

**ORGANOFOSFATLI BİLEŞİKLERLE AKUT  
ZEHİRLENME TEDAVİSİNDE  
RESVERATROLÜN KORUYUCU ETKİSİ  
Uzm. Ecz. Nisa HOCAOĞLU  
Doktora Tezi**

**ORGANOFOSFATLI BİLEŞİKLERLE AKUT  
ZEHİRLENME TEDAVİSİNDE  
RESVERATROLÜN KORUYUCU ETKİSİ**

**Uzm. Ecz. Nisa HOCAOĞLU**

Doktora Tezi

ANADOLU ÜNİVERSİTESİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakoloji Anabilim Dalı

Eskişehir, Aralık 2015

**Tez Danışmanı : Prof. Dr. Yusuf ÖZTÜRK**

Bu tez çalışması, Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (Proje No. 1109S136).

#### **Jüri ve Enstitü Onayı**

Nisa HOCAOĞLU'nun, "Organofosforlu Bileşiklerle Akut Zehirlenme Tedavisinde Resveratrolün Koruyucu Etkisi" başlıklı, Farmakoloji Anabilim Dalı'ndaki Doktora tezi, 30.11.2015 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

	<b>Adı-Soyadı</b>	<b>İmza</b>
<b>Üye (Tez Danışmanı)</b>	Prof. Dr. Yusuf ÖZTÜRK Anadolu Üniversitesi	
<b>Üye</b>	Prof. Dr. Nuray ARI Ankara Üniversitesi	
<b>Üye</b>	Prof. Dr. Kevser EROL Osmangazi Üniversitesi	
<b>Üye</b>	Doç. Dr. Bülent ERGUN Anadolu Üniversitesi	
<b>Üye</b>	Doç. Dr. Rana ARSLAN Anadolu Üniversitesi	

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun  
24.11.2015... tarih ve .....31..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Prof. Dr. Bülent ERGUN

## ÖNSÖZ

Bu çalışma Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanı ve Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Yusuf ÖZTÜRK ve Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekan Yardımcısı ve Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Mehmet Emin BÜYÜKOKUROĞLU danışmanlığında Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne doktora tezi olarak sunulmuştur.

Tez çalışmam sırasında bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, bilimsel kimliğinin yanı sıra insancıl, iyiliksever yapısıyla her konuda desteğini esirgemeyen Anadolu Üniversitesi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Yusuf ÖZTÜRK'e,

Çalışmalarımın her aşamasında emek veren, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, bilimsel ve manevi desteğini her zaman hissettiğim Prof. Dr. Mehmet Emin BÜYÜKOKUROĞLU'na,

Biyokimyasal çalışmalarımın gerçekleşmesine imkan sağlayan, bilimsel desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Prof. Dr. Mustafa CEMEK'e,

İmmunohistokimyasal çalışmalarımın gerçekleşmesine imkan sağlayan, bilimsel desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Doç. Dr. Hikmet Keleş ve Yrd. Doç. Dr. Mehmet Fatih BOZKURT'a,

Tez çalışmasına yapmış olduğu finansal destek için Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu üyelerine,

Ayrıca benden hiçbir yardımı esirgemeyerek her zaman destek olan tezimin her aşamasını benimle yaşayan can dostum Doç. Dr. Duygu Kızıldağ'a,

Her zaman olduğu gibi tez çalışmalarım süresince de bana sonsuz sabır gösteren ve destek olan sevgili eşim Doç. Dr. Fatih Onur Hocaoğlu'na ve aileme,

Sonsuz sevgisi ve fedakarlıkları ile en zor zamanlarımda bile varlığından destek aldığım her an yanımda olan sevgili anneme,

Bugünleri görmesini çok istediğim, yokluğunu her zaman aradığım sevgili babama,

Varlıkları ile beni hayata bağlayan canımın parçaları oğlum Emre ve kızım Zeynep'e,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## ORGANOFOSFATLI BİLEŞİKLERLE AKUT ZEHİRLENME TEDAVİSİNDE RESVERATROLÜN KORUYUCU ETKİSİ

### ÖZET

Bu tez çalışmasında, sıçanlarda fenthion ile oluşturulan akut toksisite sonrasında farklı dozlarda resveratrol (RES) ve pralidoksimin (PAM) tek başına veya birlikte kullanımının fenthionun sebep olduğu oksidatif hasarlara karşı antioksidan ve koruyucu etkileri biyokimyasal, immünohistokimyasal ve histopatolojik yöntemlerle araştırılmıştır.

Akut fenthion toksisitesi sonrasında sıçan kan örneklerinde malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH), askorbik asit, retinol,  $\beta$ -karoten düzeyleri, eritrositlerde süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzim aktiviteleri ve karaciğer, kalp, böbrek, beyin, akciğer dokularında MDA ve GSH düzeyleri biyokimyasal yöntemlerle incelenmiştir. Bununla birlikte karaciğer dokusunda immünohistokimyasal ve histopatolojik incelemeler yapılmıştır.

Tüm toksikasyon gruplarında LPO belirteci MDA'nın arttığı görülmüştür. Tüm tedavi gruplarında RES ve PAM MDA düzeyini düşürerek lipit peroksidasyonunu (LPO) azaltmıştır. RES ve PAM fenthionun sebep olduğu retinol ve  $\beta$ -karoten kaybını önlemiştir. Fenthion SOD, GSH-Px ve KAT aktivitesini arttırmıştır. Ancak tedavi gruplarında kontrole göre anlamlı bir değişiklik olmamıştır. Fenthionun karaciğer, beyin, böbrek ve kalp dokularında LPO'nu arttırdığı, RES'un karaciğer, beyin ve kalpte oluşan LPO'nu anlamlı şekilde azalttığı görülmüştür.

Karaciğerin histopatolojik incelemesinde tedavi gruplarında, toksikasyon grubunda meydana gelen lezyonların azaldığı tespit edilmiştir. İmmünohistokimyasal incelemede zehirlenme tüm gruplarda apoptozise kadar varan seviyeye ulaşmasa da fenthionun yol açtığı apoptozisi RES artan dozlarda durdurmuştur. PAM da RES kadar başarılı olmuştur.

Sonuç olarak, RES, fenthionun sebep olduğu LPO'nu ve oksidatif hasarı önlemiş, karaciğerde oluşan doku hasarını azaltarak OF zehirlenmesinin zararlarına karşı koruyucu etki göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Oksidatif stres, lipit peroksidasyonu, fenthion, resveratrol, pralidoksimin

## **THE PROTECTIVE EFFECTS OF RESVERATROL IN THE TREATMENT OF ACUTE POISONING WITH ORGANOPHOSPHATE COMPOUNDS**

### **ABSTRACT**

In this thesis, the antioxidant and protective effects of resveratrol (RES), pralidoxime (PAM) alone and together in different doses against oxidative damage induced by acute fenthion toxicity were investigated by biochemical, immunohistochemical and histopathological methods in rats.

After fenthion-induced acute toxicity, malondialdehyde (MDA), reduced-glutathione (GSH), ascorbic acid, retinol,  $\beta$ -carotene levels in blood samples, erythrocyte superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px) enzyme activities and liver, heart, kidney, brain, lung tissue MDA, GSH levels were investigated by biochemical methods. Furthermore immunohistochemical and histopathological examinations of liver tissues were studied.

It was observed that LPO marker MDA was increased in all toxication groups. In all treatment groups RES and PAM decreased the MDA levels and reduced fenthion-induced LPO. RES and PAM prevented the loss of retinol and  $\beta$ -carotene levels. There was no significant difference in the SOD, GSH-Px and CAT activities in treatment groups. It was observed that fenthion increased the LPO in liver, brain, kidney and heart tissues. However RES decreased the LPO in liver, brain and heart tissues.

It was obtained from the histopathological examination of the liver that the lesions occurred in the intoxication group were decreased in treatment groups. Immunohistochemical analysis showed that poisoning didn't reach up to apoptosis level in all groups. However in the immunohistochemical stainings, RES prevented apoptosis. PAM was at least as effective as RES.

As a result, RES prevented the LPO and oxidative damage induced by fenthion and showed protective effects in the liver tissues against the damage caused by OF poisoning.

**Key Words:** Oxidative stress, lipid peroxidation, fenthion, resveratrol, pralidoxime

<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>SAYFA</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>i</b>
<b>ÖNSÖZ</b>	<b>ii</b>
<b>ÖZET</b>	<b>iii</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>iv</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b>	<b>viii</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	<b>ix</b>
<b>SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ</b>	<b>xi</b>
<b>GİRİŞ ve AMAÇ</b>	<b>1</b>
<b>KAYNAK BİLGİSİ</b>	<b>3</b>
<i>Oksidatif Stres</i>	<b>3</b>
<i>Serbest Radikaller</i>	<b>3</b>
<i>Serbest Radikallerin Kaynakları</i>	<b>7</b>
<i>Serbest Radikallerin Etkileri</i>	<b>8</b>
<b>Antioksidan Savunma Sistemleri</b>	<b>11</b>
<i>Enzimatik Antioksidanlar</i>	<b>11</b>
<i>Enzimatik Olmayan Antioksidanlar</i>	<b>13</b>
<b>Polifenoller</b>	<b>15</b>
<b>Resveratrol</b>	<b>15</b>
<i>Resveratrolun Kimyasal Yapısı</i>	<b>16</b>
<i>Resveratrolün Farmakokinetiği</i>	<b>16</b>
<i>Resveratrolün Biyolojik Aktiviteleri</i>	<b>17</b>
<b>Organofosfatlı Bileşikler</b>	<b>22</b>
<b>Organofosfatlı bileşiklerinin genel kimyasal özellikleri</b>	<b>22</b>
<b>Fenthion</b>	<b>23</b>
<i>Kullanım alanları</i>	<b>23</b>
<i>Fenthionun Fizikokimyasal Özellikleri</i>	<b>24</b>
<i>Fenthionun Farmakokinetiği</i>	<b>24</b>
<i>Fenthion Toksisitesinin Etki Mekanizması</i>	<b>25</b>
<i>Klinik Zehirlenme Bulguları</i>	<b>26</b>
<i>Organofosfatlı bileşiklerin diğer etkileri</i>	<b>28</b>

<i>Organofosfatlı bileşikler ile zehirlenmede tanı yöntemleri</i>	29
<i>Organofosfatlı Bileşiklerle Zehirlenmede Tedavi Yöntemleri</i>	30
<i>Organofosfat Zehirlenmesinde Oksim Tedavisi</i>	30
<i>Organofosfatlar ve Reaktif Oksijen Türleri Arasındaki İlişki</i>	33
<b>GEREÇLER</b>	35
<b>Deney Hayvanları</b>	35
<b>Kullanılan Kimyasal Madde ve İlaçlar</b>	35
<b>Kullanılan Cihazlar ve Kitler</b>	36
<b>YÖNTEMLER</b>	37
<b>Sıçanların Hazırlanması</b>	37
<b>Deney Grupları</b>	37
<b>Kan Örneklerinin Alınması</b>	37
<b>Doku Örneklerinin Hazırlanması</b>	38
<b>Eritrosit Paketlerinin Hazırlanması</b>	38
<b>Biyokimyasal Analizler</b>	38
<b>Kanda Malondialdehit (MDA) Tayini</b>	38
<b>Kanda Glutatyon (GSH) Tayini</b>	38
<b>Kanda Askorbik Asit Tayini</b>	39
<b>Kanda Retinol ve <math>\beta</math>- karoten Tayini</b>	39
<b>Dokularda MDA Tayini</b>	40
<b>Dokularda GSH Tayini</b>	40
<b>GSH-Px Enzim Aktivite Tayini</b>	40
<b>SOD Enzim Aktivite Tayini</b>	41
<b>KAT Enzim Aktivite Tayini</b>	41
<b>Organların İzolasyonu</b>	41
<b>İmmunhistokimyasal Yöntemler</b>	41
<b>İmmunohistokimyasal Bax Boyama Yöntemi</b>	42
<b>İmmunhistokimyasal Bcl-2 Boyama Yöntemi</b>	42
<b>İmmunhistokimyasal Kaspaz-3 Boyama Yöntemi</b>	42
<b>İmmunhistokimyasal Kaspaz-8 Boyama Yöntemi</b>	42
<b>TUNEL yöntemi</b>	42



<b>İstatistiksel Analizler</b>	<b>43</b>
<b>BULGULAR</b>	<b>44</b>
<b>Biyokimyasal Bulgular</b>	<b>44</b>
<b>Kan MDA Düzeyine İlişkin Bulgular</b>	<b>45</b>
<b>Kan GSH Düzeyine İlişkin Bulgular</b>	<b>45</b>
<b>Kan Askorbik Asit Düzeyine İlişkin Bulgular</b>	<b>46</b>
<b>Kan Retinol Düzeyine İlişkin Bulgular</b>	<b>46</b>
<b>Kan <math>\beta</math>-Karoten Düzeylerine İlişkin Bulgular</b>	<b>47</b>
<b>Çizelge 2. Çalışma Gruplarına İlişkin Elde Edilen SOD, GSH-Px, KAT Değerleri</b>	<b>47</b>
<b>Kanda SOD Enzim Aktivitesine İlişkin Bulgular</b>	<b>48</b>
<b>Kanda GSH-Px Enzim Aktivitesine İlişkin Bulgular</b>	<b>48</b>
<b>Kanda KAT Enzim Aktivitesine İlişkin Bulgular</b>	<b>49</b>
<b>Beyin Dokusunda MDA Düzeyine İlişkin Bulgular</b>	<b>51</b>
<b>Karaciğer Dokusunda MDA Düzeyine İlişkin Bulgular</b>	<b>51</b>
<b>Böbrek Dokusunda MDA Düzeyine İlişkin Bulgular</b>	<b>52</b>
<b>Kalp Dokusunda MDA Düzeyine İlişkin Bulgular</b>	<b>52</b>
<b>Akciğer Dokusunda MDA Düzeyine İlişkin Bulgular</b>	<b>53</b>
<b>Beyin Dokusunda GSH Düzeyine İlişkin Bulgular</b>	<b>55</b>
<b>Karaciğer Dokusunda GSH Düzeyine İlişkin Bulgular</b>	<b>56</b>
<b>Böbrek Dokusunda GSH Düzeyine İlişkin Bulgular</b>	<b>57</b>
<b>Kalp Dokusunda GSH Düzeyine İlişkin Bulgular</b>	<b>57</b>
<b>Akciğer Dokusunda GSH Düzeyine İlişkin Bulgular</b>	<b>58</b>
<b>İmmunohistokimyasal Bulgular</b>	<b>59</b>
<b>TARTIŞMA</b>	<b>61</b>
<b>SONUÇ ve ÖNERİLER</b>	<b>82</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>84</b>

## ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE NO ve ADI	SAYFA
Çizelge 1 Çalışma Gruplarına İlişkin Elde Edilen MDA, GSH, Askorbik Asit, Retinol, $\beta$ -Karoten Değerleri	44
Çizelge 2 Çalışma Gruplarına İlişkin Elde Edilen SOD, GSH-Px, KAT Değerleri	47
Çizelge 3 Çalışma Gruplarına İlişkin Elde Edilen Beyin, Karaciğer, Böbrek, Kalp ve Akciğer Doku MDA Değerleri	49
Çizelge 4 Çalışma Gruplarına İlişkin Elde Edilen Beyin, Karaciğer, Böbrek, Kalp ve Akciğer Doku GSH Değerleri	54

## ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL NO ve ADI	SAYFA	
Şekil 1	GSH GSSG Döngüsü	14
Şekil 2	Resveratrolün Kimyasal Yapısı	16
Şekil 3	Resveratrolün Antioksidan Aktivite Mekanizması	20
Şekil 4	Organofosfatların Genel Kimyasal Yapıları	23
Şekil 5	Fenthionun Kimyasal Yapısı	23
Şekil 6	Fenthionun Desülfürasyonu	25
Şekil 7	AKE'ın İnhibisyonu, Yaşlanma ve Enzimin Reaktivasyonu	26
Şekil 8	Oksimlerin Genel Kimyasal Yapısı	31
Şekil 9	Kan MDA (nmol/ml) Düzeyine İlişkin Bulgular	45
Şekil 10	Kan GSH (mg/dl) Düzeyine İlişkin Bulgular	45
Şekil 11	Kan Askorbik Asit (mg/dl) Düzeyine İlişkin Bulgular	46
Şekil 12	Kan Retinol (mg/dl) Düzeyine İlişkin Bulgular	46
Şekil 13	Kan $\beta$ -Karoten ( $\mu$ g/dl) Düzeyine İlişkin Bulgular	47
Şekil 14	Kanda SOD (U/ml) Aktivitesine İlişkin Bulgular	48
Şekil 15	Kanda GSH-Px (U/I) Enzim Aktivitesine İlişkin Bulgular	48
Şekil 16	Kanda KAT (kU/I) Enzim Aktivitesine İlişkin Bulgular	49
Şekil 17	Çalışma Gruplarına İlişkin Elde Edilen Beyin, Karaciğer, Böbrek, Kalp ve Akciğer Doku MDA Değerleri	50
Şekil 18	Beyin Dokusu MDA (nmol/ml) Düzeyine İlişkin Bulgular	51
Şekil 19	Karaciğer Dokusu MDA (nmol/ml) Düzeyine İlişkin Bulgular	51
Şekil 20	Böbrek Dokusu MDA (nmol/ml) Düzeyine İlişkin Bulgular	52
Şekil 21	Kalp Dokusu MDA (nmol/ml) Düzeyine İlişkin Bulgular	52
Şekil 22	Akciğer Dokusu MDA (nmol/ml) Düzeyine İlişkin Bulgular	53
Şekil 23	Çalışma Gruplarına İlişkin Elde Edilen Beyin, Karaciğer, Böbrek, Kalp ve Akciğer Doku GSH Değerleri	55
Şekil 24	Beyin Dokusu GSH (nmol/ml) Düzeyine İlişkin Bulgular	55
Şekil 25	Karaciğer Dokusu GSH (nmol/ml) Düzeyine İlişkin Bulgular	56
Şekil 26	Böbrek Dokusu GSH (nmol/ml) Düzeyine İlişkin Bulgular	57

<b>Şekil 27</b>	Kalp Dokusu GSH (nmol/ml) Düzeyine İlişkin Bulgular	57
<b>Şekil 28</b>	Akciğer Dokusu GSH (nmol/ml) Düzeyine İlişkin Bulgular	58
<b>Şekil 29</b>	Tüm gruplarda HE, Bax, Bcl-2, TUNEL, Kaspaz- 3 ve Kaspaz- 8'e İlişkin Mikroskopik Görüntüler	59

## SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

AK	: Asetilkolin
AKE	: Asetilkolinesteraz enzimi
ADP	: Adenozin difosfat
Cys	: L-sistein
COX	: Siklooksijenaz
DNA	: Deoksiribonükleik asit
e <sup>-</sup>	: Elektron
eNOS	: Endotelyal nitrik sentetaz
FADH <sub>2</sub>	: Flavin adenin dinükleotid
FAD <sup>+</sup>	: İndirgenmiş flavin adenin dinükleotid
Gly	: Glisin
GSH-Px	: Glutatyon peroksidaz
GSH	: Glutatyon
GSH-Rx	: Glutatyon reduktaz
GSSG	: Okside glutatyon
GST	: Glutatyon S-transferaz
HDL	: Yüksek dansiteli lipoprotein
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrojen peroksit
HOCl	: Hipokloröz asit
KAT	: Katalaz
LOOH	: Lipit hidroperoksit
LPO	: Lipid peroksidasyonu
MA	: Molekül ağırlığı
MDA	: Malondialdehit
MSS	: Merkezi sinir sistemi
NAD <sup>+</sup>	: İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid
NADH	: Nikotinamid adenin dinükleotid
nm	: Nanometre
NO <sub>2</sub>	: Azot dioksit
NOS	: Nitrik oksit sentetaz
NO <sup>•</sup>	: Nitrik oksid radikali
O <sub>2</sub> <sup>•-</sup>	: Süperoksit radikali
O <sub>2</sub> <sup>••</sup>	: Oksijen diradikali

$^1\text{O}_2$	: Singlet oksijen
OC1	: Organoklor
OF	: Organofosfat
OFB	: Organofosfatlı Bileşik
OH $\cdot$	: Hidroksil radikali
ONOO $^-$	: Peroksinitrit
O-O	: Diradikal
OPH	: Organofosfat hidrolaz
OSS	: Otonom sinir sistemi
PAM	: Pralidoksim
PUFA	: Doymamıs yağ asitleri
RES	: Resveratrol
RNA	: Ribonukleik asit
RNT	: Reaktif Nitrojen Türleri
ROO $\cdot$	: Peroksil radikali
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
RST	: Reaktif Sülfür Türleri
Se	: Selenyum
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBA	: Tiyobarbiturik asit
TEPP	: Tetraetilpirofosfat
$\gamma$ -Glu	: L-glutamik asit

## GİRİŞ ve AMAÇ

Pestisitler hem tarımsal üretimin artırılması hem de toplum sağlığı açısından çok önemli bir yere sahiptir. Ancak üretim, ambalajlama ya da kullanımları sırasında gerekli özenin gösterilmemesi ya da intihar gibi suistimale bağlı olarak, kasti ya da kazai mesleki temas nedeniyle ciddi zehirlenmelere hatta bazen ölümlere sebep olabilmektedir (Özkaya ve ark., 2012).

Organofosfat içeren kimyasallar ülkemizde ve dünyada en sık kullanılan pestisitlerden olup sıklıkla zehirlenme vakalarına yol açmaktadır (Kozacı ve ark., 2012).

Lipofilik yapıları nedeniyle emilimleri çok hızlı olmakla birlikte vücudun bütün bölgelerine dağılarak toksik etkilerini dakikalar içinde gösterebilmektedirler (Thiermann ve ark., 2007). Organofosfatlı bileşikler esas etkilerini asetilkolinesteraz enzimi üzerinden göstermekle birlikte, bu enzime geri dönüşsüz bağlanmak suretiyle nöral sinapslarda ve nöromuskuler kavşakta asetilkolinin (AK) aşırı birikimine bağlı olarak kolinerjik reseptörlerin aşırı uyarılmasına sebep olur (Worek ve ark., 2005). Bu uyarı sonucu AK'in aşırı birikmesi sinapslarda kolinerjik, muskarinik ve nikotinik belirtilerin ortaya çıkmasına sebep olmaktadır (Ojha ve ark., 2011).

OFB etkilerini sadece sinir sistemi üzerinde göstermeyip immün sistem, pankreas, karaciğer, üreme sistemi, hematolojik sistemler de gösterir. Bir önemli özelliği de farklı dokularda reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumuna bağlı olarak oksidatif stres oluşturmaktır (Kanter ve Çelik, 2011).

Oluşan ROT etkisini hücre membranındaki fosfolipitlere bağlanmak suretiyle gösterir ki bu da lipit peroksidasyonu olarak adlandırılan ilerleyici özellikteki zincir reaksiyonların sonucunda hücrenin membran bütünlüğünün bozulması ile sonuçlanmaktadır (Halliwell, 2011; Kalyanaraman, 2013).

Antioksidanlar vücutta oluşan oksidatif strese karşı endojen ya da eksojen yapıda olarak ROT'nin oluşturabileceği hasarları ortadan kaldıran, lipit peroksidasyonu gibi daha fazla radikal üretimini tetikleyen zincir reaksiyonları durdurarak etki gösteren maddelerdir (Halliwell, 2011).

Resveratrol (trans 3,5,4'-trihidroksistilben), en fazla kırmızı üzümün kabuk ve çekirdeklerinde bulunan bitkisel kaynaklı polifenolik bir bileşiktir. Resveratrolün çeşitli çalışmalarla serbest radikalleri temizleyerek, metal iyonlarını bağlayarak ve bazı enzimleri etkileyerek antioksidan aktivite gösterdiği saptanmıştır (Pandey ve ark., 2011).

Aynı şekilde resveratrolün *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar sonucu karaciğer hasarında koruyucu olabileceği de düşünülmektedir (McGill ve ark., 2015).

Pralidoksim irreversibl olarak inhibe edilmiş asetilkolinesteraz enzimini AKE tekrar reaktive eden oksim yapısında bir bileşiktir (Chugh ve ark., 2005).

Bu tez çalışmasında fenthionun oluşturduğu oksidatif stresin kanda ve dokulardaki etkileri, kuvvetli bir antioksidan olan resveratrolün fenthion zehirlenmesi sonrasında kan ve dokulardaki etkileri, AKE reaktivatörü olan pralidoksimin fenthion zehirlenmesi sonrasında kan ve dokulardaki etkileri ve resveratrol ve pralidoksimin fenthionun oluşturduğu toksikasyonda iyileştirici

etkileri olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca immünohistokimyasal ve histopatolojik incelemeler sonucu fenthion toksisitesinin karaciğer dokularındaki etkileri, pralidoksim ve resveratrol uygulamasının oluşan hasarı önlemede veya geri döndürmede etkin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

Bu tez çalışmasında, sıçanların kan örneklerinde organofosfatlı bileşik fenthion ile oluşturulan akut toksisite sonucunda oksidatif stres parametrelerinden MDA, GSH, askorbik asit, retinol,  $\beta$ -karoten düzeyleri incelenmiştir. Ayrıca SOD, KAT, GSH-Px enzim aktiviteleri ve karaciğer, kalp, böbrek, beyin, akciğer dokularında MDA ve GSH düzeyleri biyokimyasal yöntemlerle incelenmiştir. Bununla birlikte karaciğer dokusunda immünohistokimyasal ve histopatolojik incelemeler yapılmış, bu hayvanlarda zehirlenmeye bağlı oluşan oksidatif stresin farklı dozlarda resveratrol ve pralidoksim ve bunların kombinasyonu ile tedavisinin etkinliği araştırılmıştır.



## KAYNAK BİLGİSİ

### *Oksidatif Stres*

Biyolojik sistemlerde biyokimyasal tepkimelerin devamlı olduğu göz önünde bulundurulacak olursa organizmada da devamlı bir oksidan madde üretimi olmaktadır. Organizma bu oksidan madde üretimini antioksidan adı verilen oksidan temizleyici maddeler ile etkisizleştirilmek suretiyle dengelemektedir. Oksidan ve antioksidanlar arasındaki denge çeşitli hüresel ve biyolojik etmenlerce bozulabilmektedir (Kohen ve Nyska, 2002). Organizmada antioksidan sistemler ile serbest radikaller arasındaki dengenin radikaller yönünde bozulması ile hücre hasarı oluşturması haline oksidatif stres denir (Sies, 1997). Oksidatif strese neden olan faktörler artmış oksijen konsantrasyonu; normalin üzerinde sayıda fagositin aktive olması; normal şartlar altında oluşan reaktif oksijen türlerine karşı hücreleri koruyacak antioksidan sistemlerin bir nedenle azalmış olmasıdır. Hücreler hafif oksidatif stresi tek başlarına tolere edebilseler de çoğunlukla antioksidan enzim sistemlerini aktive ederler. Ancak hücre içi savunma sistemlerinin yeterli olamadığı durumlarda oksidanlar ile antioksidanlar arasındaki denge bozulmakta, dolayısıyla hücrenin ana bileşenlerinden oksidan hasara duyarlı DNA, protein, karbonhidratlar ve lipitler gibi makromoleküller zarar görmektedir (Halliwell, 1996; Gutteridge, 1994; Thomas, 1995; Sies, 1997). Bu durum hücre hasarı ve ilerisinde hücre ölümüne kadar gidebilen sonuçlara yol açabilmektedir. Son yıllarda bu yapılara zarar vermesiyle hücre yapısının bozulmasında ve buna bağlı hastalıkların oluşmasında oksidatif stresin rolü büyük önem kazanmıştır (Kehrer, 1993; Gutteridge, 1995; Mates ve ark., 1999; Halliwell, 2011; Vaya, 2013).

