps boşluğunda birikmesi sonucu aşırı stimülasyonlar oluşturduğunu ve ACh'ni AChE enzimi inhibe ederek bu stimülasyonları önler. OP'lar ortamdaki AChE enzimine geri dönüşümsüz olarak bağlanarak işlevlerini yerine getirmesini engeller. Yani ACh'i taklit ederek onların yerine geçer ve boştaki AChE oranını düşürür (Vural 1996).

Toksik OP'lar tıpkı ACh gibi AChE'nin esterik ucundan enzime bağlanır ve fosforile AChE denilen kompleksi oluştururlar. Meydana gelen yapı dayanıklı ve geri dönüşümsüzdür (Şekil 2.16). Bu yüzden yeni kompleksin rejenerasyonu çok çok zordur ve uzun süre gerektirmektedir (Vural 1996).



Şekil 2.16 Fenthionun AChE enzimini inhibisyonu

Geri dönüşümsüz inhibisyonunda, enzim rejenerasyonu çok yavaştır. Enzim rejenerasyonu, dışarıdan verilen enzim reaktivatörü ve antidotlar (2-PAM vb.) gibi başka kimyasallar yardımıyla hızlandırılabilir (Şekil 2.17). Bu işlemle AChE enzimine bağlı OP'lar daha kolay ve hızlı şekilde yapıdan uzaklaştırılır.



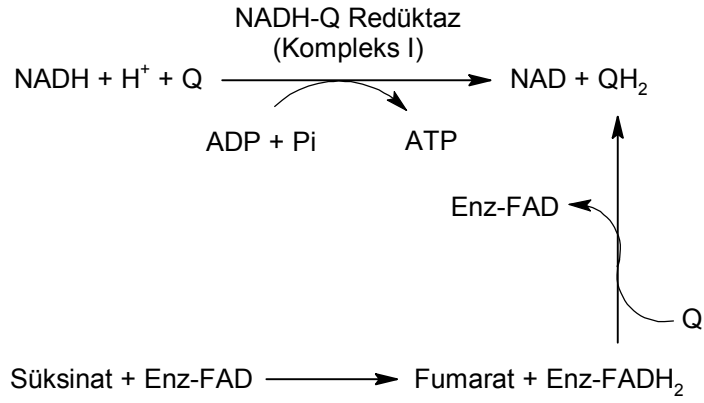
Şekil 2.17 Rejenerasyonun 2-PAM ile hızlandırılması

OP'lı insektisitlerin AChE enzimini inhibe etmesi dışında diğer bir toksik etkisi de reaktif oksijen türleri (ROS) denilen yıkıcı molekülleri oluşturması veya bu moleküllerin lipidler, DNA-RNA veya proteinlere olan zararlı etkilerini kolaylaştırmasıdır (Bagchi vd. 1995, Gultekin vd. 2000).

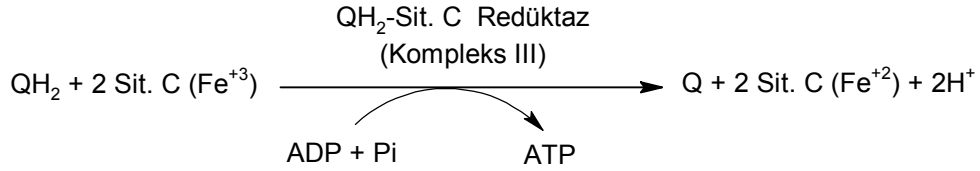
2.3.6 Organofosfatlar ve Reaktif Oksijen Türleri Arasındaki İlişki

OP'ların hücredeki içindeki en önemli hedef noktaları mitokondrilerdir. Ökaryotik hücrelerde metabolik enerjinin üretiminden sorumlu olan mitokondride, karbonhidrat ve yağ asitlerinin katabolizmasından elde edilen enerjiden oksidatif fosforilasyon ile ATP elde edilmektedir (Onat vd. 2002).

Metabolik enerjinin temel kaynağı glukoz ve yağ asitlerinin oksidatif yıkımıdır. Glukoz metabolizmasının başlangıcı sitozolde gerçekleşmekte ve glukoz molekülleri piruvata dönüşmektedir. Sitozolik tepkimeler sonucunda oluşan piruvat, mitokondriye taşınarak karbondioksite kadar sitrik asit döngüsü ile okside olmakta ve karbonhidrat moleküllerinde bulunan kimyasal enerji, NAD^+ ve FAD yapısına aktarılmaktadır. Oluşan NADH ve $FADH_2$ indirgenmiş koenzimlerin yapısında bulunan elektronlar, mitokondri iç membranında yerleşik Koenzim Q (Q) elektron taşıyıcılarına bağlanmaktadır (Şekil 2.18 ve Şekil 2.19). Elektron transferlerinden sağlanan ve membranlar arası bölgede bulunan proton gradientinde depolanan potansiyel enerjiden, mitokondri iç membranında ATP sentezlenmektedir (Onat vd. 2002).

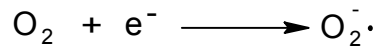


Şekil 2.18 ATP'nin ilk oluşum yeri

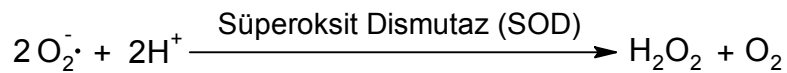


Şekil 2.19 ATP'nin ikinci oluşum yeri

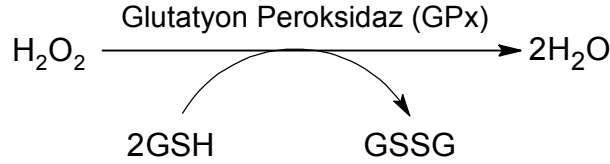
Metabolizma için çok önemli bir görevi bulunan ve ubikinon olarak da bilinen Koenzim Q, kompleks I ve kompleks III tepkimeleri sırasında $\text{Q}^{\bullet -}$ radikalik halini alabilir ve bu radikal üzerinde bulunan elektronunu oksijene aktarabilir. Elektronu bağlayan oksijen, çok aktif ve biyomoleküller için yıkıcı özellik gösteren bir ROS olan süperoksit radikaline ($\text{O}_2^{\bullet -}$) dönüşür (Nelson vd. 2004).



Süperoksit radikalinin yıpratıcı özelliğini giderilmesi, süperoksit dismutaz (SOD) enzimi aracılığı ile gerçekleştirilir. SOD, süperoksit radikalini daha az zararsız olan hidrojen peroksit (H_2O_2) dönüştürür (Kalaycıoğlu vd. 2000).



Her ne kadar süperoksit kadar aktif olmasa da hidrojen peroksitte bir ROS'tur ve yıkıcı özelliğinin giderilmesi gerekir. Glutasyon peroksidaz (GPx) ve glutasyon (GSH), hidrojen peroksiti suya dönüştürür (Kalaycıoğlu vd. 2000).



Birçok çalışma OP'ların, oksidan temizleyicisi olan SOD (John vd. 2001), GPx ve GSH (Yürümez vd. 2007, Büyükokuroğlu vd. 2008) aktivitelerinde ve miktarlarında bir azalmaya sebebiyet verdiği ortaya konmuştur (Altuntaş vd 2003).

Etkisizleştirilemeyen ROS'lar başta hücre membran lipidlerinin peroksidasyonu olmak üzere, nükleik asitler, protein ve karbonhidratlarda önemli yıkımlar gerçekleştirmektedirler (Liu vd. 1996, Gultekin vd. 2000).

Ayrıca OP'lar apoptosis adı verilen programlanmış hücre ölümüne hız vererek doku hasarına da sebep olabilmektedirler (Abou-Donia 2003).

2.4 Oksidan ve Antioksidanlar

Canlı organizmalar için hayati öneme sahip biyokimyasal tepkimeler sırasında oksijen indirgenerek, ROS denilen ve birçok dokuda oksidatif hasara sebep olan ara metabolitleri meydana getirirler. Oluşturdukları oksidatif yıkımdan dolayı "oksidan madde" olarak isimlendirildiği gibi çoğunluğu radikalik olduğundan "serbest radikal" olarak da isimlendirilebilirler (Porter 1998). Canlı organizmada biyokimyasal tepkimelerin devamlı meydana geldiğini göz önüne alırsak, metabolizmada da devamlı bir oksidan madde üretimi olduğunu söyleyebiliriz. Bu sebeple organizmadaki oksidan madde miktarı belirli bir dengede bulunması gerekmektedir. Denge, ancak fazla miktardaki oksidanın, antioksidan adı verilen oksidan temizleyici maddelerce etkisizleştirilmesi ile sağlanır. Oksidan ve antioksidanlar arasındaki denge hücrel ve biyolojik etmenlerce bozulabilmektedir (Dündar vd. 2000, Montgomery 1996).

2.4.1 Oksidatif Stres

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına neden olur. “Oksidatif stres” olarak adlandırılan bu durum özetle: serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup (Şekil 2.20), sonuçta doku hasarına yol açmaktadır (Serafini vd. 2004).

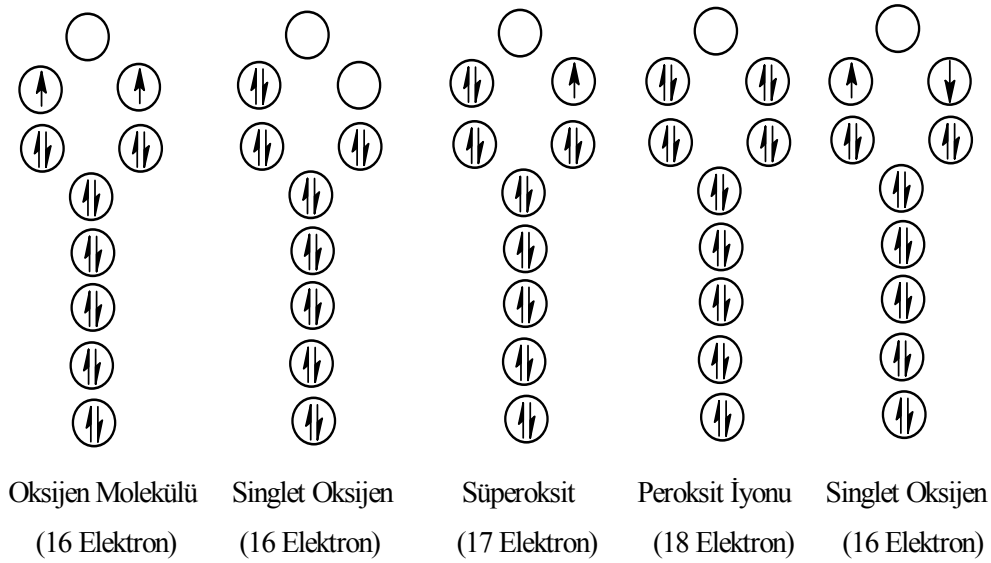


Şekil 2.20 Oksidatif stres

Oksidan ve antioksidan sistemler arasındaki dengenin oksidanlar lehine bozulması olarak tanımlanan oksidatif stres (Sies 1997); diabet, Alzheimer, böbrek yetmezliği gibi birçok patolojik durumda (Dalle-Donne vd. 2003), yaşlılıkta (Onat vd. 2002) ve pestisitler, uyuşturucu, radyasyon, gibi biyolojik kaynaklı oksidan maddelere yoğun bir şekilde maruz kalma sonucunda da ortaya çıkmaktadır. Serbest radikaller insanlarda elliden fazla hastalığın patolojisi ile ilişkilendirilmektedir (Halliwell 1991).

2.4.2 Serbest Radikaller ve Oluşumları

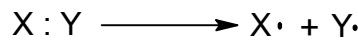
Atom numarası 8 olan oksijen atomunun 8 elektronu bulunmaktadır. Oksijen molekülünde aynı yönde dönen iki elektrona sahip 2p son orbitali önem taşımaktadır. Bu orbitallerden herhangi birindeki elektron bir orbitalden diğerine geçtiğinde veya farklı orbitallerde farklı yönde döndüğünde singlet oksijen oluşmaktadır. Orbitallerden birine veya ikisine ters dönüşlü bir veya ters dönüşlü iki elektron yerleştirilmesiyle radikal elde edilmektedir (Şekil 2.21). Doğal oksijen molekülünden değişik sayıda oksidan molekül meydana gelebilmektedir (Onat vd. 2002).



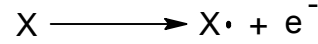
Şekil 2.21 Oksijen molekülünün elektron sayısı ve oluşan bazı oksidanlar

Serbest radikal, oksidan molekül veya en doğru adlandırma ile reaktif oksijen türleri, atomik veya moleküler yapılarında eşlenmemiş tek elektron içeren ve bu nedenle reaktif özellik taşıyan moleküllerdir. Serbest radikaller başlıca üç şekilde oluşabilmektedir (Onat vd. 2002);

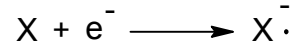
1) *Kovalent Bağın Homolitik Yarılması*: Bir molekülü oluşturan kovalent bağın homolitik yarılmasıyla eşlenmiş elektronlardan her birinin ayrı parçada kalması sonucu serbest radikaller meydana gelmektedir (Onat vd. 2002).



2) *Bir Molekülün Elektron Kaybetmesi*: Molekülün yapısındaki atomlardan birisinden elektron uzaklaştırılması sonucu oluşmaktadır (Onat vd. 2002).



3) *Bir Moleküle Tek Bir Elektronun Eklenmesi*: Bir molekül yapısına elektron eklenmesi sonucu reaktif özellik taşıyan yapılar oluşmaktadır (Onat vd. 2002).



2.4.3 Reaktif Oksijen Türlerinin Kaynakları

ROS'lar elektron transport zincir, enzimatik tepkimler, enzimatik olmayan tepkimeler ve dış etkenlerin etkisiyle meydana gelebilirler (Onat vd. 2002).

1) *Elektron Transport Zincir*: Normal koşullarda mitokondri, sitokrom oksidaz sistemi ile oksijeni suya indirgeyerek detoksifiye etmektedir. Elektron transport sistemde bulunan NAD, FAD ve koenzim Q gibi pek çok bileşik oksijen ile tepkimeye girerek O_2^{\bullet} salınımına sebep olmaktadır. Bu tek değerli oksijen kaçağı olarak ifade edilmektedir. Bu kaçağa neden olan faktörler bilinmemektedir. Normal koşullarda bu kaçak hücrenin savunma sistemleri ile yok edilebilmektedir. Ancak oksidatif stres durumunda savunma sistemleri yetersiz kalmakta ve mitokondride hasar oluşmaktadır. Bu hasar sonucu hücrenin enerji sisteminin etkilenmesi ile ATP kullanımındaki artışa ve ATP sentezindeki azalmaya bağlı olarak hücrede ATP düzeyi hızla düşmektedir (Onat vd. 2002).

2) *Enzimatik Tepkimeler*: Oksijen içeren tepkimeleri katalizleyen enzimler oksidazlar veya oksijenazlar olarak sınıflandırılmaktadır. Elektronları oksijene aktaran oksidazlar oksijenin su veya hidrojen peroksite indirgenmesini sağlamaktadır. Oksijenazlar oksijenin bir substratın yapısına katılmasını gerçekleştirmektedirler. Bu gruptaki enzimlerin katalizlediği tepkimelerde serbest radikaller oluşabilmektedir.

Metabolizmada enzimatik tepkimelerde endojen olarak oksijen metabolitleri meydana gelmektedir (Onat vd. 2002).

3) *Enzimatik Olmayan Tepkimeler:* Otooksidasyon tepkimeleri sonucu enzimatik olmayan kaynaklardan ROS'lar oluşabilmektedir (Onat vd. 2002).

4) *Dış Etkenler:* Radyasyon, CCl₄, halojenlenmiş hidrokarbonlar gibi toksik kimyasallar, hava kirliliği, fenthion, malathion gibi pestisitler, ağır metaller, antibiyotikler, alkol, sigara ve uyuşturucu da ROS'ların üretiminde etkili olurlar (Onat vd. 2002).

2.4.4 Reaktif Oksijen Türleri

Aerobik organizmalar yaşadığı sürece, moleküler oksijenden elde edilen ve reaktif oksijen türleri (ROS) olarak isimlendirilen metabolitlere maruz kalırlar. Bu metabolitlere, moleküler oksijenin indirgenmesi ile meydana gelen süperoksit radikali (O_2^{\bullet}), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali (OH^{\bullet}); karbon merkezli radikaller ile moleküler oksijenin reaksiyonu ile oluşan peroksil radikali (RO_2^{\bullet}), alkoksil radikali (RO^{\bullet}) ve organik hidroperoksitler (ROOH) ile diğer serbest radikal formundaki hipokloröz asit (HOCl), peroksinitrit ($ONOO^{\bullet}$), nitrik oksit (NO^{\bullet}), nitrojen dioksit (NO_2^{\bullet}) ve singlet oksijen (1O_2) dahil edilebilir (Yazıcı vd. 2004).

OP içeren bileşiklerin neden olduğu nörolojik hastalıklar, miyokard enfarktüsü gibi kardiyolojik hastalıklar, astım, diabetes mellitus, romatoid artrit gibi romatolojik hastalıklar, kanser ve yaşlanma dahil birçok hastalığın reaktif oksijen türleri ve oksidatif stres ile ilişkisi gösterilmiştir (Yazıcı vd. 2004).

ROS'ları biz radikal ROS'lar ve radikal olmayan ROS'lar olarak ayırabiliriz (Tablo 2.1).

Çizelge 2.1 Bazı reaktif oksijen türleri

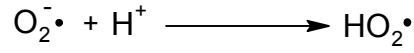
Radikaller		Radikal Olmayanlar	
Süperoksit anyon radikali ($O_2^{\bullet-}$)		Hidrojen peroksit	(H_2O_2)
Hidroksil radikali (OH^{\bullet})		Lipid hidroperoksit	(LOOH)
Peroksil radikali (RO_2^{\bullet})		Hipohalöz asid	(HOX)
Alkoksil radikali (RO^{\bullet})		N-Halojenli aminler	(R-NH-X)
Semikinon radikali (HQ^{\bullet})		Singlet oksijen	(1O_2)
Organik radikaller (R^{\bullet})		Ozon	(O_3)
Organik peroksit radikali ($RCOO^{\bullet}$)		Azot dioksit	(NO_2)
Nitrik oksid radikali (NO^{\bullet})		Hipokloröz asid	(HOCl)
Hemoproteine bağlı radikaller		Peroksinitrit	(ONOO ⁻)

2.4.4.1 Süperoksit Radikali ($O_2^{\bullet-}$)

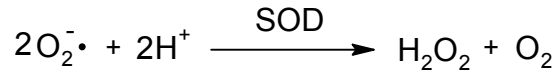
Süperoksit radikali moleküler oksijenin indirgenmesinde ara basamaktır. Hem kendinin yıkıcı özellik göstermesi hemde diğer birçok ROS'un çıkış kaynağı olması süperoksit radikalının ne denli önemli olduğunu gösterir. Doğal oksijen molekülünün başka bir molekülden elektron almış hali olan süperoksit radikali, mitokondriyal elektron transfer zincirinde NADH'nin NAD^{+} 'a ve $FADH_2$ 'nin FAD'a okside olması sırasında üretilir. Ayrıca pek çok oksidaz tarafından da meydana getirilebilir (Memişoğulları 2005).

Çeşitli patolojik durumlarda süperoksit yapımının artması durumunda, süperoksite özgül tepkimeler görülmeye başlar. Süperoksit metal iyonlarını indirgeyerek bağlı oldukları proteinlerden salınımına neden olur, kofaktörlerin oksidasyon düzeylerini bozar, metal iyonlarının katıldığı hidroksil radikali yapım tepkimelerini hızlandırır. Diğer radikallere göre daha az reaktif olsa da, süperoksit indirgenmiş nükleotidleri, bazı amino asitleri ve antioksidan bileşikleri (glutatyon, askorbik asit, tokoferol) oksitler. Zar

fosfolipidleri nedeniyle hücre zarı yüzeyleri daha asidiktir ve süperoksit buradan daha kolayca bir proton alarak hidroperoksit radikalini (HO_2^\bullet) oluşturur. Bu radikal de çok reaktif olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonunu başlatabilir ve zarsal antioksidanları (tokoferol) oksitleyebilir (Kılınç vd. 2002).



Artmış süperoksit düzeyleri süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oksijene dönüştürülerek azaltılır (Memişoğulları 2005). SOD tarafından katalizlenen bu tepkime “dismutasyon tepkimesi” diye adlandırılır. Süperoksit, özellikle hafif asidik koşullarda SOD olmadan kendiliğinden dismutasyonla da H_2O_2 'e çevrilebilir. Süperoksit, pK'sı 4.8 olan zayıf bir baz olduğundan, pH'nın daha düşük olduğu fagozom içinde daha kolaylıkla kendiliğinden dismutasyonla H_2O_2 oluşturabilir. Nötral pH'da enzimatik dismutasyon 10^9 kez daha hızlı olduğundan SOD enzimi savunma için mutlaka gereklidir (Kılınç vd. 2002).

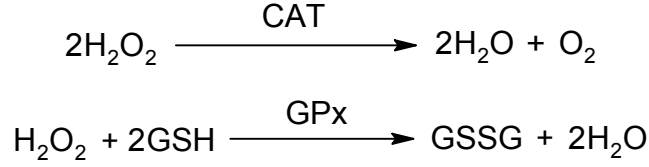


2.4.4.2 Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Süperoksitin SOD ile dismutasyonu sonucu veya spontan olarak üretilen H_2O_2 , aslında radikal değildir. Ancak üretildiği yerde kalan süperoksitin aksine hidrojen peroksit hücre membranlarından geçip sitoloze diffüze olabilir. Bu nedenle membranla korunmuş yapılara kolaylıkla girebilir (Memişoğulları 2005). Süperoksit ile tepkimeye girerek en reaktif ve zarar verici radikal olan hidroksil radikali (OH^\bullet) oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir. Ayrıca H_2O_2 serbest Fe^{+2} ile tepkimeye girerek yine OH^\bullet radikali oluşturur (Young vd. 2001).

Hidrojen peroksitin potansiyel yıkıcı etkilerinden dolayı metabolizmadan derhal uzaklaştırılması gerekir. Detoksifikasyonu ya antioksidan katalaz (CAT) enzimi aracılığı ile ya da yine başka bir antioksidan olan glutatyon peroksidaz (GPx) enzimi ile

gerçekleştirilir. Her ikisinde de H₂O₂ suya dönüştürülüp toksik etkisi giderilir. İki tepkime arasındaki fark ise GPx ile gerçekleşen detoksifiye sırasında antioksidan özellik gösteren glutatyonunda (GSH) tepkimede yer almasıdır (Akkuş 1995).

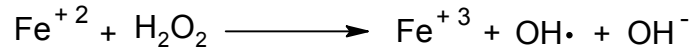


2.4.4.3 Hidroksil Radikali (OH[•])

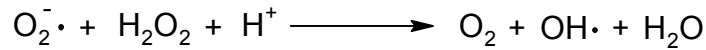
Hidroksil radikali bilinen en reaktif radikaldir. Amino asitler, nükleik asitler, organik asitler, fosfolipidler ve karbonhidratların birçoğu ile reaksiyona girebilirler (Memişoğulları 2005).

Biyolojik ve kimyasal sistemlerde üretilebilen hidroksil radikali canlılarda dört mekanizma ile oluşabilir;

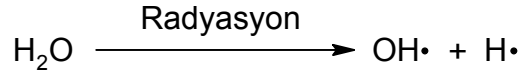
1) *Fenton Reaksiyonu*: Hidrojen peroksit, Fe⁺² ve diğer geçiş metalleri varlığında indirgenerek OH[•] radikalini oluşturabilir (Gutteridge 1995).



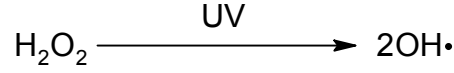
2) *Haber-Weiss Reaksiyonu*: Hidrojen peroksit, O₂^{-•} radikali ile demir ve bakır katalizörlüğünde reaksiyona girerek hidroksil radikali oluşturabilir (Young vd. 2001).



3) *Suyun Yüksek Enerjili İyonize Radyasyona Maruz Kalmasıyla*: Alınan enerji hücre suyu tarafından absorbe edilir ve sudaki oksijen-hidrojen kovalent bağının parçalanmasına neden olur. Böylece hidrojen ve oksijen üzerinde dış orbitalde tek elektron kalır ve 2 radikal oluşur (Gutteridge 1995).



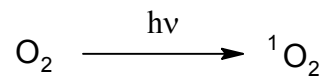
4) *Hidrojen Peroksitin UV Işığına Maruz Kalmasıyla:* H_2O_2 'nin UV ışığı altında kalması ile 2 tane hidroksil radikali oluşur (Akkuş 1995).

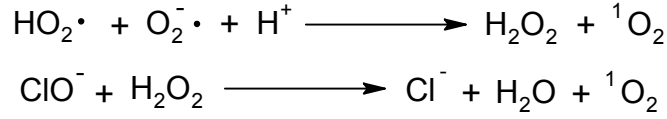


Her tür biyolojik molekül $\text{OH}\cdot$ radikalinin bir hedefi ise de, özellikle elektronca zengin bileşikler seçilen tercihli hedeflerdir. Nükleik asitler, proteinler ve lipidlerde başlatılan radikalik tepkimelerde binlerce farklı ara ürünler oluşabilir. DNA ile tepkimesi sonucu baz modifikasyonları, baz delesyonları, zincir kırılmaları gerçekleşebilir; ileri derecedeki DNA hasarları tamir edilemediğinden hücre ölümüne neden olur. Proteinler üzerinde oluşan oksidasyonlar yapı değişimine neden olacağından, proteinler proteolitik yıkıma götürülür. Hücre zarı su içermediğinden $\text{OH}\cdot$ radikalinin başlıca hedefi yağ asitleridir. Zar lipidlerinin peroksidasyonu zarın yapısını bozar ve geçirgenliğini artırıp yine hücre ölümüne neden olabilir (Kılınç vd. 2002).

2.4.4.4 Singlet Oksijen ($^1\text{O}_2$)

Yapısında eşleşmemiş elektronu bulunmaması nedeniyle radikalik özellik göstermediği halde serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına neden olması açısından önem taşımaktadır. Delta ($^1\Delta_g \text{O}_2$) ve Sigma ($^1\Sigma_g^+ \text{O}_2$) olarak iki tipi mevcuttur. Sigma tipi daha reaktif olduğu için hızla delta tipine dönüşür. Singlet oksijen, oksijen elektronlarından birinin dışarıdan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünün tersi yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi neticesi oluşabileceği gibi süperoksit radikalinin dismutasyonu ve hidrojen peroksitin hipoklorit ile reaksiyonu sonucunda da oluşabilir. Vücutta deri ve retina gibi gün ışığına maruz kalan bölgelerde sıkça olduğu tespit edilmiştir (Gilbert vd. 2002).

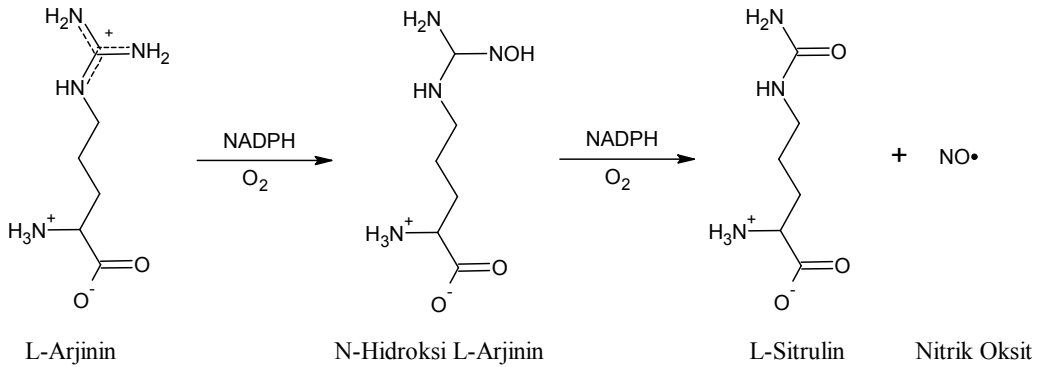




2.4.4.5 Nitrik Oksit Radikali (NO[•])

Nitrik oksit, yüksek yapılı canlılarda amaçlı olarak ve çok önemli biyolojik fonksiyonları yerine getirmek üzere üretilen nitrojen merkezli bir radikaldir. Paylaşılmamış elektron aslında nitrojen atomuna ait ise de, bu elektronun hem nitrojen hem de oksijen atomu üzerinde delokalize olması nedeniyle tam radikal özelliği taşımaz. Bunun sonucu, bilinen diğer radikallere göre reaktivitesi baskılandığından oldukça uzun ömürlüdür (Kılınç vd. 2002).

Diğer oksijen radikalleri çok sayıdaki enzimatik ve enzimatik olmayan yollar ile fiziksel/kimyasal mekanizmalarla oluşturulurken NO[•] sentezini sağlayan mekanizmalar son derece kısıtlıdır. Vücuda giren nitro bileşiklerinin metabolize edilmesi sırasında oluşan NO[•] bir tarafa bırakılacak olursa, endojen NO[•] oluşturan tek kaynak nitrik oksit sentaz (NOS) enzimleridir (Kılınç vd. 2002). NO[•], damar endotel hücrelerinde NOS enzimi aracılığıyla L-arjininden sentezlenir (Akkuş 1995).

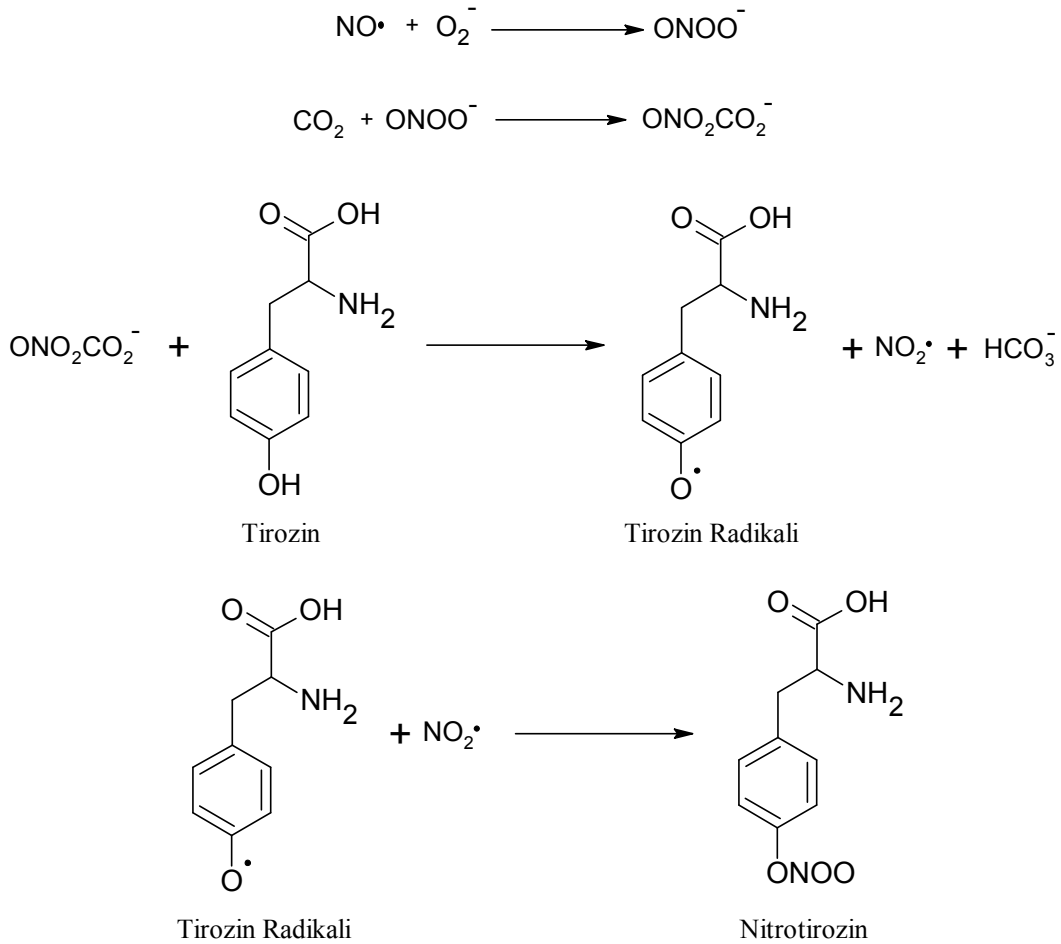


Şekil 2.22 L-Arjininden nitrik oksit üretimi

NO[•] radikalinin yarı ömrü 10-20 saniyedir. Kolayca düz kasa geçerek Guanilat Siklaz (GC) enziminin “hem” demirine bağlanır ve cGMP sentezini uyarıp damar gevşemesini

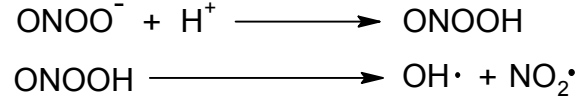
sağlar. Sentezlenen nitrik oksit, aynı zamanda tiyol gruplarını S-nitrozilasyona uğratarak protein ve reseptör fonksiyonlarını da değiştirir. NO^\bullet , Fe-S kümelerine afinite gösterdiği için bu grupları içeren akonitaz enzimine de bağlanır. Bu enzim hücre içi demir trafiğini kontrol eder. NO^\bullet , akonitaz enzimine messenger RNA (mRNA) bağlanmasını artırır ve enzimin aktivitesini düşürür (Akkuş 1995).

NO^\bullet radikalinin tek başına yıkıcı özelliği dışında, oluşmuş olan ROS'lar ile reaksiyon vererek güçlü bir oksidan olan peroksinitriti (ONOO^-) meydana getirebilir. ONOO^- , tirozin gibi fenolik amino asitleri nitrolayarak (Şekil 2.23) toksik nitro türevleri (nitrotirozin) oluşturmaktadır. (Gilbert vd. 2002).

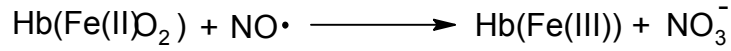


Şekil 2.23 Peroksinitritin tirozini nitrolaması

ONOO⁻, ileri dekompozisyonla en yıkıcı ROS olan OH[•] radikalini meydana getirebilir (Gilbert vd. 2002).



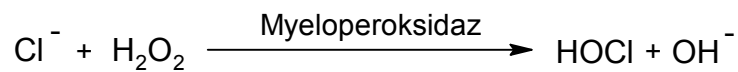
Diğer radikallerdeki durumun aksine, nitrik oksiti ortamdaki temizleyen herhangi bir spesifik enzim yoktur. Nitrik oksitin aktivitesinin sonlandırılması ancak oksihemoglobin tarafından nitrate (NO₃⁻) oksitlendirilmesi ile sağlanır (Kılınç vd. 2002).

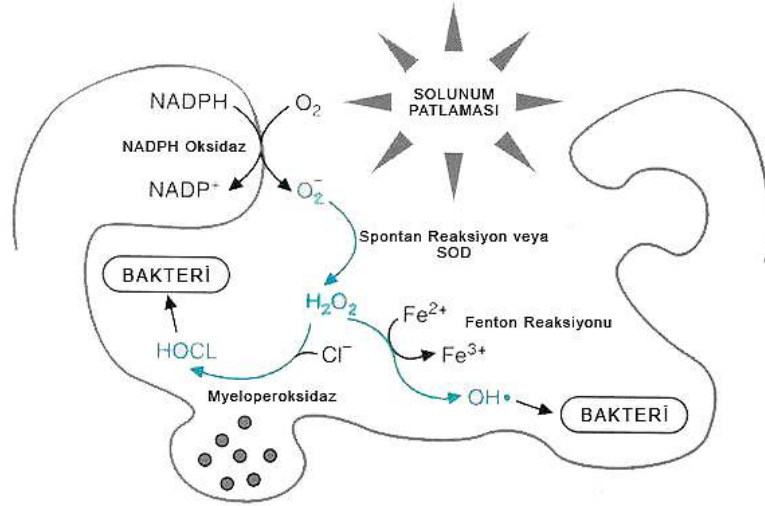


2.4.4.6 Hipokloröz Asit (HOCl)

Birçok hastalığa neden olabilen ROS metabolitleri, organizma için faydalı olan birkaç fizyolojik olayda yer almaktadır. İşte bu olaylardan biri de solunum patlamasıdır. Solunum patlaması (Şekil 2.24), vücuda giren bakterilerin makrofaj, nötrofil ve eozinofil gibi hücreler tarafından fagosite edilmesi ve bu hücrelerce üretilen ROS'lar tarafından yok edilmesi olayıdır. Solunum patlaması sırasında görev alan ROS'lardan biri de hipokloröz asitir (Akkuş 1995)

Bakteri vücuda girdiğinde fagositik hücreler tarafından önce fagositoz yoluyla hapsedilir. Daha sonra NADPH oksidaz aracılığıyla oksijen tüketim hızında artış ve yoğun süperoksit oluşumu meydana gelen bir süreç gerçekleşir. Oluşan süperoksit ya SOD yardımıyla ya da spontan olarak hidrojen peroksite dönüşür. Fagositik hücre tarafından salgılanan myeloperoksidaz (MPO) enzimi katalizörlüğünde hidrojen peroksite, klor eklenmesi ile HOCl elde edilir. HOCl güçlü oksidanlardandır ve bakterinin biyomolekülleri ile reaksiyona girerek mikroorganizmayı tahribata uğrattır (Onat vd. 2002).





Şekil 2.24 Solunum patlaması

Solunum patlamasında iş gören diğer bir ROS ise hidrojen peroksitin fenton reaksiyonu ile meydana getirdiği hidroksil radikalidir. Bu radikalde tıpkı HOCl gibi bakteriyi etkisiz hale getirir (Onat vd. 2002).

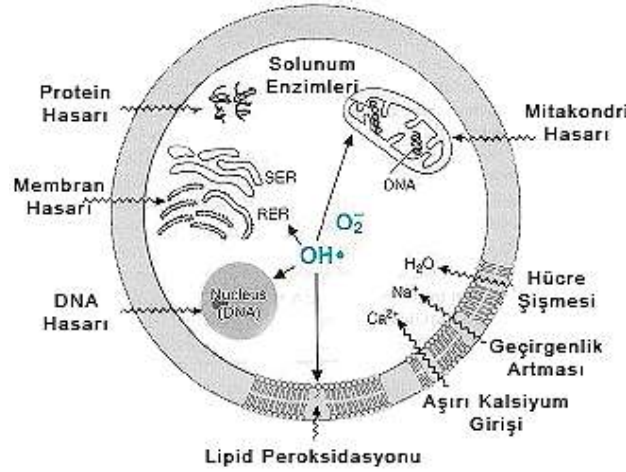
2.4.4.7 Diğer Reaktif Oksijen Türleri

Serbest oksijen radikallerinin etkisi sonucu karbon merkezli radikaller (R^{\bullet}), peroksil (peroksi) radikalleri (RO_2^{\bullet}), alkoksil (alkoksi) radikalleri (RO^{\bullet}) gibi önemli serbest radikaller de meydana gelebilmektedir. Bunlardan özellikle doymamış yağ asitlerinden meydana gelen peroksil radikali, yarı ömrü uzun olan bir radikaldir (Akkuş 1995).

2.4.5 Serbest Radikallerin Etkileri

Oksidan-antioksidan dengenin çeşitli sebeplerden dolayı oksidanlar tarafına lehine bozulması durumu olan oksidatif stres halinde oksidanlar, metabolizmada çeşitli bozukluklara yol açarlar (Şekil 2.25). Biyomoleküller ile serbest radikaller kolaylıkla reaksiyon verebilir ve zincirleme reaksiyonları başlatarak yeni serbest radikal oluşumuna neden olurlar. Oluşan serbest radikallerin, çeşitli patolojik durumlara yol açtığı ve biyolojik sistemlerde çok önemli fizyolojik roller oynadığı gözlenmektedir (Şimşek 1999).

Karbonhidrat, lipid, protein ve DNA gibi biyomoleküllerin tüm sınıfları ve tüm hücre komponentleri ile etkileşme özelliği göstererek hücrede yapısal ve metabolik değişikliklere neden olurlar (Gutteridge 1995). Poliansature yağ asitlerinin oksidatif yıkımı olan lipid peroksidasyonu serbest radikallerin uyardığı hücre yıkımında önemli bir mekanizmadır. Birçok hastalıkta doku yıkımı serbest radikaller ve lipid peroksidasyonu sonucu oluşur (Şimşek 1999).



Şekil 2.25 Serbest radikallerin toksik etkileri

2.4.5.1 Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri

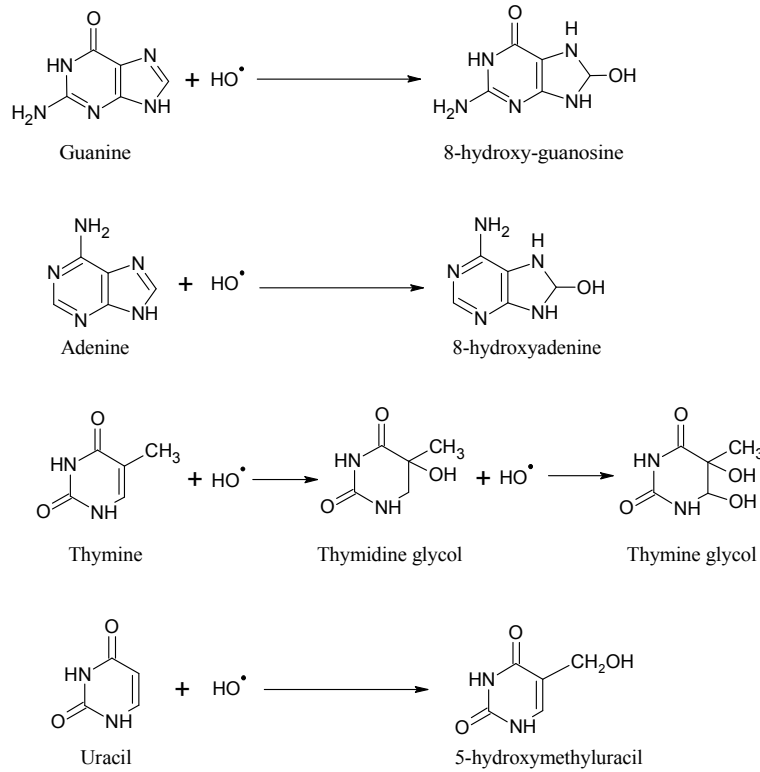
Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine de önemli etkileri vardır. Glukoz, mannoz ve deoksi şekerler fizyolojik şartlarda otooksidasyona uğrayarak, süperoksit, hidrojen peroksit ve oksoaldehitleri meydana getirirler. Oksoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Böylece kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar. Bununla birlikte poliansature yağ asitleri ve karbonhidrat oksidasyonunun bir ürünü olan glyxal'in de hücre bölünmesini inhibe ettiği kaydedilmiştir (Akkuş 1995).

Ayrıca sinoviyal sıvının viskozitesinde önemli role sahip aminoglikan yapıdaki hyalüronik asid, serbest radikallerle etkileşerek bağ dokusunun stabilitesinin bozulmasına ve sıvının viskozitesinin kaybına neden olur (Baykal vd. 2000).