### *Serbest Radikaller*

Serbest radikaller, dış orbitallerinde bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron ( $e^-$ ) bulunduran, ortaklanmamış elektronunu bir başka moleküle vererek veya bir başka molekülden alarak daha kararlı hale gelme eğiliminde olan atom veya moleküller hidrojen atomunu, eşlenmemiş ( $e^-$ ), geçiş metallerini ve oksijen molekülünü ifade etmektedir. Eşlenmemiş  $e^-$  bir atomik orbitali tek başına işgal eden, kararsız yapıdaki elektrondur. Bu tarz atom veya moleküller yapılarındaki kararsızlık nedeniyle oksidasyon ve redüksiyon gibi elektron transferi olan reaksiyonlara açıktırlar (Machlin ve Bendich, 1987; Fang ve ark., 2002; Kalyanaraman, 2013).

Serbest radikaller, molekülü oluşturan kovalent bağın homolitik yarılmaları sonucunda eşlenmiş elektronlardan her birinin ayrı parçada kalması ile; molekülün yapısındaki atomlardan birisinden elektron uzaklaştırılması ile veya molekülün yapısına elektron eklenmesi ile oluşmaktadır (Kehrer, 1993; Halliwell, 2006a).

Serbest radikaller, reaktif oksijen türleri (ROT), reaktif nitrojen türleri (RNT), reaktif sülfür türleri (RST) ve diğer reaktif radikaller (R) olmak üzere dört gruba ayrılmaktadırlar (Pryor, 1982; Darley-Usmar ve Halliwell, 1996; Kolluru ve ark., 2013).

Yapısında moleküller oksijenden türemiş atom veya atom grupları olan oksijen radikalleri biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikallerdendir (Halliwell ve

Chirico, 1993). Reaktif oksijen türleri mitokondrideki elektron transport zincirindeki reaksiyonlar sırasında, enzimatik ve enzimatik olmayan tepkimeler sırasında veya dış etkenlerin etkisiyle oluşabilirler (Halliwell, 2011).

#### *Singlet Oksijen ( $^1O_2$ )*

Oksijen molekülündeki aynı yönde dönen iki elektrona sahip 2p son orbitallerinden herhangi birindeki elektron bir orbitalden diğerine geçtiğinde veya farklı orbitallerde farklı yönlerde döndüğünde singlet oksijen ( $^1O_2$ ) oluşmaktadır.  $^1O_2$ , süperoksit radikalının dismutasyonu, Haber-Weiss tepkimesi ve hidrojen peroksidin hipoklorit ile veya peroksinitrit ile reaksiyonu sonucunda oluşabildiği gibi oksijen elektronlarından birinin dışarıdan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünün tersi yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi ile de oluşabilmektedir (Pryor; 1982; Darley-USmar ve Halliwell, 1996; Halliwell, 2006a; Kalyanaraman, 2013).

Diğer serbest radikallerle kolaylıkla reaksiyona girerken radikal olmayan maddelerle daha yavaş reaksiyona girmektedir. Aynı zamanda derideki artmış fotosensitizasyon reaksiyonları da önemli bir oluşum kaynağıdır. Ozonun vücut sıvıları ile reaksiyonu, peroksinitritin ( $ONOO^-$ ) hidrojenperoksit ( $H_2O_2$ ) ile reaksiyonu sonucu da  $^1O_2$  oluşabilmektedir (Halliwell, 1991; Halliwell, 2006b; Kalyanaraman, 2013).

#### *Süperoksit Radikali ( $O_2^-$ )*

Moleküler oksijenin dış orbitallerinde paylaşılmamış iki elektron bulunur. Bu elektronlar ayrı ayrı orbitallerde iken, paylaşılmadıklarında ya da spinleri aynı yönde olduğu zaman en düşük enerji seviyesinde bulunmaktadırlar. Bu orbitaller birer elektron daha kabul edebilirler. Bu orbitallerin tek elektron alması ile  $O_2^-$ , iki elektron alması ile peroksi ( $O_2^{=}$ ) oluşmaktadır (Halliwell ve ark., 1995; Fridovich, 1997; Kalyanaraman, 2013). Süperoksit radikali moleküler oksijenin indirgenmesinde ara basamaktır. Hücre ortamında üretilen süperoksit indirgeyici ya da oksitleyici olarak davranabilmektedir. Kendisi yıkıcı özellik göstermekle beraber diğer birçok reaktif oksijen türünün de çıkış kaynağıdır. Hücre içi kimyasal reaksiyonlarda oksijen elektron alarak en son suya indirgenmektedir. %98 oranında mitokondrilerde gerçekleşen bu indirgenme sonucunda çok reaktif ürünler olan  $O_2^-$  radikali, hidroksil radikali ( $OH^-$ ) ve  $H_2O_2$  meydana gelmektedir. Bunlardan  $OH^-$   $O_2^-$  ve  $H_2O_2$  'e göre daha toksiktir. (Halliwell ve Chirico, 1993; Halliwell, 1995; Kohen ve Nyska, 2002; Fang ve ark., 2002; Bayr, 2005; Halliwell, 2006a).

$O_2^-$  canlılarda çeşitli mekanizmalarla oluşabilmektedir. Mitokondriyel solunum zincirinde nikotinamid adenin dinükleotid (NADH) (Kompleks I)'ın indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotide ( $NAD^+$ ) 'a ve flavin adenin dinükleotid ( $FADH_2$ )' ın indirgenmiş ( $FAD$ )'a okside olması sırasında, indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid dehidrojenaz (NADH dehidrojenaz) (Kompleks I) ve koenzim Q gibi elektron taşıyıcılardan oksijene elektron kaçağı sonucu  $O_2^-$  oluşabilmektedir. Mitokondriyel solunum zincirindeki oksijenin yaklaşık %2'si bu şekilde süperoksite dönüşebilmektedir (Valko ve ark., 2007). Malathion ve diazinonun elektron taşıma zincirinde glutamatdehidrojenaz enzimini indükleyerek oluşan  $e^-$  kaçağı sonucu oksidatif strese sebep olduğu bildirilmiştir (Jamshidi ve ark., 2009). İndirgeyici özellikteki bazı biyolojik moleküller

hidrokinonlar, tiyoller, katekolaminler, flavinler, indirgenmiş nükleotidler oksijene tek elektron verip kendileri yükseltgenirken süperoksit radikali oluşabilmektedir (Fridovich,1997; Kohen ve Nyska, 2002; Valko ve ark., 2007; Halliwell, 2011; Karami-Mohajeri ve Abdollahi, 2013).

Çeşitli oksidazlar ve dehidrojenazlar gibi enzimlerin katalitik etkisi sırasında  $O_2^-$  radikali oluşabilmektedir. Hücre membranındaki siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimleri lökosit membranındaki, NADPH oksidaz enzimi, sitoplazmadaki ksantin oksidaz ve triptofan dehidrojenaz enzimleri aracılığıyla da süperoksit radikali oluşabilmektedir (Kohen ve Nyska, 2002).

Çeşitli patolojik durumlarda aktive edilen fagositik hücreler (nötrofiller, monositler, makrofajlar)  $O_2^-$  üreterek  $O_2^-$  'i fagozom içine ve buldukları ortama vermektedir. Antibakteriyel savunma mekanizması için gerekli olan bu radikal yapımı daha reaktif türlerin oluşumuna da neden olabilmektedir. Fagositik hücreler (nötrofiller, monositler, makrofajlar ve eozinofiller), çeşitli biyolojik hedeflerin parçalanmasına sebep olan ve enfeksiyona karşı hücrel cevabı başlatan hücrelerdir. Solunumsal patlama sırasında fagositik hücrelerde diğer reaktif oksijen ürünleriyle beraber süperoksit radikali de oluşmaktadır. Nötrofillerde süperoksit radikali plazma membranının dış yüzeyine yerleşmiş bulunan NADPH oksidaz aracılığı ile oluşmaktadır. Fagositik hücre uyarıldıktan sonra NADPH oksidaz aktive olarak NADPH'tan iki elektron alınarak iki molekül oksijene aktarılmaktadır. Böylece iki molekül süperoksit oluşmaktadır (Halliwell ve ark., 1995; Halliwell, 2006b; Kalyanaraman, 2013).

Geçiş metallerinin eser miktarlarının varlığında monoaminlerin (dopamin, adrenalin, noradrenalin), flavinlerin ve hemoglobinin otooksidasyonu ile de süperoksit oluşmaktadır (Cross ve Jones, 1991).

Yarı ömrü çok kısa olan  $O_2^-$  radikali hızlı bir şekilde başka bir  $O_2^-$  ile reaksiyona girerek  $H_2O_2$  oluşturabilmektedir (Kalyanaraman, 2013). Süperoksit radikali hücre zarlarının hidrofobik ortamlarında daha uzun ömürlüdür ve çözünürlüğü daha fazladır. Fosfolipitler nedeniyle hücre zarı yüzeyleri daha asidiktir ve süperoksit radikali burada daha kolay bir şekilde proton alarak hidroperoksit radikalini oluşturabilmektedir. Bu radikal de çok reaktif olup hücre zarlarında lipid peroksidasyonunu başlatabilmekte ve antioksidanları yükseltgeyebilmektedir (Kohen ve Nyska, 2002).  $O_2^-$  metal iyonlarını indirgeyerek bağlı oldukları proteinlerden salınımına neden olup metal iyonlarının katıldığı hidroksil radikali yapım tepkimelerini hızlandırabilmektedir (McCord ve Fridovich, 1969; Halliwell ve Chirico, 1993; Halliwell, 1999; Kohen ve Nyska, 2002; Halliwell, 2011).

$O_2^-$  ferrisitokrom C'nin redüksiyonunda bir elektron kaybederek oksijene okside olabilmektedir. Bu reaksiyonlar süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından inhibe edilir. Bundan yararlanılarak SOD enzim aktivitesi ve fagositler tarafından üretilen  $O_2^-$  tayini yapılabilmektedir (Halliwell, 2006b).

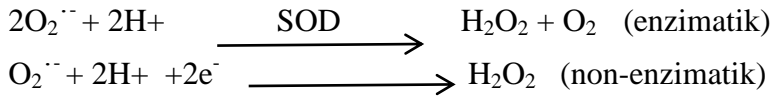
Süperoksit radikalının reaktivitesi diğer radikallerle kıyaslandığında çok düşüktür. Bu radikal oluşumuna neden olduğu  $OH^-$ ,  $H_2O_2$  gibi diğer radikallerle birlikte organizmada oksitleyici gibi davranmaktadır. Süperoksit radikalının biyolojik sistemlerdeki en önemli reaksiyonu dismutasyon reaksiyonudur. Artmış süperoksit düzeyi, SOD enzimi tarafından katalizlenen dismutasyon tepkimesi ile ya da hafif asidik koşullarda SOD olmaksızın kendiliğinden gerçekleşen tepkime

sonucu azaltılır. SOD enzimiyle katalizlenen dismutasyon tepkimesi spontan dismutasyondan  $10^9$  kat daha hızlıdır (Babior ve ark.,1973; Hinder,1991; Halliwell ve Susanna, 1993; Mates, 2000).

SOD enziminin yüksek katalitik etkisi ile hücrelerde süperoksit birikimine izin verilmemekle birlikte çeşitli patolojik olaylar sonucu süperoksite özgü tepkimeler görülebilir. Süperoksit radikali metal iyonlarını indirgeyerek bağlı olduğu proteinlerden salınımına neden olabilmektedir. Kofaktörlerin oksidasyon düzeyini bozarak metal iyonlarının katıldığı  $\text{OH}^\cdot$  radikali yapım tepkimelerini hızlandırabilmektedir. Diğer radikallere göre daha az reaktif olsa da bazı aminoasitleri ve antioksidan bileşikleri oksitleyebilmektedir (Fridovich, 1997; Kohen ve Nyska, 2002; Johnson ve Giulivi, 2005).

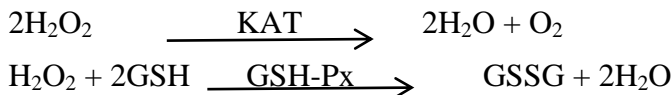
#### *Hidrojen Peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )*

$\text{O}_2^\cdot$  radikallerinin enzimatik olarak SOD ile reaksiyonu veya hafif asidik koşullarda SOD olmaksızın non-enzimatik dismutasyon tepkimeleri oluşur. SOD olmaksızın gerçekleşen dismutasyon reaksiyonu pH 4.8'de en hızlıdır. Enzimatik dismutasyonda SOD enzimi katalizörlüğünde daha geniş bir pH aralığında reaksiyon gerçekleşebilmektedir (Halliwell, 1993).



$\text{H}_2\text{O}_2$  aslında serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri içine girmektedir. Çünkü süperoksit ile tepkimeye girerek en reaktif ve zarar verici serbest radikal olan  $\text{OH}^\cdot$  radikalini oluşturmaktadır (Haber-Weiss Tepkimesi). Ayrıca  $\text{H}_2\text{O}_2$  proteinleri, tiyol grubu içeren enzimleri, fosfolipidleri, karbonhidratları ve DNA'yı hedef alıp serbest  $\text{Fe}^{+2}$  ile tepkimeye girerek yine  $\text{OH}^\cdot$  radikalinin oluşumuna sebep olmaktadır (Fenton Tepkimesi) (Halliwell ve ark., 1995; Mates ve ark., 1999; Halliwell, 2006a).

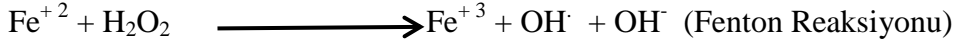
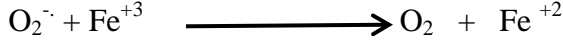
$\text{H}_2\text{O}_2$  moleküler yapısında su bulunmasından dolayı biyolojik membranları kolayca difüze olabilmektedir. Süperoksit radikalinde bu özellik bulunmamaktadır (Halliwell ve Chirico, 1993). Hidrojen peroksitin detoksifikasyonu ya antioksidan katalaz (KAT) enzimi aracılığı ile ya da yine başka bir antioksidan olan glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimi aracılığı ile gerçekleştirilmektedir. Her iki reaksiyonda da hidrojen peroksit suya dönüştürülerek toksik etkisi giderilmektedir. KAT ile tepkimeden farklı olarak GSH-Px ile gerçekleşen detoksifikasyon sırasında antioksidan özellik gösteren glutatyon da (GSH) tepkimede yer almaktadır (Mates, 1999; Halliwell, 2006a).



#### *Hidroksil Radikali ( $\text{OH}^\cdot$ )*

Reaktif oksijen türleri arasında en reaktif özelliğe sahip olan radikaldir. Organizmada amino asitlerin, nükleik asitlerin, fosfolipidlerin ve karbonhidratların yapısına girebilirler.  $\text{OH}^\cdot$  radikali canlılarda çeşitli mekanizmalar ile oluşabilmektedir. Suyun yüksek enerjili iyonize radyasyona maruz kalması sonucu; hidrojen peroksit ve süperoksit anyonunun geçiş metalleri

katalizörlüğünde (Fenton ve Haber-Weiss Reaksiyonu) etkileşmesi sonucu oluşabilmektedir. Hidrojen peroksit,  $O_2^-$  radikali ile ortamda geçiş metal iyonlarının varlığında hızlı bir şekilde reaksiyona girerek  $OH^-$  radikali oluşturabilmektedir (Gutteridge, 1995).



$OH^-$  radikali hücre membranındaki yağ asitleri, proteinler, karbonhidratlar, DNA gibi elektronca zengin yapılarla reaksiyona girebilmektedir. DNA ile tepkime sonucu gerçekleşen zincir kırılmaları, baz modifikasyonları sonucunda da hücre ölümü oluşabilmektedir. Proteinlerin ve özellikle hücre zarındaki lipidlerin yapısını bozarak lipid peroksidasyonu sonucu hücre ölümüne neden olabilmektedir (Mates ve ark., 1999; Kohen ve Nyska, 2002; Kalyanaraman, 2013).

#### *Nitrik oksit ( $NO^-$ )*

Reaktif nitrojen türlerinin en önemli örneği nitrik oksit radikaldır. Damar endotel hücrelerinde endotelial nitrik oksit sentaz enzimi (eNOS) aracılığıyla L-arjinin amino asitinden sentezlenir. Bu reaksiyonda L-arjinin nitrik oksit sentaz enzimi (eNOS) katalizörlüğünde nitrik oksit ve L-sitruiline çevrilir. (Kohen ve Nyska, 2002; Kalyanaraman, 2013).  $NO^-$  radikalinin yarı ömrü çok kısadır.  $NO^-$  ROT ile (örneğin  $H_2O_2$  ve  $HClO$  ile) reaksiyon vererek güçlü bir oksidan olan peroksinitrit ( $ONOO^-$ )'i meydana getirebilir (Halliwell, 2005; Halliwell, 2006a).

#### *Peroksinitrit ( $ONOO^-$ )*

Süperoksitin nitrik oksit ile reaksiyonu sonucu peroksinitrit oluşur. Peroksinitrit sitotoksik etkilidir. Bu etkisini protein oksidasyonu yaparak hücre DNA'sının yapısını bozmak suretiyle gerçekleştirir (Halliwell ve ark., 1999; Kohen ve Nyska, 2002; Halliwell, 2006a).

#### *Hipokloröz Asit ( $HOCl$ )*

Fagositoz yapan hücreler olan nötrofillerin yapısında miyeloperoksidaz denilen enzimler bulunmaktadır. Miyeloperoksidazlar  $H_2O_2$  kullanarak  $Cl^-$  iyonunu hipokloröz asite okside ederler ki bu fagositlerin bakteriyi öldürmesinde önemli rol oynayan reaksiyonlardandır (Weiss, 1981). Çok reaktif olan hipokloröz asit birçok biyolojik molekülü oksitleyebilmektedir (Halliwell, 1995; Halliwell, 2006b).

#### ***Serbest Radikallerin Kaynakları***

Serbest radikaller organizmanın yaşamını sürdürebilmesi için gerekli olan oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonları sırasında, metabolik aktivitenin yan ürünleri olarak ve çeşitli dış kaynaklı etkenlerin etkisiyle oluşabilmektedir (Mates, 2000; Gutteridge ve Halliwell, 2010). Çevresel kaynaklı etkenlerin başında radyasyon, *uv* ışınlar, çeşitli toksik kimyasallar, sigara, alkol, çevresel kirleticiler, pestisitler, çeşitli ağır metaller, bazı antibiyotikler gelmektedir (Kohen ve Nyska, 2002; Mohammad ve ark., 2004). Endojen kaynaklı etkenlerin başında ise hücre membranlarındaki değişimler, enzimler, mitokondriyel elektron transportu,

otooksidasyon reaksiyonları ve peroksizomlarda gerçekleşen olaylar gelmektedir. Hücre membranları serbest radikallere hedef olup lipid peroksidasyonuna sebep olması nedeniyle de büyük önem taşımaktadır (Gutteridge ve Halliwell, 1990; Halliwell ve Chirico, 1993; Kehrer, 1993).

Normal metabolizma yollarında çeşitli basamaklarda serbest radikal yapısına sahip ara ürünler meydana gelmektedir. Nötral ortamda tiyoller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavinler gibi pekçok bileşik otooksidasyon ile serbest radikalleri oluşturur (Halliwell, 2006a). Birçok enzimin katalitik reaksiyonları sırasında da serbest radikaller oluşabilmektedir. Sitokrom P450, ksantin oksidaz, aldehit oksidaz ve triptofan dioksijenaz bu grup enzimlerden olup süperoksit oluşumuna neden olurlar (Ames ve ark., 1993).

Aerobik hücrelerin çoğunda  $O_2^-$  radikalinin en önemli kaynağı mitokondri ve endoplazmik retikulumlarda bulunan elektron transport zincirleridir. Mitokondriyel solunum zincirinde NADH (Kompleks I)'ın  $NAD^{+}$ 'a ve  $FADH_2$ 'ın  $FAD^{+}$ 'a okside olması sırasında, NADH dehidrojenaz, Kompleks I ve koenzim Q gibi elektron taşıyıcılardan oksijene elektron kaçağı sonucu tüketilen oksijenin yaklaşık %2'si süperoksit dönüşebilmektedir (Valko ve ark., 2007). Solunum zincirinde mitokondride  $O_2^-$  radikallerinin oluşumu sonucunda mitokondriyel proteinlerde, lipitlerde ve mitokondriyal DNA'da çeşitli hasarlar oluşabilmektedir (Gültekin ve ark., 2000; Kohen ve Nyska, 2002; Valko ve ark., 2007; Halliwell, 2011; Marchi ve ark., 2012; Vaya, 2013).

### ***Serbest Radikallerin Etkileri***

Serbest radikaller DNA çift sarmalının ayrılmasına, sarmal içinde çapraz bağlanmalara veya nükleik asit baz değişimlerine neden olarak kromozomal mutasyonlar ve sitotoksikite oluştururlar (Gutteridge 1995; Valko ve ark., 2004; Franco ve ark., 2009). Oksidatif DNA hasarının çeşitli hastalıklarının çeşitli hastalıkların gelişiminde önemli rolü olduğu düşünülmektedir (Kehrer, 1993; Yu ve ark., 1997; Toyokuni, 1999; Vaya, 2013).  $OH^-$  radikali deoksiriboz ve diğer bazlarla kolayca reaksiyona girerek hücresel değişikliklere sebep olur.  $^1O_2$  radikali nükleik asitlerle sınırlı oranda tepkimeye girer.  $O_2^-$  radikali güçlü oksidan özelliği nedeniyle, guanin gibi yüksek  $e^-$  içeren moleküllerle daha kolay tepkimeye girer.  $H_2O_2$  ise membranlardan kolayca geçerek hücre çekirdeğine ulaşır ve DNA hasarına, hücre fonksiyonların bozulmasına ve hücre ölümüne yol açabilir (Gutteridge, 1995; Hemnani ve Parihar, 1998; Valko ve ark., 2004).

Guanin DNA bazları arasında en düşük iyonizasyon potansiyeline sahip, oksidasyona en yatkın baz olarak gösterilmiştir. ROT DNA'da çok çeşitli oksidatif baz hasar ürününün oluşmasına sebep olabilmektedir. Bu hasara uğrayan bazlar arasında 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) oldukça duyarlı ve en çok kullanılan oksidatif DNA hasarı belirteçidir. Bu ürün normal oksidatif metabolizma sırasında üretilen endojen ya da eksojen kaynaklı ROT tarafından DNA'da şekillenen bir mutajendir. Bu nedenle 8-OHdG ölçümü DNA'daki oksidatif hasarın doğrudan göstergesi olarak kabul edilmekte ve oksidatif DNA hasarını belirlemede en sık kullanılan yöntem olarak uygulanmaktadır (Hemnani ve Parihar, 1998; Fang ve ark., 2002; Valko ve ark., 2007; Valavanidis ve ark., 2009; Sumathi ve ark., 2014).

Proteinlerin serbest radikallerin hasarından etkilenme oranları proteini oluşturan aminoasitlerin yapısına göre değişkenlik gösterir. Oksidasyon sonucu proteinlerin sekonder ve tersiyer yapılarında oluşan değişiklikler fonksiyonlarını etkilemektedir. Enzim veya reseptör olan membran proteinleri özellikle serbest radikallerin modifikasyonuna duyarlı oldukları için önemli hücrel fonksiyonlarını kaybetmektedirler (Machlin, 1987; Kehrer, 1993; Headlam ve Davies, 2003; Marnett, 2003).

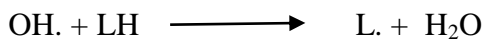
Serbest radikallerin etkisiyle oksidasyona uğrayan karbonhidratlardan peroksit, okzoaldehit yapısında ürünler meydana gelmektedir. Okzoaldehitler hücrenin yapıtaşı olan DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve çapraz bağ oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Yaşlanma ve kanser olaylarında rolleri olduğu düşünülmektedir (Dröge, 2002; Valko, 2004).

Biyolojik membranlar ve mitokondri, endoplazmik retikulum gibi hücre içi organeller, membran fosfolipitlerindeki araşidonik asit, linoleik ve linolenik asit gibi çoklu doymamış yağ asitlerinin varlığı nedeniyle oksidatif ataklara karşı duyarlıdırlar. Serbest radikallerin atakları sonucunda hücrenin membranının yapısında bulunan lipitlerin oksidasyonu ile sonuçlanan bu olay lipit peroksidasyonu (LPO) olarak bilinir. LPO hücre membranlarının bütünlüğü ve akıcılığının bozulması nedeniyle hücrenin devamlılığı açısından önemlidir (Halliwell ve Chirico, 1993; Poljsak ve ark., 2013).

LPO fosfolipit, glikolipit, gliserid ve sterollerin yapısında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin radikaller ile oksidasyonu ile başlayan ve otokatalitik zincir reaksiyonları şeklinde uzayan, reaktif oksijen türlerinin etkisiyle alkol, aldehit, hidroksiasit, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılmasını kapsayan reaksiyonlar dizisidir (Gutteridge ve Halliwell, 1990).

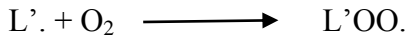
#### *Lipit Peroksidasyonunun Başlama Basamağı*

Kuvvetli oksitleyici bir radikal tarafından çoklu doymamış yağ asidi içeren zarın metilen gruplarından hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlamaktadır. Yağ asidi zincirinin yapısında ne kadar çok çift bağ varsa hidrojen atomu o kadar kolay kopar. Oluşan karbon merkezli radikaller kararlı hale gelebilmek için konjuge dien yapısı oluştururlar. Bu yapılar oksijenle reaksiyona girerek peroksil radikalini oluştururlar ve bu şekilde peroksil radikalleri diğer yağ asitlerinden H kopararak zincirin yeni bir başlatıcı reaksiyonla yayılmasına sebep olurlar. H<sup>+</sup> atomunun koparılmasıyla yağ zinciri üzerinde karbon merkezli lipit radikali (L.) meydana gelir. Burada kuvvetli oksitleyici radikal çoğu zaman hidroksil radikalidir. Singlet oksijen ve nitrik oksitinde LPO başlatıcısı olduğu bilinmektedir. Hidrojen atomunun uzaklaşmasıyla lipid radikalleri meydana gelmekte ve bu lipid radikalleri otooksidasyona neden olarak LPO'nun zincir reaksiyonu şeklinde ilerlemesini sağlamaktadır. Zincir reaksiyonu kendi kendini devam ettirme özelliği bulunduğu ve geri dönüşümsüz olduğundan LPO metabolizma için en zararlı reaksiyonlardandır (Halliwell ve Chirico, 1993; Gutteridge, 1995; Nikive ark., 2005).



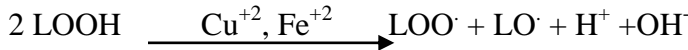
#### *Lipit Peroksidasyonunun Yayılma Basamağı*

Radikal oluşumunu takiben yağ asidi zincirindeki çift bağlar konjuge dien şeklinde yeniden düzenlendikten sonra O<sub>2</sub> ile reaksiyona girerek lipit peroksil radikalini oluşturur. Oluşan peroksil radikalleri diğer yağ asilerinden H kopararak zincirin yeni bir başlatıcı reaksiyonla yayılmasına sebep olurlar (Halliwell ve Chirico, 1993; Gutteridge, 1995; Niki ve ark., 2005).



Meydana gelen lipit peroksil radikali komşu yağ asitlerini etkileyerek diğer bir peroksil radikali ile birleşebilir ya da membranda bulunan proteinlerle tepkimeye girebilir. Ancak bu moleküllerin en önemli özelliği kendilerine komşu yağ asidi zincirlerinden H atomlarını çıkarabilmeleri ve peroksidatif zincir reaksiyonunu yaymalarıdır. Böylece yan zincirden hidrojen atomunu çıkarılmasıyla her defasında lipit hidroperoksitleri (LOOH) ve yeni bir lipit peroksit (LOO.) radikali oluşmaktadır (Halliwell ve Chirico, 1993; Gutteridge, 1995; Niki ve ark., 2005).

Membran yapısındaki birçok yağ asidi zinciri hidrofilik yapıdaki lipit hidroperoksitlere çevrilerek membran bütünlüğünü, akıcılığını ve geçirgenliğini önemli ölçüde bozar. Lipit hidroperoksitler oldukça dayanıklı moleküllerdir. Fakat yüksek sıcaklık ve ortamda bulunan demir, bakır gibi metaller lipid peroksidasyonunu hızlandırarak dallanmasını artırır. Bakır ve demir iyonları Haber-Weis ve Fenton tepkimelerine katılarak O<sub>2</sub><sup>-</sup> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'den daha reaktif özellikte OH<sup>-</sup> oluşumuna sebep olurlar.



Reaksiyon zincirinin sonlanması oksijen konsantrasyonu ve zincir kırıcı antioksidanların miktarı gibi faktörlere bağlıdır (Gutteridge, 1995).

#### *Lipit Peroksidasyonunun 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 bozulmasıyla sonlanır (Gutteridge, 1990). Bu sitotoksik ürünler makrofajların hareketini bloke etme, proteinlerin çapraz bağlanmasına yol açarak protein sentezini inhibe etme gibi hücre üzerinde oldukça zararlı reaksiyonlara sebep olmaktadır. LPO'nun sonlanma basamağında oluşan en önemli ürün malondialdehittir (MDA). Bunun yanında 4-hidroksinonenal (HNE), 4-hidroksihekzenal gibi aldehit yapıları bileşikler alkoksil ve peroksil radikalleri gibi ara ve son ürünler de protein ve enzimlerin yapılarını bozarak sitotoksik etki gösterirler. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşan MDA, membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmalarına sebep olarak membranın iyon transportu, enzim aktivitesi gibi membran özelliklerini değiştirebilir. Ayrıca hücre membranından kolayca geçip, DNA bazları ile tepkimeye girerek DNA kromatinlerinde kopmalara, sarmal kırılmalara neden olabilir (Esterbauer ve ark., 1991; Gutteridge, 1995; Niki ve ark., 2005; Niki, 2014).



MDA yağ asidi oksidasyonunun spesifik yada kantitatif bir indikatörü olmamakla birlikte lipid peroksidasyonunun derecesi ile iyi bir korelasyon göstermesi sebebiyle organizmada oluşan LPO düzeyini ölçmek için MDA seviyelerinin ölçümü, sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Bu metot MDA ile tiobarbitürik asitin (TBA) reaksiyonu temeline dayanmaktadır. MDA, TBA ile pembe renkli bir kompleks oluşturmakta ve oluşan bu çözeltinin absorbans değerlerinden LPO'nun derecesi saptanmaktadır (Halliwell, 1995; Niki, 2014).

LPO sonucunda meydana gelen lipid peroksi radikalleri, lipid hidroperoksitler, MDA gibi bozunma ürünleri hücre membranları, organeller 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. Lipid peroksidasyonu organizmada yer alan birçok yapıya ve bunların fonksiyonlarına zarar vermekle birlikte, katarakt, diyabet, romatoid artrit, ateroskleroz, alzheimer, parkinson, kronik inflamatuvar hastalıklar, hepatit ve karaciğer hasarları gibi pek çok hastalıkta rolü olduğu düşünülmektedir (Kehrer, 1993; Mates ve ark., 1999; Saeidnia ve Abdollahi, 2013; Bradley ve ark., 2015; Yoshida ve ark., 2015).

### **Antioksidan Savunma Sistemleri**

Canlılarda serbest radikallerin oluşumunu ve meydana getirdikleri hücre hasarları önlemek ve bu mekanizmayı dengede tutmak amacıyla fizyolojik olarak çeşitli endojen antioksidan savunma sistemleri bulunmaktadır (Halliwell, 1999). Antioksidanlar, etkilerini serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme şeklinde toplayıcı olarak; serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürmek suretiyle baskılayıcı olarak; serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki ile zincir kırıcı olarak; serbest radikallerin oluşturdukları hasarı azaltmak amacıyla onarıcı olarak; peroksitleri alkol gibi radikal olmayan ürünlere çevirerek temizleyici olarak göstermektedirler (Fang ve ark., 2002; Halliwell, 2009; Kalyamanaran, 2013).

Antioksidanlar hücre lokalizasyonuna göre intrasellüler antioksidanlar (SOD, KAT, GSH-Px), ekstrasellüler antioksidanlar (albumin, vitamin C, ürat) ve membran antioksidanları (Vitamin E, vitamin A) olarak da gruplandırılabilir. Çeşitli özellikteki serbest radikaller için hidrofilik ve lipofilik yapıda antioksidanlara ihtiyaç vardır. Hidrofilik özellikteki antioksidanlar sitozolde ve ekstrasellüler sıvıda, lipofilik özelliktekiler ise hücre membranlarında ve lipoproteinlerde bulunurlar (Blokhina ve ark., 2003; Valko ve ark., 2007). Antioksidanlar hücresel lokalizasyonunun yanı sıra fonksiyonlarına göre de sınıflandırılabilirler.

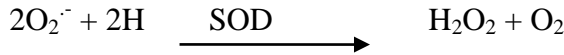
### ***Enzimatik Antioksidanlar***

Bu grupta süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon S-transferazlar (GST), katalaz (KAT), mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi,

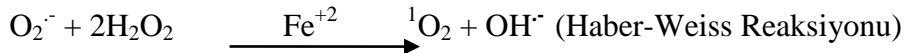
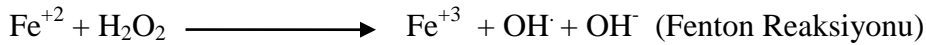
hidroperoksidaz bulunmaktadır. Dolaylı olarak antioksidan etkinlik gösteren yardımcı enzimlere örnek olarak da NADPH transport sistemleri, NADPH-kinon oksidoredüktaz, epoksit hidrolaz konjugasyon enzimleri, glutatyon redüktaz, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD), gamaglutamiltransferaz (GGT) verilebilir (Gutteridge ve Halliwell, 2010).

### *Süperoksit Dismutaz*

Süperoksit Dismutaz  $O_2^{\cdot-}$  serbest radikalini hızlı bir şekilde  $O_2$ 'e ve  $H_2O_2$ 'e dönüştürerek  $O_2^{\cdot-}$  radikalini ortamdaki katalitik olarak uzaklaştıran bir metalloenzimdir (Liochev ve Fridovich, 2010).



Bu dismutasyon reaksiyonu  $O_2^{\cdot-}$  radikalinin anyon ve kation formlarının eşit oranda bulunduğu pH 4.8'de kendiliğinden gerçekleşir. Bu reaksiyonun hız sabiti yaklaşık  $10^5 M^{-1}s^{-1}$  dir. Ancak fizyolojik şartlarda pH değeri 7.35-7.45 arasında iken bu reaksiyon çok daha yavaş gerçekleşmesi gerekirken SOD enzimi varlığında reaksiyon hız sabiti  $10^9 M^{-1}s^{-1}$  ye çıkmaktadır (Liochev ve Fridovich, 2003; Cherubini 2005; Kalyanaraman 2013).



$O_2^{\cdot-}$  radikali ekstraselüler ortamda yüksek oranda üretilmesine rağmen intraselüler düzeyi SOD enzimi sayesinde düşük tutulur. SOD enzimi membranı geçemeyen  $O_2^{\cdot-}$  radikalini membranı kolaylıkla geçebilen  $H_2O_2$ 'ye dönüştürür.  $H_2O_2$  ise geçiş metal iyonları varlığında Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonu ile aktif OH-radikaline dönüşmektedir. Bu nedenle SOD aktivitesindeki aşırı artış  $H_2O_2$  birikmesine yol açacaktır ki bunun da ancak KAT, GSH-Px enzimlerinin artan aktiviteleri ile kontrol altında tutulabileceği düşünülmektedir (Mates, 2000; Johnson ve Giulivi, 2005).

İnsanlarda SOD enziminin üç tipi bulunmaktadır. Bunlar, çoğunlukla sitozolde bulunan dimerik, Cu ve Zn içeren izomer CuZn-SOD; mitokondride bulunan tetramerik Mn içeren izomer Mn-SOD ve ekstraselüler ortamda bulunan Cu ve Zn içeren izomer EC-SOD'dır (Mates,2000; Kalyanaraman 2013).

Bütün SOD enzimlerinde enzimin aktif kısmında bulunan metal iyonu tane  $O_2^{\cdot-}$  molekülü arasındaki elektron transferinden sorumludur (Miller, 2004).

### *Katalaz*

1900'lü yılların başında biyokimyada ilk keşfedilen enzimlerdendir. Loew bu enzimi  $H_2O_2$  üzerindeki katalitik etkisinden dolayı katalaz olarak isimlendirmiştir (Chelikani ve ark., 2004).

Katalazlar tetramerik yapıda enzimlerdir. Hem grubu katalitik aktiviteden sorumludur. Her alt ünite aynı zamanda enzimi kendi substratı  $H_2O_2$ ' e karşı koruyan bir molekül indirgenmiş NADPH içerir (Mates, 2000). KAT hayvanlarda tüm organlarda bulunur, ancak özellikle karaciğer ve eritrositlerde yoğunlaşmıştır. Hücre içinde ise başlıca peroksisomlarda yerleşmişlerdir ve mitokondri, kloroplastlar ve endoplazmik retikulumda da az miktarda bulunurlar (Kirkman ve Gaetani, 2007).

### *Glutasyon Peroksidaz*

GSH-Px enzimi, ilk kez 1957 yılında Mills tarafından memeli eritrositlerinde keşfedilmiştir. Dört alt üiteden oluşan, her alt ünitesinde bir tane Selenyum atomu içeren tetramerik yapılı bir enzimdir. Selenyum GSH-Px aktivitesi için gereklidir ve enzimin aktivitesi kan selenyum seviyesine bağlıdır. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in detoksifikasyonundan sorumlu olup mitokondri matriksinde ve sitozolde lokalize olan GSH-Px oksidatif strese karşı vücut savunmasında görev alan önemli antioksidanlardandır (Arthur, 2001; Branco ve ark., 2012). GSH-Px tıpkı KAT enziminin yaptığı gibi SOD'ın etkisiyle ortamda oluşan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in suya çevrilmesini gerçekleştirir. Etkisini sadece H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üzerinde değil aynı zamanda lipit hidroperoksidleri üzerinde de onları suya ve alkole çevirerek göstermektedir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dahil çeşitli hidroperoksidlerin yıkımını GSH'ın oksidasyonu yoluyla katalizler. Okside glutasyon (GSSG) ise GSH-Rd enzimi aracılığıyla tekrar GSH'a indirgenir (Battin ve Brumaghim, 2009; Halliwell, 2009; Stralioetto ve ark 2013).

### *Glutasyon Redüktaz*

GSH-Rd enzimi iki protein alt ünitesi içerir ve her bir alt ünite aktif bölgesinde FAD bulundurur. NADPH, FAD'i indirgemekte ve bu FAD'deki elektronlar da GSSG'daki disülfür (-S-S-) köprüsüne aktarılarak disülfür bağı kırılmakta ve molekül GSH haline dönüştürülmektedir (Carlberg ve Mannervik, 1975; Andersen ve ark., 1997).

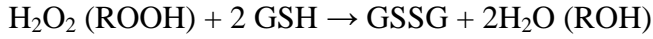
### ***Enzimatik Olmayan Antioksidanlar***

Reaktif oksijen türlerinin meydana getirdiği oksidatif strese karşı tek başına veya enzimatik antioksidanlarla birlikte yanıt veren glutasyon (GSH), vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol), vitamin C (Askorbik asit), karotenoidler, retinol, bazı flavanoidler (rutin, resveratrol, kersetin) ve melatonin gibi enzimatik özellikte olmayan antioksidan grubudur (Kehrer, 1993; Mates, 2000).

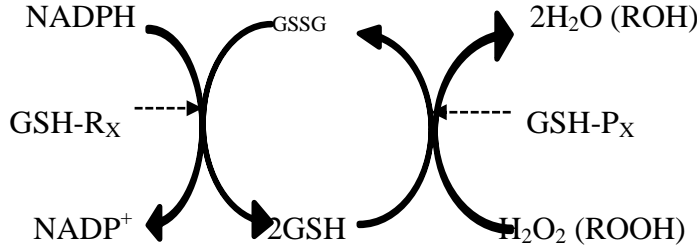
### *Glutasyon (GSH)*

L-glutamik asid ( $\gamma$ -Glu), L-sistein (Cys) ve glisinden (Gly) sentezlenen düşük molekül ağırlıklı (MA:307) bir tripeptit olan GSH organizmada indirgenmiş glutasyon (GSH) ve okside glutasyon (GSSG) olarak iki formda bulunur. Önemli bir indirgen olan GSH, bu özelliği sayesinde serbest radikallerin zararlı etkilerinin giderilmesinin yanı sıra protein yapısındaki -SH gruplarını indirgenmiş halde tutarak pek çok proteinin ve enzimin inaktivasyonunu engeller (Singhal ve ark., 1987; Sies,1999). GSH vücutta en fazla karaciğerde, hücre içinde ise en fazla sitozol, mitokondri ve nükleusta bulunur. Hücre içi glutasyonun büyük bölümü tiyol (indirgenmiş GSH) formunda, daha az oranda ise okside disülfür (GSSG) formunda bulunur (Anderson ve Meister, 1980; Meister,1988; Griffith, 1999; Jones ve ark., 2000).

GSH, Se-GSH-Px ve dehidroaskorbat redüktaz enzimlerinin substratı olmasının yanında OH<sup>-</sup> ve singlet O<sub>2</sub> temizleyicisidir. GSH, aynı zamanda çeşitli peroksidler ve serbest radikaller için indirgeyici özelliktedir. Serbest radikallerin indirgenmesi non-enzimatik olarak yürümekte iken, peroksidler GSH-Px'lar tarafından indirgenmektedir. Hidropeoksidler ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> lerin GSH-Px ile metabolizması GSH'un oksidasyonu ile ilgilidir. GSSG, GSH-Rd tarafından indirgenir ve NADPH varlığında GSH yeniden oluşur (Mates, 2000; Hudson ve ark., 2015).



Karaciğer ve diğer organlarda GSH ve GSSG arasındaki denge GSH-Rd ve GSH-Px enzimleri tarafından düzenlenmektedir (Sies, 1999).



Şekil 1. GSH GSSG Döngüsü (Sies, 1999)

### *α-tokoferol (Vitamin E)*

İlk kez 1922 yılında Evans ve Bishop tarafından keşfedilen vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol), yağda çözünebilir ve antioksidan özellikte bir vitamindir. Farklı türleri olmasına rağmen hepsinin ortak özelliği yapılarında tokol çekirdeğine sahip olmalarıdır. Tokol çekirdeğinde bulunan aromatik halkadaki (kroman halkası) metil gruplarının yerlerinin ve sayılarının değişmesiyle  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -, and  $\delta$ -tokoferoller ve  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - ve  $\delta$ -tokotrienoller olmak üzere en az 8 farklı çeşit ortaya çıkar. Doğada en fazla bulunan ve biyolojik aktivitesi en çok olan  $\alpha$ -tokoferoldür (Burton ve Traber, 1990; Lodge, 2005). Hücre membranlarının fosfolipid tabakası ve plazma lipoproteinleri (LDL)  $\alpha$ -tokoferol hücre membranlarının fosfolipid tabakasında bulunan yağda çözünen zincir kırıcı özellikte antioksidandır. Peroksil radikallerini ortadan kaldırmak suretiyle LPO'nu engelleyerek zincir kırıcı etki oluşturur (Marchioli ve ark., 2000). Membran lipidlerinin zarar görmesini engeller ve serbest radikalleri stabil hale getirir (Sies ve Stahl, 1995).  $\alpha$ -tokoferol zincir kırıcı reaksiyonda peroksil ve alkoksil radikali ve askorbik asitle bir hidrojen atomu verir, böylelikle kendisi oksitlenir ve tokoferol-O $\cdot$  (kromanoksil) radikaline dönüşür. Kromanoksil yan zincirlere saldıramadığı için zincir reaksiyonu durur. Kromanoksil radikali, membran yüzeyinde hücrenin sulu fazındaki C vitamini ile reaksiyona girerek yine  $\alpha$ -tokoferole dönüşür. Ayrıca GSH da E vitamininin rejenerasyonunda rol oynar (Wefers ve Sies, 1988; Beyer, 1994; Brigelius-Flohe ve Traber, 1999; Niki, 2005).

### *Askorbik Asit (Vitamin C)*

Suda çözünen en önemli antioksidandır (Glen King, 1953). Askorbik asit plazmada lipit hidroperoksitlerin oluşumunu önlemek amacıyla bulunur (Frei ve ark., 1988). Suda çözünebilir vitaminlerin içerisinde en kararlı yapıya sahip olan askorbik asit, yapısındaki çift bağlı karbon atomu sebebiyle yüksek potansiyelde antioksidan aktivite göstermektedir. Askorbik asit organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonlarında kuvvetli indirgeyici olarak görev yapar (Banhegyi ve ark., 1997). Askorbik asit direkt olarak membran lipit peroksidasyonu etkilememekle birlikte  $\alpha$ -tokoferoksi radikalının  $\alpha$ -tokoferole indirgenmesini sağlayarak, vitamin E'nin geri dönüşümünde görev alır. Böylece vitamin E ile birlikte etkin bir şekilde LDL'yi oksidasyona karşı korur (Beyer, 1994; Rock ve ark., 1996; May, 1998; Carr, 2000).

### *Karotenoidler*

Karotenoidlerin yaklaşık %10'dan az bir kısmı retinole metabolize olmakla birlikte memelilerde A vitamin prekürsörü olarak görev yapmaktadır. Beta karoten, likopen, lutein, ve alfa karoten insan plazmasında yüksek oranda görülen karotenoidlerdendir. Karotenoidler hücreyi triplet molekülleri ve singlet oksijeni süpürerek, OH<sup>·</sup>, peroksi ve alkoksi radikalleriyle de doğrudan reaksiyona girerek lipid peroksidasyon zincir reaksiyonunu önleyerek, serbest radikalleri inhibe ederek, oksidatif stresten korumaktadırlar. (Sies ve Stahl, 1995; Rock ve ark., 1996; Rock, 1997; Edge ve ark., 1997; Paiva ve Russel, 1999).

### **Polifenoller**

Polifenoller, çeşitli sebze ve meyvelerde bulunan antioksidan etkili bileşikler olup insan diyetinin önemli bir parçasıdır. Kimyasal yapılarına göre çeşitli gruplara ayrılırsa da hepsinin ortak özelliği moleküllerinde birden fazla fenol grubu taşımalarıdır (Signorelli ve Ghidoni, 2005). En önemli gruplar; flavonoidler, stilbenler, fenolik asitler, benzokinonlar, asetofenonlar ve ligninlerdir (Bravo, 1998). Bu gruplar da kendi altlarında alt gruplara ayrılmaktadır. Polifenolik bileşiklerden özellikle flavonoidler, metal şelasyonu yaparak ve NADPH ve ksantin oksidaz gibi enzimleri inhibe ederek serbest radikallerin oluşumunu engellemek veya doğrudan serbest radikalleri ortamdan uzaklaştırmak suretiyle antioksidan aktivite gösterirler (Tsao, 2010).

Polifenolik yapıdaki bileşiklerin arasında en çok incelenen fitokimyasallar, üzümde bulunan resveratrol, yeşil çayda bulunan epigalatlar, zerdeçalda bulunan kurkumin, soya, lutein, β-karoten, likopen gibi bileşiklerdir (Yılmaz, 2010).

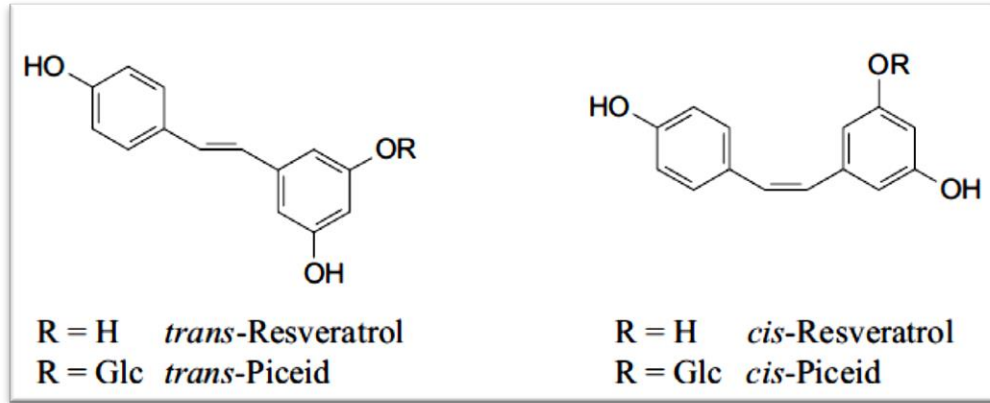
### **Resveratrol**

Resveratrol (3,4',5-trihidroksistilben), travmatik zedelenme, *uv* ışığına maruziyet ya da fungal enfeksiyona (*Botrytis cinerea*) karşı cevap olarak bazı bitkiler tarafından sentezlenen non-flavonoid yapıda polifenolik bir fitoaleksindir (Fremont, 2000). Fitoaleksinler patojenik mikroorganizmalara karşı bitkiler tarafından korunma amaçlı sentezlenen kimyasal maddelerdir, bitkisel antibiyotikler de denilebilir. Resveratrol stilben fitoaleksinlerin en aktif bileşiğidir. Resveratrol ilk defa 1939'da tıbbi bir bitki olarak kullanılan *Veratrum grandifolium* reçinelerinde M.Takaoka tarafından tanımlanmış olup, adını *Veratrum* türlerinden elde edilen rezorsinolden almıştır. Japonya ve Çin'de halk arasında geleneksel ayurvedik tedavide kullanılan *Polygonum cuspidatum* (Kojokon) köklerinin de yüksek oranda resveratrol içerdiği bilinmektedir (Fremont, 2000; Signorelli ve ark., 2005). Resveratrol cis ve trans stereoizomerleri şeklinde bulunur. Bitkilerde yaygın olarak trans izomeri bulunur. Trans-resveratrol ilk defa 1976'da Langcake ve Pryce tarafından *Vitis Vinifera* yapraklarında, *uv* ışığına maruziyet ya da fungal enfeksiyona (*Botrytis cinerea*) karşı cevap olarak tespit edilmiştir (Soleas ve ark., 1997; Fremont, 2000; Çatalgöl ve ark., 2012). Üzüm, çam ağacı ve baklagiller başta olmak üzere, Resveratrol 72 farklı bitki tarafından üretilmektedir. *Vitis vinifera* (asma), *Polygonum cuspidatum* (Kojokon kökleri), *Pinus sylvestris* (sarıçam), *Veratrum grandiflorum* (çöpleme), Ökalyptus, *Pistacia vera* (Antep fıstığı), *Arachis hypogea* (yer fıstığı), *Morus rubra* (kırmızı dut), *Artocarpus* (ekmek ağacı) türleri, *Rheum Veratrum* türleri, *Cassia* türleri,

*Vaccinum* türleri (yaban mersini) bunlardan en önemlileridir (Soleas ve ark., 1997; Sun ve ark., 2002; Namasivayam, 2011; Çatalgöl ve ark.,2012; Kasiotis ve ark., 2013).

### **Resveratrolun Kimyasal Yapısı**

Trans 3,4',5-trihidroksistilben olarak adlandırılan resveratrolün, molekül formülü:  $C_{14}H_{12}O_3$  ve molekül ağırlığı: 228,25 daldondur. Bitkilerde polifenoller, resveratrol de dahil genelde glikozit yapısındadır. Bu nedenle resveratrol, 3-O-Beta glikozit "piceid" olarakta bilinir ve cis, trans izomerlerin adları sırasıyla cis-piceid ve trans-piceid'dir. Bunun yanında doğal analogları ve konjugatları da vardır (Fremont, 2000; Baur ve Sinclair, 2006; Delmas ve ark., 2011).



Şekil 2. Resveratrolün Kimyasal Yapısı (Bradamante ve ark., 2004)

### **Resveratrolün Farmakokinetiği**

Resveratrolün oral yolla alındıktan sonra %50-98 oranında non-kovalent bağlarla albumine, LDL ve hemoglobine bağlanarak kanda taşındığı *in vitro* olarak gösterilmiştir (Wenzel ve Somoza, 2005). İnsanlarda ise resveratrolün %50 oranında plazma proteinlerine bağlandığı saptanmıştır (Burkon ve Somoza, 2008). Hepatoblastoma hücrelerinde resveratrolün kinetik karakteriyle ilgili yapılan bir çalışmada (Delmas ve ark., 2011), resveratrolün hücre içine asıl olarak taşıyıcı aracılı geçiş ve pasif difüzyonla alındığı çeşitli yöntemlerle gösterilmiştir. Resveratrol albumine bağlanıp kompleks oluşturduktan sonra, membran reseptörlerince bu kompleksin tutulup, bu reseptörler tarafından serbest resveratrolün hücre membranına doğru salıverildiği düşünülmektedir (Jannin ve ark., 2004; Lançon ve ark., 2007; Delmas ve ark., 2011). Resveratrolün değişik dozlarda ve uygulama sürelerinde yapılan biyoyararlanım çalışmalarında, oral yolla alındıktan sonra hızla barsaklardan emilerek bir saat gibi kısa sürede dolaşıma geçip karaciğer, böbrek, kalp ve beyin başta olmak üzere çeşitli organlara dağıldığı gösterilmiştir (Delmas ve ark., 2011). Oral yolla 25 mg verildiğinde en az % 70'inin emildiği bildirilmiştir (King ve ark., 2006). Biyotransformasyonu esasen karaciğer mikrozomlarında ve az miktarda da barsaklarda olur. Resveratrol, faz-I reaksiyonları; aril hidroksilazlarla ve sitokrom P-450 enzim sistemini de kapsayan enzimlerle oksidoredüksiyon reaksiyonlarına uğrar. Oluşan reaktif gruplar Faz-II reaksiyonları ile glukuronit ve sülfat konjugatları şeklinde idrarla atılır. Resveratrol oral olarak alındıktan sonra karaciğer ve barsak epitel hücrelerinde hızla glukuronid ve sülfat konjugatlarına

dönüşerek metabolize olmaktadır. Ancak dolaşımında değişmemiş RES miktarı %1'den daha az iken, konjugatları yirmi kat daha fazladır (King ve ark., 2006; Walle, 2011). Çeşitli bulgulara göre resveratrolün ana metabolitlerinin: RES-monoglükuronit, RES-monosülfat, dihidro-RES ve dihidro-RES monosülfat olduğu tespit edilmiştir (Piver ve ark., 2004; Wang ve ark., 2005; Baur ve Sinclair, 2006 ).