2.4.5.2 Serbest Radikallerin DNA'ya Etkileri

Serbest radikaller, DNA çift sarmalının ayrılmasına, sarmal içinde çapraz bağlanmalara veya nükleik asit baz değişimlerine neden olabilir. Bu da kromozal mutasyonlar ve sitotoksisite ile sonuçlanır (Gutteridge 1995).

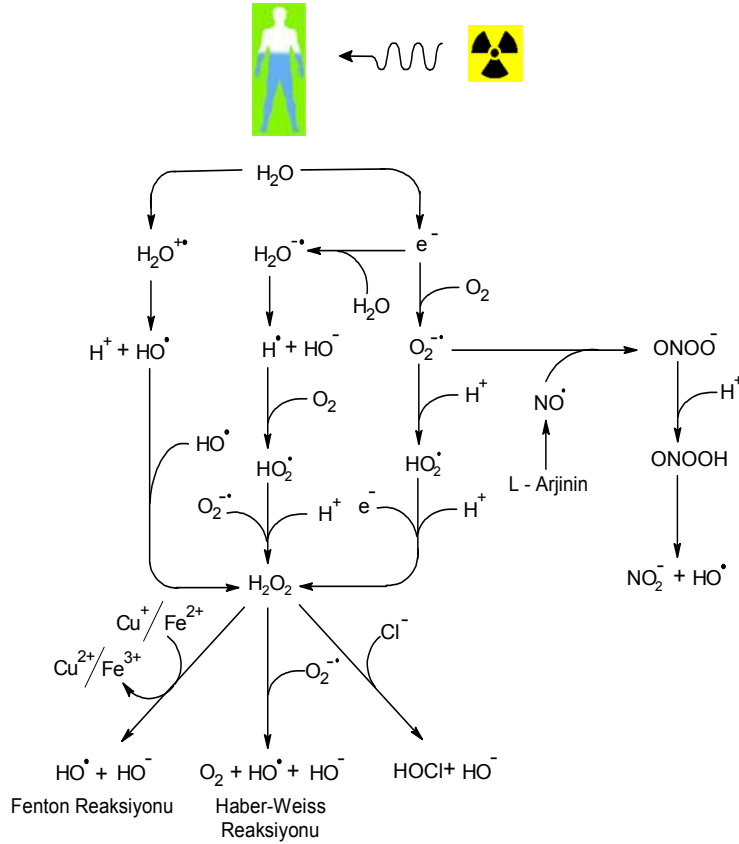
Hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar (Şekil 2.26). Eğer hidroksil radikali DNA'nın yakınında meydana gelirse pürin ve pirimidin bazlarına atak yapar ve mutasyonlara neden olabilir. Hidroksil radikali, nükleik asitlerde doymuş karbon atomlarından hidrojen çıkarır veya çift bağlara katma tepkimeleri ile sonuçlanan tepkimelere girer. Singlet oksijenin nükleik asitlerle tepkimeye girme yeteneği daha sınırlıdır. Süperoksit radikali güçlü bir oksitleyici olduğundan, guanin gibi yüksek elektron yoğunluklu bölgeler içeren moleküllerle daha kolay tepkimeye girer. Hidrojen peroksit ise membranlardan kolayca geçerek hücre çekirdeğine ulaşır ve DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir (Gutteridge 1995).



Şekil 2.26 Bazı nükleik asit bazlarına reaktif oksijen türlerinin etkileri (Cemek vd. 2008)

Serbest radikallerin dış kaynaklarından biri de radyasyondur. 10^{-5} ile 10^2 nm arasında yayımlanan iyonize radyasyon, absorbe edilen moleküllerden elektron ayrılmalarına neden olur (Şekil 2.27). Hücrelerin % 70-90'nının su olduğu düşünülürse, bu durumdan en çok organizmadaki su etkilenmektedir. Suyun radyolizi sonucu hidroksil radikali oluşur ve DNA'daki bazıları, deoksiribozu etkileyerek, DNA zincirinde kırılmalara veya kopmalara neden olur. Radyasyonun oluşturduğu hasar oksijen kullanan dokularda daha da kendini hissettirir. Ayrıca radyasyon, moleküler oksijenin süperoksit radikaline dönüşmesini sağlamakta, bu radikal ise hem DNA zincirinin kırılması gibi etkilere neden olmakta hem de hidrojen peroksit ve dolaylı olarak hidroksil radikalinin oluşmasında kilit rolü üstlenmektedir (Boyd 1988).

Radyasyon veya başka etmenler nedeniyle oluşan serbest radikallerin etkisiyle DNA'nın yapısının değişmesi canlının eşey hücrelerindeki mutasyona bağlı olarak döllerin veriminin azalmasına neden olabilmekte, canlıda mutajenik ve karsinojenik etkiler gözlenebilmektedir.

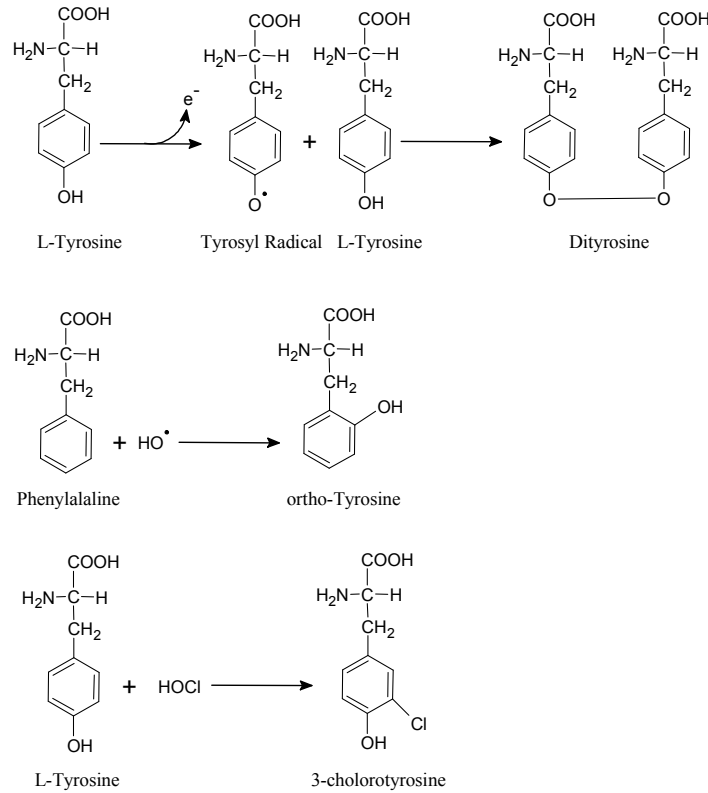


Şekil 2.27 Radyasyonun reaktif oksijen türlerini meydana getirmesi (Cemek vd. 2008)

2.4.5.3 Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri

Glutasyon (GSH) gibi tiyollerin (R-SH) oksidasyonu tiyl ve oksijen radikallerinin oluşumuna neden olur. Her ne kadar hidroksil radikallerinden daha zayıf olsalar da tiyol radikalleri bazı biyolojik sorunlara neden olmaktadır. Bunlar sülfür merkezli radikallerdir (RSH) ve proteinlerdeki homolitik fisyon (sülfürlerin karşılıklı bağlanması) reaksiyonları disülfid bağını oluşturur. Bu da proteinlerin konfigürasyonlarını bozarak vücuttaki metabolik aktivitelerini engelleyerek proteinlerde ve protein içeren dokularda hasara neden olmaktadır. Bu hasar lipid peroksidasyonu sırasında oluşan radikallerin sülfidril gruplarının disülfid bağlanmalarında artışa neden olması sebebiyle daha da artar (Bhagavan 2002).

Proteinlerin serbest radikallerden etkilenme dereceleri, proteini oluşturan amino asitlerin yapılarıyla ilgilidir. Doymamış bağ ihtiva eden fenil alanin, tirozin, histidin, metionin ve sistein gibi amino asitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenerek sülfür ve karbon merkezli radikaller oluşturabilmektedirler (Akkuş 1995).



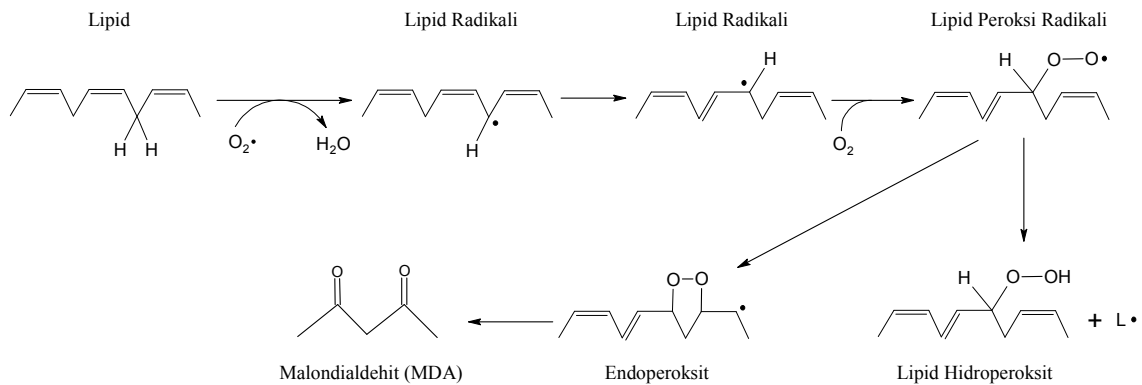
Şekil 2.28 Bazı amino asitlerin reaktif oksijenlerce oksidasyonu (Cemek vd. 2008)

2.4.5.4 Lipid Peroksidasyonu (LPO)

Metabolizmada çeşitli yollarla üretilen serbest radikaller nükleik asitler, membran lipidleri, çeşitli proteinler ve karbonhidratlarla etkileşmesi, hücre ve doku hasarlarına sebebiyet vermektedir. Bunların içerisinde oksidatif hücre hasarı bakımından en önemlisi membran lipidlerinin oksidasyonudur (Dargel 1992). Serbest radikallerce başlatılan ve hücre membranının yapısında bulunan lipidlerin oksidasyonu ile sonuçlanan bu olay lipid peroksidasyonu (LPO) olarak bilinir (Uysal 1998).

LPO fosfolipid, glikolipid, gliserid ve sterollerin yapısında bulunan poliansature yağ asitlerinin ROS'ların etkisiyle alkol, aldehit, hidroksiasit, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılmasını kapsayan reaksiyonlar dizisidir (Gutteridge 1990).

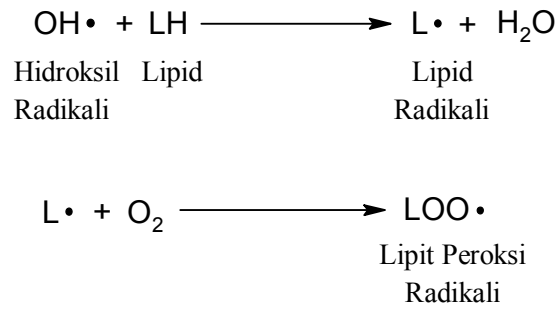
Bu kimyasal olay (Şekil 2.29), organizmada oluşan kuvvetli oksitleyici bir radikalın zar yapısındaki çoklu doymamış yağ asidi zincirindeki α -metilen gruplarından hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlamaktadır (Uysal 1998). Kuvvetli oksitleyici radikal çoğu zaman hidroksil radikalidir. Singlet oksijen ve nitrik oksitinde LPO başlatıcısı olduğu bilinmektedir (Chen vd. 1996). Hidrojen atomunun uzaklaşmasıyla lipid radikalleri meydana gelmekte ve bu lipid radikalleri otooksidasyona neden olarak LPO'nun zincir reaksiyonu şeklinde ilerlemesini sağlamaktadır (Şekil 2.30). Zincir reaksiyonu kendi kendini devam ettirme özelliği bulunduğu ve geri dönüşümsüz olduğundan LPO metabolizma için en zararlı reaksiyonlardandır (Akkuş 1995).



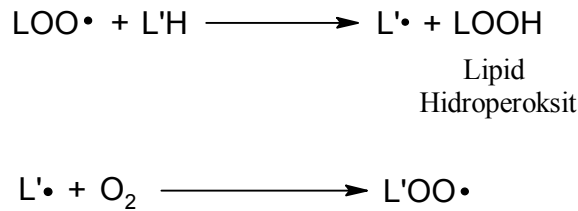
Şekil 2.29 Lipid peroksidasyonu

Lipid peroksidasyonun oluşumu başlama, yayılma ve sonlanma şeklinde üç aşamada gerçekleşir.

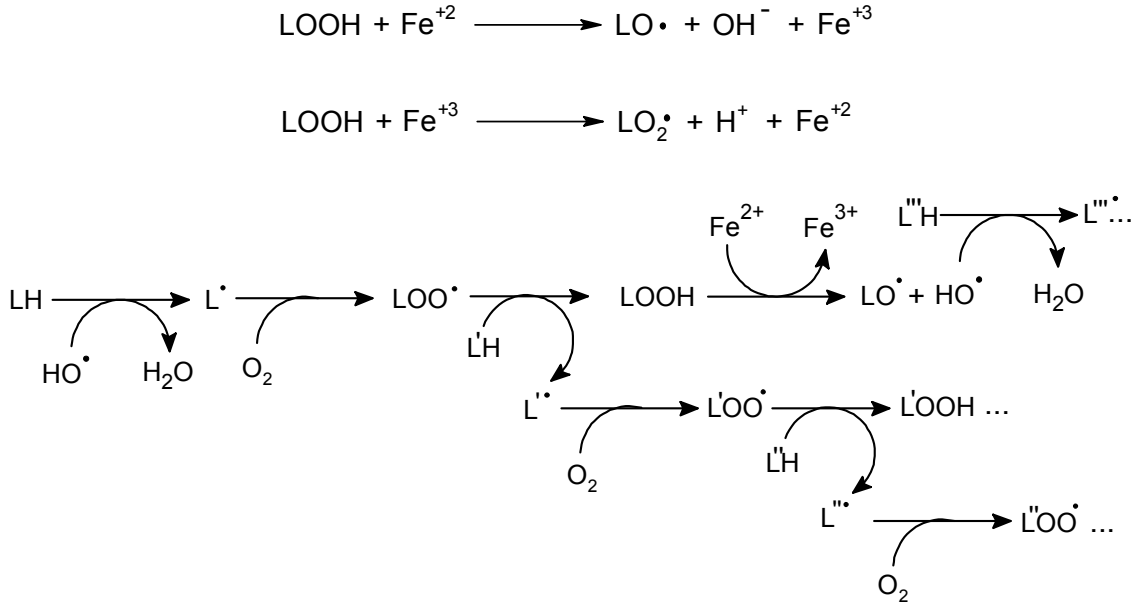
Başlama Basamağı: Başta hidroksil radikali olmak üzere singlet oksijen ve nitrik oksit gibi ROS'lar, hücre membranındaki çoklu doymamış yağ asidinin metilenik yan zincirinden bir hidrojen atomunu koparır. Hidrojen koparılması ile yağ zinciri üzerinde karbon merkezli lipid radikali meydana gelir. Radikal oluşumunu takiben yağ asidi zincirindeki çift bağlar konjuge dien şeklinde yeniden düzenlendikten sonra O₂ ile reaksiyona girerek peroksi radikalini oluştururlar (Spiteller 2001).



Yayılma Basamağı: Meydana gelen peroksi radikali diğer bir peroksi radikali ile birleşebilir ya da membranda bulunan proteinler ile tepkimeye girebilir. Ancak bu moleküllerin en önemli özelliği kendilerine komşu yağ asidi zincirlerinden hidrojen atomlarını çıkarabilmeleri ve peroksidatif zincir reaksiyonunu yaymalarıdır. Böylece, yan zincirden hidrojen atomunun çıkarılması ile her defasında lipit hidroperoksitleri (LOOH) ve yeni bir lipid peroksit (LOO[•]) radikali oluşmaktadır (Köylü 2003).



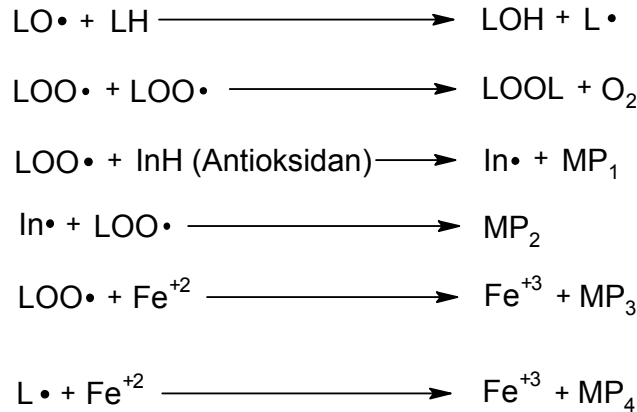
Ortamda bulunan demir, bakır gibi metaller yayılma basamağı sırasında lipid peroksidasyonunu dallanmasını artırır (Şekil 2.30). Geçiş metalleri LPO sırasında meydana gelen lipid hidroperoksitlerinin parçalanmasını sağlar ve LPO zincir reaksiyonunu katalize eder (Akkuş 1995).



Şekil 2.30 LPO'nun zincir şeklinde ilerlemesi ve dallanması (Cemek vd. 2008)

Sonlanma Basamağı: Lipid peroksidasyonu, LOOH moleküllerinin hem proteinleri veya bazı metal kompleksleri varlığında, siklik peroksitler ya da endoperoksitler üzerinden etan, pentan, aldehit, peroksitler, alkoller ve hidroksi yağ asitleri gibi çeşitli ürünlere bozunmasıyla sonlanır (Gutteridge 1990).

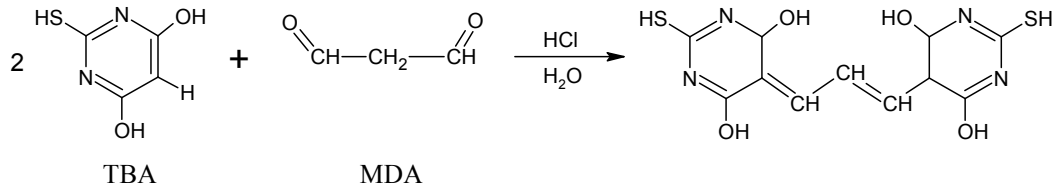
Ancak sonlanma sırasında LOOH dışında serbest lipid radikalleri de ortamda mevcut ise LPO zincirinin sonlandırılması, bu radikallerin antioksidanlar, bazı metaller ve çeşitli tepkimeler vasıtasıyla etkisizleştirilmesi ile sağlanır (Şekil 2.31).



Şekil 2.31 LPO'nun sonlanma basamağı

LPO'nun sonlanma basamağında oluşan en önemli ürün malondialdehittir (MDA). Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşan MDA, membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmalarına sebep olur. Ayrıca deformabilite, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzeyindeki determinantların agregasyonu gibi membran özelliklerini değiştirebilir. Bunların dışında MDA, hücre membranından kolayca geçip, DNA'nın azotlu bazları ile tepkimeye girmekte ve DNA ipçiklerinde kopmaları meydana getirmektedir (Akkuş 1995).

MDA yağ asidi oksidasyonunun spesifik yada kantitatif bir indikatörü değildir fakat lipid peroksidasyonunun derecesi ile iyi bir korelasyon gösterir. Bu sebeple organizma da oluşan LPO düzeyini ölçmek için MDA seviyelerinin ölçümü, sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Bu metot MDA ile tiobarbitürik asitin (TBA) reaksiyonu temeline dayanmaktadır. MDA, tiobarbitürik asit ile pembe renkli bir kompleks oluşturmakta ve oluşan bu çözeltinin absorbans değerlerinden LPO'nun derecesi saptanmaktadır (Yılmaz vd. 2000).



LPO sonucunda meydana gelen lipid peroksi radikalleri, lipid hidroperoksitler, MDA gibi bozunma ürünleri hücre membranları, organaller ve enzimler üzerine yıkıcı etki gösterirler. Hücre membranlarının permabilitesi ve viskozitesi değişir. Bu değişim membranın, Ca^{+2} gibi iyonlara karşı geçirgenliğini artırır. Hücre içi serbest Ca^{+2} artışına bağlı olarak artan fosforilaz aktivitesi fosfolipit kaybının artmasına, membran geçirgenliğinde değişiklik ve potansiyel kaybına bağlı toksik etkide artışa, proteaz aktivasyonu ile proteolitik etkinin şiddetlenmesine, katabolik enzimlerin aktivitesinde artışa ve endonükleaz aktivitesi ile DNA kırılmalarına yol açmaktadır (Onat vd. 2002).

2.4.6 Antioksidanlar

Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbohidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar ve bu

olaya antioksidan savunma denir (Halliwell 1991). Hücre ve doku yıkımı ile sonuçlanabilecek oksidatif hasara karşı antioksidanlar her düzeyde aktivite gösterir (Dündar vd. 2000).

Antioksidan maddeler, aktif oksijen oluşumunu engelleyerek ya da oluşan aktif oksijenleri tutarak, oksidasyonun teşvik etmiş olduğu zararlanmaları hücresel bazda engellemekte dejeneratif hastalıkların oluşumunu durdurmaktadır (Baublis vd. 2000).

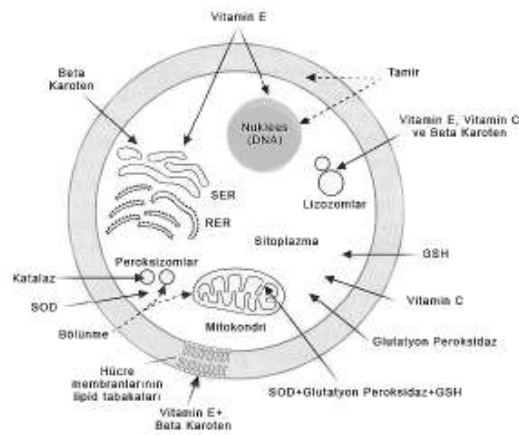
Antioksidanlar dört ayrı şekilde serbest oksijen radikallerine etki ederler (Cadenas vd. 2002).

1) Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme toplayıcı etkidir. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.

2) Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme bastırıcı etkidir. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.

3) Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki zincir kırıcı etkidir. Hemoglobun, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.

4) Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması onarıcı etkidir. Antioksidanlar, endojen kaynaklı veya eksojen kaynaklı olabilirler.



Şekil 2.32 Antioksidanların hücre komponentlerini koruyucu etkileri

Antioksidanlar yapılarına göre enzimatik yapıda olanlar (SOD, GPx, CAT, GST) ve enzimatik yapıda olmayanlar (GSH, vitamin E, vitamin C, vitamin A, melatonin) şeklinde gruplandırılabilirdiği (Tablo 2.2) gibi hücre lokalizasyonlarına göre de intrasellüler antioksidanlar (SOD, CAT, GPx), ekstrasellüler antioksidanlar (albümin, vitamin C, ürat) ve membran antioksidanları (vitamin E, vitamin A) olarak gruplandırılabilir (Gutteridge 1995).

Çizelge 2.2 Biyolojik sistemlerdeki antioksidanların sınıflandırılması

Enzimatik Antioksidanlar	Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutasyon (GSH)	Melatonin
Katalaz (CAT)	α -Tokoferol (Vit. E)	Seruloplazmin
Glutasyon peroksidaz (GPx)	Askorbat (Vit. C)	Transferin
Fosfalipit hidroperoksit glutasyon	β -Karoten (Vit. A)	Ferritin
Peroksidaz (PLGPx)	Flonoidler	Laktoferrin
Glutasyon-S-transferaz (GST)	Ürat	Albumin
Glutasyon redüktaz (GSSG-R)	Biluribin	Lipoik asid

2.4.6.1 Enzimatik Antioksidanlar

Aerobik organizmalar oksijen toksisitesinden başlıca üç enzim yardımıyla korunur. Bunlar; süperoksit dismutaz, glutasyon peroksidaz ve katalazdır (Bhagavan 2002).

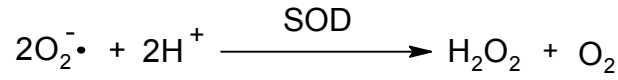
2.4.6.1.1 Süperoksit Dismutaz (SOD, E.C.1.15.1.1)

Süperoksit dismutaz (SOD), süperoksit serbest radikalinin etkisizleştirilmesinde katalaz (CAT) ve glutasyon peroksidaz (GPx) ile birlikte rol alan bir metalloproteindir. İlk kez SOD enziminin antioksidan özelliği, 1968 yılında Mc Cord ve Fridovich'in yaptığı araştırmalar sonucu anlaşılmıştır (Noumohammadi vd. 2001).



Şekil 2.33 SOD

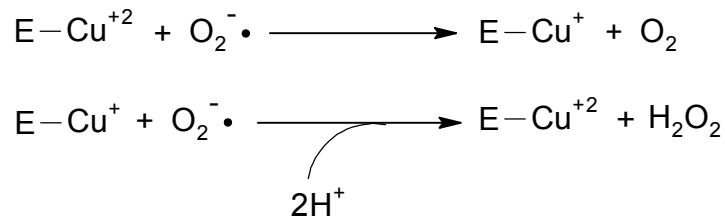
SOD, oksidasyon metabolizmasının bir ürünü olan toksik süperoksit anyonunun çok hızlı bir şekilde daha zararsız hidrojen peroksitine dönüşümünü katalize eder.



Bu dismutasyon reaksiyonu süperoksit radikalinin anyon ve kation formlarının eşit oranda bulunduğu pH 4.8 de spontan olarak gerçekleşir. Ancak fizyolojik şartlarda yani pH değeri 7.35- 7.45 arasında iken bu reaksiyon çok daha yavaş oluşacaktır. SOD enzimi varlığında ve pH en az 7.4 olduğu koşullarda süperoksitin dismutasyonu 4 kat daha hızlı meydana gelmektedir (Cherubini 2005).

İnsanda SOD enziminin üç tipi bulunmaktadır. Bunlardan ikisi sitozolde bulunan dimerik, Cu ve Zn içeren izomer (Cu/Zn-SOD) ile mitokondride bulunan tetramerik, Mn içeren izomerdir (Mn-SOD). Üçüncü tip ise ekstraselüler SOD'dur. SOD enziminin ekstraselüler aktivitesi çok düşüktür. Genel olarak, hücrede en bol bulunan izomer, sitozolik Cu/Zn-SOD'dur (Onat vd. 2002).

Cu/Zn-SOD enziminde bakır tepkime içerisinde yer alırken, çinkonun katalitik rolden ziyade yapısal bir rol oynadığı görülür (Palmer 1994).

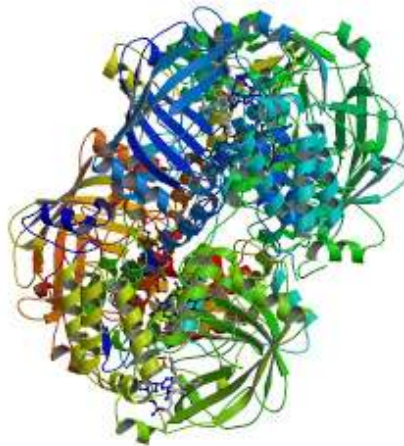


Süperoksit anyonu, Cu^{+2} ve bir arginin rezidüsünün guanido grubuna bağlanır. Bu bağlanma sonucunda süperoksitten bir elektron Cu^{+2} iyonuna transfer olurken Cu^{+} ve moleküler oksijen meydana gelir. İkinci bir süperoksit anyonu Cu^{+} iyonundan bir elektron, bağlanma ortağından ise iki proton alarak hidrojen peroksidi oluştururken, enzim tekrar Cu^{+2} formuna dönmüş olur (Onat vd. 2002). Böylelikle SOD enzimi, süperoksit radikalının olası hasarlarını detoksifiye eder.

SOD'un fizyolojik fonksiyonu oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalının lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır. Ayrıca SOD, fagosite edilmiş bakterilerin intrasellüler öldürülmesinde yani solunum patlamasında da rol oynar. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır ve doku pO_2 artışıyla artar. Cu/Zn SOD'un spesifik aktivitesi Down sendromlu hastaların eritrositlerinde yüksek, prematürelerin ve yaşlıların eritrositlerinde ve psöriyazisli hastaların lökositlerinde düşük bulunmuştur (Sun vd. 1988).

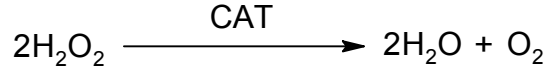
2.4.6.1.2 Katalaz (CAT, E.C.1.11.1.6)

Sumer ve Dounce tarafından 1937'de kristalize edilen katalaz (CAT), her biri bir prostetik grup olan ve yapısında Fe^{+3} bulunduran 4 hem grubundan oluşmuş bir hemoproteindir. Enzimin molekül ağırlığı 240000 daltondur ve çoğunlukla peroksizomlarda lokalizedir (Young vd. 2001).

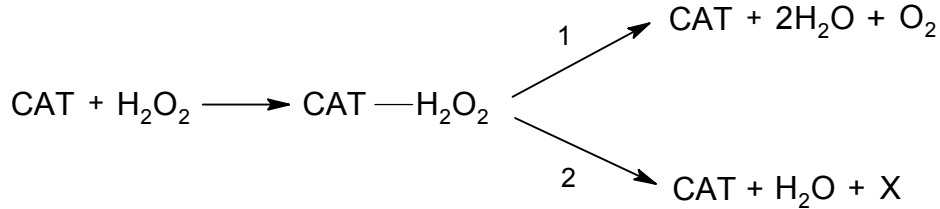


Şekil 2.34 Katalaz

CAT, SOD enziminin etkisiyle ortamda oluşan hidrojen peroksitin suya çevrilmesini gerçekleştirir. Hidrojen peroksit konsantrasyonunun yüksek olduğu durumlarda CAT enzimi detoksifikasyonu sağlarken hidrojen peroksit konsantrasyonunun düşük olduğu durumlarda ise glutatyon peroksidaz (GPx) enzimi görev alır. Ayrıca CAT peroksizomlarda daha etkin iken, GPx sitozol ve mitokondri de etkindir (Yılmaz vd. 2003).



Katalazın peroksidatik ve katalitik olmak üzere iki fonksiyonu vardır (Şekil 2.35). CAT'ın temel fonksiyonu H_2O_2 'in enzimatik parçalanmasının yanında (katalitik aktivite); H_2O_2 konsantrasyonunda, metil veya etil hidroperoksitler, metanol, etanol, fenol gibi küçük moleküllü elektron vericilerini indirgeyebilme özellikleri de (peroksidatik aktivite) bilinmektedir. Fakat katalaz, lipit peroksitleri gibi büyük molekülleri indirgeyememektedir. Enzim bir molekül H_2O_2 'den elektron alarak onu oksitlerken kendisi redüklenir, bir diğer molekül H_2O_2 'e elektron vererek onu indirgerken kendisi oksitlenerek başlangıçtaki durumuna dönmektedir (Karabulut 2001).



Şekil 2.35 Katalaz enziminin katalitik (1) ve peroksidatik (2) aktiviteleri

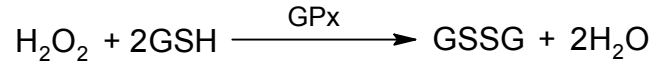
2.4.6.1.3 Glutatyon Peroksidaz (GPx, E.C.1.11.1.9)

İlk kez 1957 yılında Mills tarafından memeli eritrositlerinde saptanan glutatyon peroksidaz (GPx), birbirinin aynısı 4 subünitten oluşan tetramerik bir enzimdir. Her subünit bir tane selenyum atomu içerir ki bu yüzden GPx, selenoenzim olarak da bilinir (Akkuş 1995). Uzun süreli selenyum eksikliğinde, tüm vücut dokularında GPx aktivitesinin azaldığı görülür. Selenyum glutatyon peroksidaz aktivitesi için gereklidir ve enzimin aktivitesi kan selenyum seviyesiyle koreledir (Kalaycıoğlu vd. 2000).

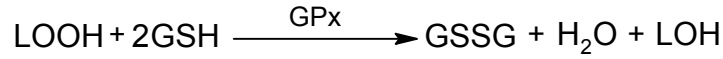


Şekil 2.36 Glutatyon peroksidaz

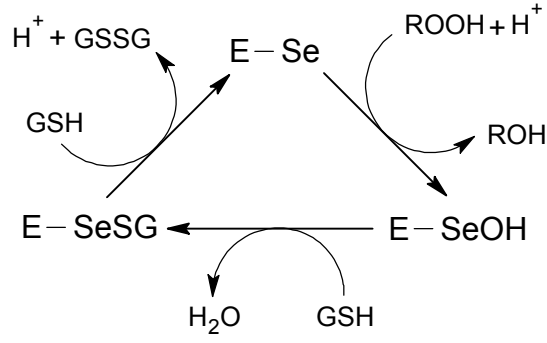
Sitotoksik hidrojen peroksitlerin detoksifiye edilmesinde görev alan ve özellikle mitokondri matriksinde ve sitozolde lokalize halde bulunan GPx, oksidatif strese karşı vücut savunmasında görev alan en önemli antioksidanlardandır. GPx tıpkı CAT enziminin yaptığı gibi SOD'un etkisiyle ortamda oluşan hidrojen peroksitin suya çevrilmesini gerçekleştirir (Ahmad 1995).



GPx sadece hidrojen peroksit üzerine etkili değildir. Lipid peroksidasyonunun bir ürünü olan lipid hidroperoksitlerinin (LOOH) de suya ve alkole dönüştürülerek detoksifiye edilmesinde GPx yer alır (Ahmad 1995).

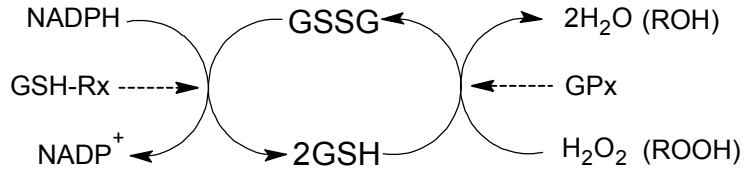


Glutatyon peroksidazın iki substratı mevcuttur. Bunlardan peroksit indirgenerek alkole çevrilirken, diğer substrat olan glutatyon (GSH) yükseltgenerek okside glutatyona (GSSG) dönüşür. Glutatyon tepkimede GPx'in katalitik aktivitesinin geri kazanılmasında görev almaktadır. GPx'in selenolat formu (E-Se-) peroksit substratını alkole indirger, kendisi ise okside selenik asite dönüşür (E-Se-OH). Glutatyon (GSH), bu evrede reaksiyona katılarak selenosülfite (E-Se-S-G) oluşturur. İkinci bir GSH molekülünün selenosülfite bağlanması ile enzim, aktif formu olan selenolat formuna dönerken, glutatyon okside formuna (GSSG) dönüşmüş olur (Akkuş 1995).



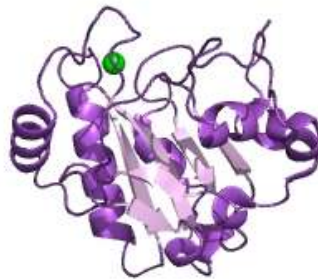
Şekil 2.37 GPx'in katalitik aktivasyonu

Bu şekilde hidroperoksitlerin redükte olması ile okside formu (GSSG)'na dönüşen ve aynı zamanda proteinlerin sülfidril gruplarını koruyan glutatyon, NADPH'ın indirgenmesinde kullanılan glutatyon redüktaz (GSH-Rx) tarafından yeniden oluşturulur (Akkuş 1995).



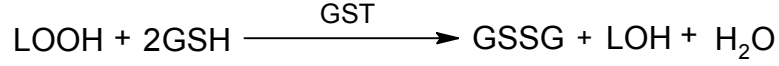
Şekil 2.38 Glutatyonun geri dönüşümü

Bir tür GPx olan fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz (PLGSH-Px) enzimi, membrana bağlı en önemli antioksidan olan vitamin E'nin ortamda yeteri kadar bulunmadığı koşullarda hücre membranının reaktif oksijen türleri karşısında zarar görmesini engeller (Young vd. 2001).



Şekil 2.39 Fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz

Glutasyon S-transferaz (GST) adı verilen enzim, tıpkı GPx'in yaptığı gibi başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid hidroperoksitlerinin detoksifikasyonunu sağlar (Köylü 2003).



GST katalitik ve katalitik olmayan çok sayıda fonksiyona sahiptir. Katalitik olarak; ksenobiyotikleri (yabancı maddeleri) GSH'daki sisteine ait –SH grubu ile bağlayarak onların suda daha fazla çözünmesini sağlarlar. Oluşan bu GSH konjugatları böylece organizmadan atılabilir veya daha ileri metabolize olurlar. Ksenabiyotiklerin klasik atılım şekli olan S-alkile olmuş türevleri, daha sonra safra ile atılırlar. Bu yol GST'ların kanserojen, mutajen ve diğer zararlı kimyasalların hücre içi detoksifikasyonunda rolleri olduğunu göstermektedir (Köylü 2003).

2.4.6.2 Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

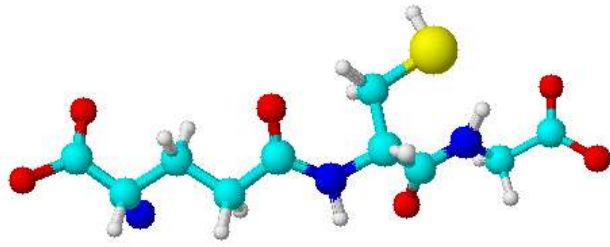
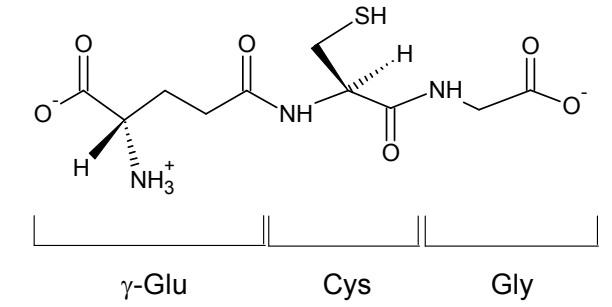
Glutasyon (GSH), vitamin E (α -tokoferol), vitamin C (Askorbik asit), vitamin A(β -karoten) ve melatonin gibi enzimatik olmayan ancak antioksidan özelliğe sahip moleküller, reaktif oksijen türlerinin meydana getirdiği oksidatif strese karşı bazen tek bazen de enzimatik antioksidanlarla birlikte direnç gösterirler (Wood vd. 1991).

Melatonin ve GSH gibi bazı enzimatik olmayan antioksidanlar insan bünyesi tarafından üretilirken, α -tokoferol, askorbik asit ve β -karoten ise eksojen olarak temin vücuda temin edilir (Wood vd. 1991).

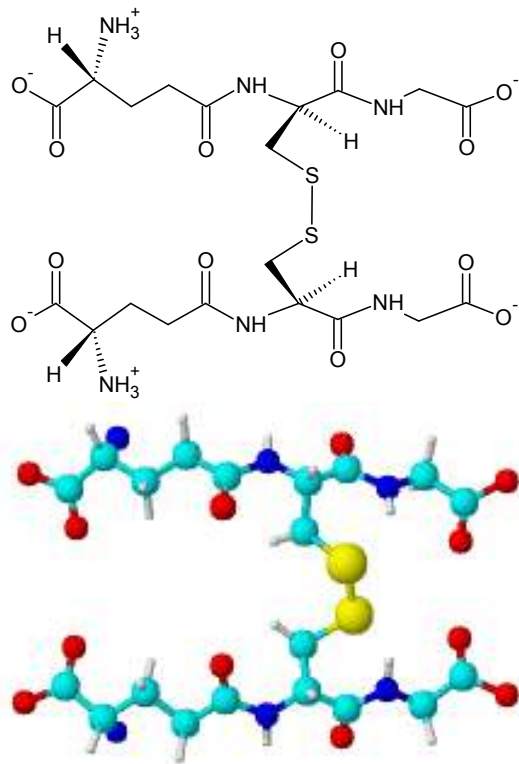
2.4.6.2.1 Glutasyon (GSH)

Başta karaciğer olmak üzere pek çok dokuda yüksek konsantrasyonlarda bulunan, glutamat (γ -Glu), sistein (Cys) ve glisinden (Gly) sentezlenebilen bir tripeptit olan glutasyon (γ -glutamilsisteinilglisin) ilk kez 1921 yılında Hopkins tarafından keşfedildi (Ulakoğlu vd. 1998). İndirgenmiş glutasyon (GSH) ve yükseltgenmiş glutasyon (GSSG) olarak iki formda bulunan ve önemli bir indirgen olan glutasyon, bu özelliği sayesinde serbest radikallerin zararlı etkilerinin giderilmesinde önemli görevler alır. Ayrıca

protein yapısındaki -SH gruplarını indirgenmiş halde tutarak pek çok proteinin ve enzimin inaktivasyonunu engeller (Onat vd. 2002).

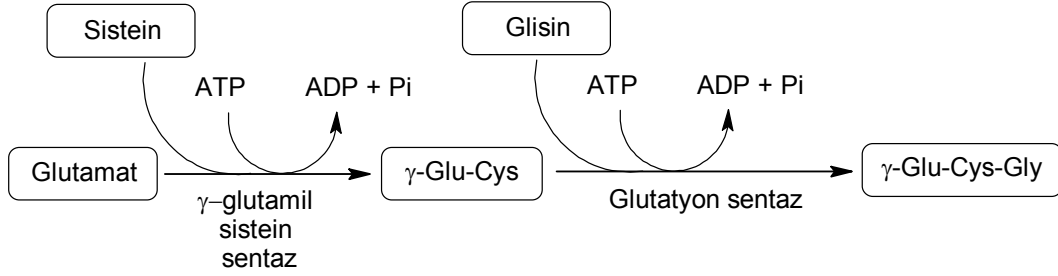


Şekil 2.40 İndirgenmiş glutatyon (GSH)

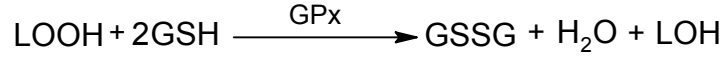


Şekil 2.41 Yükseltgenmiş glutatyon (GSSG)

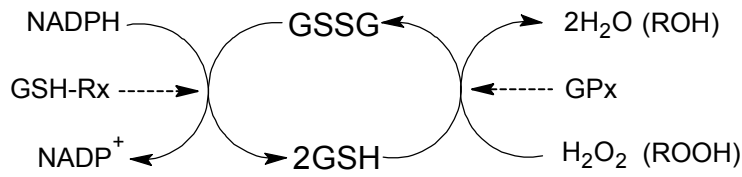
Glutatyonun vücuttaki sentezi iki basamakla meydana gelir. İlk basamakta glutamat ve sisteinden, γ -glutamil sistein sentaz enzimi ve ATP aracılığı ile bir araürün meydana gelir. İkinci basamakta ise araürüne glutatyon sentaz katalizörlüğünde glisin eklenir ve glutatyon oluşur (Nelson vd. 2004).



GSH, aerobik koşullar altında normal büyümenin ve metabolizmanın sonucunda oluşan hidrojen peroksit ve diğer peroksitlerin uzaklaştırılmasında GPx antioksidan enzimi ile birlikte görev alır. GSH ve GPx, peroksitleri suya indirgeyerek detoksifikasyonu gerçekleştirirler (Ahmad 1995).