### ***Resveratrolün Biyolojik Aktiviteleri***

İlk olarak etkinliği 1992'de Fransız Paradoksu ile ünlenmiş olsa da resveratrol kanser, kardiyovasküler hastalıklar, iskemik hasarlar gibi çok çeşitli hastalıkların oluşumunu yavaşlatmak veya önlemekle birlikte strese karşı adaptojenik etki, nörodejeneratif hastalıklara karşı koruyucu etki ve ömrün uzamasına destek olarak da etki göstermektedir (Sun ve ark., 2002; Vang ve ark., 2011).

### ***Antioksidan aktivite***

Vücudun oksijen kullanımı sırasında serbest radikallerin etkisiyle reaktif oksijen ve nitrojen türleri oluşmaktadır. Oluşan bu serbest radikaller DNA, protein, lipid ve karbonhidratlarda yapısal bozulmalara neden olarak hücre membranının yapısını ve fonksiyonunu bozup çeşitli dejeneratif hastalıklara yol açabilmektedir. Özellikle hücre membranında bulunan doymamış yağ asitleri serbest radikallerin oksidatif ataklarına karşı çok duyarlıdır. Bu yüzden serbest radikallerin kanser, ateroskleroz, artrit, diyabet, amiloidoz, psikiyatrik bozukluklar, senil demans ve hipertansiyon gibi birçok hastalığın patogeneğinde rol oynadığı düşünülmektedir (Kehrer, 1993; Maritim ve ark., 2003; Niki ve ark., 2005; Pandey ve Rizvi, 2011; Marchi ve ark., 2012; Poljsak ve ark., 2013). Antioksidanlar reaktif oksijen oluşumunu önlemek veya oluşan reaktif oksijen türlerini süpürerek oksijenin neden olduğu zararları hücresel düzeyde engellemek ve dejeneratif hastalıkların oluşumunu durdurmak suretiyle etki gösterirler (Halliwell, 2012). Resveratrol, güçlü bir antioksidandır. En çok bilinen antioksidanlar olan C vitamininden ve E vitamininden çok daha güçlü serbest radikal süpürücü etkisi ile antioksidan aktivite gösterir (Soares ve ark., 2003). Resveratrolün serbest radikalleri temizleyerek, metal iyonlarını bağlayarak ve enzim ekspresyonunu düzenleyerek kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde etkin rol oynadığı gösterilmiştir (Pandey ve Rizvi, 2011). Bunun yanı sıra resveratrol diğer polifenolik bileşikler gibi endotelial nitrik sentetazı (eNOS) aktive ederek glutasyon düzeyini arttırarak, NADPH ve ksantin oksidazı inhibe ederek patolojik durumlarda yararlı olabilirler (de la Lastra ve Villegas, 2007). Bu işlevleri ile polifenolik bileşikler vasküler tonusu düşürebilmekte, mitogenezi önleyebilmekte ve trombosit adezyonu ve agregasyonunu inhibe edebilmektedir (Rodrigo ve ark., 2011a).

Resveratrol antioksidan etkisini  $\text{OH}^\cdot$  ve  $\text{O}_2^{\cdot-}$  radikallerini süpürerek,  $\text{OH}^\cdot$  radikalinin neden olduğu lipid peroksidasyonunu inhibe ederek,  $\text{OH}^\cdot$  ile  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'in neden olduğu DNA hasarını önleyerek ve protein oksidasyonunu engelleyerek gösterir. Ayrıca endojen serum antioksidan kapasitesini arttırdığı da çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Olas ve ark., 2006; de la Lastra ve Villegas, 2007).

Resveratrol lipit peroksidasyonunun son basamak ürünlerinden olan MDA oluşumunu engelleyerek antioksidan aktivite göstermektedir (Pandey ve Rizvi, 2011).

Radikal süpürücü etkisi metabolitleri arasında değişkenlik göstermekle birlikte bu değişkenliğin nedeninin trans-resveratrolerin para-hidroksil grubunun meta-hidroksil grubu içeren analoglarına oranla daha fazla ROT süpürücü etkisi olduğunu gösterilmiştir (Stojanovic ve ark.,2001).

Yapısındaki çift aromatik grup OH<sup>-</sup> radikalini süpürücü etkisinin C vitamini ve E vitaminine göre daha fazla olmasını sağlamaktadır (Soares ve ark., 2003; King ve ark., 2006; Gülçin, 2010). Chanvitayapongs ve arkadaşlarının (1997) yaptığı bir çalışmada trans-resveratrol ve vitamin C ve/veya vitamin E'nin birlikte kullanımının tek başına bu antioksidanların kullanımına oranla daha yüksek oranda hücre koruyucu etkiye sahip oldukları gösterilmiştir.

Resveratrolün canlı hücrelerde oksidatif stresin toksik etkilerine karşı hücre membranını korumak suretiyle etki gösterdiği tespit edilmiştir. Sun ve arkadaşlarının (1997) ağır metal iyonlarına ve serbest radikal atağına karşı hassas olan, aynı zamanda dopaminerjik nöral hücre modeli olan PC12 (rat adrenal feokromositoma) hücrelerini kullanarak yaptıkları bir çalışmada, demir iyonları ve etanolla lipit peroksidasyonuna maruz bırakılan PC12 hücrelerinde, resveratrolün oksidatif strese karşı hücreleri koruyucu ve doku hasarını önleyici özellikte olduğu gözlenmiştir. Resveratrolün serbest radikallerden H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'i bağlayarak, oksidatif stres sonucu uyarılan epitel hücre apoptozunu engellenmesine bağlı olarak vasküler oksidatif stres direncini arttırdığı saptanmıştır. Bunun yanı sıra, resveratrolün *uv* ile uyarılmış DNA hasarını glutatyon peroksidaz, katalaz ve oksijenaz-1 ekspresyonunu arttırarak önlediği gösterilmiştir. Bu bulgular resveratrolün kardiyovasküler sistem üzerindeki olumlu etkilerinin antiapoptotik ve antioksidan aktivitesine bağlı olduğunu göstermektedir (Ungvari ve ark., 2007).

Resveratrol, nitrik oksit aracılığıyla da kardiyovasküler sistemde önemli rol oynamaktadır. Nitrik oksit düşük dozlarda vazodilatasyon oluşturduğu için kardiyovasküler sistemin düzenlenmesinde yararlı iken reaktif özelliklerinden dolayı tümör oluşturma ve vasküler invazyonla ilişkili olarak yüksek dozlarda olumsuz etkiler göstermektedir. Nitrik oksit, vasküler düz kasları gevşeterek kan akımını arttırmakta ve antiagregan etkileriyle trombojenik ve aterosjenik süreçlerini inhibe etmektedir. Endotel hücrelerindeki nitrik oksit üretimi endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) tarafından gerçekleşmektedir. Yapılan bir çalışmada mikroglial hücrelerde resveratrol ve oksiresveratrolün nitrozatif ve oksidatif stres üzerine etkileri araştırılmış farklı hayvan modellerinde, resveratrolün farmakolojik dozlarında eNOS düzeylerini ve nitrik oksit biyoyararlanımını arttırdığı saptanmıştır (Lorenz ve ark., 2003). Dolayısıyla, resveratrolün kardiyovasküler sistem üzerindeki etkileri nitrik oksit oluşumunu arttırıcı etkisiyle açıklanabilir (Nakata ve ark., 2012).

Aşırı ROT üretimi hücresel makromoleküllerde (lipit, protein ve nükleik asitler) çeşitli oksidatif değişikliklere sebep olmaktadır. ROT kaynaklı DNA hasarı baz modifikasyonları, şeker hasarı, zincir kırılmaları şeklinde DNA üzerinde oksidatif lezyonlar oluşturmak suretiyle mutajenezis, onkojenezis ve yaşlanma şeklinde



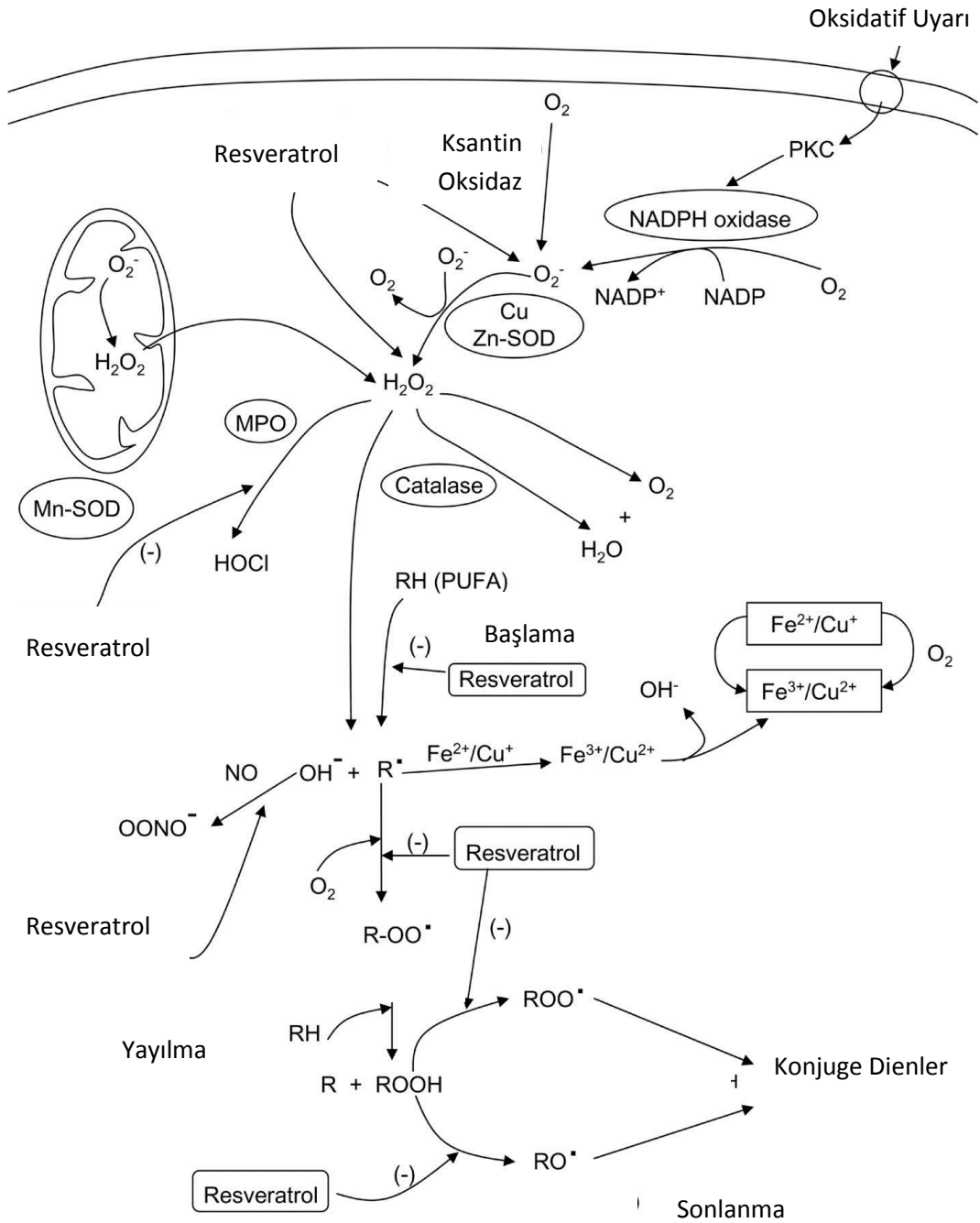
gözlenmiştir. Gen transkripsiyonunun oksidanlar, antioksidanlar ve hücre içi redox durumu tarafından regüle edildiği göz önünde bulundurulacak olursa ROT, çeşitli tipte mutasyonları tetikleyerek protein hasarına da sebep olabilir Resveratrol antioksidan etkisini serbest radikal süpürücü ve çeşitli antioksidan enzimlerin etkisini kolaylaştırmak suretiyle gösterir. Resveratrolün antioksidan özelliği fenolik hidroksil gruplarının yükseltgenme-indirgenme özellikleri ve kimyasal yapılarındaki elektron değişimlerinden kaynaklanmakla birlikte yüksek dozlarda alındığında prooksidan etki gösterdiği yapılan çeşitli çalışmalarda ifade edilmiştir (Ahmad ve ark., 2005; de la Lastra ve Vilages, 2007; Saeidnia ve Abdollahi, 2013).

Zini ve arkadaşları (1998) yaptıkları bir çalışmada resveratrolün doğal antioksidan rolünü üç farklı mekanizma ile açıklamaktadır. Bunlardan biri koenzim Q ile yarışmak suretiyle reaktif oksijen türleri oluşum yerinde oksidatif zincir kompleksini azaltmaktır. Diğer mitokondrideki superoksit radikallerini yakalamak, sonucusu ise Fenton reaksiyonu ürünleri tarafından indüklenen lipid peroksidasyonunun inhibisyonudur. Farklı çalışmalarda resveratrolün hem süperoksit hem de hidroksil radikalini yakalama yeteneğinin olduğu gösterilmiştir. Ancak bu özellik pek çok güçlü antioksidandan daha zayıftır (Neves ve ark., 1999; Martinez ve Moreno, 2000; Baur ve Sinclair, 2006; Gülçin, 2010). Resveratrol *in vitro* zayıf ROT yakalayıcısı olmasına rağmen *in vivo* güçlü antioksidan özellik gösterir. Resveratrolün *in vivo* antioksidan özelliği nitrik oksit sentezini artırma yeteneği ile güç kazanmaktadır. Resveratrol, eNOS'u aktive ederek hücre içi savunma sisteminin bir parçası olan glutatyon düzeyini artırır. Bu şekilde resveratrol biyolojik sistemlerde bulunan antioksidanların hücre içi konsantrasyonlarının sürdürülmesini de sağlamaktadır (de la Lastra ve Villegas, 2007). Aynı zamanda mitokondriyel solunum zincirinde ve NADPH-oksidadaz enzim sisteminde oluşan  $O_2^-$  serbest radikallerini eNOS üzerinden inhibe ettiği bildirilmiştir (Tang ve ark., 2014).

ROT'nin zararlı etkilerine karşı dokuları korumak amacıyla SOD, glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz enzim sistemleri de dahil olmak üzere birçok hücrel savunma sistemleri devreye girmektedir. Resveratrolün hidrojen peroksit ile aktive olan insan lenfositlerinde glutatyon miktarını arttırdığı, başka bir çalışmada da insan lenfositlerinde resveratrolün glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve glutatyon-S-transferaz gibi glutatyon metabolizması ile ilgili enzimlerin miktarını arttırdığı gösterilmiştir (Das ve Maulik, 2006).

Resveratrolün ayrıca hücrenin yaşam süresi ve canlılığını arttıran Sirtuin-1 genini aktive ederek yaşam süresini uzattığı ve çeşitli nörodejeneratif hastalıklara karşı da koruyucu rolü olduğu bildirilmiştir (Tyagi ve ark., 2010; Agarwal ve Baur, 2011; Tang ve ark., 2014; Kulkarni ve Canto, 2015).

Ayrıca resveratrolün oksidatif hasara bağlı gelişen apoptozisi, Swiss 3T3 fare fibroblastlarında, sıçan feokromositoma (PC12) hücrelerinde, insan retinal pigment epitel hücrelerinde (RPE) engellediği çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (King ve ark., 2006; Shukla ve Singh, 2011; ).



Şekil 3. Resveratrolün Antioksidan Aktivite Mekanizması (de la Lastra ve Villegas, 2007)

#### Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri

Resveratrol ateroskleroz gelişiminden sorumlu düşük dansiteli lipoproteinlere bağlanarak lipoprotein peroksidasyonunu inhibe ederek bakırın kataliz ettiği oksidasyonu azaltarak kardiyovasküler sistem üzerinde etki gösterir (Wilson ve ark.1996; Wu ve Hsieh, 2011). Ateroskleroz patojenezinde resveratrol total kolesterol ve trigliserit seviyesini azaltırken, yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) düzeyini arttırmaktadır (Prasad, 2012). Çeşitli çalışmalarda resveratrolün kardiyovasküler sistem üzerine doğrudan ya da dolaylı yollarla etkisini trombosit

agregasyonunu azaltmak (Pace-Asciak ve ark., 1995; Wu ve Hsieh, 2011), vazorelaksan aktivite (Naderali ve ark., 2000), ateroskleroz üzerine baskılayıcı etki (Bradamante ve ark., 2004), lipit peroksidasyonunu inhibe edici etki (Tyagi ve ark., 2010), serum kolesterol ve trigliserit düzeylerini iyileştirici etki (Delmas ve ark., 2005) göstermek suretiyle yaptığı bildirilmiştir.

Koroner hastalıkların risk faktörlerinden biri olan hiperkolesterolemide de resveratrol düzenleyici etkiye sahiptir. Rocha ve arkadaşlarının (2009) yüksek yağlı diyete tabi sıçanların içme suyuna resveratrol ekleyerek oluşturdukları deneysel modelde, resveratrolün sıçanlarda lipit profilini düzelttiği, glukoz seviyesini azalttığı, SOD enziminin etkinliğini artırarak hepatik oksidatif stres ve okside LDL düzeyini azalttığı saptanmıştır. Metabolik sendromda diyabet ve obeziteye bağlı oluşan yan etkileri azalttığı gözlenmiştir (Petrovski ve ark., 2011; Szkudelski ve Szkudelska, 2011). Resveratrol adipoz dokuda lipolizi artırarak zayıflamaya ve kalori kısıtlamasına fayda sağlayarak da kardiyoprotektif etki göstermektedir (Baile ve ark., 2011).

Resveratrolün trombosit agregasyonunda rolü olduğu düşünülen lipooksijenaz ürünlerini inhibe ederek ve trombosit agregasyonunu inhibe etme fonksiyonu olan NO salınımını artırarak antitrombosit aktiviteye neden olduğu düşünülmektedir (Pace-Asciak ve ark., 1995; Olas ve ark., 2006; Gresele ve ark., 2011).

Farklı hayvan modellerinde resveratrolün farmakolojik dozlarında endotelial nitrik oksit düzeylerini ve nitrik oksit biyoyararlanımını arttırdığı saptanmıştır (Nakata ve ark., 2012). Resveratrol, NO aracılı olan ve olmayan mekanizmayla kasılmayı engelleyerek vazodilatör etki göstermektedir (Gresele ve ark., 2011; Tang ve ark., 2014).

Kardiyovasküler sistem hastalıklarında reaktif oksijen türlerinden  $O_2^-$ ,  $OH^-$ ,  $H_2O_2$  ve NO önemli rol oynamaktadır.  $O_2^-$  ve  $OH^-$  radikalleri daha reaktifken,  $H_2O_2$ 'nin membran geçirgenliği daha yüksektir. Resveratrol vasküler oksidatif strese karşı direnci  $H_2O_2$ 'i yakalamak, oksidatif stres kaynaklı endotel hücre ölümünü engellemek ve antioksidan ve anti-apoptotik özellikleri ile kardiyovasküler sistem hastalıklarına karşı güçlü koruyucu etkinlik göstermektedir (Çatalgöl ve ark., 2012).

#### *Hepatoprotektif aktivite*

Karaciğer stellat hücrelerinin aktivasyonunu engelleyen bir bileşiğin fibrojenezisi de engelleyebileceği düşüncesiyle; RES'ün stellat hücre proliferasyonu üzerine olan etkisi araştırılmış, sonuç olarak RES'ün, sinyal ileti yolağını ve hücre protein döngüsü ekspresyonunu inhibe ederek, stellat hücrelerinin aktivasyonunu engellediği bildirilmiştir (Fremont, 2000). Kawada ve arkadaşlarının (1998) yaptığı çalışmada resveratrolün lipopolisakkaritler tarafından stimüle edilen Kupffer hücreleri tarafından üretilen TNF-alfa ve NO üretimini inhibe ettiği bildirilmiştir. Yapılan çeşitli *in vivo* çalışmalarda, hepatik iskemi-reperfüzyon, etanol toksisitesi, asetaminofen, naftalin,  $CCl_4$  toksisitesi deney modellerinde resveratrolün farklı mekanizmalarla karaciğer üzerinde koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir (Bishayee ve ark., 2010b; McGill ve ark., 2015).

### *Nöroprotektif Aktivite*

Resveratrol, streptozosin ile deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanların beyin hücrelerinde oksidatif stres belirteci olan lipit peroksidasyonunu azaltarak nöroprotektif etki göstermiştir (Ateş ve ark., 2007). Travmatik hasar oluşturulmuş deney modellerinde, Alzheimer ve Parkinson deney modellerinde de resveratrolün antioksidan aktivite ile nöroprotektif etkisi gösterilmiştir (Keskin ve ark., 2009; Darvesh ve ark., 2010; Vang ve ark., 2011; McCalley ve ark., 2014). Ayrıca sağlıklı sıçan ve fare beyinlerinde de MnSOD aktivitesini arttırarak ( Rege ve ark., 2013) ve glutasyon düzeyini arttırarak (Sinha ve ark., 2002) antioksidan savunma sistemine destek olduğu bildirilmiştir. Sıçanlarda iskemi sonrası lipit peroksidasyonunu azaltmada resveratrolün etkili olduğu da Ren ve arkadaşları (2011) tarafından gösterilmiştir.

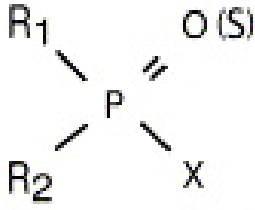
Resveratrolün diyabet sonrası hafızaya etkisinin, serebral kortekste, hipokampuste, striatum ve hipotalamustaki AKE aktivitelerine etkisinin test edildiği bir çalışmada resveratrol diyabete bağlı hafıza kaybını önleyerek AKE aktivitesini arttırmıştır (Çatalgöl ve ark., 2012).

### **Organofosfatlı Bileşikler**

Besin maddelerinin üretimi, tüketimi ve depolanmaları sırasında, besin değerini bozan ve besinleri yok eden, zarar veren haşereleri, mikroorganizmaları ve diğer zararlıları (pestleri) yok etmek için kullanılan fiziksel, kimyasal veya biyolojik savaş maddelerine pestisitler denir (Vural, 1996). Bu grup içinde yer alan ve böceklere karşı kullanılan insektisitler, tarımsal üretimi arttırmak amacıyla kullanıldığı gibi, bilinçsiz kullanımı sonucu insan sağlığı için risk faktörü oluşturmaktadır (Casida, 2010; Eddleston ve Bateman, 2012; Özkaya ve ark., 2013) İsektisit grubunun bir üyesi olan organofosfatlı insektisitlerden tetraetilpirofosfat ilk defa Philippe de Clermont tarafından 1854'te sentezlenmiştir (Chowdary ve ark., 2014). O zaman bileşiğin değeri tam anlaşılamamış olmakla birlikte 1932'de dimetil ve dietilfosforidatın senteziyle bileşiklerin yan etkilerinden yola çıkarak pestisidal aktiviteleri Alman Kimyacı Schraeder tarafından gösterilmiştir. Kısa bir süre sonra Gerard Shraeder ve ekibi sarin, tabun, soman gibi organofosfat bileşiklerini potansiyel sinir gazı olarak II. Dünya Savaşı sırasında geliştirmiştir. Bunu 1947'de etilparathion, 1949'da metilparathion ve 1950'de malathionun sentezi takip etmiştir. 1970'lerin başında kullanımda olan 200'den fazla farklı organofosfatlı insektisit bulunmaktadır. Günümüzde daha güvenli yeni grupların sentezi ile OF bileşiklerinin kullanım alanı gittikçe azalmış, dolayısıyla yeni moleküllerin sentezi de yavaşlamıştır (Chambers ve ark., 2010).

### **Organofosfatlı bileşiklerinin genel kimyasal özellikleri**

OF bileşiklerinin genel yapısı ortada bir fosfor atomu ve çevresinde 4 atomla karakterizedir. Genel yapıları **Şekil 4**'te gösterilmiştir.

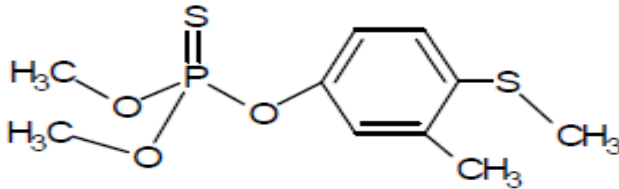


Şekil 4. Organofosfatların Genel Kimyasal Yapıları

OFB genel olarak fosforik asidin amid veya tiyol türevleri olup, fosfor molekülüne bağlı X (ayrılan grup) bileşiğin özelliklerini belirlemektedir. OFB X pozisyonunda taşıdıkları moleküllere göre çeşitli gruplara ayrılmaktadır. Burada R<sub>1</sub> ve R<sub>2</sub> fosfora doğrudan veya (-O-) veya (-S-) ile bağlanabilen alkil gruplarını ifade etmektedir. R<sub>1</sub> doğrudan, R<sub>2</sub> ise (-O-) veya (-S-) bağı ile (P) a bağlanınca "fosfonat" olarak isimlendirilmektedir. Karbon atomu (C), fosfora (P), amino (-NH) grubu ile bağlandığında fosforoamidat tipi organik fosforlu insektisit ortaya çıkmaktadır. (X) ise substitüe veya dallanmış alifatik, aromatik veya heterosiklik bir grup olabilmektedir (Costa, 2006). OFB R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> yan dallarına göre de alt dallara ayrılmaktadır. Bir çoğunun yapısında fosfora çift bağlı sülfür atomu vardır. Bunlar fosforotiyoatlar olarak isimlendirilir (Chambers ve ark.,2010). Bunların toksik hale gelmeleri için P=S grubunun P=O grubuna dönüşmesi gerekmektedir. Çünkü, yalnızca P=O grubu bulunan bileşikler asetilkolinesterazı baskılayabilmektedir. Oksidatif desülfürasyon olarak adlandırılan bu reaksiyon karaciğerde sitokrom P450 enzimleri tarafından katalizlenmektedir. Malathion ve Parathion'un oksidatif ürünleri malaokson ve paraokson'dur (Iyer ve ark., 2015). Bununla birlikte sinir gazları (Sarin, Soman, Tabun) yapılarında P=O grubu bulduğundan toksik hale gelmeleri için oksidatif desülfürasyona gerek yoktur, asetilkolinesteraza direkt bağlanıp dakikalar içinde etki göstermektedirler (Worek ve ark., 2005; Costa, 2006; Iyer ve ark., 2015).

### Fenthion

Fenthion, kimyasal adıyla *O,O*-dimetil *O*-(4-(metilthio)-*m*-tolil)fosforotiyoat, fosforotiyoat grubu organofosfat grubu insektisit olup Alman Bayer şirketi tarafından geliştirilmiştir (Unger, 1996).