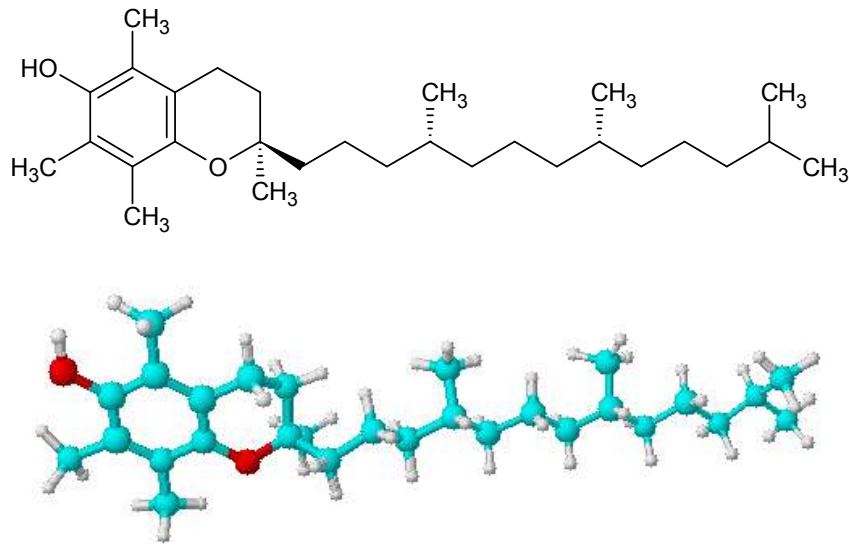
Tepkime sırasında glutatyon yükseltgenerek, yükseltgenmiş glutatyon (GSSG) formuna dönüşür. GSSG, NADPH'ın indirgenmesinde kullanılan glutatyon redüktaz (GSH-Rx) tarafından yeniden oluşturulur (Akkuş 1995).



Detoksifikasyon görevi dışında GSH, hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünün engellenmesinde rol alır. Ayrıca proteinlerdeki sülfhidril (-SH) gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur, böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller (Nelson vd. 2004).

2.4.6.2 Vitamin E (α -tokoferol)

İlk kez 1925 yılında Evans ve Bishop tarafından keşfedilen vitamin E (α -tokoferol), yağda çözünebilen ve antioksidatif özelliği ile öne çıkan bir vitamindir. Vitamin E grubunda en az 7 vitamin bulunur. Bunların hepsi de tokol çekirdeğine sahiptir. Tokol çekirdeğinde bulunan aromatik halkadaki (kroman halkası) metil gruplarının yerlerinin ve sayılarının değişik olmasıyla farklı tokoferoller (α , β , γ , δ , ϵ , vs.) ortaya çıkar. Doğada en fazla bulunan ve biyolojik aktivitesi en çok olan α -tokoferoldür. (Sözbilir vd. 2008).



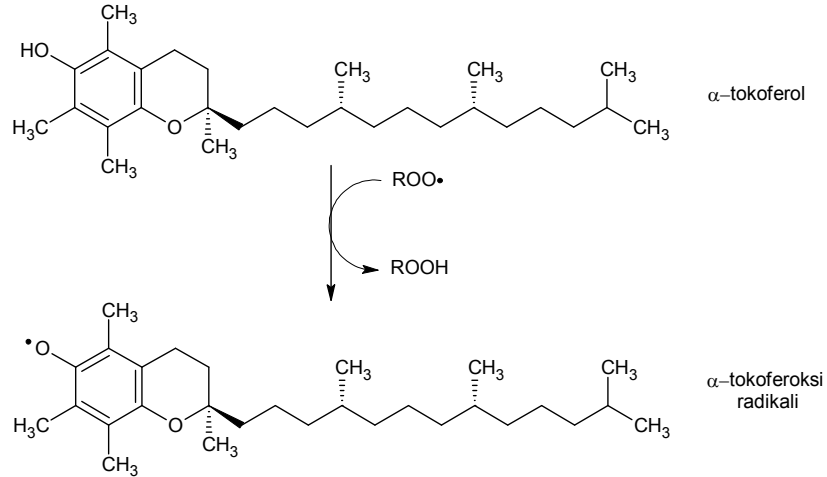
Şekil 2.42 α -tokoferol

Serbest tokoferoller ince bağırsaktan pasif difüzyon yoluyla enterositlere absorbe edilirler. Tokoferol palmitat ve tokoferol asetat gibi tokoferol esterleri absorpsiyon boyunca serbest tokoferollere hidrolize olurlar. Enterositlerde şilomikronlara bağlanarak lenf sıvısı ile tüm vücuda taşınırlar (Rucker vd. 2001).

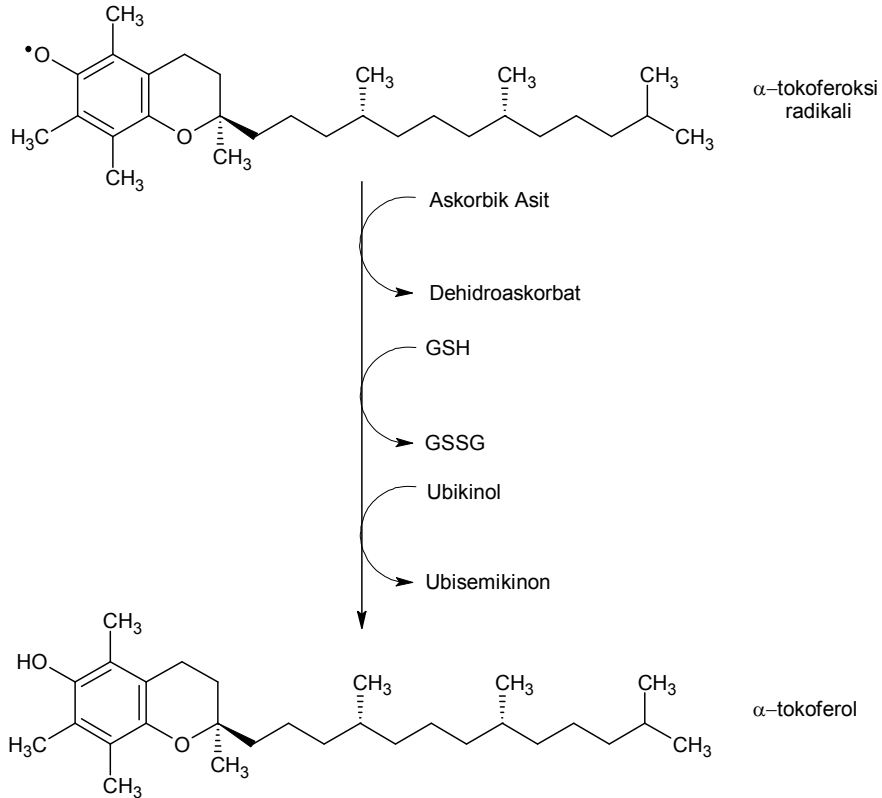
Vitamin E'nin en önemli özelliği güçlü bir antioksidan olmasıdır. Serbest radikal inhibitörleri arasında en etkililerinden biridir. Bir α -tokoferol molekülü yaklaşık 10^3 - 10^8 tane membran lipidini serbest radikallerin yıkıcı etkisinden korumaktadır. Süperoksit ve hidroksil radikali, singlet oksijen ve özellikle peroksi radikallerine karşı direnç oluşturur. Zincir reaksiyonunu kırıcı yönde etki gösterdiğinden LPO'da ilk savunma hattıdır. Vitamin E, peroksi radikalleri ile poliansature yağ asitlerinden daha hızlı

şekilde tepkime vererek peroksidasyonu kırar, membran lipidlerinin zarar görmesini engeller ve serbest radikalleri stabil hale getirir (Rucker vd. 2001).

Vitamin E'nin yapısındaki fenolik hidroksil grubuna sahip olan aromatik halka, aktif kısmını oluşturur ve molekülün antioksidan özelliği bu gruptan kaynaklanır. Detoksifikasyon, halkada bulunan hidroksildeki hidrojen iyonunun serbest radikallere verilmesiyle sağlanır (Kalaycıoğlu vd. 2000).



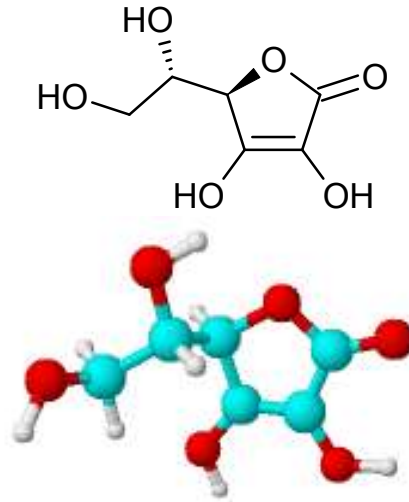
Vitamin E okside olduktan sonra ve parçalanmadan önce askorbik asit, glutatyon veya ubikinol tarafından yeniden indirgenebilmektedir (Rucker vd. 2001).



Vitamin E araşidonik asit gibi sellüler ve subsellüler membran fosfolipitlerinde bulunan doymamış yağ asitlerinin (PUFA) peroksidasyonuna karşı ilk savunma hattını oluşturur. İkinci bir savunma hattı ise membran ve diğer hücre komponentlerinin hasarına yol açan zincir reaksiyonlarındaki çoğalmalarından önce, peroksitleri indirgeyen selenyum içerikli glutatyon peroksidaz tarafından oluşturulmuştur. Böylelikle tokoferol ve selenyum birbirlerine duyulan gereksinimi indirgemekte veya lipit peroksitlerine karşı olan reaksiyonlarında birbirlerini desteklemektedirler (Menteş vd. 1993).

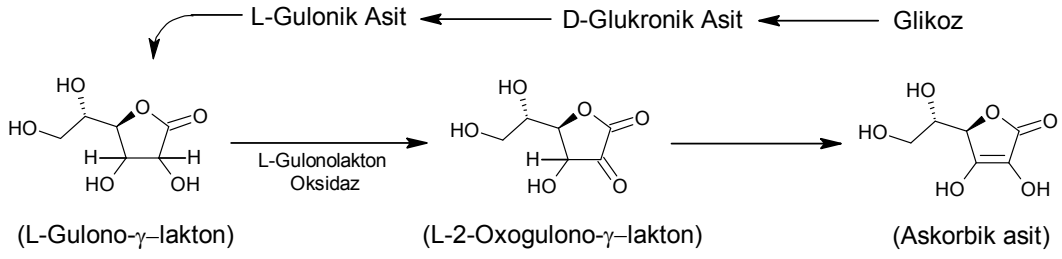
2.4.6.2.3 Vitamin C (Askorbik Asit)

İlk kez 1933 yılında Glen King tarafından izole edilen vitamin C (Askorbik asit), suda çözünen bir vitamindir. Suda çözünebilir vitaminlerin içerisinde en stabil olan askorbik asit, L-gulonik asidin enediol laktonudur (Kalaycıoğlu vd. 2000).

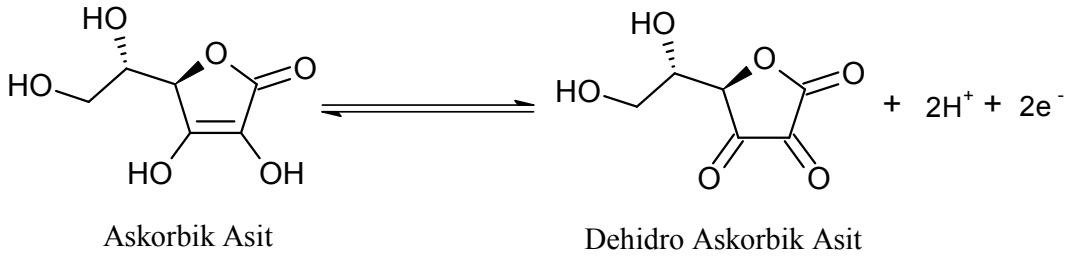


Şekil 2.43 Askorbik asit

Askorbik asit, yüksek bitkilerde ve hayvanlarda D-glikozdan sentezlenirken, insan, maymun, kobay ve bazı kuş türlerinde ise esansiyeldir. Bunun sebebi bünyelerinde L-gulonolaktonun askorbik aside dönüşüm reaksiyonunu katalize eden L-gulonolakton oksidaz (laktonaz) enziminin bulunmamasıdır. Vitamin C, memeli hayvanlarda karaciğerde; kuşlar, kurbağalar ve sürüngenlerde ise böbreklerde sentezlenir (Sözbilir vd. 2008).



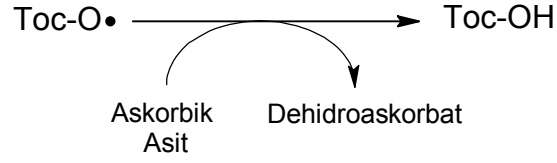
Askorbik asidin bağırsaklardan emilmesi monosakkaritlerinkine benzer. Bu vitamin hücre membranında, yağda eriyebilen dehidro askorbik asit şeklinde geçer ve hücrede tekrar askorbik aside indirgenir (Sözbilir vd. 2008).



Askorbik asit, bazı oksidoredüksiyon olaylarında kosubstrat olarak görev alır; tirozin metabolizmasında dopaminden noradrenalin sentezi, tirozin metabolizmasında p-hidroksi fenil pirüvatın homogentizata oksidasyonu ve homogentizatin maleoylasetoasetata oksidasyonu, karnitin biyosentezi, kolesterolde primer safra asitlerinin sentezi, kollajen sentezinde prolinin hidroksilasyonu, folik asidin H₄-folata enzimatik indirgenmesi olaylarında etkilidir (Akkuş 1995).

Askorbik asit aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Süperoksit radikali, hidroksil radikali ve singlet oksijen ile kolayca reaksiyona girerek onları etkisizleştirir. Sulu fazda bulunmasına karşın lipid peroksidasyonunu başlatıcı radikalleri temizleyerek, fosfolipidleri ve membranı da oksidatif stres hasarına karşı korur (Rucker vd. 2001).

α-tokoferoksi radikalinin α-tokoferole indirgenmesini sağlayarak, vitamin E'nin geri dönüşümünde görev alır. Böylece vitamin E ile birlikte etkin bir şekilde LDL'yi oksidasyona karşı korur. Ayrıca, antiproteazların oksidan maddeler ile inaktive olmasını engeller (Rucker vd. 2001).



Askorbik asit antioksidan etkisinin yanında oksidan etki de gösterir. Askorbik asit proteine bağlı ferri demiri uzaklaştırarak ya da doğrudan ferri demiri indirgeyerek Fenton reaksiyonunda hidrojen peroksit ile etkileşmeye ve sonunda hidrosil radikali oluşturmaya uygun ferro demire dđnüřtürür. Bu özelliğinden dolayı vitamin C, serbest radikal reaksiyonlarının önemli bir katalisti veya bir prooksidan olarak değerlendirilir. Ancak bu tip etkisinin sadece dđřük konsantrasyonlarda görüldüğu, yüksek konsantrasyonlarda güçlü bir antioksidan olarak etki ettiği kaydedilmiştir (Rucker vd. 2001).

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Kimyasal materyal

Organofosfat toksikasyonunu oluşturmak amacıyla kullanılan fenthion, Bayer Crop Science'dan (East Hawthorn, Avusturalya), tedavi gruplarına uygulanan vitamin E, Aksu Farma'dan (İstanbul, Türkiye) ve yine tedavi gruplarına uygulanan selenyum ise Solgar (İstanbul, Türkiye) firmasından temin edildi. Oksidan ve antioksidan parametrelerin belirlenmesi için yapılan analizlerde kullanılan kimyasallar da, Merck marka olup analitik saflık düzeyine sahiplerdi.

3.1.2 Hayvan materyali

Araştırmaya başlamadan önce Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Etik Kuruluna başvurularak etik kurulu onayı alınmıştır. Çalışmada kullanılan 195-225 g ağırlığındaki 50 adet albino Sprague-Dawley cinsi rat, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edildi. Ratların bakımı, AKÜ Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinde, 12 saatlik ideal aydınlık ortamında, uygun sıcaklıkta, rat bakımı için tasarlanmış polipropilen 17x30x42 cm boyutlarındaki özel kafeslerde yapıldı. Ratların altlarına serilen kaba talaş her gün değiştirilerek, kafeslerde kuru bir ortam oluşması sağlandı. Ratlar musluk suyu ve Afyon Yem Fabrikasından temin edilen standart pellet yem ile beslendi. Ratların buldukları ortama uyum sağlamaları ile deneysel aşamaya geçildi.

3.2 Metot

Sıçanlar çalışma boyunca AKÜ Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinde bir hafta standart laboratuvar yiyeceği ile beslenerek gözlem altında tutuldular. Rasgele örnekleme metodu ile her biri on sıçandan oluşmak üzere toplam beş grup oluşturuldu.

Grup 1: Sham grubu olarak düzenlendi ve deneyler süresince herhangi bir madde enjeksiyonu yapılmadı. Grup düzenli bir şekilde beslendi. Çalışmanın 24. saatinde tüm ratlar sakrifiye edilerek, kan örnekleri alındı.

Grup 2: Kontrol grubu olarak düzenlendi. Tüm ratlara subkütan yoldan 0.8 g/kg fenthion verildi. 1 saat sonra gavajla 2 ml/kg serum fizyolojik uygulandı. Grup düzenli bir şekilde beslendi. Çalışmanın 24. saatinde tüm ratlar sakrifiye edilerek, kan örnekleri alındı.

Grup 3: Vitamin E grubu olarak düzenlendi. Tüm ratlara subkütan yoldan 0.8 g/kg fenthion verildi. 1 saat sonra intraperitoneal yolla tek doz olarak 100 mg/kg vitamin E verildi. Grup düzenli bir şekilde beslendi. Çalışmanın 24. saatinde tüm ratlar sakrifiye edilerek, kan örnekleri alındı.

Grup 4: Selenyum grubu olarak düzenlendi. Tüm ratlara subkütan yoldan 0.8 g/kg fenthion verildi. 1 saat sonra gavajla tek doz olarak 100 µg/kg selenyum verildi. Grup düzenli bir şekilde beslendi. Çalışmanın 24. saatinde tüm ratlar sakrifiye edilerek, kan örnekleri alındı.

Grup 5: Vitamin E + selenyum grubu olarak düzenlendi. Tüm ratlara subkütan yoldan 0.8 g/kg fenthion verildi. 1 saat sonra intraperitoneal yolla tek doz olarak 100 mg/kg vitamin E ve gavajla 100 µg/kg selenyum verildi. Grup düzenli bir şekilde beslendi. Çalışmanın 24. saatinde tüm ratlar sakrifiye edilerek, kan örnekleri alındı.

3.2.1 Kan örneklerinin alınması

Çalışmanın 24. saatinde ratlar intraperitoneal yolla 100 mg/kg ketamin ile uyutulup, batin ve toraks orta hattan açılarak kalpten injektör ile kanları alındı. Malondialdehit (MDA) ve redükte glutatyon (GSH) analizleri için heparinli cam tüpler kullanıldı. Heparinli cam tüplere kan örnekleri alındıktan sonra, aynı gün içinde laboratuvarında çalışıldı. Normal tüplere alınan kan örnekleri oda sıcaklığında bekletildikten sonra santrifüj edilerek tüpün üzerinde toplanan berrak serum numunesinde vitamin C analizleri yapıldı.

3.2.2 Eritrosit paketinin hazırlanması

Heparinli cam tüplere alınan kanlar bir saat +4° C'de bekletildikten sonra 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Oluşan plazma ortamdan uzaklaştırıldı. Altta kalan hacme eşit oranda serum fizyolojik (% 0.9 NaCl) eklenerek eritrositlerin yıkanması gerçekleştirildi. Serum fizyolojik eklenen tüpler 2000 rpm'de 8 dakika santrifüj edildiler. Eritrosit yıkama işlemi üç kez tekrarlandı. Elde edilen eritrosit paketleri, glutasyon peroksidaz enzim aktiviteleri tayinine kadar derin dondurucuda -20°C'de muhafaza edildi.

3.2.3 Biyokimyasal analizler

3.2.3.1 Malondialdehit (MDA) tayini

Serbest radikallerin, doymamış yağ asitlerini peroksidasyona uğratarak oluşturdukları son ürünlerden biri MDA'dır. MDA, tiobarbitürik asit ile reaksiyona girerek renkli formda bir bileşik meydana getirir. Oluşan bu renkli bileşiğin 532 ve 600 nm dalga boylarındaki spektrofotometrik (Shimadzu UV-1700) ölçümüne göre lipid peroksidasyonu tayini yapıldı (Jain vd. 1989).

3.2.3.2 Redükte glutasyon (GSH) tayini

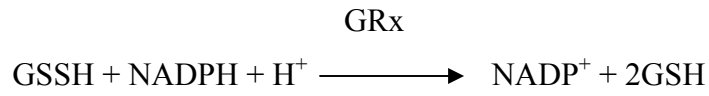
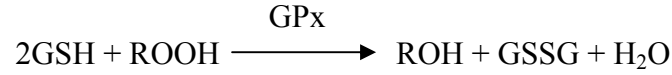
Tüm kandan distile su ilavesi ile hazırlanan hemolizatın içindeki SH (sülhidril) taşıyan bütün proteinler, presipitasyon (çöktürücü) çözeltisi ile çöktürülüp, süzülerek ayrıldı. GSH, elde edilen berrak sıvıda SH gruplarının DTNB (5,5'-2-dithiobis nitrobenzoik asit) ile tepkime sonucu oluşan sarı rengin 412 nm dalga boyunda absorbansı ile ölçüldü (Buetler vd. 1963).