Şekil 5. Fenthionun Kimyasal Yapısı

### Kullanım alanları

Amerika'da 1965 yılında bataklıklarda, durağan sularda, çayırlarda, ormanlarda, ahırlarda ve kümeslerde, domuzlar üzerinde bit Kontrolünde, süs bitkilerinde

yaprak zararlıları ve yaprak bitlerinin Kontrolünde, pirinç tarlalarındaki sivrisinekler üzerinde geniş bir kullanım alanı bulmuştur. Çıktığı yıllarda çiftlik hayvanları ve evcil hayvanlardaki dış parazitleri yok etmek için spreyler ve şampuanların bileşimine katılmak suretiyle de kullanım alanı bulmuştur. Diğer OFB' e göre daha az toksik olması ve daha az kalıntı bırakması nedeniyle günümüze kadar pek çok tarımsal faaliyette pestlerden kurtulmak için fenthionun kullanılması tercih edilmiştir (Carlson, 2000).

### ***Fenthionun Fizikokimyasal Özellikleri***

Kimyasal Adı: *O,O*-dimetil *O*-(4-(metiltiyolo)-*m*-tolil)fosforotiyoat

Sinonimleri: Baytex, Lebaycid, Queletox, Tignvon, OMS-2

Formülü: C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>O<sub>3</sub>PS<sub>2</sub>

Görünüşü: Saf madde renksiz ve hemen hemen kokusuzdur. Teknik materyal %95-98 saflıktadır, Sarı-kahverengi, yağimsı ve sarımsak kokulu likit yapıdadır.

Moleküler Ağırlığı: 278.33 g/mol

Sudaki Çözünürlüğü: 2 mg/l (20 °C'de), gliserid yağları ve birçok organik çözücüde çözünebilmektedir.

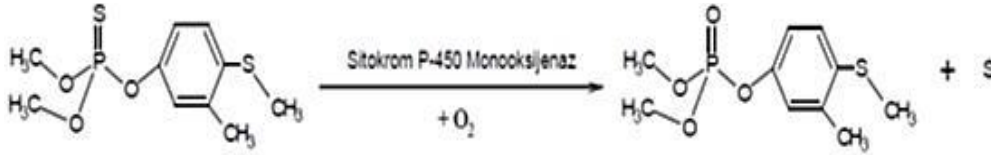
Stabilitesi: 160°C'ye kadar stabil, ışığa ve alkalın hidrolizine karşı dirençlidir (Carlson, 2000).

### ***Fenthionun Farmakokinetiği***

Yağda çözünürlüklerinin yüksek olması nedeniyle hızla emilip vücut dokularına dağılmaktadırlar. Özellikle solunum yolu ile emilimleri yüksek olup ağızdan fazla miktarda alındıklarında bulgular çok kısa sürede başlamaktadır. İntravenöz uygulamada da bulgular hemen başlayıp ağır şekilde seyretmektedir (Kozacı, 2012). OFB' e maruziyeti takiben genellikle 30 dakika ile 3 saat içinde zehirlenme bulguları görülmektedir (Saydam ve ark., 2006). Bu bileşikler kan beyin engelini kolaylıkla geçip özellikle karaciğer ve böbrekte yüksek yoğunlukta birirmektedir. Yağda çözünürlükleri kan beyin engelini geçiş miktarını etkilemektedir (Timchalk, 2010).

OFB'in oksidasyon ürünleri olan oksonlar toksisitesi yüksek antikolinesteraz bileşiklerdir (Jokanovic, 2001). Fenthionun metabolizasyonu faz I (oksidasyon, redüksiyon, hidroliz) ve faz II (konjugasyon) basamaklarını içermektedir. Fenthion, fenthion oksona desülfüre edilebilmektedir ve fenthion okson kuvvetli asetilkolinesteraz inhibitörü olarak etki gösterir (Kitamura ve ark., 2000). Yapısında fosfora çift bağlı sülfür atomu içeren fosforotiyoatların antikolinesteraz enzim inhibisyonu yapabilmeleri ve toksik hale gelmeleri için oksidatif desülfürasyonla P=S grubunun P=O grubuna dönüşmesi gerekmektedir. Bu oksidatif desülfürasyon reaksiyonu başta sitokrom P450 monooksijenaz enzimleri tarafından katalizlenmektedir (Worek ve ark., 2005; Masson ve Rochu, 2009; Iyer ve ark., 2015). Fenthionun **Şekil 6**'da gösterildiği gibi sitokrom P450 monooksijenazlarca oksidasyonu, öncelikle karaciğer hücrelerindeki endoplazmik retikulumda olmak üzere akciğer ve beyinde gerçekleşmektedir. Reaksiyonda oksijen "P=S" grubuna bağlanarak kükürdün inorganik kükürt olarak ayrılmasına neden olmaktadır. Bu sırada NADPH veya NADP elektron transportu da

gerçekleşmektedir (Francis ve Barnes, 1963). Oksidasyonda görevli sitokrom P450 dışında bir diğer enzim de flavin-monooksijenazdır. Bu enzim grubu da sitokrom P450 kadar yaygın olmasa da karaciğerde N,P ve S içeren bileşiklerin oksidasyonunda NADPH'ye bağımlı olarak görev almaktadırlar (Hodgson, 2010).



**Şekil 6. Fenthionun Desülfürasyonu**

Desülfürasyon sonucu oluşan okson ara metabolitleri aril veya alifatik hidrolaz enzimlerince hidroliz olmaktadır. Organofosfatların hidrolizinde rol alan en önemli enzim organofosfat hidrolaz olarak da isimlendirilen kalsiyuma bağımlı fosfotriesterazdır (A-esteraz). A-esterazlar da oksidasyondan sorumlu enzimler gibi özellikle karaciğerde yüksek oranda bulunmakla birlikte ekstrahepatik dokularda da düşük oranda bulunmaktadır (Chambers ve ark., 2010; Hodgson, 2010).

Fenthion başlıca karaciğerde esteraz hidrolizi ve konjugasyon ile yıkılmaktadır. Dearilasyon reaksiyonları oksidasyon reaksiyonu gibi görünse de oluşan ürünler oksidasyon olmadığını göstermektedir. Antikolinesteraz aktivite için fosfat/okson yapısının oluşması gereklidir. Dearilasyon sadece detoksifikasyon reaksiyonudur (Costa, 2006; Chambers ve ark, 2010; Hodgson, 2010). Fosforotiyoatlar hidroliz ile etkisiz ürünlere dönüşüp idrar, safra, dışkı yolu ile vücuttan atılmaktadır (Bajgar, 2004).

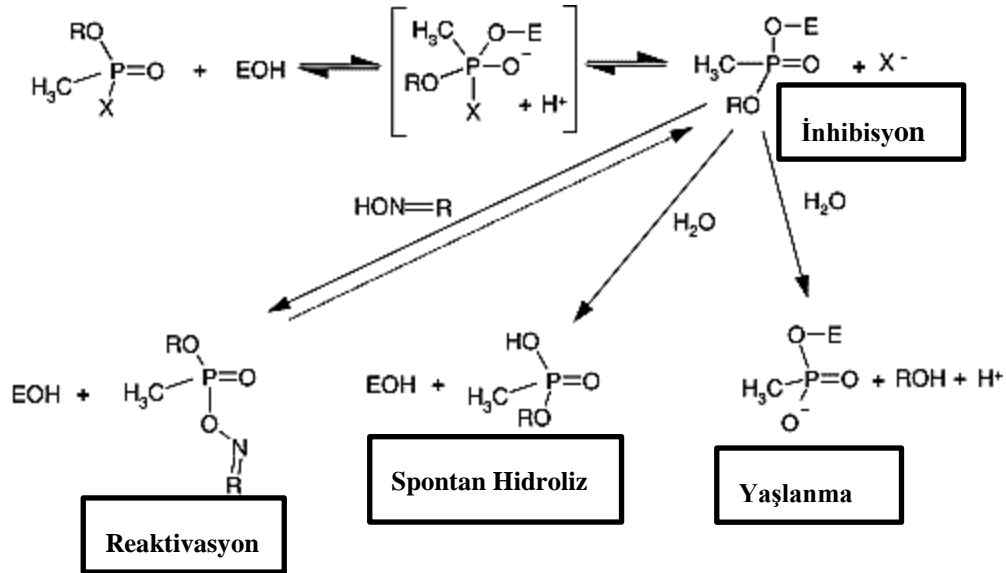
### ***Fenthion Toksisitesinin Etki Mekanizması***

OFB'in genel etki mekanizması, asetilkolinesteraz (AKE), butirilkolinesteraz (psödokolinesteraz) gibi kolinesteraz grubu enzimleri geri dönüşsüz inhibe etmesine dayanmaktadır. AKE'in substratı AK iken, spesifik olmayan butirilkolinesteraz türlere göre farklılık göstererek butirilkolin ya da propiyonilkoline bağlanabilmektedir (Giacobini, 2004; Wilson, 2010).

Fenthion etkisini diğer OFB gibi hedef enzim niteliğindeki kolinesterazlar ile yapısal olarak geri dönüşsüz bütünleşerek AKE enziminin doğal substratı olan AK'in yerini almak suretiyle göstermektedir (Rosenfeld ve Sultatos, 2006).

AKE sinir sisteminde sinaps boşluklarında, nöromuskuler kavşaklarda, serebrospinal sıvıda, santral sinir sistemindeki nöronlarda, çizgili kaslarda bulunmaktadır. Aynı zamanda memelilerde eritrosit yüzeylerinde, lenfosit ve trombositlerde de bulunmaktadır (Husain, 1994; Wilson, 2010). AK'in iki tip reseptörü vardır. Nikotinik AK reseptörleri, iskelet kası miyonöronal kavşak, otonomik gangliyonlar ve MSS üzerinde AK'in etki göstermesini sağlamaktadır. Muskarinik AK reseptörleri ise düz kas miyonöral kavşaklarında, iç ve dış salgı bezlerinde bulunmaktadır (Cummings, 2014). Normal fizyolojik koşullarda AK, AKE enzimi tarafından çok çabuk hidroliz edilerek kolin ve asetik asite dönüşmekte ve postsinaptik membrandaki aktiviteyi ortadan kaldırmaktadır. AKE üzerinde inhibitör ligandların bağlanabileceği üç farklı nokta bulunmaktadır.

Bunlar aktif merkezin anyonik noktası, aktif merkezin katyonik kolin-alt bölgesi ve periferik anyonik bölgesidir. AKE molekülünün anyonik kısmı, önce AKE'nin esteratik kısmına bağlanarak hidroliz olmaktadır. Fenthion AKE enziminin aktif merkezindeki serin aminoasidini fosforilleyerek bu bölgeye geri dönüşsüz bağlanır. Fosforillenmiş enzimdeki alkil gruplarından birinin kaybı sonucu enzimin fosforillenmiş halinin stabilitesi artar. Bu durum yaşlanma olarak adlandırılmaktadır. Yaşlanma zamanı her bileşik için değişmektedir (Mason ve ark., 1993; Clark, 2006). OFB ile zehirlenme sonrasındaki en kısa süre içinde pralidoksimin verilmesi yaşlanmayı geri çevirebilmektedir. Yaşlanma oluştuğunda kolinesteraz enzim aktivitesi kalıcı olarak bozulmaktadır. Klinik bulguların gerilemesi ve doğal enzimatik işlevlerin geri dönmesi için yeni enzim yapımı gerekmektedir (Eyer, 2003; Worek ve ark., 2004; Costa, 2006; Worek ve Thiermann, 2013; Chowdary ve ark., 2014). **Şekil 7**'de AKE'nin inhibisyonu ve reaktivasyonu, hidroliz ve yaşlanma reaksiyon basamakları gösterilmiştir.



Şekil 7. AKE'nin İnhibisyonu, Yaşlanma ve Enzimin Reaktivasyonu (Worek ve ark., 2004)

### **Klinik Zehirlenme Bulguları**

Zehirlenmede üç dönem vardır. Bu dönemler akut kolinerjik kriz, ara sendrom ve gecikmiş polinöropati olarak adlandırılmaktadır (Costa, 2006; Yatendra ve ark., 2014). AKE'nin fenthion ile inhibisyonu merkezi sinir sisteminde, otonom sinir sisteminde ve kas-sinir kavşağında asetilkolinin birikimine yol açmaktadır. Başlangıçtaki aşırı uyarıyı, merkezi sinir sisteminde, otonomik ganglionlarda, parasempatik ve bazı sempatik sinir uçlarında ve somatik sinirlerde kolinerjik sinaptik iletim felci takip etmektedir. Kolinerjik kriz denilen bu durum merkezi ve periferik klinik bulgularla sonuçlanmaktadır (Eddleston ve ark., 2008; Chowdhary ve ark., 2014; Iyer ve ark., 2015). Akut zehirlenme belirtileri bileşiğe maruziyetten sonraki 30 dakika ile 3 saat içinde kendini gösterir. Klinik bulgular maruz kalınan bileşiğe, maruziyet şekline, süresine ve miktarına göre değişiklik göstermektedir. Solunum yolu ile emilim çok hızlıdır. Deriden emilim ise daha yavaştır. Ağızdan fazla miktarda alımlarda etki dakikalar içinde başlamaktadır.



Bununla birlikte yağda çözünürlüğü yüksek olan bileşikler yağ dokusundan tekrar salınarak tekrarlayan ya da geciken bulgulara sebep olmaktadır (Tsatsakis ve ark., 1998; Timchalk, 2010; Yatendra ve ark., 2014).

OFB'le akut zehirlenmenin klinik belirtileri muskarinik, nikotinik ve SSS belirtileri olmak üzere üç grupta toplanabilir.

#### *Muskarinik belirtiler*

Muskarinik belirtiler tükürük, gözyaşı, burun ve bronş mukoza salgılarının aşırı derecede artması, terleme, miyozis ve akomodasyon spazmı, görme bozukluğu, bulantı, kusma, ishal, kolik, idrarı tutamama, sık tuvalete gitme ihtiyacı, bronkospazm, göğüste sıkışma, nefes darlığı, akciğer ödemi, hırıltılı solunum, bradikardi, aritmi ve kan basıncı düşüklüğü şeklinde kendini göstermektedir.

#### *Nikotinik belirtiler*

Asetilkolin sempatik ganglion ve adrenal medulladaki nikotinik reseptörleri stimüle eden presinaptik nörotransmitterdir. Aşırı stimülasyon sonucunda göz kapakları, yüz, dil, ekstremiteler kasları ve diğer kaslarda fasikülasyon, istem dışı hareketler ve güçsüzlük, ileri dönemde çizgili kas felci ile kendini göstermektedir.

#### *SSS belirtileri*

Konfüzyon, ataksi, konuşma güçlüğü, reflekslerin bozulması, solunumun baskılanması, konvülsiyonlar ve koma ile karakterizedir. Akut dönemde primer ölüm nedeni genellikle kalp iletim problemleri, solunum yetmezliği ve beyinde yaşam merkezinin baskılanması şeklinde gözlenmektedir (Francis ve Barnes, 1963; Eyer, 1995; Savolainen, 2001; Pope ve ark., 2005; Costa, 2006; Eddleston ve ark., 2006; Karalliedde ve ark., 2006; Roberts ve Aaron, 2007; Balali-Mood ve ark., 2008; Eddleston, 2012; Yatendra ve ark., 2014). Akut kolinerjik kriz sonrasında Parkinson benzeri ekstrapiramidal etkiler nadir de olsa OFB zehirlenmelerinde gözlenebilmektedir (Hsieh ve ark., 2001).

#### *Ara sendrom*

OFB ile zehirlenmelerde akut kolinerjik intoksikasyondan 24-96 saat sonra başlayan ara sendrom (Intermediate Sendrom) olarak nitelendirilen ikinci dönem de solunum yetmezliği ile sonuçlandığı için OFB'e bağlı morbidite ve mortaliteyi etkileyen en önemli etmenlerden biridir (Senanayake ve Karalliedde, 1987; De Bleecker, 1993; He ve ark., 1998; Karalliedde ve ark., 2006). Bu sendrom özellikle parathion, metilparathion, diazinon, malathion, fenthion, monocrotophos, dimethoate ve methamidophos ile sık gözlenmektedir. Mekanizması tam olarak açıklanamamış olmakla birlikte De Bleecker ve arkadaşları (1993), dokularda biriken OFB'in yavaş salınımının ve AKE'nin kalıcı inhibisyonunun ara sendrom oluşmasına neden olduğunu öne sürmüşlerdir. John ve arkadaşları (2003) bu klinik tablodaki en önemli bulgunun boyun fleksör ve proksimal ekstremiteler kaslarını etkileyen kas güçsüzlüğü olduğunu göstermişlerdir. Hastalar oluşan bu kas hasarına bağlı olarak başlarını dik tutamamaktadır. Bu dönemde kranial sinir felçleri sıklıkla görülmekte olup çoğunlukla ölümle sonuçlanmaktadır (De Bleecker ve ark., 1993; Eddleston ve ark., 2006; Yang ve Deng, 2007; Yatendra ve ark., 2014).

Akut OFB'le zehirlenmeyi takiben oluşan bu olaylar aynı zamanda serbest radikal üretimi için elverişli bir ortam sağlamaktadır (Dandapani ve ark., 2003). Kasların yoğun egzersiz sonrasında serbest radikal oluşturduğu gözlenmiştir (Sen, 2001). Buna göre akut OFB'le zehirlenmeyi takiben gözlenen ara sendromda oluşan benzer özellikteki kas hasarı ve inflamasyonda da serbest radikallerin rol oynadığı düşünülebilir. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada OFB'le zehirlenmeye bağlı gelişen kas hiperaktivitesi sonucu oluşan kaslardaki hücre hasarının lipid peroksidasyonu ile serbest radikal üretimine yol açtığı gösterilmiştir (Yang ve Dettbarn, 1998).

#### *Gecikmiş polinöropati*

OFB'in neden olduğu bir diğer klinik sendrom olan gecikmiş polinöropati ise insanlarda nispeten nadir görülen nörodejeneratif bir bozukluktur. Polinöropati zehirlenmeden sonraki 14-28 gün içinde gözlenebilmektedir. Sinir dokusundaki nöropati target esteraz (NTE) enziminin OFB'le geri dönüşümsüz baskılanması sonucu omuriliğin inen ve çıkan kolunda ve periferik sinirlerin duyu ve motor aksonlarındaki işlev kaybına bağlı olarak polinöropati oluşabilmektedir (Abou-Donia ve Lapadula, 1990; Ehrich ve Jortner, 2010; Yatendra ve ark., 2014). Başlangıçta kol ve ayaklarda kas güçsüzlüğü vardır. Daha sonra tablo spastisite, tonus artışı, refleks artışı ve klonus gibi piramidal yol hasarını ve kalıcı üst motor tutulumunu düşündürecek şekilde değişim gösterir. Bu sendrom sonucunda hastaların çoğunda üst ekstremitelerde sınırlı düzelme gözlenirken alt ekstremitelerdeki hasar kalıcı olmaktadır (Jokanovic ve ark., 2011; Chowdhary ve ark., 2014)

Diğer yandan OFB'in üretiminde çalışan endüstriyel işçilerde kronik maruziyete bağlı olarak maruziyetten iki yıl sonrasında dahi bazı uyku ve hafıza bozuklukları şeklinde etki gösteren gecikmiş kognitif toksisite gözlenebilmektedir (Karczmar, 1984). Subakut dozlarda da nonkolinerjik yolak üzerinden asilpeptidhidrolaz enzimi vasıtasıyla kognitif etkinliği gösterilmiştir (Pancetti ve ark., 2007). Kronik zehirlenmelerde uzun dönemde çeşitli kognitif bozukluklara yol açtığı birçok çalışmada bildirilmiştir (Lotti, 2010).

#### *Organofosfatlı bileşiklerin diğer etkileri*

OFB'lere maruziyet sonucu en sık gözlenen metabolik sorun hiperglisemidir. Fenthiona düşük dozda uzun süre maruziyetin sonucunda farelerde vücut ağırlığında artış olduğu gösterilmiştir (Thayer ve ark., 2012). Srivastava ve Mishra (1983) yaptıkları bir çalışmada akut fenthion zehirlenmeleri sonucunda hiperglisemi oluştuğunu; aynı zamanda fenthionun karaciğerde hepatik glikojenolizi uyardığını gözlemişlerdir. Malathionla akut ve subakut zehirlenmelerde serumda insulin, glukagon düzeylerinin arttığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Panahi ve ark., 2006; Pournourmohammadi ve ark., 2007). Akut OFB'le zehirlenmede glikoz metabolizmasında ve plazma adrenokortikotropik hormonun (ACTH) diüurnal ritminde değişiklik oluşabilmektedir. Kronik maruziyetlerde metabolik aktivitenin baskılanması sonucunda obezite ve Tip 2 *diabetes mellitus* riskini arttırabilmektedirler (Karami-Mohajeri ve Abdollahi, 2010). Yapılan bir çalışmada organofosfatların hiperlipidemi sonucu lipid metabolizması ile etkileştiği gösterilmiştir (Bomser ve ark., 2002). OFB ile zehirlenme hormonlar üzerine de etkiler göstermektedir. Kolinesteraz

inhibitörlerinin hipofiz-tiroid ve hipofiz-adrenal aksı değiştirdiği gösterilmiştir. ACTH'nin diurnal ritminin bozulduğu ve zehirlenme sırasında serum düzeylerinin yüksek olduğu gözlenmiştir (Güven ve ark.,1999). Benzer şekilde kortizol ve prolaktin düzeyleri de yükselmektedir (Prakash ve ark., 1992). Tiroid fonksiyonları üzerinde farklı etkiler görülebilir. Sıçanlarda malationa bağlı zehirlenmelerde serum triiyodotironin (T3) ve tiroksin (T4) seviyelerinde önemli azalma ve tiroid stimüle edici hormon (TSH) düzeyinde yükselme gözlenmiştir (Gaido ve ark., 1997).

Pankreasta Langerhans adacıklarından insulin ve glukagon salgılanmasında pankreatik muskarinik AK reseptörleri önemli rol oynamaktadır. Malathiona akut ve subakut maruziyetlerde insulin, glukagon ve Langerhans Glukokinaz serum düzeylerinde yükselme gözlenirken, glukozu bağımlı insulin sekresyonunun düştüğü gözlenmiştir (Panahi ve ark., 2006; Pournourmohammadi ve ark., 2007; Lasram ve ark., 2014).

Organofosforlu bileşiklerin oral alımı sonrasında karın ağrısı, kusma, ishal gibi gastroenterite benzer bulgular oluşmaktadır (Kandalajt ve ark., 1991; Costa, 2006). Organofosfor zehirlenmelerinde akut pankreatit nadiren de olsa oluşabilmektedir. Akut pankreatit sonucunda amilaz ile birlikte lipaz da yükselebilmektedir (şahin ve ark., 2002; Harputluoğlu ve ark., 2007; Yürümez ve ark., 2007a; Lotti, 2010).

Kalp dokusu üzerinde muskarinik etkilere bağlı olarak ilk önce bradikardi gözlenmekte olup buna ek olarak ventriküler disritmiler de ortaya çıkabilmektedir. Daha ağır zehirlenmelerde nikotinik etkilere bağlı olarak taşikardi ve hipertansiyon da gözlenebilmektedir. Akut fenthion zehirlenmelerinin miyokardial hasara sebep olduğu gösterilmiştir (Yavuz ve ark., 2008; Yatendra ve ark., 2014).

Tedavi dozlarında verildiklerinde antikolinesteraz ilaçların nöromuskuler kavşaktaki uyarıcı etkisi myestania gravisli hastalarda normal kişilere göre daha belirgin gözlenmektedir. Bu hastalarda kaslardaki güçsüzlük, çabuk yorulma ve felç gibi belirtileri ortadan kaldırdıkları gözlenmiştir (Shelton, 2002).

### ***Organofosfatlı bileşikler ile zehirlenmede tanı yöntemleri***

OFB ile zehirlenme belirtileri solunumda ve kusmakta keskin sarımsak benzeri koku, miyozis, bradikardi, kas seyirmeleri, tükrük salgısında artış, solunum yolu salgılarında artış ve gözyaşında artış ile karakterizedir. Bazı hastalarda taşikardi, hipertansiyon, midriyazis gibi etkiler gözlenebilmektedir. OFB alımında eritrosit AKE ve BKE enzim etkinliğinin ölçümü ile zehirlenme düzeyi saptanmaktadır (Eddleston ve ark., 2004). AKE eritrositler, iskelet kası ve sinir dokusunda bulunurken, BKE özellikle karaciğer, plazma, kalp, beyin beyaz maddesi ve pankreasta bulunmaktadır (Savolainen, 2001; Worek ve ark., 2005; Balali-Mood ve ark., 2008; Eddleston, 2012). Eritrosit membranında proteolitik enzimlerle yapılan çalışmalarda AKE'nin eritrosit membranının yüzeyine yerleştiği ve membranın yaklaşık %2'sini kapladığı gözlenmiştir (García-López, 1988). İnsanlarda AKE aktivitesi eritrositlerde en yüksek, trombositlerde ise en düşük düzeydedir (Lotti, 2010). OFB'in direkt ölçümü mesleksel maruziyette alan

taramalarında, giysilerin koruyucu değerini değerlendirmede kullanılmaktadır. Çok yüksek miktarlarda alınmadıkça OFB'ler hızla parçalanmakta, kan seviyesi genellikle düşük çıkmaktadır. OFB'ler ile zehirenmelerde zehirlenme ölçütü olan kolinesteraz aktivitesinin tayini asetik asit ya da tiyokolin veya diğer substratların analizi prensiplerinde dayanmaktadır. Asetik asit tayininde manometrik, potansiyometrik, titrimetrik yöntemler kullanılmaktadır (Holas ve ark., 2012). Tiyokolin ve diğer substratların analizinde ise spektrofotometrik (Worek ve ark., 2005; Sinko ve ark., 2007; Worek ve ark., 2012), florometrik (Miao ve ark., 2010; Holas ve ark., 2012) veya kemiluminesans (Holas ve ark., 2012) yöntemler kullanılmaktadır. Bir diğer yöntem ise OFB'deki özgül alkil fosfatın gaz kromatografisi, likit kromatografisi ve idrarda fenolik metabolit tayini ile belirlenmesidir (Noort ve ark., 2002; Black, 2010). Bu yöntemler genellikle maruziyetin ilk 24 saatinde kullanılmaktadır (Barr ve Needham, 2002; Roberts ve Aaron, 2007; Balali ve ark., 2008; Chowdhary ve ark., 2014).