3.2.3.3 Vitamin C (askorbik asit) tayini

Serum, %6'lık perklorik asit ile ekstrakte edildikten sonra oluşan ekstrakt reaksiyon solüsyonu [dinitro fenil hidrazin (DNPH), %0.6'lık bakır sülfat (CuSO₄) ve %5'lik tiyöüre] ile muamele edildi. Oluşan sarı renkli kompleksin spektrofotometrede 520 nm'de absorbansı ölçülerek vitamin C analizi yapıldı (Omeye vd. 1973).

3.2.3.4 Glutasyon peroksidaz (GPx) tayini

GPx, reaksiyonda görülen kümen hidroksit (ROOH) ile redükte glutasyonu (GSH) okside eden reaksiyonunu katalizler. Ortamda glutasyon redüktaz (GRx) ve nikotinamit adenin dinükleotid fosfat hidrojen (NADPH) var ise yükseltgenmiş glutasyon (GSSG), NADPH'ın NADP⁺ ye oksidasyonu ile GSH'a indirgenir.



GPx enzim aktivitesi, Randox-Ransel enzim kitleri ile spektrofotometrik metod ile 340 nm' de 37° C de ölçüldü (Paglia vd. 1967).

3.2.4 İstatistiksel analizler

Elde edilen bulguların (MDA, GSH, vitamin C ve GPx) istatistik hesaplamaları, SPSS 10.0 paket programı kullanılarak yapıldı. Çalışmada elde edilen veriler "ortalama ± standart sapma" olarak ifade edildi ($X \pm SD$). Gruplarda varyans analizi (ANOVA) ve Tukey post testi uygulanarak istatistiksel ilişki belirlendi. İstatistik anlamlılık için $p < 0.05$ kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışma sonunda ratlardan alınan kan örneklerinde malondialdehit, redükte glutatyon, vitamin C ve glutatyon peroksidaz düzeyleri belirlendi. Bu değerler yardımıyla her grup için hesaplamalar yapılarak standart sapmaları bulundu. Çalışma gruplarına ait bulgular Çizelge 4.1 de görülmektedir.

Çizelge 4.1 Çalışma gruplarına ait elde edilen MDA, GSH, askorbik asit ve GPx değerleri

Gruplar (n=10)	MDA (nmol/ml)	GSH (mg/dl)	Vit C (mg/dl)	GPx (U/l)
Sham	2.302 ± 0.42 ^a	29.440 ± 4.87 ^b	2.694 ± 0.39	4181.672 ± 244.95 ^a
Kontrol	5.391 ± 0.78 ^d	43.680 ± 4.44	2.202 ± 0.23	6254.559 ± 581.80
Vit E	4.922 ± 0.68 ^d	35.383 ± 4.18	3.142 ± 0.44 ^b	3883.260 ± 461.24 ^a
Se	4.239 ± 0.79 ^{c,e}	37.696 ± 6.56	3.842 ± 0.31 ^{d,a}	3934.734 ± 267.58 ^a
Vit E + Se	3.454 ± 0.59 ^{b,f}	37.601 ± 4.83	3.679 ± 0.24 ^{e,a}	3019.032 ± 424.93 ^{e,a}

MDA: Malondialdehit, GSH: Glutatyon, Vit C: Vitamin C, GPx: Glutatyon peroksidaz
Sham: Yalnızca serum fizyolojik, Kontrol: 0.8 g/kg fenthion bir saat sonra 2 ml/kg serum fizyolojik, Vit E: 0.8 g/kg fenthion bir saat sonra 100 mg/kg vitamin E, Se: 0.8 g/kg fenthion bir saat sonra 100 µg/kg selenyum, Vit E+ Se: 0.8 g/kg fenthion bir saat sonra 100 mg/kg vitamin E + 100 µg/kg selenyum

^a: Kontrol'den farklıdır (p<0.001)

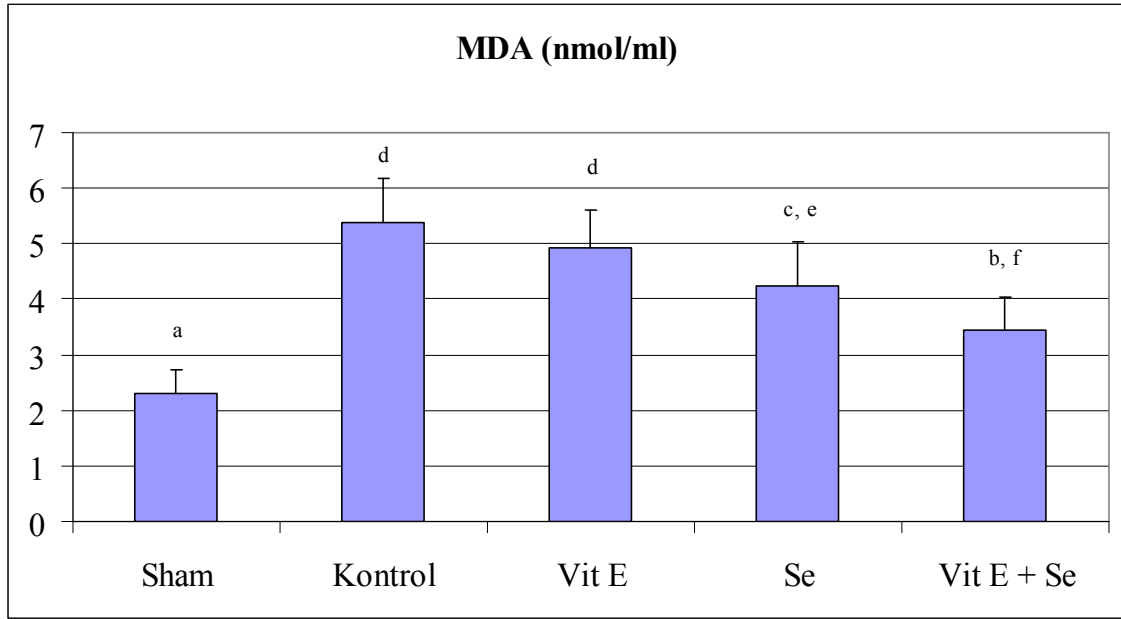
^b: Kontrol'den farklıdır (p<0.01)

^c: Kontrol'den farklıdır (p<0.05)

^d: Sham'den farklıdır (p<0.001)

^e: Sham'den farklıdır (p<0.01)

^f: Sham'den farklıdır (p<0.05)



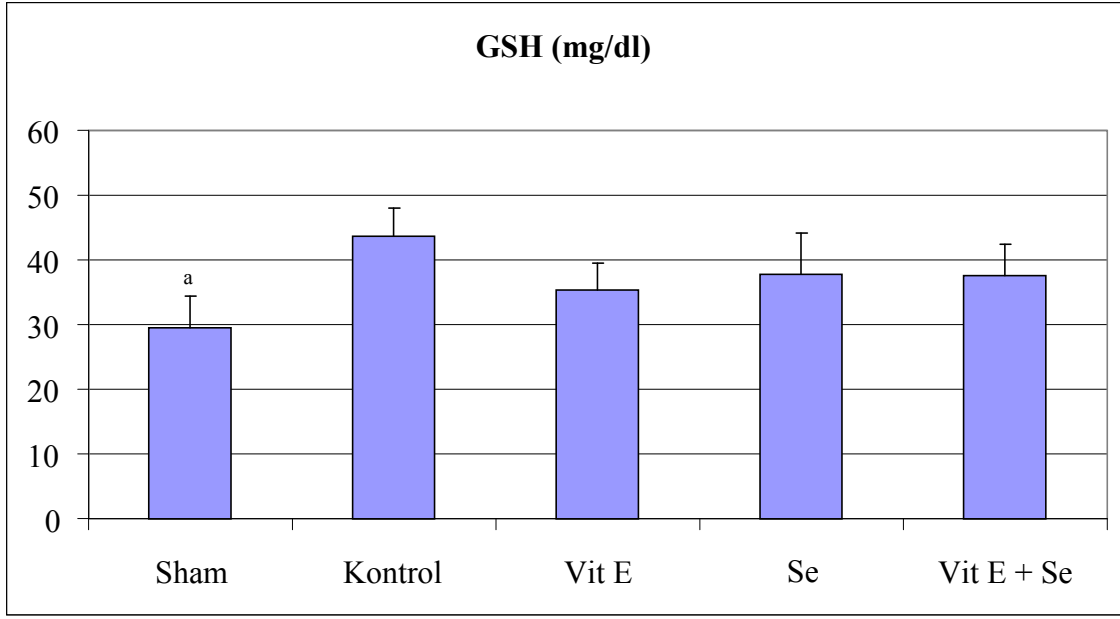
a: Kontrol'den farklıdır (p<0.001) d: Sham'den farklıdır (p<0.001)
b: Kontrol'den farklıdır (p<0.01) e: Sham'den farklıdır (p<0.01)
c: Kontrol'den farklıdır (p<0.05) f: Sham'den farklıdır (p<0.05)

Şekil 4.1 MDA (nmol/ml) değerlerinin grafiksel gösterimi

Çalışmaya ait MDA değerleri sham, kontrol, vitamin E, selenyum ve vitamin E + selenyum grupları için sırasıyla 2.302 ± 0.42 , 5.391 ± 0.78 , 4.922 ± 0.68 , 4.239 ± 0.79 ve 3.454 ± 0.59 nmol/ml olarak bulundu.

Bu verilere göre sham grubu, kontrol grubundan istatistiksel anlamda $p<0.001$ düzeyinde farklıdır. Yine vitamin E + selenyum grubu, kontrol grubundan istatistiksel olarak $p<0.01$ düzeyinde fark vardır. Ayrıca selenyum grubu da kontrol grubundan $p<0.05$ oranında fark olduğu bulunmuştur.

Bunlarla birlikte kontrol ve vitamin E grubu ile sham grubu arasında $p<0.001$ oranında, selenyum grubu ile sham grubu arasında $p<0.01$ oranında ve vitamin E + selenyum grubu ile sham grubu arasında $p<0.05$ oranında istatistiksel farklılık görülmüştür.



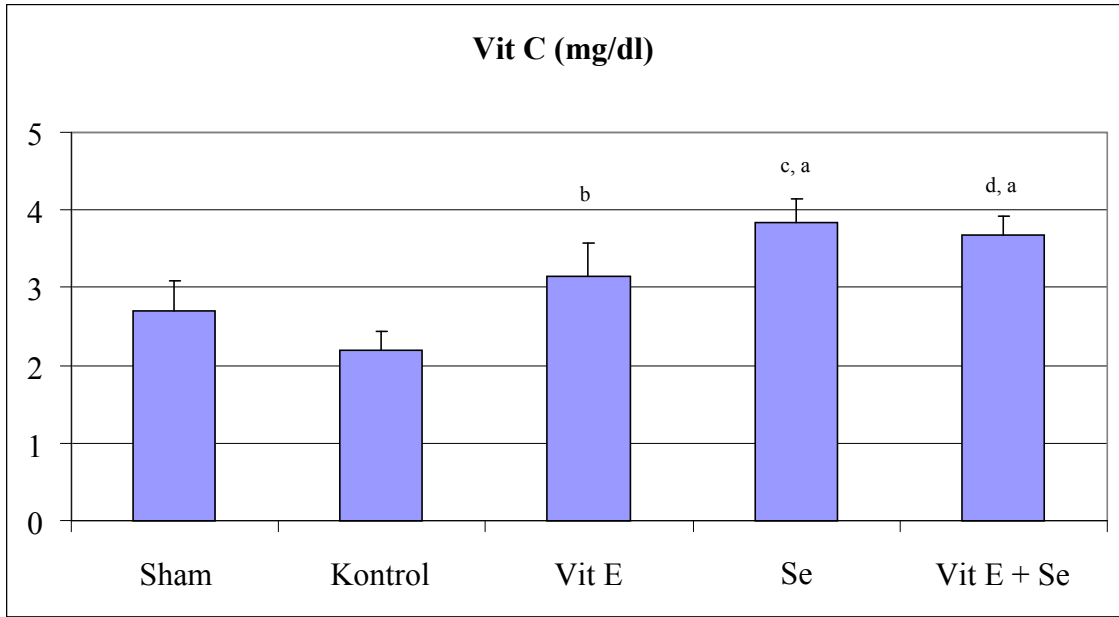
^a: Kontrol'den farklıdır (p<0.01)

Şekil 4.2 GSH (mg/dl) değerlerinin grafiksel gösterimi

Çalışmaya ait GSH değerleri sham, kontrol, vitamin E, selenyum ve vitamin E + selenyum grupları için sırasıyla 29.440 ± 4.87 , 43.680 ± 4.44 , 35.383 ± 4.18 , 37.696 ± 6.56 ve 37.601 ± 4.83 mg/dl olarak bulundu.

Bu verilere göre sham grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak $p < 0.01$ oranında bir fark tespit edildi.

GSH değerleri vitamin E, selenyum ve vitamin E + selenyum gruplarında, kontrol grubuna göre düşük çıkmasına rağmen aralarında istatistiksel bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).



^a: Kontrol'den farklıdır (p<0.001)

^c: Sham'den farklıdır (p<0.001)

^b: Kontrol'den farklıdır (p<0.01)

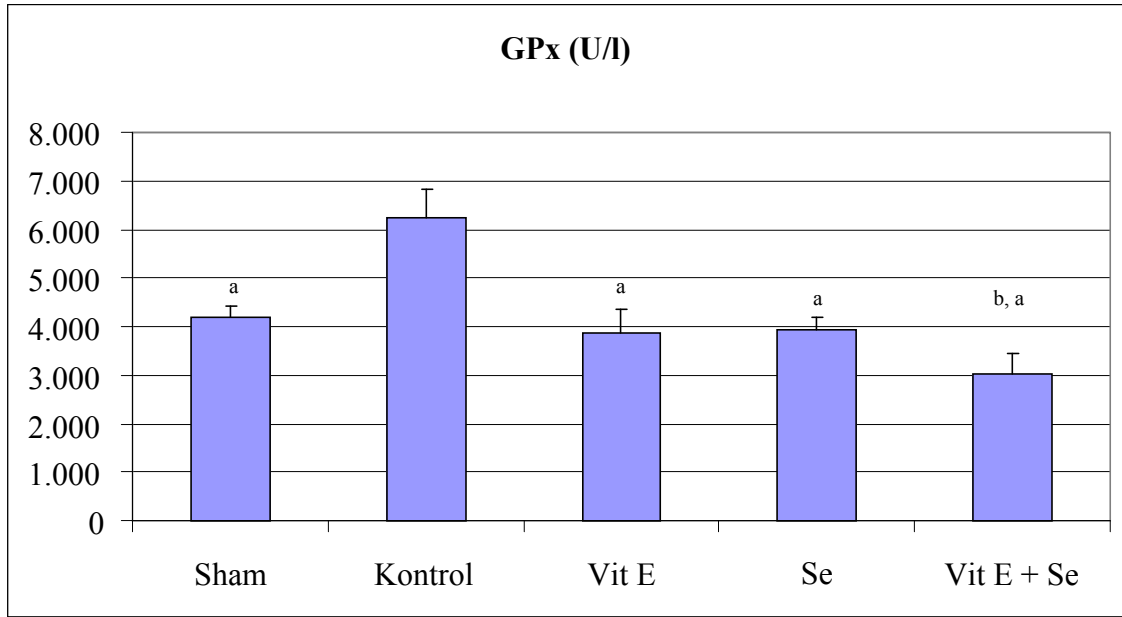
^d: Sham'den farklıdır (p<0.01)

Şekil 4.3 Vitamin C (mg/dl) değerlerinin grafiksel gösterimi

Çalışmaya ait vitamin C değerleri sham, kontrol, vitamin E, selenyum ve vitamin E + selenyum grupları için sırasıyla 2.694 ± 0.39 , 2.202 ± 0.23 , 3.142 ± 0.44 , 3.842 ± 0.31 ve 3.679 ± 0.24 mg/dl olarak bulundu.

Selenyum ve vitamin E + selenyum grupları ile kontrol grubu arasında p<0.001 oranında, vitamin E grubu ile kontrol grubu arasında da p<0.01 oranında istatistiksel fark bulunmuştur.

Ayrıca selenyum grubu ile sham grubu arasında p<0.001 düzeyinde, vitamin E + selenyum grubu ile sham grubu arasında ise p<0.01 oranında bir fark belirlenmiştir.



^a: Kontrol'den farklıdır (p<0.001)

^b: Sham'den farklıdır (p<0.01)

Şekil 4.4 GPx (U/l) değerlerinin grafiksel gösterimi

Çalışmaya ait GPx değerleri sham, kontrol, vitamin E, selenyum ve vitamin E + selenyum grupları için sırasıyla 4181.672 ± 244.95 , 6254.559 ± 581.80 , 3883.260 ± 461.24 , 3934.734 ± 267.58 ve 3019.032 ± 424.93 U/l olarak bulundu.

Sham, vitamin E, selenyum ve vitamin E + selenyum grupları ile kontrol grubu arasında istatistiksel fark $p < 0.001$ düzeyinde tespit edildi.

Bunun dışında vitamin E + selenyum grubu ile sham arasında da $p < 0.01$ oranında bir fark belirlendi.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Kolinesteraz inhibitörleri olan organofosfatlı (OP) bileşikler dünyada yaygın olarak tarım, halk sağlığı ve veteriner hekimlikte kullanılan en önemli pestisitlerdendir. Halk sağlığı programlarında ve ziraatte insektisit, akarisit ve nematisit, veteriner hekimlikte ise ektoparazitisit olarak iş görürler (Peña-Llopis 2005).

Sağladığı faydaların yanı sıra OP'ların kontrolsüz kullanımı, ortamdaki diğer gelişmiş canlıları ve mikroorganizmaları olumsuz yönde etkiler ve ekolojik dengenin bozulmasına sebep olur (Guney vd. 2007). Uygulandığı yerlerdeki toprak, su, sebze, hububat ve diğer gıda ürünlerinde OP kalıntılarının bulunması çevre için çok önemli bir tehlikedir (John vd. 2001).

Tüm dünyada kullanılan 200'den fazla farklı OP bileşiklerinin yaygın kullanımı ve kolay elde edilebilirliği, insanlar üzerinde çok sayıda zehirlenme vakalarına yol açmaktadır. Her yıl çeşitli sebeplerden dolayı 750 bin ila 3 milyon insan dünyada OP'ların sebep olduğu zehirlenmelere maruz kalmakta, bunların birkaç 100 bini malesef ölümle sonuçlanmaktadır. Şiddetli toksikasyonlar çoğunlukla intihara teşebbüs nedeniyle meydana gelirken, daha az şiddetli toksikasyonlar ise dikkatsiz kullanım ve OP kalıntısı içeren gıdaların tüketimi ile gerçekleşir (Yürümez vd. 2007).

OP bileşiklerinin pek çoğu yağda çözünebilen ajanlardır ve deriden, oral mukoz membranlardan, sindirim ve solunum sistemlerinden absorbe olabilirler. Toksikasyonun başlangıcı, şiddeti ve ömrü; alınan doz, izlediği yol, organofosfatın fizikokimyasal özellikleri ve hangi oranda metabolize edildiğine bağlıdır (Yürümez vd. 2007).

OP bileşikleri insanlarda ve hayvanlarda toksik etkilerini, iskelet kası nöromusküler kavşaklarında ve sinapslarda asetilkolinesteraz enzimini inhibe ederek gösterirler. Akut OP zehirlenmelerinde muskarinik reseptörlerin stimülasyonu, karın bölgesinde ağrılar, diare, terleme ve bronşal sekresyonda artış gözlenen semptomlardandır. İskelet kası nöromusküler kavşaklarındaki nikotinik reseptörlerin stimülasyonu kaslarda istemsiz kasılmalara, güçsüzleşmeye ve felce neden olur (Büyükokuroğlu vd. 2008).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, OP'ların oksidatif stresin nedenlerinden biri olduğu üzerinde durulmuştur. OP bileşiklerinin yoğun ROS üretimine sebep olduğu ve başta membran lipidleri olmak üzere metabolizmadaki önemli biyomoleküllerin oksidatif tahribatına yol açtığı görülmüştür (Gökalp vd. 2003).

OP kaynaklı oksidatif strese karşı literatürde farklı bazı tedavi metodları uygulanmıştır. Bunlardan biri OP toksikasyonuna karşı N-asetilsistein (NAC) kullanılmasıdır. Peña-Llop ve arkadaşlarının (2003) yaptığı çalışmada, diklorvos adlı bir organofosfat ile meydana getirilen oksidatif stresin giderilmesi için NAC kullanılmış, deney sonucunda önemli bir antioksidan olan GSH'nin konsantrasyonunun arttığı ve oksidasyonun azaldığını, NAC'ın oksidatif strese karşı metabolizmaya direnç kazandırdığını ortaya koymuşlardır.

Yürümez ve arkadaşlarının (2007) yaptığı başka bir çalışmada ise ratlarda fenthion ile meydana getirilen OP toksikasyonunda tedavi amacıyla NAC kullanılmış, çalışmada oksidatif stresin önemli bir markırı olan MDA'nın tedavi gruplarında azaldığı ve GSH konsantrasyonunun arttığı görülmüştür.

Büyükokuroğlu ve arkadaşlarının (2008) yaptıkları çalışmada OP toksikasyonuna karşı melatonin kullanılmış ve oksidatif stres üzerine melatoninin koruyucu bir etkisi olduğu belirlenmiştir.

Kalender ve arkadaşlarının (2007) yaptığı çalışmada ise ratlarda metil parathion ile nefrotoksisite oluşturulmuş ve antioksidan vitaminlerden olan vitamin E ve vitamin C'nin koruyucu etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonunda vitamin C ve vitamin E'nin, oksidatif stres ve LPO'nun en önemli göstergesi olan MDA konsantrasyonunu azalttığı görülmüştür.