### ***Organofosfatlı Bileşiklerle Zehirlenmede Tedavi Yöntemleri***

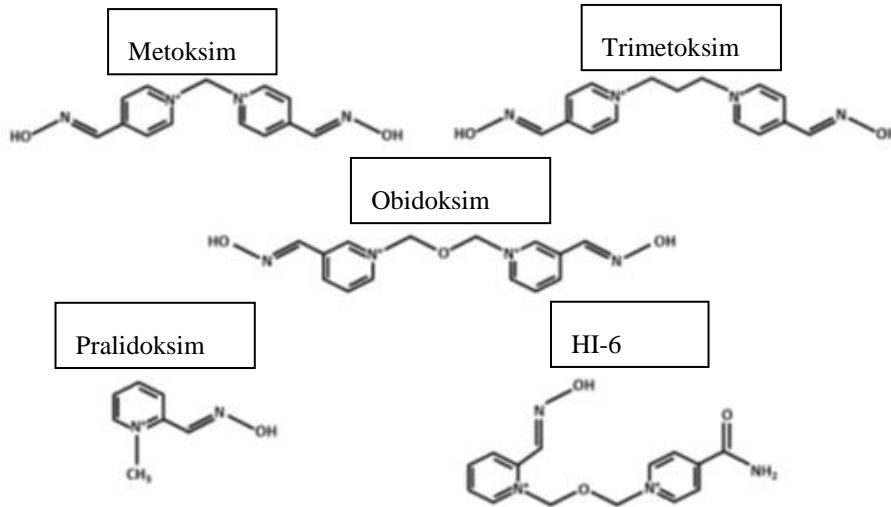
OFB'le zehirlenme tedavisinde semptomatik ve destekleyici tedavi ile öncelikle emiliminin engellenmesi sağlanmalıdır. Bu yüzden öncelikle temasın önlenmesi için hastanın çevreden uzaklaştırılarak giysilerinin çıkarılması gerekmektedir. Deriden emilimin önlenmesi için deterjanla ve bol su ile cilt OFB'den arındırılmalıdır. OFB'in alımının ilk 30 dakikasında mide yıkanmasının çok etkili olduğu gösterilmiştir. Aktif kömürün ağızdan veya nazogastrik tüpten verilmesi OFB'in emilimini azaltmaktadır (Sadayoshi ve ark., 1997; Balali-Mood ve ark., 2008). Başlangıçta solunum yolunun açık olduğundan emin olunmalıdır. Solunum depresyonu, bronkospazm, bronşiyal sekresyonlar ve pulmoner ödem gibi yaşamı tehdit eden durumlarda solunum desteği ve aspirasyon, endotrakeal entübasyon yapılması gerekmektedir. Hasta mutlaka kardiyak fonksiyonlar ve arteriyel kan gazları açısından monitörize edilmelidir (Saydam ve ark., 2006; Eddleston ve ark., 2008; Kozacı ve ark., 2012). Tedavide yeterli oksijenizasyon sağlandıktan sonra ikinci öncelik artmış muskarinik aktiviteyi Kontrol altına almaktır. Atropin sülfat muskarinik reseptörlerde asetilkolinin yarışmalı antagonistidir. Artmış salgı, miyozis, bronkospazm, kusma, ishal, terleme ve idrar kaçırmayı geri çevirmektedir. Atropin periferik ve santral sinapslarda biriken asetilkolinin muskarinik etkilerini ortadan kaldırırken, nikotinic reseptörlerde etki göstermemektedir. Kas güçsüzlüğünü ve felci geri döndüren AKE'ı yenileyici özelliklere sahip değildir (Jokanovic, 2009). Erişkinlerde venöz yoldan 1-5 mg doz ile başlanır, atropinizasyon oluşana kadar 2-3 dakikada bir tekrarlanır. Atropinize hastada deri ve mukoz membranlarda kuruma, bağırsak seslerinde azalma veya yokluk, taşikardi, salgılarda azalma ve midriyazis oluşur (Balali-Mood ve ark., 2008; Jokanovic, 2009; Kozacı ve ark., 2012). Son dönemde atropin tedavisinin oksim ve diğer destekleyici tedavilerle birlikte uygulansa bile yetersiz kalabileceğini gösteren çalışmalar da mevcuttur (Wang ve ark., 2012; Connors ve ark., 2014).

### ***Organofosfat Zehirlenmesinde Oksim Tedavisi***

Oksimler OFB tarafından aktif bölgesindeki serin aminoasidinin hidroksil grubuna kovalent bağ ile bağlanarak inhibe edilen AKE'in reaktivasyonunu sağlamak suretiyle etki göstermektedirler (Jokanovic, 2009). Bu bileşikler aktive

kolinesterazların onarılması ve atropinin düzeltemediği nikotinik etkilerin geri döndürülmesinde yararlı olmaktadır (Johnson ve ark., 2000). AKE'in oksijen molekülü ile OFB'in fosfat molekülü arasındaki kimyasal bağ çok güçlüdür. Enzimin fosfat molekülünden ayrılarak kendiliğinden tekrar etkin hale gelmesi ise oldukça yavaştır (Mason ve ark., 1993; Buckley ve ark., 2011). Bazı güçlü nükleofilik ilaçlar AKE'in defosforilasyonu ile tekrar etkin hale gelmesini hızlandırırlar. OFB ile baskılanmış AKE'nin yenileyicileri olarak bilinen oksimler, AKE-OF kompleks haline geldiğinde etkisizdir, yaşlanma oluşmadan zehirlenmenin ilk 24-36 saati içinde verilmelidir. OFB ile zehirlenme sonrasındaki en kısa süre içinde pralidoksimin verilmesi yaşlanmayı geri çevirebilmektedir. Yaşlanma oluştuğunda kolinesteraz enzim aktivitesi kalıcı olarak bozulmaktadır. Klinik bulguların gerilemesi ve doğal enzimatik işlevlerin geri dönmesi için yeni enzim yapımı gerekmektedir (Johnson ve ark., 2000; Savolainen, 2001; Yatendra ve ark., 2014).

OFB ile zehirlenme tedavisinde reaktivatör olarak ilk kez 1956'da Hiraki ve arkadaşları oksimleri kullanmıştır. Oksimler, aldoksim ve buna bağlı kuaternar nitrojen grubu içeren bileşiklerdir. Pralidoksim (2-hidroksiiminometil-1-metilpiridinyum iyodid) tek kuaternar nitrojen grubu içerirken, Obidoksim, Trimedoksim birbirine karbon zinciri ile bağlı iki kuaternar nitrojen grubu içerir. Tek kuaternar nitrojen grubu içeren bileşiklerle karşılaştırıldığında iki kuaternar nitrojen grubu içeren bileşiklerin OFB ile baskılanmış AKE'a ilgisi daha fazladır (Worek ve Thiermann, 2013).



**Şekil 8. Oksimlerin Genel Kimyasal Yapısı (Iyer ve ark., 2015)**

Pralidoksim (2-piridin aldoksim, 2-PAM), obidoksim, HI-6, trimetoksim (TMB-4), MMB-4 deneysel insan çalışmalarında incelenmiş oksimlerdir ve bunlardan özellikle pralidoksim bugün en sık kullanılan oksimdir (Kassa, 2002; Buckley ve ark., 2011; Iyer ve ark., 2015).

Pralidoksim aktif alandan fosforil grubunu ayırarak AKE'ı tekrar etkin hale getirmek; serbest OF moleküllerini bağlamak, normal dozlarda antikolinergik etki göstermek suretiyle etki göstermektedir (Kassa, 2002; Kayaalp, 2002). PAM'in etkisi nikotinik etkiler üzerinde çok belirgindir, muskarinik reseptörler üzerine

atropin ile sinerjistik etkiye sahiptir. Etkisi hızlıdır ve genellikle 10-40 dk içinde yararlı etkileri gözlenir. Kuaterner amonyum yapısı kan-beyin bariyerini geçişini engellemektedir. Kan-beyin bariyerini çok az oranda geçebilmektedir. Atropin ile birlikte verilmesi halinde PAM'ın kan-beyin engelini geçen miktarının arttırdığı gözlenmiştir (Carpentier ve ark., 1989; Chugh ve ark., 2005; Milatovic ve Jokanovic, 2009; Iyer ve ark., 2015). Pralidoksimin etkisi nöromüsküler kavşakta belirgindir. OFB ile zehirlenmeye bağlı muskarinik bulguları geri çevirmede etkisizdir. Benzodiyazepinlerle birlikte kullanıldığında hırçınlık, saldırganlık ve nöbetler üzerine etkisi daha belirgin olarak ortaya çıktığı bildirilmiştir. Yan etkilerinin ortaya çıkması genellikle PAM'ın hızlı verilmesine bağlıdır (200 mg/dk'dan hızlı). Bu nedenle 200 mg/dk (4 mg/kg/dk)'dan daha hızlı verildiğinde başağrısı, baş dönmesi, bulanık görme, bulantı, kusma, taşikardi, hipertansiyon, laringeal spazm, kas rijiditesi, epigastrik rahatsızlık hissi, ortaya çıkabilmektedir. Ayrıca aşırı dozda PAM verilmesi beklenenin tersi etki olarak kolinesteraz inhibisyonu yapabilmektedir (Karczmar, 1998; Eddleston ve ark., 2008). Barsaklardan uzamış emilim ve yağ dokusundan yeniden dağılım nedeni ile OFB kanda 48 güne kadar ölçülebilmektedir. Bu nedenle alımdan günler veya haftalar sonra hastalarda AKE baskılanması ile ilgili bulgular oluşabilmektedir. Bu tip olgularda pralidoksimin geç verilmesinden sonra kolinerjik bulgularda, güçsüzlük ve felçlik üzerinde düzelmenin olduğu bildirilmiştir (Santos ve ark., 2002; Eddleston ve ark., 2008). Pralidoksim ağızdan, venöz yoldan, kas içinden, deri altından ve dil altından uygulanabilir. Ağızdan alındığında 2-3 saatte, kas içine verildiğinde 5-30 dakikada, venöz yoldan verildiğinde 15-30 dakikada plazmada zirveye ulaştığı gözlenmiştir. Yarılanma ömrü venöz yoldan verildiğinde 1,2 saat, kas içine verildiğinde 3 saattir. Piridinium oksimlerin %20-30'u değişmeden esas olarak böbrek yolu ile atılmaktadır (Jokanovic, 2009).

Pralidoksimin OF zehirlenmesinde önerilen başlangıç yetişkin dozu 1-2 gr'dır. Bu doz venöz yoldan 100 mL %0,09 sodyum klorür içinde uygulanır. Kas seyirmeleri ve güçsüzlüğünün devamı halinde doz tekrarlanır. Zehirlenme bulgularının devam ettiği süre boyunca aralıklarla ek dozlar uygulanması gerekmektedir. Hastanın klinik bulgularına göre doz ayarlanır (Jokanovic, 2009; Lotti, 2010; Tang ve ark., 2013). Chugh ve arkadaşlarının (2005) OF zehirlenmesi olan 30 hastada yaptıkları çalışmada Atropin+PAM tedavisinin, yalnız atropin tedavisine üstünlüğü değerlendirilmiştir. Bir gruba yalnız atropin, diğer gruba atropin tedavisine ek olarak klinik bulgular düzelinceye kadar her 6 saatte 1 gr. pralidoksim tedavisi uygulanmış. Bu çalışmada yoğun bakım ünitesinde kalma ve solunum destek süresinde gruplar arasında istatistiksel fark bulunmamış ve 4-6 saatlik 1 gr PAM'ın OF zehirlenmesinde rolü olmadığı sonucuna varmışlardır. Santos ve arkadaşları (2002) tarafından fareler üstünde yapılan bir çalışmada fareler 5 gruba ayrılarak methamidophos ile OF zehirlenmesi oluşturulmuş ve zehirlenmenin 0., 1., 3., 6 ve 12. saatinde tek doz 20 mg/kg pralidoksim periton içine uygulanmış ve 12. saat pralidoksim verilen grup hariç tutulduğunda pralidoksimin OF'ların oluşturduğu kas nekrozunu engellediğini gözlemlemişlerdir. Kas nekrozunun kaslarda işlev bozukluğu sonucu klinik tabloda solunumun kötüleşmesine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Bu çalışma ile OF zehirlenmesi sonrasında pralidoksimin en kısa zamanda verilmesi gerektiği gösterilmiştir.

OF zehirlenmesinde bulgulara göre atropin ve 2-PAM tedavisine diazepam eklenmesi sağ kalımı arttırabilir. Çeşitli çalışmalarda OFB ile zehirlenmelerin tedavisinde oksimler ile diazepam verilmesi sağ kalımı arttırmakta, OFB'in neden olduğu nöbetlere karşı beyin hasarını azaltmaktadır (Balali-Mood ve ark., 2008; Lotti, 2010). Farklı benzodiazepin türevlerinden midazolam ve imidazenil de OFB zehirlenmelerinde tedaviye destek olarak kullanılmaktadır (Wang ve ark., 2012; RamaRao ve ark., 2014; Shrot ve ark., 2014; Iyer, 2015).

Oksimlerle tedavi sırasında en sık görülen yan etkilerden biri hepatotoksisitedir (Balali-Mood ve Shariat, 1998). Doza ve uygulama süresine bağlı olarak gelişen bu durum hastaların yaklaşık %10'unda görülmektedir (Jokanovic, 2009). Oksimlerin OFB ile zehirlenmede antidot olarak kullanımı günümüzde halen tartışılan bir konudur. Bazı araştırmacılar farklı dozlarda oksimleri antidot olarak kullanmanın sağılım açısından gerekli olduğunu ifade etseler de bazı araştırmacılar da oksimlerin kullanımının sağılımda fayda sağlamadığını ifade etmektedir. Günümüzde oksimlerin kullanım protokolü halen tartışmaya açık bir konudur (Buckley ve ark., 2011; Iyer, 2015).

### ***Organofosfatlar ve Reaktif Oksijen Türleri Arasındaki İlişki***

Sinir sistemi, kardiyovasküler, immün, endokrin, solunum, boşaltım gibi çeşitli sistemlerdeki organların fonksiyonlarında bozulmaya bağlı olarak gelişen çeşitli hastalıklarla birlikte kanser, Parkinson, Alzheimer, multipl skleroz, diyabet gibi kronik hastalıkların çoğunun etiyolojisinde pestisit kalıntılarının maruziyet önemli bir etki oluşturmaktadır. *In vivo* ve *in vitro* deneysel çalışmalar, akut, subakut ve kronik OFB'e maruziyet sonucu ortaya çıkan hepatotoksisite, nörotoksisite, genotoksisite, embriyotoksisite, immünotoksisite gibi etkenlerin temelinde OFB'in yol açtığı artmış reaktif oksijen türlerinin neden olduğu oksidatif doku hasarının rol oynadığını ortaya koymuştur. Bu çalışmalarda, karaciğer, beyin ve kalp, akciğer, böbrek gibi çeşitli organlardaki doku örneklerinde, serum ve eritrositlerde LPO'nun bir göstergesi olan tiyobarbitürik asit reaktif substansları seviyelerinde artışın ve enzimatik antioksidan savunma elemanlarından SOD, KAT, GSH-Px, GSH-Rd aktivitelerindeki değişikliklerin gösterilmesiyle OFB'in oksidatif hasarda rol oynayabileceği belirtilmiştir (Banerjee ve ark., 1999; Galloway, 2003; Mohammad ve ark., 2004; Milatovic ve ark., 2006; Franco ve ark., 2009; Lukaszewicz-Hussain, 2010; Bayrami ve ark., 2012; Karami-Mohajeri ve Abdollahi, 2013; Mostafalou ve Abdollahi, 2013). Kronik maruziyete bağlı olarak OFB karbonhidrat metabolizmasında çeşitli bozukluklara yol açmaktadır (Lasram ve ark., 2014). Bu etkilerin arasında en belirgin olanı hiperglisemidir (Ruckmani ve ark., 2011). Renal tübüler düzeyde oksidatif stresin indüksiyonuna bağlı olarak glikozüri de gözlenmiştir ( Badrane ve ark., 2014). Özellikle kronik maruziyet sonucu Tip II *Diabetes Mellitus* ortaya çıkmakla birlikte bozulmuş glukoz toleransı da sıklıkla karşılaşılan vakalardandır (Nurulain ve ark., 2013). Glukoz geçiş elementi varlığında  $O_2^-$  radikali ile etkileşerek reaktif ketoaldehitlere dönüşmektedir. Reaksiyonlar zinciri sonucunda  $O_2^-$  radikali  $H_2O_2$  ve bunun üzerinden OH radikali dönüşmektedir. Hücre içinde glukozun oksidasyonu NADH oluşumuna sebep olmaktadır. NADH solunum zincirinde oksidatif fosforilasyonda ATP üretimi için gerekli enerjiyi sağlamak üzere kullanılmaktadır. Solunum zincirindeki bu reaksiyondan ötürü  $O_2^-$  radikali

oluşmaktadır. Dolayısıyla hücre içi glukoz konsantrasyonunun artması  $O_2^-$  radikalini de arttırmaktadır. Mitokondriyel solunum zincirinden elektron kaçağı hücre içi ROT üretimine sebep olan başlıca faktörlerdendir (Brookes, 2005). Normal solunum zinciri olaylarında da sürekli  $O_2^-$  radikalleri meydana gelmekte fakat normal koşullarda bu radikaller vücudun kendi antioksidan sistemi tarafından zararsız hale getirilmektedir (Chan ve ark., 2006; Karami-Mohajeri ve Abdollahi, 2013).

Tarımda yaygın olarak kullanılan pestisitler,  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$  ve  $OH^-$  radikali gibi ROT'nin oluşumuna yol açarlar. Bu radikaller, biyolojik makromoleküllerle reaksiyona girebilirler, enzim inaktivasyonuna ve DNA hasarına sebep olabilirler. Pestisitler, yağlı dokularda birikerek çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olur, hücre membranının yapısını bozarlar. Bu oksidanlar, antioksidan savunma sistemi tarafından uzaklaştırılmazlarsa oksidatif strese neden olurlar (Lukaszewicz-Husain, 2010; Soltaninejad ve Abdollahi, 2013). Etkisizleştirilemeyen ROT başta hücre membran lipidlerinin peroksidasyonu olmak üzere nükleik asitler, protein ve karbonhidratlarda önemli yıkımlar gerçekleştirmektedir (Banerjee ve ark., 1999; Gültekin ve ark., 2000; Öncü ve ark., 2002; Ojha ve Srivastava, 2014). Mitokondriyel ATP, ROT üretiminde ve apoptozisi tetikleyen mekanizmalarda belirgin role sahiptir (Dikalov, 2011; Marchi ve ark., 2012). Mitokondride oksidatif hasara bağlı oluşan yapısal ve fonksiyonel değişiklikler, hücre solunum ve enerji üretim zincirlerini bozarak apoptozis ve nekrozis gibi sitotoksik olaylara sebep olabilmektedir. Yapılan çalışmalar OFB'in enerji üretimini (Massicotte ve ark., 2005; Chan ve ark., 2006; Venkatesh ve ark., 2009; Binukumar ve ark., 2010; Shafiee ve ark., 2010), mitokondriyel solunumu ve solunum zincirindeki enzimlerin aktivitelerini bozduklarını (Yamano ve Morita, 1995) göstermektedir. Bu nedenle mitokondriyel hasarlar farklı hücreler, dokular ve organlarda farklı hastalıklarla kendini gösterebilmektedir. Mitokondriyel hasarların hepatik, kardiyovasküler, nörodejeneratif ve inflamatuvar hastalıkların esas sebeplerinden olduğu düşünülmektedir (Abdollahi ve Karami-Mohajeri, 2012; Bayrami ve ark., 2012). Oksidatif hasar sonucu mitokondriyel proteinler, lipidler ve DNA yapısındaki değişiklikler sonucunda hücre ölümünü tetikleyen mekanizmalar aktive olmaktadır. Genel olarak OFB mitokondri üzerindeki etkilerini mitokondriyel kalsiyum miktarını arttırarak; mitokondriyel kaynaklı apoptozisi tetikleyerek; mitokondriyel oksidatif fosforilasyon yollarını bozarak; ATP'nin hidrolizini arttırarak; ATP sentezini azaltarak; mitokondriyel membran potansiyelini değiştirerek; hücre solunum ve mitokondriyel antioksidan savunma sistemlerini bozarak göstermektedir (Mohajeri ve Abdollahi, 2013).



## GEREÇLER

### Deney Hayvanları

Araştırmaya başlamadan önce Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Etik Kuruluna başvurularak etik kurul onayı (Karar no: B.30.2.AKÜ.0.9D 00.00/81 ) alınmıştır. Çalışmalarda aynı yaşta 200-250 gram ağırlığında 56 adet erkek Sprague-Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Sıçanlar Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı Sanayi ve Ticaret A.Ş.'den satın alınmıştır.

### Kullanılan Kimyasal Madde ve İlaçlar

Fenthion	(Bayer, Avustralya)
Resveratrol	(Molekula, M57735199, İngiltere)
Pralidoksim	(Keymen İlaç, Türkiye)
Ketamin	(Pfizer İlaç, Türkiye)
Serum Fizyolojik	(Eczacıbaşı, Türkiye)
n-Hekzan	(Merck, Almanya)
Eozin	(Sigma, A.B.D.)
Hematoksilen	(Sigma, A.B.D.)
Ksilen	(Sigma, A.B.D.)
Hidrojen Peroksit (%30)	(Sigma, A.B.D.)
Sitrik Asit	(Sigma, A.B.D.)
Sodyum Sitrat	(Sigma, A.B.D.)
Sodyum klorür (NaCl)	(Merck, Almanya)
Sekonder sodyum fosfat (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	(Merck, Almanya)
Primer sodyum fosfat (NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	(Merck, Almanya)
Butillenmiş hidroksitoluen	(Sigma, A.B.D.)
Absolüt etanol (C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH)	(Merck, Almanya)
Trikloroasetik asit (CCl <sub>3</sub> -COOH)	(Merck, Almanya)
Etilen diamin tetraasetik asit (C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>8</sub> 2H <sub>2</sub> O)	(Sigma, A.B.D.)
Tiyobarbitürik asit (C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S)	(Sigma, A.B.D.)
Sodyum hidroksit (NaOH)	(Sigma, A.B.D.)

Metafosforik asit, n(HPO <sub>3</sub> )	(Merck, Almanya)
Redükte Glutasyon (C <sub>10</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>6</sub> S)	(Sigma, A.B.D.)
5-5' dithiobis-(2-nitrobenzoik asit) DTNB	(Sigma, A.B.D.)
3-amino-9-etilkarbazol	(AEC, Invitrogen)
Distile Su	
Parafin	

### **Kullanılan Cihazlar ve Kitleler**

Superoksit Dismutaz Kiti	(Randox, İngiltere)
Glutasyon Peroksidaz Kiti	(Randox, İngiltere)
Bax (p-19) antibody Kiti	(Santa Cruz, A.B.D)
Bcl (N-19) Antibody Kiti	(Santa Cruz, A.B.D)
Anti-Caspase 3 antibody Kiti	(Abcam ab4051,Cambridge, İngiltere)
Anti-Caspase 8 antibody Kiti	(Abcam ab4052,Cambridge, İngiltere)
ImmPRESS Anti-Rabbit Ig (Peroxidase) Polymer Detection Kit	(VectorLab, Peterborough, İngiltere)
ImmPACT VIP Peroxidase Substrate	(VectorLab, Peterborough, İngiltere)
Spektrofotometre	(Schimadzu, Kyoto, Japonya)
Ayarlanabilir otomatik pipet	(Biohit, Sartorius AG, Almanya)
Çalkalayıcı	(Gerhardt RS, Almanya)
Sıcak Su Banyosu	(Mommert WB/OB 7-45)
Soğutmalı Santrifüj	(Heraeus Sepatech Minifuge RF)
In Situ Cell Detection Kit	(Roche, Sigma Aldrich, A.B.D.)
Çeşitli Cerrahi Malzemeler	
Çeşitli Cam Malzemeler	

## **YÖNTEMLER**

### **Sıçanların Hazırlanması**

Çalışmalarda aynı yaşta 200-250 gram ağırlığında 56 adet erkek Sprague-Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Sıçanlar Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde 12 saat karanlık 12 saat aydınlık döngüsünde,  $24\pm 1$  °C sıcaklıktaki havalandırılmalı odalarda, 3 gün boyunca Afyon Yem Fabrikasından temin edilen standart laboratuvar yiyeceği ve çeşme suyu ile serbestçe beslenerek gözlem altında tutuldu.

### **Deney Grupları**

Yapılan deneylerde kontrol grubu da dahil olmak üzere yedi farklı grup oluşturuldu. Her bir grup rastgele olarak seçilen sekiz sıçandan oluşturuldu.

Grup Gözlem: Sıçanlar hiçbir etken madde verilmeden deneye dahil edildi.

Grup Kontrol: Sıçanlara subkutan yoldan fenthion (800 mg/kg) verilerek OF zehirlenmesi oluşturulduktan 1 saat sonra periton yoluyla tek doz resveratrolün çözücüsü serum fizyolojik (2 ml/kg) uygulandı.

Grup RES10: Sıçanlara subkutan yoldan fenthion (800 mg/kg) verilerek OF zehirlenmesi oluşturulduktan 1 saat sonra i.p. ve tek doz olarak 10 mg/kg resveratrol verildi.

Grup RES20: Sıçanlara subkutan yoldan fenthion (800 mg/kg) verilerek OF zehirlenmesi oluşturulduktan 1 saat sonra i.p. ve tek doz olarak 20 mg/kg resveratrol verildi.

Grup RES40: Sıçanlara subkutan yoldan fenthion (800 mg/kg) verilerek OF zehirlenmesi oluşturulduktan 1 saat sonra i.p. ve tek doz olarak 40 mg/kg resveratrol verildi.

Grup PAM40: Sıçanlara subkutan yoldan fenthion (800 mg/kg) verilerek OF zehirlenmesi oluşturulduktan 1 saat sonra i.p. ve tek doz olarak 40 mg/kg pralidoksim verildi.

Grup PAM+RES: Sıçanlara subkutan yoldan fenthion (800 mg/kg) verilerek OF zehirlenmesi oluşturulduktan 1 saat sonra i.p. ve tek doz olarak 20 mg/kg resveratrol + 40 mg/kg pralidoksim verildi.

Fenthion enjeksiyondan bir saat önce distile su ile dilüe edildi.

### **Kan Örneklerinin Alınması**

OF zehirlenmesi oluşturulduktan 24 saat sonra sıçanlar intraperitoneal yolla 100 mg/kg ketamin verilerek uyutuldu, kalpten 5 ml'lik enjektörlerle kanları alındı. Kalplerinden alınan kanın bir kısmı EDTA'lı tüplerde, bir kısmı da serum tüplerinde toplandı.

Serum tüplerine alınan kan örnekleri oda sıcaklığında pıhtılaşmak üzere bekletildikten sonra 3000 rpm hızda 10 dakika boyunca santrifüj edilerek üst

kısımda berrak serum elde edildi. Santrifüj sonunda tüpün üzerinde toplanan berrak serum numunesinin bir kısmı ile aynı gün içerisinde MDA, GSH analizleri yapıldı.

Kalan kısım ise ependorf tüplere aktarılarak serumda askorbik asit,  $\beta$ -karoten ve retinol analizleri yapılmak üzere derin dondurucuda analiz gününe kadar saklandı.

### **Doku Örneklerinin Hazırlanması**

Kanları alındıktan sonra ölen sıçanların, hızlı bir şekilde karaciğer, böbrek, beyin, akciğer ve kalpleri çıkartıldı, ayrı kaplara konarak, analiz zamanına kadar saklanmak üzere  $-70^{\circ}\text{C}$  derin dondurucuya kaldırıldı.

### **Eritrosit Paketlerinin Hazırlanması**

EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri bir saat  $+4^{\circ}\text{C}$  de bekletildikten sonra 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Eritrosit ve plazma kısmı birbirinden ayrıldı. Oluşan plazma ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra eritrosit içeren tüpler altta kalan hacme eşit oranda serum fizyolojik (% 0.9 NaCl) eklenerek 2000 rpm de 8 dakika santrifüj edildi. Eritrosit yıkama işlemi toplamda üç kez tekrarlanarak üstte kalan beyaz hücre tabakası (buffy coat) atıldı, elde edilen eritrosit paketleri glutatyon peroksidaz, katalaz ve superoksit dismutaz enzim aktiviteleri tayinine kadar derin dondurucuda  $-70^{\circ}\text{C}$  de saklandı.