Oksidatif stres parametreleri ile antioksidan sistem ve aralarındaki korelasyon son yıllarda giderek ilgi odağı olmuş, oksidatif stresin göstergesi kan MDA düzeyleri ve antioksidan olarak bazı biyokimyasal markırlar bir çok hastalıkta araştırılmıştır. Sunulan çalışmada; vitamin E, selenyum ve vitamin E + selenyumun organofosfat toksikasyonu üzerine koruyucu rolünü çalışılırken MDA, GSH, vitamin C ve GPx düzeyleri oksidan ve antioksidan parametreler olarak araştırılmıştır. Literatürde vitamin

E'nin yararlı rolü bazı çalışmalarda görülürken, selenyum veya vitamin E + selenyumun OP toksikasyonundaki koruyucu etkisine dair herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu yönüyle sunulan çalışma öncül bir nitelik taşımaktadır.

OP toksikasyonunun neden olduğu oksidatif stresin gösterilmesi amacıyla çok farklı deneysel modeller ve çeşitli ajanlar kullanılmıştır. Gökalp (2005), Kalender (2005) ve Ögütçü (2006) yaptıkları çalışmalarda toksik ajan olarak diazinonu kullanırken, Kalender (2007) ve Güney (2007) metil parathionu tercih etmişler, Gökalp (2003), Yürümez (2007) ve Büyükkuroğlu (2008) ise bizim çalışmamızda da toksikasyon ajan olan fenthionu kullanmışlardır. Fosforotiyoat tipi bir OP olan fenthionun meydana getirdiği reaktif oksijenler karaciğer ve beyinde LPO oluşturduğu, DNA'nın tek kolunda kırıklara ve laktat dehidrogenazın ekstrasellüler sıvıya sızıntısında artışa neden olduğu Bagchi ve arkadaşları (1995) tarafından ortaya konulmuştur.

Lipit peroksidasyonu (LPO), çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve indirekt olarak reaktif aldehytlere üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Bu reaksiyonlar hücresel membranların oksidatif yıkımı ve ciddi doku hasarı ile sonuçlanır. Peroksidasyonla oluşan MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna yol açar. Deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir. Sonuçta MDA'nın mutajenik, genotoksik ve karsinojenik etkileri ortaya çıkar (Akkus 1995).

Antioksidan savunma sistemleri, oksidasyona bağlı membran yıkımı ve doku hasarının önlenmesinde büyük önem taşımaktadır. Fizyolojik olaylar sırasında ortaya çıkan serbest radikaller antioksidanlarca etkisiz hale getirilirler (Subramanian vd. 2004). Biyomembranlarda çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu sıklıkla reaktif oksijen türlerine (ROS) maruz kalma ile oluşur ve hücre fonksiyon değişimi veya hücre ölümüne yol açabilir. LPO'nun başlıca son ürünlerinden olan MDA oksidan hasarı değerlendirmede sıklıkla kullanılmaktadır. Serbest radikaller klinik olarak direkt ölçüm için oldukça kısa ömürlüdür, bu yüzden reaktif oksijen ürünlerinin ölçümünde indirekt göstergeler kullanılır. LPO'nu göstermek için birçok deneysel teknik

geliştirilmiş olmasına rağmen, kullanılan en yaygın metot indirekt olarak ölçülen MDA'dır (Terrie 2002).

Kalender ve arkadaşlarının (2007) yaptığı çalışmada metil parathion ile oluşturulan OP toksikasyonuna karşı vitamin E-vitamin C kompleksinin koruyucu etkisi araştırılmış, kontrol grubuna göre metil parathion grubu ve metil parahion + vitamin E - vitamin C grubundaki MDA konsantrasyonlarında artış görülmüştür. Aynı zamanda metil parathion grubu ile tedavi grubu olan metil parathion + vitamin E - vitamin C karşılaştırıldığında tedavi grubundaki MDA derişiminin daha az olduğu ve vitamin kompleksinin LPO ve oksidatif stresi azalttığı belirlenmiştir.

Altuntaş ve arkadaşlarının (2002) yaptığı bir araştırmada fenthionun LPO ve bazı karaciğer enzimleri üzerine etkisi ve vitamin E-vitamin C kompleksinin koruyucu özelliği incelenmiştir. Çalışmada LPO'nun en önemli göstergesi olan MDA değerlerinin fenthion grubunda kontrol grubuna oranla arttığı görülmüş, tedavi grubu olan fenthion + vitamin grubu ile fenthion grubu karşılaştırıldığında ise, tedavi grubunun daha az MDA konsantrasyonuna sahip olduğu tespit edilmiştir.

Yürümez ve arkadaşlarının (2007) yaptığı çalışmada ise, OP toksikasyonuna karşı N-asetilsisteinin (NAC) yararlı etkisi araştırılmıştır. Çalışmada NAC, terapötik ve profilaktik olarak uygulanmıştır. Tüm kandaki MDA değerleri en az kontrol grubunda belirlenirken, en fazla MDA konsantrasyonu fenthion grubunda bulunmuştur. Terapötik NAC ve profilaktik NAC gruplarına ait MDA derişimlerinde bir fark tespit edilmezken, fenthion grubuna oranla azalma gerçekleştiği görülmüştür.

Yavuz ve arkadaşlarının (2005), organofosfat kökenli bir insektisit olan methidathion ile oluşturdukları damar çeperi hasarı üzerine yaptıkları çalışmada, methidathion verilen grubun MDA değerlerinde kontrol grubuna oranla istatistiksel bir artış belirlemişlerdir. Ayrıca asetilkolinesteraz enzimi miktarında da bir azalma bulmuşlardır.

Büyükokuroğlu ve arkadaşlarının (2008), fenthion ile ratlarda deneysel olarak meydana getirilen OP toksikasyonunda melatoninin koruyucu etkisini araştırdıkları çalışmada, fenthionun etkisiyle MDA değerlerinde bir artış görülmüştür. Tedavi grupları olan

terapötik melatonin ve profilaktik melatonin gruplarında ise MDA düzeylerinde azalma meydana geldiği görülmüştür.

Aktürk ve arkadaşlarının (2006) yaptığı bir araştırmada ise, diazinon ile toksikasyon oluşturulmuş, çalışma sonunda diazinon grubunun en yüksek MDA düzeyine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Sütçü ve arkadaşlarının (2006) methidathion ile yaptıkları çalışmada kontrol grubuna kıyasla methidathion grubunda MDA konsantrasyonunun daha fazla olduğu ve asetil kolinesteraz enziminin aktivasyonunun ise azaldığı belirlenmiştir. Tedavi grubu olan vitamin E-vitamin C grubundaki MDA düzeyinde ise methidathion grubuna oranla bir düşüş kaydedilmiştir.

Sunulan çalışmada ise bir organofosfat olan fenthion ile toksikasyon oluşturulmuş ve meydana gelen oksidatif stres ile LPO'nun şiddeti MDA konsantrasyonun ölçülmesiyle tespit edilmiştir. Şekil 4.1 de görüldüğü gibi sadece fenthion verilen kontrol grubuna ait MDA konsantrasyonu gruplar içerisinde en yüksek olduğu belirlenmiş, bu durum da OP'ların lipid peroksidasyonuna neden olduğu ve oksidatif strese rol oynadığını göstermiştir. Tüm tedavi gruplarında toksikasyon sonrası MDA değerlerinde düşüş görünürken, vitamin E + selenyum grubunda en düşük MDA değeri elde edilmiştir. Vitamin E ve yapısında selenyum içeren glutatyon peroksidazın (GPx), antioksidan özellikleri sayesinde serbest radikallerin oluşturduğu hasarı azaltacak şekilde görev aldıkları görülmektedir. Her ikisinin de ayrı ayrı kullanılması toksikasyon sonrası MDA düzeylerinde azalmaya neden olurken, vitamin E ve selenyumun birlikte kullanımı, her iki antioksidanın birbirini tamamlayıcı özelliğinden dolayı tedavi grupları içinde oksidatif strese karşı en iyi sonucu vermiştir (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1).

Redükte glutatyon (GSH), peroksidaz enzim ailesinin bir kofaktörü olmasının yanı sıra, askorbik asit metabolizmasını, hücreler arası iletişimin sürdürülmesini sağlayan ve genel olarak proteinlerin sülfidril (-SH) gruplarının okside olmasını ve çapraz bağlanmasını engelleyen diğer birçok metabolik süreçte yer almaktadır. Ayrıca hücre içi bakır transportunda da işlev görür. Ayrıca GSH bakır iyonları ile şelatlar oluşturur ve bunların serbest radikal oluşturma kapasitelerini azaltır. Bununla birlikte GSH koruyucu bir ajan olarak lökoeritrin sentezinde yer alan enzimler ve gliksilazları da içeren farklı

metabolik yollarda çalışan bazı enzimler için kofaktör olarak rol oynar. Dahası GSH protein katlanmasında ve insülin gibi disülfid bağları taşıyan proteinlerin yıkılmasında da rol alır (Halliwell vd. 1999).

Oksidatif stres durumunda reaktif oksijen türleri GSH tarafından indirgenirken, GSH ise GSSG'ye yükseltgenmektedir. Spontane olarak meydana gelen oksidasyona karşı nispeten dirençli olmasına karşın, GSH hidroksil radikali ile çok hızlı ve non-enzimatik olarak tepkimeye girmektedir. Aynı zamanda azot trioksit (N_2O_3) ve peroksinitrit ($ONOO^-$) ile de reaksiyona girmektedir (Griffith 1999). Antioksidan olmasının yanında GSH, peroksitlerin GPx aracılığıyla enzimatik olarak indirgenmesini sağlar ve bu reaksiyon sonunda GSSG meydana gelir. Normal fizyolojik koşullar altında GSSG, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH)-bağımlı bir enzim olan glutatyon redüktaz tarafından GSH'a indirgenir ve bu şekilde bir redoks döngüsü meydana gelir. Hücrenin indirgeme kapasitesi yetersiz kaldığında GSH/GSSG oranında azalmalar oluşur. GSSG ve GSH miktarı oksidatif stres indikatörü olarak değerlendirilirken, GSH/GSSG oranı hücrel redoks durumu hakkında bilgi sağlamaktadır (Cnubben vd. 2001).

Piner ve arkadaşlarının (2007) yaptığı çalışmada potansiyel oksidatif stres kaynağı olan fenthion içeren ortamda GSH inhibitörü buthionin sulfoksiminin (BSO) ve antioksidan özellik gösteren N-asetilsisteinin (NAC) glutatyon metabolizması üzerine etkisi balık beyininde araştırılmıştır. Fenthion grubunda GSSG miktarında, GSH/GSSG oranında ve GPx aktivesinde artış görülmüştür. BSO + fenthion grubunda ve NAC + fenthion grubunda ise GSH konsantrasyonlarında belirgin bir azalma kaydedilmiştir.

Rehman ve arkadaşlarının (2006) farelerde antioksidanlar üzerine deltametrininin etkisinin araştırıldığı çalışmasında karaciğer ve böbreklerde LPO oluşurken, bu dokulardaki GSH derişiminde azalma belirlemiştir. Ayrıca glutatyon peroksidaz, glutatyon-S-transferaz ve katalaz düzeylerinde de düşüş görülmüştür. Buna karşılık Brocardo ve arkadaşlarının (2005) yaptığı çalışmada ise malathion ile oluşturulmuş OP toksikasyonunda serebral korteks ve hipokampuse ait GSH ve GPx konsantrasyonlarında kontrol grubuna oranla bir değişme izlenmemiştir.

Nogues ve arkadaşlarının (2006) yaptığı çalışma ise çeşitli dokularda ve kanda oksidatif stresin artışına karşılık olarak GSH miktarlarında yükseliş görüldüğünü bildirmiştir.

Büyükokuroğlu ve arkadaşlarının (2008) yaptığı çalışmada da toksikasyon grubu GSH düzeyinde kontrol grubuna oranla istatistiksel bir artış meydana gelmiştir. Bu durum Nogues ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile paralellik göstermiş ve doğal savunmanın bir parçası olarak görülmüştür. Tedavi grubu olan melatonin grupları ile toksikasyon grubu arasında GSH miktarı açısından istatistiksel bir farklılık belirlenmemiştir.

John ve arkadaşlarının (2001), dimethoat ve malathion ile ayrı ayrı oluşturulmuş oksidatif strese karşı vitamin E'nin koruyucu etkisinin rat eritrositlerinde araştırıldığı çalışmada, kontrol grubuna oranla dimethoat, malathion ve dimethoat-malathion gruplarındaki GSH seviyelerinin daha fazla olduğu bulunmuştur. Ayrıca dimethoat + vitamin E, malathion + vitamin E ve dimethoat-malathion + vitamin E tedavi gruplarına ait GSH konsantrasyonlarında toksikasyon gruplarına oranla istatistiksel bir düşüşe rastlanmıştır.

Sunulan çalışmada ise, sadece fenthion verilen kontrol grubundaki GSH düzeyinde sham grubuna oranla istatistiksel bir fark görülmüştür (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.2). Bu sonuç meydana gelen toksikasyona karşı metabolizmanın GSH üreterek savunmaya geçtiğini göstermiştir. Vitamin E, selenyum ve vitamin E + selenyum gruplarındaki GSH konsantrasyonlarında sham grubuna göre bir artış ve kontrol grubuna göre bir düşüş görülmesine rağmen ne sham ne de kontrol grubu ile tedavi grupları arasında istatistiksel bir fark tespit edilmemiştir.

Vitamin C (askorbik asit) organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici ajan olarak görev yapar. Kollajen sentezinde lizin ve prolinin hidroksilasyonu için gereklidir. Tirozinden epinefrin sentezinin dopamin β -hidroksilaz basamağında görev alır. Tirozin yıkılımında p-hidroksi fenil pirüvatın homogentizata oksidasyonunda ve safra asitlerinin sentezindeki 7- α -hidroksilaz başlangıç basamağında rol alır. Lizinden karnitin sentezinde görevlidir. Demirin emiliminde enzimatik olmayan bir yol ile indirgeyici olarak rol oynar ve midede ferri demiri ferro demire indirger. İmmünite ve yara iyileşmesinde etkilidir (Rucker vd. 2001).

Askorbik asit, güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Vitamin C'nin antioksidan olarak asıl görevi, lipoproteinleri lipit peroksidasyonuna karşı korumaktır. Vitamin C'nin singlet oksijen, süperoksit ve hidroksil, hidroperoksil, lipit peroksil ve lipit alkoksil radikallerini ortamdaki temizleyerek, antioksidan etkisini gösterebileceği bildirilmiştir. Oksidatif hasar sonucu oluşan ürünlere karşı vitamin C ve GSH sinerjistik aktivite gösterirler. İnsan hücrelerinde kullanılmış askorbik asit tekrar kullanılacak hale getirilerek kırmızı kan hücrelerinde titizlikle görev yapar ve çeşitli mekanizmalarla detoksifikasyon olayını başarır. Ayrıca vitamin C, tokoferol radikali haline gelmiş ve antioksidan özelliğini yitirmiş vitamin E'nin tekrar aktif hale dönüştürülmesinde de rol oynar (Rucker vd. 2001).

Altuntaş (2002), Yavuz (2004) ve Gültekin'nin (2001) yapmış olduğu araştırmalarda vitamin C ve vitamin E kombinasyonunun, toksik maddelerce oluşturulan lipit peroksidasyonunu azalttığı görülmüştür. Vitamin C ekstrasellüler boşluktaki reaktif oksijen türlerini temizlerken, yağda çözünebilir vitamin E ise hücre içerisindeki reaktif metabolitlerce üretilen serbest radikalleri etkisizleştirerek lipit peroksidasyonunun oluşmasının önüne geçer. Vitamin E ile GPx arasında nasıl birbirini tamamlayıcı özelliği varsa, vitamin C ile vitamin E arasında da etki gösterdiği alanlar bakımında bir ilişki mevcuttur. Bu yüzden hem vitamin C hem de vitamin E vücut savunması için en önemli biyomoleküllerdendir.

Kalender ve arkadaşlarının (2007) metil paration ile oluşturdukları nefrotoksisite üzerine vitamin C ve vitamin E'nin koruyucu etkisini araştırdıkları çalışmada, vitamin C ve vitamin E kombinasyonunun metil parathionun neden olduğu akut ve kronik nefrotoksisiteyi azalttığı görülmüştür.

Ayrıca Gökalp ve arkadaşlarının (2005) diazinon ile gerçekleştirdikleri çalışma, diazinonun verilmesinden 30 dakika sonra tek doz vitamin C ve vitamin E kombinasyonunun uygulanmasının toksikasyonu önemli ölçüde azalttığını ortaya koymuştur.

Literatürde vitamin C'nin OP kaynaklı oksidatif strese karşı koruyucu etkisi birçok kez çalışılırken (Sütçü 2006, Kalender 2007, Gökalp 2001), OP toksikasyonunda farklı

koruyucu maddelerin gerek kanda gerekse dokudaki askorbik aside ait biyokimyasal ölçümüne rastlanması nadirdir.

Prashanthi ve arkadaşlarının (2006), erkek ratlar üzerinde metil parathionun toksik etkisinin araştırıldığı çalışmada, farklı gruplara farklı dozlarda metil parathion verilmiş ve toksisite oluşturulmuştur. Asit fosfataz, kolesterol, total protein, ürik asit ve askorbik asit gibi bazı biyokimyasal parametreler analiz edilmiştir. Tüm toksikasyon gruplarında kontrol grubuna oranla askorbik asit düzeyinde düşme görülürken, özellikle metil parathionun sabit ve uzun süreli uygulandığı gruplarda istatistiksel bir düşüş kaydedilmiştir.

Büyükokuroğlu ve arkadaşlarının (2008) yaptığı çalışmada toksikasyon grubundaki askorbik asit düzeyi sham grubuna oranla daha az olduğu görülmüştür. Tedavi grupları olan profilaktik melatonin ve terapötik melatonin gruplarında ise askorbik asit konsantrasyonu toksikasyon grubuna oranla artmıştır.

Sunulan çalışmada Çizelge 4.1 ve Şekil 4.3’de görüleceği gibi fenthion verilen grup olan kontrol grubundaki askorbik asit derişimi sham grubuna oranla azalmasına karşın istatistiksel bir fark bulunmamıştır. Vitamin C’nin tüm tedavi gruplarındaki konsantrasyonunun hem sham hem de kontrol ile kıyaslandığında anlamlı bir şekilde artış göstermesi, vitamin E ve selenyum uygulanmasının vitamin C’nin aktivitesinin artışına neden olduğunu ortaya koymuştur.

Glutasyon peroksidaz (GPx), birçok dokuda bulunan, doğal bir antioksidandır. E vitamini ile birlikte, lipid peroksidasyonuna karşı vücut savunmasında görev alır. Vitamin E LPO’ya karşı zincir kırıcı olarak ilk savunma hattını oluştururken GPx’de hidroperoksitleri indirgeyerek LPO’nun tekrar oluşmasını engelleyen ikinci bir savunma hattını oluşturur. GPx, herbirinin aktif bölgesinde Se elementinin atomunu içeren 4 protein subünitesinden meydana gelir (Menteş vd. 1993).

Antioksidan görevini reaktif oksijen türlerinden olan hidrojen peroksiti suya, lipid hidroperoksitlerini de alkole dönüştürerek gerçekleştirir. Böylece hücre membranının bu reaktiflerden etkilenmesini engelleyerek oksidatif strese karşı direnç oluşturur (Ahmad 1995).

Piner ve arkadaşlarının (2007), fenthionun meydana getirdiği oksidatif stres karşı N-asetilsisteinin (NAC) koruyucu etkisi üzerine yaptığı çalışmada, fenthion grubundaki GPx düzeyi kontrol grubuna oranla anlamlı bir artış göstermiştir. Tedavi grubu olan NAC + fenthion grubunda ise GPx düzeyinin fenthion grubuna göre azaldığı görülmüştür.

Büyükokuroğlu ve arkadaşlarının (2008) gerçekleştirdiği çalışmada ise fenthion ile oluşturulan toksikasyon grubunun GPx aktivasyonu, hiçbir kimyasalın verilmediği sham grubuna göre anlamlı bir şekilde daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca tedavi grupları olan profilaktik melatonin ve terapötik melatonin gruplarına ait GPx aktivitelerinde ise fenthion grubuna oranla bir düşüş söz konusudur.

Altuntaş ve arkadaşlarının (2004), diazinonun eritrositlerdeki lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzimler üzerine etkisini araştırdıkları çalışmasında, uygulanan organofosfatın etkisiyle MDA düzeylerinde artış sağlandığı görülmüş ve GPx aktivitesinin artan diazinon dozu ile paralel bir şekilde gelişme gösterdiğini ortaya konmuştur.

Sütçü ve arkadaşlarının (2007) yaptığı başka bir çalışmada ise diazinonun eritrositlerdeki lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzimlere etkisi ve vitamin E-vitamin C'nin koruyucu rolü araştırılmıştır. Çalışmada kontrol grubuna oranla diazinon grubundaki LPO düzeyinde, süperoksit dismutaz (SOD) ve GPx aktivitelerinde istatistiksel bir artış görülmüştür. Diazinonun grubu ile tedavi vitamin E - vitamin C grubu karşılaştırıldığında ise, hem meydana gelen LPO düzeyinde hem de GPx ve SOD aktivitelerinde azalma meydana geldiği belirlenmiştir.

Gültekin ve arkadaşlarının (2000), etil kloroprifosun lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzimler üzerine *in vitro* gerçekleştirdikleri çalışmada, artan etil kloroprifos konsantrasyonu ve inkübasyon ile MDA değerlerinin ve GPx aktivitesinin anlamlı bir şekilde artış gösterdiğini ortaya koymuşlardır.