### **Biyokimyasal Analizler**

#### **Kanda Malondialdehit (MDA) Tayini**

Serbest radikallerin doymamış yağ asitlerini peroksidasyona uğratarak oluşturdukları son ürünlerden biri MDA'dır. MDA tayini Jain ve arkadaşlarının yöntemine göre yapıldı. Bunun için tüm kan numuneleri kullanıldı. MDA tiyobarbitirik asit (TBA) ile reaksiyona girerek renkli formda bir bileşik meydana getirir. Oluşan bu renkli bileşiğin 532 ve 600 nm dalga boylarındaki spektrofotometrik (Shimadzu UV-1601) ölçümüne göre lipid peroksidasyon tayini yapıldı.

NaCl,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ve  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  ve distile su ile pH 7.4 tampon çözelti hazırlandı. %0.88 BHT 10 ml absöüt etanolde çözüldü. %30 trikloroasetikasit (TCA) distile su ile 100 ml'ye tamamlandı. 0.05 N NaOH distile su le 1 litreye tamamlandı. Bir deney tüpüne tüm kandan 200  $\mu\text{l}$  numune alınarak üzerine fosfat tamponu, BHT ve % 30'luk TCA eklendi. Tüpler vorteksle karıştırılarak 2 saat buz banyosunda tutuldu. Daha sonra 2000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilip elde edilen süpernatanttan 1 ml başka tüpe aktarıldı. Bunun üzerine EDTA- $\text{Na}_2\text{H}_2\text{O}$  ve %1'lik TBA eklendi. Oda sıcaklığına kadar kendiliğinden soğuması sağlandıktan sonra spektrofotometrede köre karşı 532 ve 600 nm dalga boylarında absorbanları okundu. Köre olarak distile su kullanılarak aynı işlemler sırasıyla gerçekleştirildi. Sonuçlar nmol/ ml olarak değerlendirildi.

#### **Kanda Glutatyon (GSH) Tayini**

Bueller ve arkadaşlarının tarafından tanımlanan yöntemin esası reaksiyon ortamında kullanılan DTNB (5,5'-2-dithiobisnitrobenzoikasit)'in kandaki serbest

sülhidril grupları ile indirgenerek bir mol –SH grubuna karşılık bir mol 2-nitro-5-merkaptobenzoik asit vermesine ve bu nitrobenzoik asidin oluşturduğu sarı rengin şiddetinin spektrofotometrede 412 nm’de ölçümüne dayanmaktadır.

Deney tüpüne tüm kan numunesinden 200 µl alındı. Üzerine distile su ilave edildi. Hazırlanan hemolizatın içindeki –SH (tiyol) taşıyan bütün proteinler presipitasyon (çöktürücü) çözeltisi ile çöktürülüp 5 dakika beklendikten sonra başka tüpe süzülerek ayrıldı. Elde edilen supernatant başka bir tüpe aktarılarak üzerine fosfat çözeltisi ve DNTB ilave edildi. Spektrofotometrede GSH elde edilen berrak sıvıda –SH gruplarının DTNB ile tepkime sonucu oluşan sarı rengin köre karşı 412 nm dalga boyunda absorbansı ölçüldü. Kör olarak 200 µl distile su alınarak aynı işlemler sırasıyla yapıldı. Standart olarak ise GSH (40 mg/100 ml distile su) çözeltisi taze olarak hazırlandı. Sonuçlar mg/dl olarak değerlendirildi.

### **Kanda Askorbik Asit Tayini**

Omaye ve arkadaşları tarafından tanımlanan yöntem serumun % 6’lık perklorik asitle ekstrakte edildikten sonra oluşan ekstraktın reaksiyon solüsyonu (dinitrofenilhidrazin (DNPH), %0.6’lık bakır sülfat (CuSO<sub>4</sub>) ve %5’lik tiyoüre ile muamele edilerek oluşan sarı renkli kompleksin spektrofotometrede 520 nm’de absorbansının okunması esasına dayanmaktadır.

Derin dondurucuda analiz gününe kadar muhafaza edilen serum derin dondurucudan çıkarılarak oda sıcaklığına gelmesi sağlandı. Numuneler Omaye ve arkadaşlarının bildirdikleri spektrofotometrik metod ile 520 nm dalga boyunda analiz edildi. Deney tüpüne serum numunesi konularak üzerine %6’lık perklorik asit ilave edilerek 15 dakika bekletildi. Sonra 2500 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi ve tüpün üzerinde oluşan süpernatanttan başka tüpe aktarıldı. Bunun üzerine reaksiyon solüsyonu eklendi. Karıştırılan tüpler 90 °C’de 20 dakika bekletildi. Bu sürenin sonunda tüpler buz banyosuna alınarak % 65’lik sülfürik asit ilavesi yapıldı ve vorteksle karıştırılarak 520 nm dalga boyunda köre karşı absorbansları okundu. Kör olarak %6 ‘lık perklorik asit kullanıldı ve reaksiyon solüsyonu ilave edilen basamaktan itibaren işlemler aynı sırayla yapıldı. Sonuçlar mg/dl olarak değerlendirildi.

### **Kanda Retinol ve β- karoten Tayini**

Serumda retinol ve β- karoten düzeyleri Suzuki ve Katoh’un geliştirdikleri yöntem kullanılarak ölçüldü. Yöntemin prensibi retinolün 325 nm ve β-karoten’in 453 nm dalga boylarında maksimum ışık absorpsiyonu esasına dayanmaktadır.

Işık geçirmemesi için alüminyum folyo ile kaplanmış kapaklı bir santrifüj tüpüne 1ml taze serum konuldu ve daha sonra üzerine sırasıyla 1 ml BHT’li etanol ve 3 ml n-hekzan ilave edildi. Tüp içeriği 10 dakika altüst edilerek karıştırılıp 2000 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüjden sonra hekzan fazından 3 ml bir kuvartz spektrofotometre küvetine alınarak n-hekzana karşı sırasıyla retinol için 325 nm ve β- karoten için 453 nm dalga boyunda absorbanslar okundu. Sonuçlar µg/dl olarak değerlendirildi.

### **Dokularda MDA Tayini**

Analiz zamanına kadar saklanmak üzere -70 °C derin dondurucuya kaldırılan beyin, karaciğer, böbrek, kalp ve akciğer dokularının deneyin yapılacağı günden 1 gece önce -20 °C'ye alınarak çözümleri sağlandı. Ağırlıkları saptanan doku örnekleri, 1 g dokuya 10 ml % 0,9'luk NaCl eklenerek homojenizatör yardımı ile 24000 rpm'de homojenize edildi. Homojenat 20 dakika boyunca 10000 rpm'de santrifüjlenerek saflaştırıldıktan sonra supernatantta her bir doku için ayrı ayrı MDA tayini yapıldı.

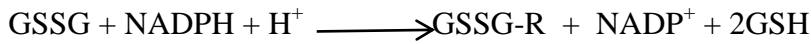
Supernatandan farklı bir tüpe alınıp üzerine 0.075 ml 0.1 M EDTA ve 0.25 ml 0.05 N NaOH tampon ile hazırlanmış %1'lik TBA solüsyonu ilave edildi. Tüpler 15 saniye vortekslendikten sonra 15 dakika kaynar su banyosunda tutuldu. Tüpler hızlıca oda sıcaklığına soğutulduktan sonra 532 ve 600 nm dalga boyunda köre karşı absorbans değerleri okunarak elde edilen değerler dilüsyon katsayısı ile çarpılıp nmol/mg doku biriminde MDA miktarları belirlendi

### **Dokularda GSH Tayini**

Çalışmanın başlangıcında -70 °C derin dondurucuya kaldırılan beyin, karaciğer, böbrek, kalp ve akciğer dokularının deneyin yapılacağı günden 1 gece önce -20 °C'ye alınarak çözümleri sağlandı. Ağırlıkları saptanan doku örnekleri, 1 g dokuya 10 ml % 0,9'luk NaCl eklenerek homojenizatör yardımı ile 24000 rpm'de homojenize edildi. Homojenat 20 dakika boyunca 10000 rpm'de santrifüjlenerek saflaştırıldıktan sonra supernatantta her bir doku için ayrı ayrı GSH tayini yapıldı. 0,6 ml GSH standart çözeltisine veya santrifüjden sonra alınan süpernatantın 0,6 ml'sine 2,4 ml sekonder sodyum fosfat çözeltisi ve 0,3 ml DTNB çözeltisi eklendi, vorteksle karıştırıldı ve oda sıcaklığında 5 dakika bekletildikten sonra çözeltinin absorbansı 412 nm'de köre karşı ölçüldü. Her bir örnek için GSH miktarı, GSH standart çözeltileri ile hazırlanan ölçü eğrisine göre hesaplandı. Sonuçlar nmol/gram doku olarak değerlendirildi.

### **GSH-Px Enzim Aktivite Tayini**

GSH-Px, glutatyonun kümen hidrojenperoksitle oksidasyonunu katalizler. Ortamda bulunan GSSG-R okside glutatyonu hemen redükte forma dönüştürür. Bu sırada ortamdaki NADPH, NADP<sup>+</sup>'ye oksitlenir. GSH-Px aktivitesi, Paglia ve Valentine'nin yöntemine göre NADPH'ın NADP<sup>+</sup>'ye yükseltgenmesi sırasında absorbans farkının spektrofotometre ile 340 nm'de okunması ile ölçülür.



GSH-Px ölçümünde diğer peroksidazların neden olacağı yüksek sonuçların elde edilmemesi için heparinize tam kan örneğine Drapkin ayırıcı ilave edildi. Eritrosit GSH-Px'ı için 25 µl eritrosit 1 ml seyreltici ile dilüe edildi. 37 °C'de 5 dakika inkübasyondan sonra 1 ml Drapkin ayırıcı eklenerek karıştırıldı. Bu karışımdan 20 µl alınarak üzerine 1 ml reaktif ve 40 µl kümen hidrojenperoksit ilave edilerek karıştırıldı, absorbanstaki azalış Randox-Ransel enzim kitleri ile spektrofotometrik metotla 340 nm'de 1., 2. ve 3. dakikalarda reaktif körüne karşı okunup sonuçlar U/l olarak hesaplandı.

### **SOD Enzim Aktivite Tayini**

Metod ksantin-ksantin oksidaz sistemi kullanılarak üretilen süperoksitlerin nitroblue tetrazoliumun (NBT) indirgenmesini inhibe etmesi esasına dayanmaktadır. Biyolojik sistemlerde aerobik oksidasyon sonucunda meydana gelen süperoksit radikalleri NBT boyar maddesini redükte ederek formazonların oluşmasına neden olmaktadır. SOD ise bu oluşan NBT'nin formazonlara dönüşümünü durdurmaktadır. NBT indirgenme hızının inhibisyonuna bağlı olarak SOD aktivite tayini yapılmaktadır. SOD aktivitesi ölçümü Randox-Ransel enzim kitleri ile yapıldı. Absorbanstaki azalış Randox-Ransel enzim kitleri ile spektrofotometrik metotla 340 nm'de reaktif körüne karşı okunup sonuçlar U/ml olarak hesaplandı.

### **KAT Enzim Aktivite Tayini**

Katalaz enzim aktivitesinin ölçümü peroksitin yıkım esasına dayanmaktadır. Katalaz düşük molekül ağırlıklı alkollerle elektron alışverişinde bulunur. Örnekte bulunan KAT enzimi substrattaki  $H_2O_2$ 'i 37 °C'de pH 7.4'te  $H_2O$  ve  $O_2$ 'e dönüştürür. Geriye kalan parçalanmamış substrat ( $H_2O_2$ ), kromojen madde ile sarı renkli stabil bir kompleks oluşturur. Kromojen maddenin şiddeti formaldehitte değişir. Yapılan aktivite tayininde oluşan rengin şiddeti katalaz konsantrasyonu ile ters orantılı olup 540 nm'de ölçüm yapıldı. Sonuçlar kU/l olarak hesaplandı.

### **Organların İzolasyonu**

Nekropsiyi takiben alınan karaciğer örnekleri nötral formaldehitde tespit edildikten sonra rutin doku takibine uygun doku numuneleri doku takip kasetlerine alındı. Otomatik doku takip cihazı yardımı ile (Leica TP 1020) alkol ve ksilol serilerinde dehidre edilen ve şeffaflaştırılan dokular parafin ile blokladı. Bu parafin bloklardan rotary mikrotom (Leica RM 2155) ile 5 µm kalınlığında kesitler alınarak, hematoksilin-eozin (HE), Van Gieson ve Periodic Acid Schiff ile boyandı. Tüm bu kesitler "Kameram® dijital kamera ve Kameram® görüntü analiz sistemi" eklenmiş ışık mikroskopunda (Nicon Eclipse Ci) değerlendirilmiş ve gerekli görüldüğünde dijital kamera ile mikroskopik olarak görüntüler alınmıştır.

### **İmmunhistokimyasal Yöntemler**

Karaciğerlerden histopatolojik incelemeler için hazırlanmış olan parafin bloklardan 3-aminopropyltriethoxysilane (APES) ile kaplanmış adezivli lamlara alınan doku kesitlerine indirekt immunoperoksidaz yöntemi uygulandı. Kesitler ksilollerde deparafinize, dereceli alkol serilerinde rehidre edildikten sonra oda ısısında 10 dk %3'lük hidrojen peroksitte tutuldu. Bu aşamadan sonra antijen ortaya çıkarma yöntemleri uygulanan kesitler nemli kamaraya alınarak üzerlerine birer damla 'serum bloklama' serumu damlatıldı. Bax, Bcl-2, Caspase-3, Caspase-8 anti-serumları firma önerileri doğrultusunda optimize edilen sulandırılmalarda damlatıldı. Takiben, polimerize enzimle konjuge sekonder antikor damlatılan kesitler 3-amino-9-etilkarbazol (AEC) kromojeninde kontrollü olarak bekletildi. Kesitler, normal at serumunun kullanıldığı aşama hariç hematoksilinle boyanmaya kadar pH'sı 7.4'e ayarlanmış fosfatlı tampon (Sodyum klorür, potasyum dihidrojenfosfat ve sodyum hidrojenfosfat karışımından hazırlanan) ile

3x2 dk yıkandı. Mayer'in hematoksilen boyasında 3 dk karşıt boyamaya tabi tutulan kesitler çeşme suyu altında yıkanıp; üzerlerine su bazlı yapıştırıcı damlatılarak lamelle kapatıldı. Pozitif kontrol firma önerisi doğrultusunda önerilen doku ve yöntemler ile yapıldı. Negatif kontrol kesitleri de benzer prosedür ile boyandı, ancak, primer antikor konulmayan kesitlere normal tavşan serumu ile muamele edildi. İmmunoperoksidaz yöntemine göre hazırlanan bahse konu kesitler inceleninceye kadar oda sıcaklığında ve karanlıkta muhafaza edildi. Tüm primer antikorlar peroksidaz enzimi ile konjuge polimerize anti-rabbit IgG (ImmPRESS, MP-740, Vectorlab) tespit edildi. Kesitler 3-amino-9-etilkarbazol (AEC, Invitrogen, 002007) substratı ile renklendirildi.

### **İmmunohistokimyasal Bax Boyama Yöntemi**

Çalışmada Santa Cruz (SC-526) Rabbit poliklonal Bax (clone P-19) primer antikor kullanıldı. Bu antikor için, sitrat buffer pH 6.0, 20 dk mikrodalga basınçlı tenceresi kullanılarak 800 watt enerji altında antijen ortaya çıkarma yapıldı ve 30 dk soğumaya bırakıldı. Antikor 1/50 sulandırma ile oda ısısında 1 saat inkube edildi.

### **İmmunhistokimyasal Bcl-2 Boyama Yöntemi**

Çalışmada Santa Cruz (SC-492) Rabbit poliklonal Bcl-2 (Clone N-19) primer antikor kullanıldı. Bu antikor için, sitrat buffer pH 6.0, 20 dk mikrodalga basınçlı tenceresi kullanılarak 800 watt enerji altında antijen ortaya çıkarma yapıldı ve 30 dk soğumaya bırakıldı. Antikor 1/100 sulandırma ile oda ısısında 90 dk inkube edildi.

### **İmmunhistokimyasal Kaspaz-3 Boyama Yöntemi**

Abcam, (ab4051), rabbit polyclonal, anti- Caspase-3 antikor kullanıldı. Bu antikor için, sitrat buffer pH 6.0, 10 dk mikrodalga basınçlı tenceresi kullanılarak 800 watt enerji altında antijen ortaya çıkarma yapıldı ve 20 dk soğumaya bırakıldı. Primer antikor 1/20 sulandırmayla 2 saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.

### **İmmunhistokimyasal Kaspaz-8 Boyama Yöntemi**

Abcam, Caspase 8 (ab4052) rabbit polyclonal antikor kullanıldı. Bu antikor için, sitrat buffer pH 6.0, 10 dk mikrodalga basınçlı tenceresi kullanılarak 800 watt enerji altında antijen ortaya çıkarma yapıldı ve 20 dk soğumaya bırakıldı. Primer antikor 1/30 sulandırmayla 18 saat buzdolabında inkübasyona bırakıldı.

### **TUNEL yöntemi**

In Situ Cell Death Detection Kit, POD, (Roche, Cat. No. 1 684 817) ticari kiti ile uygulanan yöntemde firma tarafından önerilen basamaklar takip edildi. Parafin bloklardan APES ile kaplanmış adhezivli lamlara alınan doku kesitlerine TUNEL boyama yöntemi uygulandı. Kesitler ksilollerde deparafinize, 100, 96, 80 ve 70 'lik alkol serilerinde rehidre edildikten sonra antijen retrieval amacıyla uygulamalar yapıldı. Daha sonra %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren metanolde 5 dakika, TUNEL karışımında 1 saat, converter POD'da da 30 dakika tutulan kesitler AEC kromojeni ile renklendirildi. Zemin boyası Mayer'in hematoksilen boyası ile



yapıldı. Her aşamadan sonra kesitler PBS ile yıkanacaktır. Negatif Kontrol amacıyla Label solusyonundan yararlanıldı.

### **İstatistiksel Analizler**

Elde edilen bulguların (MDA, GSH, retinol,  $\beta$ -karoten, askorbik asit, SOD, KAT ve GSH-Px) istatistik hesaplamaları, SPSS 10.0 paket programı kullanılarak yapıldı. Çalışmada elde edilen veriler "ortalama  $\pm$  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.

## BULGULAR

### Biyokimyasal Bulgular

Çizelge 1. Çalışma Gruplarına İlişkin Elde Edilen MDA, GSH, Askorbik Asit, Retinol,  $\beta$ -Karoten Değerleri

n=8	GÖZL.	KONT.	RES 10	RES 20	RES 40	PAM 40	PAM+RES
<b>MDA</b>							
(nmol/ml)	2.11	4.88	2.52	2.37	2.27	2.41	2.36
±	±	±	±	±	±	±	±
<b>SH</b>	0.3 <sup>c</sup>	0.6	0.5 <sup>c</sup>	0.4 <sup>c</sup>	0.32 <sup>c</sup>	0.5 <sup>c</sup>	0.3 <sup>c</sup>
<b>GSH</b>							
(mg/dl)	50.79	57.66	59.37	57.04	59.89	59.33	58.93
±	±	±	±	±	±	±	±
<b>SH</b>	3.3	5.1 <sup>d</sup>	4.5 <sup>e</sup>	5.6	4.1 <sup>e</sup>	4.7 <sup>e</sup>	3.6 <sup>d</sup>
<b>Ask.Asit</b>							
(mg/dl)	2.62	2.46	2.66	2.54	2.73	2.51	2.71
±	±	±	±	±	±	±	±
<b>SH</b>	0.2	0.3	0.5	0.2	0.2	0.4	0.2
<b>Retinol</b>							
( $\mu$ g/dl)	59.27	47.38	57.71	57.35	64.05	61.47	57.49
±	±	±	±	±	±	±	±
<b>SH</b>	5.2 <sup>a</sup>	7.3	6.9	7.7	6.7 <sup>b</sup>	8.2 <sup>a</sup>	6.7
<b><math>\beta</math>-Karoten</b>							
( $\mu$ g/dl)	24.43	15.32	23.33	23.57	28.57	24.19	22.02
±	±	±	±	±	±	±	±
<b>SH</b>	3.2 <sup>b</sup>	5.5	2.8 <sup>a</sup>	2.3 <sup>a</sup>	4.8 <sup>c</sup>	6.2 <sup>b</sup>	2.8 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>: Kontrolden farklıdır (p < 0.05)

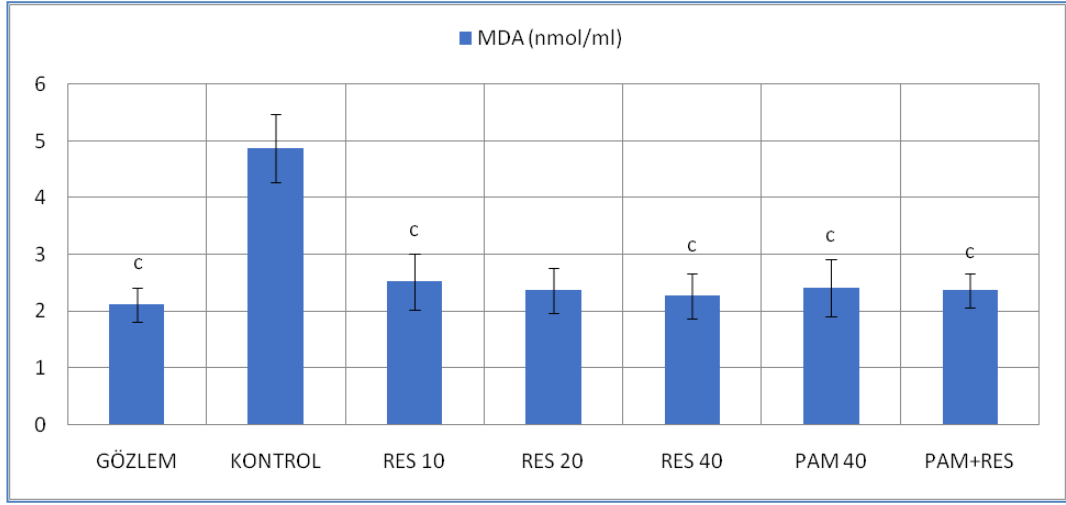
<sup>b</sup>: Kontrolden farklıdır (p < 0.01)

<sup>c</sup>: Kontrolden farklıdır (p < 0.001)

<sup>d</sup>: Gözlemden farklıdır (p < 0.05)

<sup>e</sup>: Gözlemden farklıdır (p < 0.01)

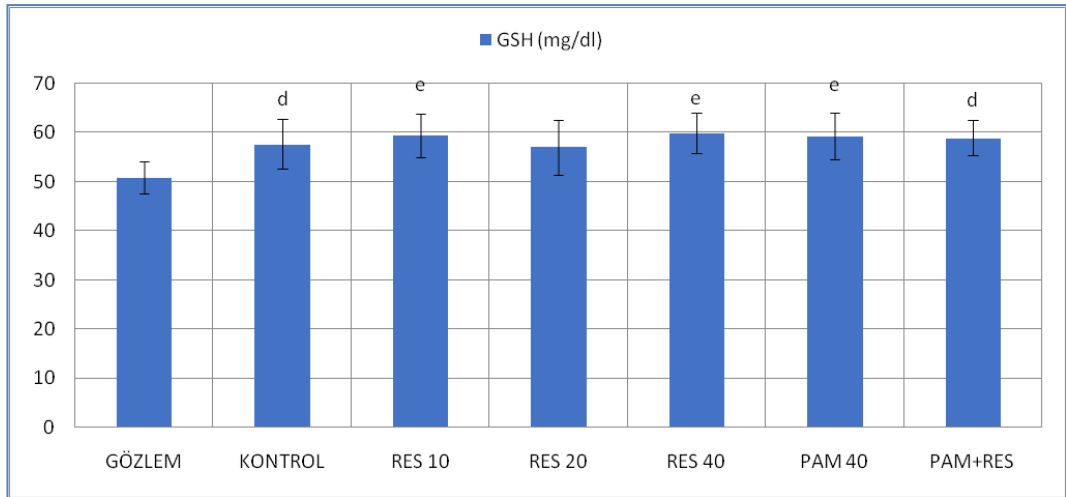
## Kan MDA Düzeyine İlişkin Bulgular



Şekil 9. Kan MDA (nmol/ml) Düzeyine İlişkin Bulgular, <sup>c</sup>: Kontrolden farklıdır (p < 0.001), n=8

Tek doz fenthiona (800 mg/kg, i.p.) maruz kalan Kontrol grubundaki sıçanların MDA düzeylerinde en yüksek oranda artış tespit edilmiştir (p < 0.001). Gözlem grubunda ise bu değer en düşük bulunmuştur (p < 0.001). RES10, RES20, RES40, PAM20 ve PAM40+RES20 gruplarında ise MDA düzeyinin anlamlı şekilde düştüğü gözlenmiştir (p < 0.001). MDA düzeyleri Gözlem grubunda 2.11±0.3 nmol/ml, Kontrol grubunda 4.88 ±0.3 nmol/ml, RES10 grubunda 2.52±0.5 nmol/ml, RES20 grubunda 2.37±0.4 nmol/ml, RES40 grubunda 2.27±0.32 nmol/ml, PAM40 grubunda 2.41±0.5 nmol/ml, PAM+RES grubunda 2.36±0.3 nmol/ml olarak bulunmuştur.

## Kan GSH Düzeyine İlişkin Bulgular

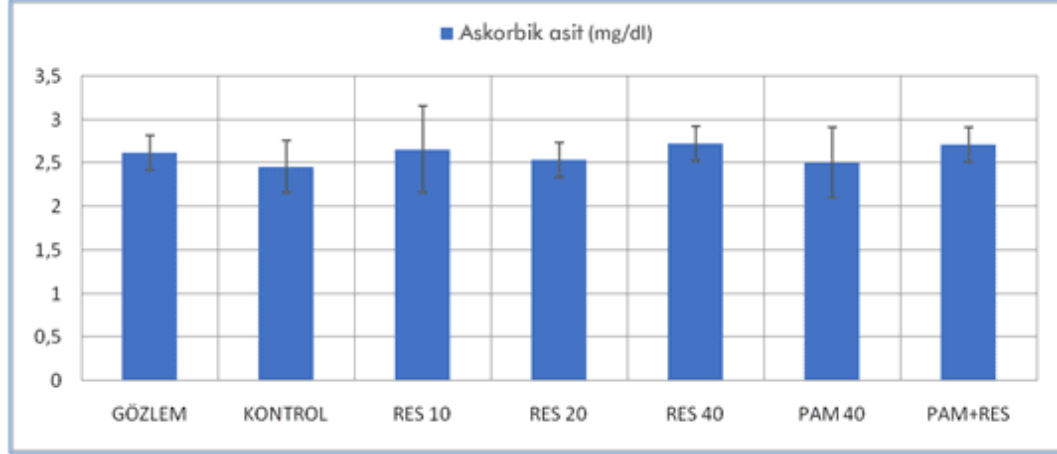


Şekil 10. Kan GSH (mg/dl) Düzeyine İlişkin Bulgular, <sup>d</sup>: Gözlemden farklıdır (p < 0.05), <sup>e</sup>: Gözlemden farklıdır (p < 0.01), n=8

Gözlem grubuna göre değerlendirildiğinde, fenthion (800 mg/kg, i.p.) verilen gruplarda (RES20 hariç) GSH düzeyi anlamlı şekilde yükselmiştir (p < 0.005). GSH düzeyleri Gözlem grubunda 50.79±3.3 mg/dl , Kontrol grubunda 57.66 ±5.1

mg/dl, RES10 grubunda  $59.37 \pm 4.5$  mg/dl, RES20 grubunda  $57.04 \pm 5.6$  mg/dl, RES40 grubunda  $59.89 \pm 4.1$  mg/dl, PAM40 grubunda  $59.33 \pm 4.7$  mg/dl, PAM+RES grubunda  $58.93 \pm 3.6$  mg/dl olarak bulunmuştur.