Sunulan çalışmada Şekil 4.4 de görüleceği üzere sham grubu, toksikasyon oluşturulan kontrol grubundan istatistiksel olarak farklılık göstermiştir (Çizelge 4.1). Literatürdeki

diğer çalışmalar ile paralel olarak sadece fenthionun verildiği kontrol grubundaki GPx aktivitesinde sham grubuna oranla bir artış belirlenmiştir. Bu yükselme, meydana gelen oksidatif strese karşı metabolizmanın bir tepkisi olarak GPx miktarında ve aktivitesindeki artış olarak görülebilir. Ayrıca sadece fenthionun verildiği kontrol grubu ile diğer tüm tedavi grupları arasında da anlamlı bir düşüş bulunmuştur. Vitamin E ve selenyum grupları ile sham grubu arasındaki GPx düzeyleri birbirine çok yakın olmasına rağmen vitamin E - selenyum grubuna ait GPx düzeyi sham grubuna oranla daha az olduğu kaydedilmiştir.

Sonuç olarak; vitamin E, selenyum ve vitamin E - selenyumun organofosfatlı bileşiklerin neden olduğu oksidatif strese karşı savunma oluşturmada etkili olabileceği görülmüştür. Özellikle oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunun en önemli markırı olan MDA düzeyinin tüm tedavi gruplarında önemli şekilde azalmış olması, oksidatif hasara karşı vitamin E ve selenyumun ne denli etkili olduğunu ortaya koymuştur. Elde edilen bilgiler ışığında, ayrı ayrı kullanımlarının yanı sıra vitamin E ve selenyumun kombine şekilde uygulanması, organofosfatlarla olan zehirlenmede ortaya çıkan oksidatif stres ve lipid peroksidasyonuna karşı daha güçlü bir koruyucu etkiye neden olabileceğini göstermektedir.

6. KAYNAKLAR

Abou-Donia M.B., 2003, "Organophosphorus ester-induced chronic neurotoxicity", *Archives of Environmental Health* 58.

Ahmad S., 1995. "Antioxidant mechanisms of enzymes and proteins (S. Ahmad Editor), oxidative stress and antioxidant defences in biology". Chapman & Hall, America, 238-265.

Akkuş İ., 1995, "Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri", Mimoza Yayınları, Konya.

Aktürk O., Demirin H., Sütçü R., Yılmaz N., Köylü H., Altuntaş İ., 2006, "The effects of diazinon on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat heart and ameliorating role of vitamin E and vitamin C", *Cell Biol Toxicol* 22: 455-461.

Altuntaş İ., Delibaş N., Sütçü R., 2002, "The effects of organophosphate insecticide methidathion on lipid peroxidation and anti-oxidant enzymes in rat erythrocytes: role of vitamins E and C", *Hum Exp Toxicol* 21: 681-685.

Altuntaş İ., Kılınç İ., Orhan H., Demirel R., Köylü H., Delibaş N., 2004, "The effects of diazinon on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in erythrocytes in vitro", *Hum Exp Toxicol* 23: 9-13.

Altuntaş İ., Delibaş N., Doğuca DK, Özmen S, Gültekin F, 2003, "Role of reactive oxygen species in organophosphate insecticide phosalone toxicity in erythrocytes in vitro", *Toxicology in vitro* 17: 153-157.

Altuntaş İ., Delibaş N., 2002, "The effects of fenthion on lipid peroxidation and some liver enzymes: The possible protective role of vitamins E and C", *Turk J Med Sci* 32: 293-297.

Bagchi D., Bagchi M., Hassoun E.A., Stohs S.J., 1995, "In vitro and in vivo generation of reactive oxygen species, DNA damage and lactate dehydrogenase leakage by selected pesticides", *Toxicology* 104: 129-140.

Baublis, A.J., Clydesdale, F.M., Decker, E.A., 2000, "Antioxidants in wheat-based breakfast cereals", *Cereals Foods World* 45: 71-74.

Baykal Y., Kocabalkan F., 2000, "Serbest radikaller ve hücre hasarı", *Sendrom* 9: 31-39.

Bayşu Sözbilir N., Bayşu N., 2008, "Biyokimya", Güneş Kitabevi, Ankara, Türkiye.

Bhagavan N.V., 2002, "Medical biochemistry", Harcourt Academic Press, Kanada.

Bleecker J.D., Lison D., Abeele K.V.D., Willems J., De Reuck J., 1994, "Acute and subacute organophosphate poisoning in the rat", *Neurotoxicology* 15: 341-348.

Brocardo P.S., Pandolfo P., Takahashi R.N., Rodrigues A.L., Dafre AL., 2005, "Antioxidant defenses and lipid peroxidation in the cerebral cortex and hippocampus following acute exposure to malathion and/or zinc chloride", *Toxicology* 207: 283-291.

Buetler E., Dubon O., Kelly B.M., 1963, "Improved method for the determination of blood glutathione", *J Lab Clin Med* 61: 882-888.

Büyükokuroğlu M.E., Cemek M., Yürümez Y., Yavuz Y., Aslan A., 2008, "Antioxidative role of melatonin in organophosphate toxicity in rats", *Cell Biol Toxicol* 24:151-158.

Cadenas E., Packer L., 2002, "Handbook of antioxidants", Taylor & Francis Group, LLC, New York, USA.

Cemek M., Büyükokuroğlu M.E., Bayıroğlu F., Koç M., 2008, "Irradiation, radioprotection and nigella sativa" (Book Chapter). *Herbal Radiomodulators: Applications in Medicine, Homeland Defence and Space. Medicinal and Aromatic Plants Laboratory Division of Radiation Biology and Radioprotection Institute of Nuclear Medicine and Allied Sciences (Defence Research and Development Organization).*

Chaudhry R., Lall S.B., Mishra B., Dhawan B., 1998, "A foodborne outbreak of organophosphate poisoning", *BMJ* 317: 268-269.

Chen I.Y., Mehta P., Mehta J.J., 1996, "Oxidized LDL decreases L-arginine uptake and nitric oxide synthase protein expression in human platelets. Relevance of the effect of oxidized LDL on platelet function", *Circulation* 93: 1740-1746.

Cherubini A., Ruggiero C., Polidori M.C., Mecocci C., 2005, "Potential markers of oxidative stress in stroke", *Free Radical Biology & Medicine* 39: 841-852.

Cnubben N.H.P., Rietjens I.M.C.M., Wortelboer H., Van Zanden J., Van Bladeren P.J., 2001, "The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense", *Environmental Toxicology and Pharmacology* 10: 141-152.

Dalle-Donne I., Rossi R., Giustarani D., Milzani A., Colombo R., 2003, "Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress", *Clinica chimica acta* 329: 23-38.

Dargel R., 1992, "Lipid peroxidation a common pathogenetic mechanism?", *Exp Toxic Pathol* 44: 169-181.

Dündar Y., Aslan R., 2000, "Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar", Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayınları, Afyon.

Ellehorn M.J., Barcebox D.G., 1988, "Medikal toxicology diagnosis and treatment of human poisoning", Elsevier CO, New York, 1069-1104.

Gallo M.A., Lawryk N.J., 1991, "Organic phosphorus pesticides", *Handbook of Pesticide Toxicology*. Eds. Academic Press, New York, USA, 5-3.

Gilbert D.L., Colton C.A., 2002, "Reactive oxygen species in biological systems: An interdisciplinary approach", Kluwer Academic Publishers New York, Boston, Dordrecht, London, Moscow.

Gökalp O., Büyükvanlı B., Çiçek E., Özer M.K., Koyu A., Altuntaş İ., Köylü H., 2005, "The effect of diazinon on pancreatic damage and ameliorating role of vitamin E and vitamin C", *Pesticide Biochemistry and Physiology* 81: 123-128.

Gökalp O., Mollaoğlu H., Yılmaz H.R., Altuntaş İ., 2003, “Organofosfat insektisit Fenthion’un rat amilaz ve lipaz enzimleri üzerine etkisi: Vitamin E ve C’nin rolü”, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 10 (2): 21-23.

Griffith O.W., 1999, “Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis”, Free Radical Biology and Medicine 27: 922-935.

Gültekin F., Öztürk M., Akdoğan M., 2000, “The effect of organophosphate insecticide chlorpyrifos-ethyl on lipid peroxidation and antioxidant enzymes (in vitro)”, Arch Toxicol 74: 533-538.

Güney M., Oral B., Demirin H., Özgüner M., Take G., Mungan T., Altuntaş İ., 2007, “Evaluation of caspase-dependent apoptosis during methyl parathion-induced endometrial damage in rats: Ameliorating effect of Vitamins E and C”, Environmental Toxicology and Pharmacology 23: 221-227.

Gutteridge J.M.C., 1995, “Lipid Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue Damage”, Clin Chem 41(12): 1819-1828.

Gutteridge J.M.C., Halliwell B., 1990, “The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems”, Trends Biochem Sci 15: 129-135.

Gültekin F., Delibaş N., Yaşar S., Kılınç İ., 2001, “In vivo changes antioxidant systems and protective role of melatonin and a combination of vitamin C and vitamin E on oxidative damage in erythrocytes induced by chlorpyrifos-ethyl in rats”, Arch Toxicol 75: 88-96.

Halliwell B., 1991, “Drug antioxidant effects. A basis for drug selection?”, Drugs 42(4): 569-605.

Halliwell B., Gutteridge, J.M.C., 1999, “Free radicals in biology and medicine”, Oxford University Press Inc., New York, 936.

Hayes W.J., Laws E.R., 1990, “Handbook of pesticide toxicology”, Vol. 3, Classes of Pesticides. Academic Press, Inc., NY, USA.

Hışıl Y., 1981, "Elmadaki pestisit kalıntılarının çeşitli yıkama şekilleriyle azaltılması", Gıda 2: 71-88.

Ishaaya, I., 2000, "Biochemical sites of insecticide action and resistance", Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York, 342.

Jain S.K., McVie R., Duett J., Herbst J.J., 1989, "Erythrocyte membrane lipid peroxidase and glycolylated hemoglobin in diabetes", Diabetes 38: 1539-1543.

John S., Kale M., Rathore N., Bhatnagar D., 2001, "Protective effect of vitamin E in dimethoate and malathion induced oxidative stress in rat erythrocytes", Journal of Nutritional Biochemistry 12: 500-504.

Kalaycıoğlu L., Serpek B., Nizamlıoğlu M., Başpınar N., Tiftik A.M., 2000, "Biyokimya", Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.

Kalender S., Kalender Y., Durak D., Ögütçü A., Uzunhisarcıklı M., Çevrimli B.S., Yıldırım M., 2007, "Methyl parathion induced nephrotoxicity in male rats and protective role of vitamins C and E", Pesticide Biochemistry and Physiology 88: 213-218.

Kalender S., Ögütçü A., Uzunhisarcıklı M., Açıkgöz F., Durak D., Ulusoy Y., Kalender Y., 2005, "Diazinon-induced hepatotoxicity and protective effect of vitamin E on some biochemical indices and ultrastructural changes", Toxicology 211: 197-206.

Kandel E.R., Schwartz J.H., Jessell M.T., 2000, "Principles of neuronal science", McGraw Hill, New York, USA.

Karabulut, A.B., 2001, "Hepatit B'li hastalarda eritrosit ve lenfosit antioksidan, nitrik oksit düzeyleri ve plazma stokinleri" doktora tezi, İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Malatya.

Karalliedde L., 1999, "Organophosphorus poisoning and anaesthesia", Anaesthesia 54: 1073-1088.

Kaya S., Pirinçci İ., Traş B., Ünsal A., Bilgili A., Akar F., Doğan A., Yarsan E., 2002, “Veteriner hekimliğinde toksikoloji”, 2. baskı, Medisan yayınevi, Ankara.

Kecik Y., Yörükoğlu D., Saygın B., Şekerci S., 1993, “A case of acute organophosphate insecticide”, *Anaesthesia* 48: 141-143.

Kılınç K., Kılınç A., 2002, “Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri”, *Hacettepe Tıp Dergisi* 33: 110-118.

Köylü A.A., 2003, “Çeşitli kanser türlerinde lipid peroksidasyonu, antioksidan enzimler ve bunların tümör belirteçleri ile olan ilişkileri”, Uzmanlık Tezi, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Şanlıurfa.

Kryger G., Harel M., Giles K., Toker L., Velan B., Lazar A., Kronman C., Barak D., Ariel N., Shafferman A., Silman I., Sussman J.L., 2000, “Structures of recombinant native and E202Q mutant human acetylcholinesterase complexed with the snake-venom toxin fasciculin-II”, *Acta Crystallogr* 56: 1385-1394.

Liu J., Wang X., Shigenaga M.K., Yeo H.C., Mori A., Ames B.N., 1996, “Immobilization stress causes oxidative damage to lipid, protein, and DNA in the brain of rats”, *Fasebj* 10: 1532-1538.

Luster M.I., Simeonova P.P., Gallucci R., Matheson J., 1999, “Tumor necrosis factor alpha and toxicology”, *CRC Crit Rev Toxicol* 29: 491-507.

Manahan S., 2003, “Toxicological chemistry and biochemistry”, 3rd Edition, Lewis Publishers, USA.

Maroni, M., Colosio, C., Ferioli, A., Fait, A., 2000, “Organophosphorous pesticides”, *Toxicology*, 143: 9-37.

Meister R.T., 1987, “Farm chemicals handbook”, Meister Publishing Co., Willoughby, OH.

Memişoğulları R., 2005, “Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi”, *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi* 3: 30-39.

- Menteş G., Ersöz B., 1993, "Harper'ın Biyokimyası", Barış Kitabevi, İstanbul, Türkiye.
- Montgomery, R., 1996, "Biochemistry A case-oriented Approach 6th edition", Mosby-Year book, 5: 203-204.
- Nelson D.L., Cox M.M., 2004, "Lehninger principles of biochemistry", Fourth Edition, W. H. Freeman & Company.
- Nogues M.R., Giralt M., Romeu M., Mulero M., Sanchez-Martos V., Rodriguez E., Acuna-Castroviejo D., Mallol J., 2006, "Melatonin reduces oxidative stress in erythrocytes and plasma of senescence-accelerated mice", J Pineal Res 41: 142-149.
- Noumohammadi I., Gohari L., Moddares M., Ghayoumi A., 2001, "Evaluation of erythrocyte glutathione peroxidase, superoxide dismutase and total antioxidants in cataract patients", Arch Irn Med 4: 123-126.
- Öğütçü A., Uzunhisarcıklı M., Kalender S., Durak D., Bayrakdar F., Kalender Y., 2006, "The effects of organophosphate insecticide diazinon on malondialdehyde levels and myocardial cells in rat heart tissue and protective role of vitamin E", Pesticide Biochemistry and Physiology 86: 93-98.
- Omaye, T., Turbul, J., Savberlich, H. 1979, "Ascorbic acid analyses. II. Determination after derivation with 2,2 dinitrophenylhydrazine, selected methods for determination of ascorbic acid in animal cell, tissues and fluids", Methods Enzymol 62: 7-8.
- Onat T., Emerk K., Sözman E.Y., 2002, "İnsan Biyokimyası", Palme Yayıncılık, Ankara
- Paglia D.E., Valentine W.N., 1967, "Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase", J Lab Clin Med 70: 158-169.
- Palmer T., 1994, "Tıp ve fen bilimleri öğrencileri için enzim bilgisi", Bilimsel ve teknik yayınları çeviri vakfı yayınları, İstanbul, Türkiye.

Peduto V.A., D'Uva R., Pga M., 1996, "Carbamate and organophosphate poisoning", *Minevra Anestesiol* 62: 53-54.

Peña-Llopis S., 2005, "Antioxidants as potentially safe antidotes for organophosphorus poisoning", *Current Enzyme Inhibition* 1: 147-156.

Piner P., Sevgiler Y., Üner N., 2007, "In vivo effects of fenthion on oxidative processes by the modulation of glutathione metabolism in the brain of *Oreochromis niloticus*", *Environ Toxicol* 22: 605-612.

Porter, N.A., 1998, "Chemistry of lipid peroxidation", *Methods Enzymol* 105: 273-282.

Prashanthi N., Narayana K., Nayanatara A., Chandra Kumar H.H., Bairy K.L., D'Souza U.J., 2006, "The reproductive toxicity of the organophosphate pesticide 0, 0-dimethyl 0-4-nitrophenyl phosphorothioate (methyl parathion) in the male rat", *Folia Morphol (Warsz)* 65: 309-321.

Rehman H., Ali M., Atif F., Kaur M., Bhatia K., Raisuddin S., 2006, "The modulatory effect of deltamethrin on antioxidants in mice", *Clin Chim Acta* 369: 61-65.

Robey W.C., Meggs W.J., 2000, "Insecticides, herbicides, rodenticides", *Emergency Medicine* (5 nd ed), McGraw Hill Company, New York, 1174-1176.

Rosentock L., Keifer M., Daniell W.E., McConnell R., Claypoole K., 1991, "Chronic central nervous system effects of acute organophosphate intoxication", *The Lancet* 338: 223-227.

Rucker R.B., Suttie J.W., McCormick D.B., Machlin L.J., 2001, "Handbook of vitamins", Marcel Dekker Inc., New York, USA.

Sies H., 1993, "Strategies of antioxidant defense", *Eur J Biochem* 215: 213-219.

Spiteller G., 2001, "Peroxidation of linoleic acid and its relation to aging and age dependent diseases", *Mechanisms of Ageing and Development* 122: 617-657.

Subramanian M., Sreejayan N., Rao M., Devsagayam T., Singh B., 2004, "Diminution of singlet oxygen-induced DNA damage by curcumin and related antioxidants", *Mutat Res* 311: 249-255.

Sun Y.I., Oberley L.W., Ying L.I., 1988, "A simple method for clinical assay of superoxide dismutase", *Clin Chem* 34: 497-500.

Sütçü R., Altuntaş İ., Büyükvanlı B., Aktürk O., Öztürk O., Köylü H., Delibaş N., 2007, "The effects of diazinon on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat erythrocytes: role of vitamins E and C", *Toxicol Ind Health* 23: 13-17.

Sütçü R., Altuntaş İ., Yıldırım B., Karahan N., Demirin H., Delibaş N., 2006, "The effects of subchronic methidathion toxicity on rat liver: role of antioxidant vitamins C and E", *Cell Biol Toxicol* 22: 221-227.

Terrie I.M., 2002, "Markers of oxidative injury in the cerebrospinal fluid of a premature infant with meningitis and periventricular leukomalacia" *Journal of Pediatrics* 140(5).

Tunçok Y., 2000, "Acil serviste zehirlenmiş hastaya yaklaşım", *Acil Tıp Dergisi* III. Acil Tıp Sempozyumu Özel Sayısı Ekim: 59-72.

U.S. Public Health Service, 1995, "Hazardous substance data bank", Washington D.C., 5-9.

Ulakoğlu Z., Gümüştas, M., Belce, A., Altuğ, T., Kökoğlu, E., 1998, "Strese bağlı mide mukozası hasarında endojen glutatyon tükenişinin enerji metabolizması ile ilişkisi" *Cerrahpaşa J Med* 29(3): 127-131.

Uysal M., 1998, "Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada prooksidan dengiyi etkileyen koşullar", *Klinik Gelişim* 11: 336-341.

Vanneste Y., Lison D., 1993, "Biochemical changes associated with muscle fibre necrosis after experimental organophosphate poisoning", *Hum Exp Toxicol* 12: 365-370.

Vizi E.S., 2000, "Role of high-affinity receptors and membrane transporters in nonsynaptic communication and drug action in central nervous system", *Pharmacol Rev* 52: 63-90.

Vural N., 1996, "Toksikoloji", Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları 73, Ankara.

Wood E.S., Simith C.A., 1991, "Moleculer and cell biochemistry", Chapman & Hall, Hong Kong.

Yavuz O., Şanlı, Y., 1999, "Halk Sağlığı ve Vektör Kontrolünde Kullanılan Pestisidler, Pestisid Formülasyonları ve Uygulama Seçenekleri", I. Seminer, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri, Ankara.

Yavuz T., Delibaş N., Yıldırım B., Altuntaş İ., Candır O., Cora A., Karahan N., İbrişim E., Kutsal A., 2005, "Vascular wall damage in rats induced by organophosphorus insecticide methidathion", *Toxicology Letters* 155: 59-64.

Yavuz T., Delibaş N., Yıldırım B., Altuntaş I., Candır O., Cora A., Karahan N., İbrişim E., Kutsal A., 2004, "Vascular wall damage in rats induced by methidathion and ameliorating effect of vitamins E and C", *Arch Toxicol* 78: 655-659.

Yazıcı C., Köse K., 2004, "Melatonin karanlığın antioksidan gücü", *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 13(2): 56-65.

Yenson M., 1995, "İnsan Biyokimyası", Güneş Kitabevi, Ankara

Yılmaz S., Bahçecioğlu İ.H., 2000, "Lipid peroxidation, antioxidant enzymes and pyruvate kinase activity in rats with carbon tetrachloride-induced cirrhosis", *Turk J Vet Anim Sci* 24: 25-28.

Yılmaz S., Temizer O., 2003, "Meme kanserli hastalarda lipid peroksidasyonu ve bazı enzim aktiviteleri arasındaki ilişki" *Türk Biyokimya Dergisi* 28: 252-256.

Young I.S., Woodside J.V., 2001, "Antioxidants in health and disease", J Clin Pathol 54: 176-186.

Yürümez Y., Cemek M., Yavuz Y., Birdane Y.O., Büyükokuroğlu M.E., 2007, "Beneficial effect of N-Acetylcysteine against organophosphate toxicity in mice", Biol Pharm Bull 30: 490-494.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı	Ahmet BÜYÜKBEN
Doğum Yeri	Afyonkarahisar
Doğum Tarihi	06.01.1984
Medeni Hali	Bekar
Yabancı Dili	İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise	Afyonkarahisar Milli Piyango Anadolu Lisesi-2002
Lisans	Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Kimya Bölümü-2006