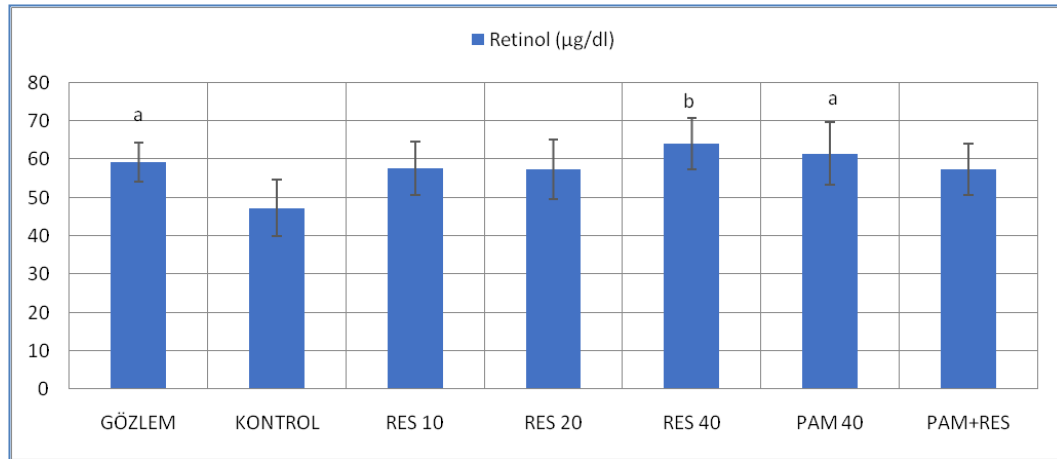
### Kan Askorbik Asit Düzeyine İlişkin Bulgular



Şekil 11. Kan Askorbik Asit (mg/dl) Düzeyine İlişkin Bulgular, n=8

Askorbik asit düzeyleri değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Askorbik asit düzeyleri Gözlem grubunda  $2.62 \pm 0.2$  mg/dl, Kontrol grubunda  $2.46 \pm 0.3$  mg/dl, RES10 grubunda  $2.66 \pm 0.5$  mg/dl, RES20 grubunda  $2.54 \pm 0.2$  mg/dl, RES40 grubunda  $2.73 \pm 0.2$  mg/dl, PAM40 grubunda  $2.51 \pm 0.4$  mg/dl, PAM+RES grubunda  $2.71 \pm 0.2$  mg/dl olarak bulunmuştur.

### Kan Retinol Düzeyine İlişkin Bulgular

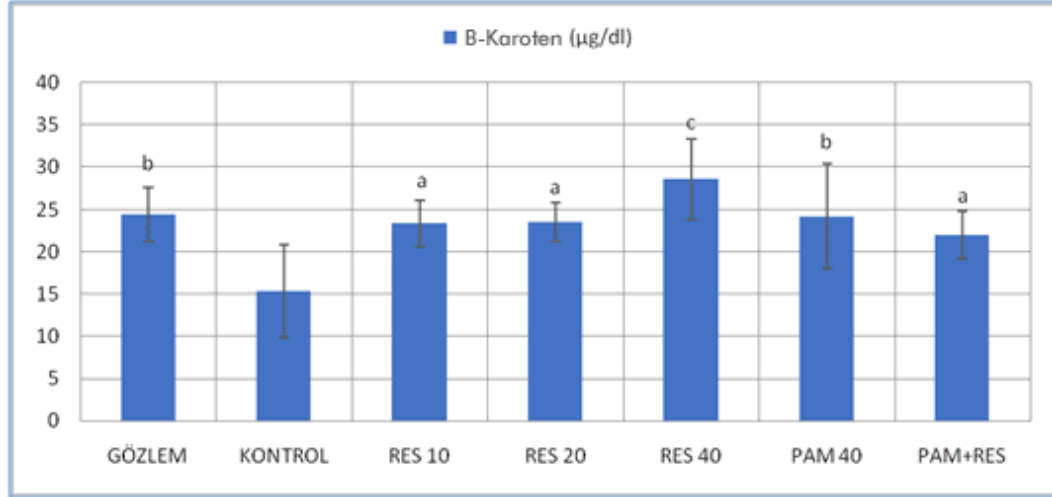


Şekil 12. Kan Retinol (mg/dl) Düzeyine İlişkin Bulgular, <sup>a</sup>: Kontrolden farklıdır ( $p < 0.05$ ), <sup>b</sup>: Kontrolden farklıdır ( $p < 0.01$ ), n=8

Retinol endojen antioksidandır. Hücrel antioksidan savunmada rol oynamaktadır. OF toksisitesi oksidatif strese yol açması nedeniyle retinol tüketimini arttırmıştır. Bu nedenle normalden daha düşük düzeyde retinol düzeyi saptanmıştır. Verilen tedavi oksidatif stresi baskıladığından retinol tüketimini engellemiştir. Kontrol grubunda Gözlem grubuna göre değer oldukça düşmüştür ( $p < 0.05$ ). Tedavi verilen gruplardan RES40 ( $p < 0.01$ ) ve PAM40 ( $p < 0.05$ )

grupların da retinol tüketimi anlamlı şekilde önlenmiştir. Retinol düzeyleri Gözlem grubunda  $59.27 \pm 5.2$   $\mu\text{g}/\text{dl}$ , Kontrol grubunda  $47.38 \pm 7.3$   $\mu\text{g}/\text{dl}$ , RES10 grubunda  $57.71 \pm 6.9$   $\mu\text{g}/\text{dl}$ , RES20 grubunda  $57.35 \pm 7.7$   $\mu\text{g}/\text{dl}$ , RES40 grubunda  $64.05 \pm 6.7$   $\mu\text{g}/\text{dl}$ , PAM grubunda  $61.47 \pm 8.2$   $\mu\text{g}/\text{dl}$ , PAM+RES grubunda  $57.49 \pm 6.7$   $\mu\text{g}/\text{dl}$  olarak bulunmuştur.

### Kan $\beta$ -Karoten Düzeylerine İlişkin Bulgular



Şekil 13. Kan  $\beta$ -Karoten ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) Düzeyine İlişkin Bulgular, <sup>a</sup>: Kontrolden farklıdır ( $p < 0.05$ ), <sup>b</sup>: Kontrolden farklıdır ( $p < 0.01$ ), <sup>c</sup>: Kontrolden farklıdır ( $p < 0.001$ ),  $n=8$

OF toksisitesi ve buna bağlı olarak oluşan oksidatif stres A vitamini tüketimini arttırmaktadır. Bu nedenle Kontrol grubunda Gözlem grubuna göre daha düşük düzeyde  $\beta$ -Karoten saptanmıştır ( $p < 0.01$ ). Verilen tedavi oksidatif stresi baskıladığından  $\beta$ -karoten tüketimini engellemiştir. RES10 ( $p < 0.05$ ), RES20 ( $p < 0.05$ ), RES40 ( $p < 0.01$ ), PAM40 ( $p < 0.01$ ), PAM+RES ( $p < 0.05$ ) gruplarında  $\beta$ -karoten tüketimi anlamlı şekilde azalmıştır.  $\beta$ -karoten düzeyleri Gözlem grubunda  $24.43 \pm 3.2$   $\mu\text{g}/\text{dl}$ , Kontrol grubunda  $15.32 \pm 5.5$   $\mu\text{g}/\text{dl}$ , RES10 grubunda  $23.33 \pm 2.8$   $\mu\text{g}/\text{dl}$ , RES20 grubunda  $23.57 \pm 2.3$   $\mu\text{g}/\text{dl}$ , RES40 grubunda  $28.57 \pm 4.8$   $\mu\text{g}/\text{dl}$ , PAM40 grubunda  $24.19 \pm 6.2$   $\mu\text{g}/\text{dl}$ , PAM+RES grubunda  $22.02 \pm 2.8$   $\mu\text{g}/\text{dl}$  olarak bulunmuştur.

Çizelge 2. Çalışma Gruplarına İlişkin Elde Edilen SOD, GSH-Px, KAT Değerleri

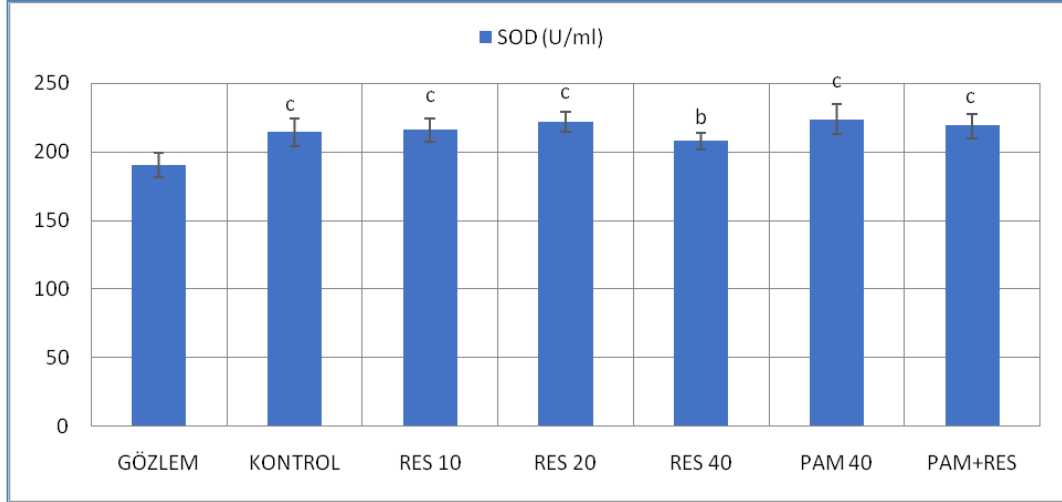
n=8	GÖZL.	KONT.	RES 10	RES 20	RES 40	PAM 40	PAM+RES
<b>SOD</b>							
(U/ml)	190.50	214.25	215.75	222.02	208.11	223.62	218.86
$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$
<b>SH</b>	8.9	9.9 <sup>c</sup>	8.3 <sup>c</sup>	7.6 <sup>c</sup>	6.0 <sup>b</sup>	10.9 <sup>c</sup>	9.1 <sup>c</sup>
<b>GSHPx</b>							
(U/l)	4317.53	6331.95	5788.81	5719.45	5163.87	5594.47	5788.86
$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$
<b>SH</b>	297.751	807.7 <sup>c</sup>	651.3 <sup>c</sup>	519.3 <sup>c</sup>	588.2 <sup>a</sup>	493.1 <sup>b</sup>	661.1 <sup>c</sup>

**Çizelge 2. (Devam) Çalışma Gruplarına İlişkin Elde Edilen SOD, GSH-Px, KAT Değerleri**

KAT							
(kU/l)	1975.14	3186.43	2713.85	2763.87	2456.98	2588.82	2836.05
±	±	±	±	±	±	±	±
SH	462.1	517.7 <sup>c</sup>	563.2 <sup>a</sup>	472.0 <sup>a</sup>	447.4	382.3	436.5 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>: p < 0.05 Gözlemden farklıdır, <sup>b</sup>: p < 0.01 Gözlemden farklıdır <sup>c</sup>: p < 0.001 Gözlemden farklıdır

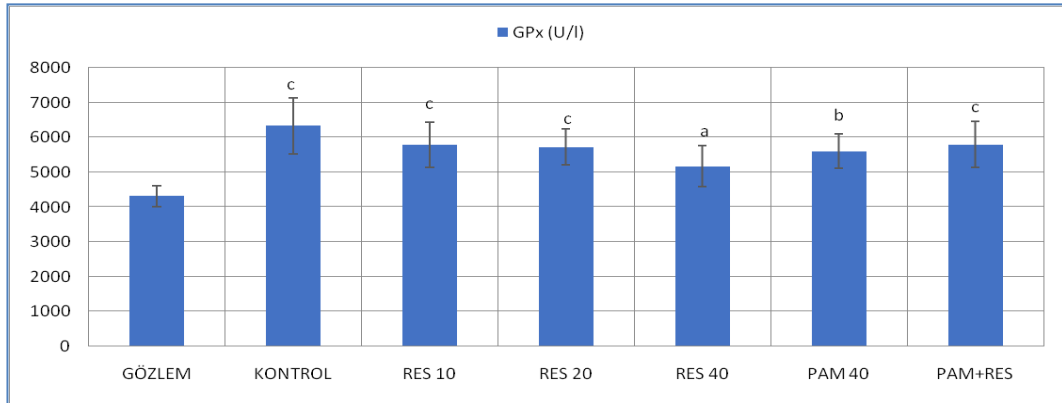
### Kanda SOD Enzim Aktivitesine İlişkin Bulgular



**Şekil 14. Kanda SOD (U/ml) Aktivitesine İlişkin Bulgular** <sup>b</sup>: Gözlemden farklıdır (p < 0.01), <sup>c</sup>: Gözlemden farklıdır (p < 0.001), n=8

OF toksisitesi SOD enziminin aktivitesinde artışa neden olmuştur (p < 0.001). SOD enzim aktivitesi RES40 (p<0.01) grubunda Gözlem grubuna en yakın değerde gözlenmiştir. SOD enzim düzeyleri Gözlem grubunda 190.50±8.9 U/ml, Kontrol grubunda 214.25±9.9 U/ml, RES10 grubunda 215.75±8.3 U/ml, RES20 grubunda 222.02±7.6 U/ml, RES40 grubunda 208.11±6.0 U/ml, PAM40 grubunda 223.62±10.9 U/ml, PAM+RES grubunda 218.86±9.1 U/ml olarak bulunmuştur.

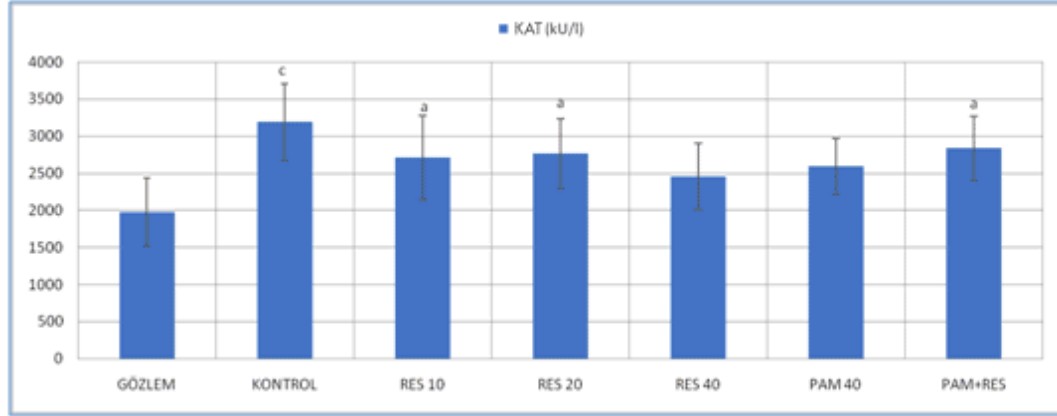
### Kanda GSH-Px Enzim Aktivitesine İlişkin Bulgular



**Şekil 15. Kanda GSH-Px (U/l) Enzim Aktivitesine İlişkin Bulgular**, <sup>a</sup>: Gözlemden farklıdır (p < 0.05), <sup>b</sup>: Gözlemden farklıdır (p < 0.01), <sup>c</sup>: Gözlemden farklıdır (p < 0.001), n=8

OF toksisitesi GSH-Px enziminin aktivitesinde artışa neden olmuştur ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ). Kontrol grubuna göre kıyaslandığında antioksidan enzim aktivitesinin tedavi verilen gruplarda düştüğü gözlemlenmektedir. Gözlem grubuna en yakın değer RES40 ( $p < 0.05$ ) grubunda gözlenmiştir. GSH-Px enzim düzeyleri Gözlem grubunda  $4317.53 \pm 297.751$  U/l, Kontrol grubunda  $6331.95 \pm 807.7$  U/l, RES10 grubunda  $5788.81 \pm 651.53$  U/l, RES20 grubunda  $5719.45 \pm 519.3$  U/l, RES40 grubunda  $5163.87 \pm 588.2$  U/l, PAM40 grubunda  $5594.47 \pm 493.1$  U/l, PAM+RES  $5788.86 \pm 661.1$  U/l olarak bulunmuştur.

### Kanda KAT Enzim Aktivitesine İlişkin Bulgular



Şekil 16. Kanda KAT (kU/l) Enzim Aktivitesine İlişkin Bulgular, <sup>a</sup>: Gözlemden farklıdır ( $p < 0.05$ ), <sup>c</sup>: Gözlemden farklıdır ( $p < 0.001$ ),  $n=8$

OF toksisitesi KAT enziminin aktivitesinde artışa neden olmuştur ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.001$ ). Kontrol grubuna göre kıyaslandığında antioksidan enzim aktivitesinin tedavi verilen gruplarda düştüğü gözlemlenmektedir. Gözlem grubuna en yakın değer RES40 grubunda gözlenmiştir. KAT enzim düzeyleri Gözlem grubunda  $1975.14 \pm 462.1$  kU/l, Kontrol grubunda  $3186.43 \pm 517.7$  kU/l, RES10 grubunda  $2713.85 \pm 563.2$  kU/l, RES20 grubunda  $2763.87 \pm 472.0$  kU/l, RES40 grubunda  $2456.98 \pm 447.4$  kU/l, PAM40 grubunda  $2588.82 \pm 382.3$  kU/l, PAM+RES grubunda  $2836.05 \pm 436.5$  kU/l olarak bulunmuştur.

### Dokularda MDA Düzeyine İlişkin Bulgular

Çizelge 3. Çalışma Gruplarına İlişkin Elde Edilen Beyin, Karaciğer, Böbrek, Kalp ve Akciğer Doku MDA Değerleri

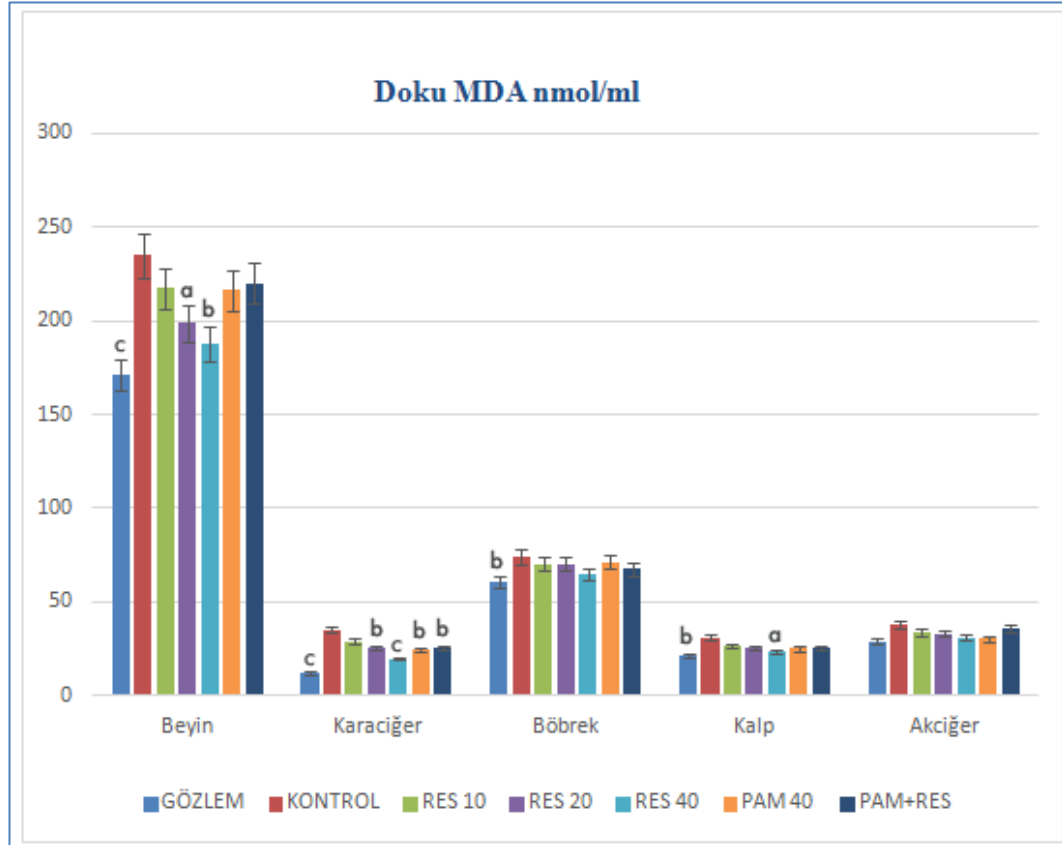
n=8	GÖZL.	KONT.	RES 10	RES 20	RES 40	PAM 40	PAM+RES
<b>Beyin</b>	171.25	235.02	217.52	198.75	187.57	216.25	220.08
±	±	±	±	±	±	±	±
<b>SH</b>	17.3 <sup>c</sup>	27.8	21.2	24.7 <sup>a</sup>	28.7 <sup>b</sup>	25.6	19.3

**Çizelge 3. (Devam) Çalışma Gruplarına İlişkin Elde Edilen Beyin, Karaciğer, Böbrek, Kalp ve Akciğer Doku MDA Değerleri**

<b>Karaciğer</b>	12.17	35.24	29.14	25.58	19.97	24.67	25.45
±	±	±	±	±	±	±	±
<b>SH</b>	3.9 <sup>c</sup>	6.7	4.8	3.9 <sup>b</sup>	3.4 <sup>c</sup>	5.9 <sup>b</sup>	5.7 <sup>b</sup>
<b>Böbrek</b>	60.69	74.16	70.41	70.19	65.08	71.57	67.62
±	±	±	±	±	±	±	±
<b>SH</b>	5.7 <sup>b</sup>	7.2	5.8	7.1	5.8	6.1	4.6
<b>Kalp</b>	21.74	31.17	26.81	25.43	23.61	25.34	25.73
±	±	±	±	±	±	±	±
<b>SH</b>	4.4 <sup>b</sup>	3.9	4.8	6.3	3.1 <sup>a</sup>	5.9	5.1
<b>Akciğer</b>	28.97	38.41	34.06	33.03	31.05	30.43	36.22
±	±	±	±	±	±	±	±
<b>SH</b>	3.8	8.2	3.7	7.1	2.9	6.2	8.5

<sup>a</sup>: p < 0.05 Kontrolnden farklıdır, <sup>b</sup>: p < 0.01 Kontrolnden farklıdır

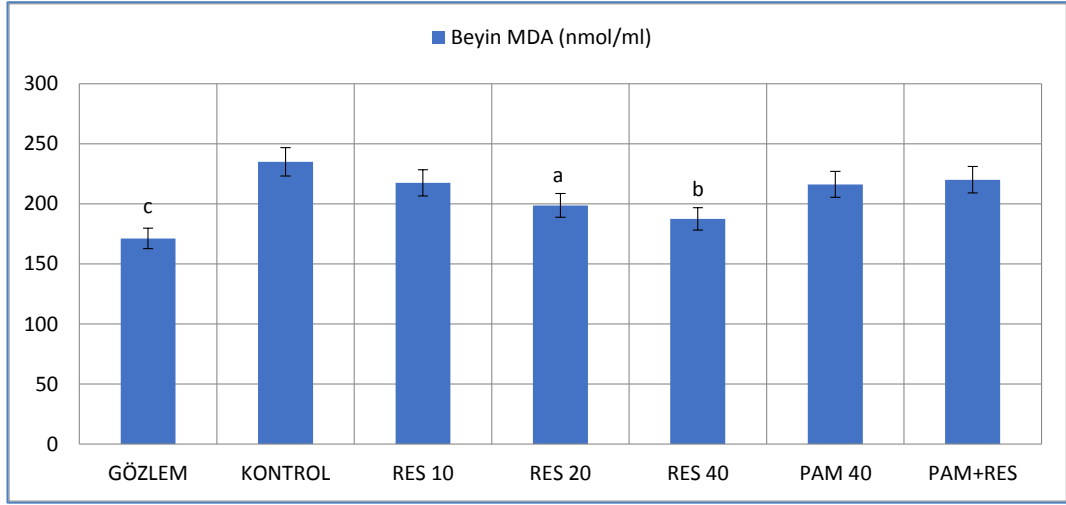
<sup>c</sup>: p < 0.001 Kontrolnden farklıdır



**Şekil 17. Çalışma Gruplarına İlişkin Elde Edilen Beyin, Karaciğer, Böbrek, Kalp ve Akciğer Doku MDA Değerleri, <sup>a</sup>: p < 0.05 Kontrolnden farklıdır, <sup>b</sup>: p < 0.01 Kontrolnden farklıdır, <sup>c</sup>: p < 0.001 Kontrolnden farklıdır, n=8**



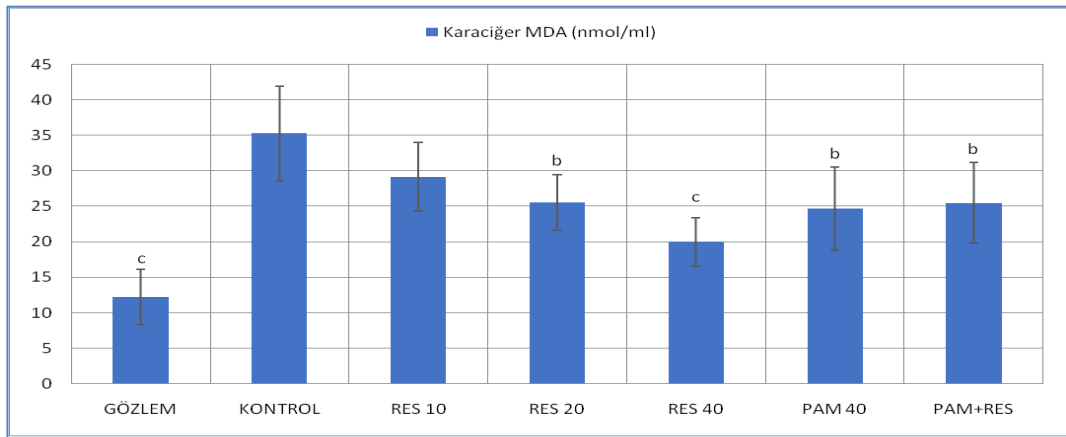
## Beyin Dokusunda MDA Düzeyine İlişkin Bulgular



Şekil 18. Beyin Dokusu MDA (nmol/ml) Düzeyine İlişkin Bulgular, <sup>a</sup>: p < 0.05 Kontrol den farklıdır, <sup>b</sup>: p < 0.01 Kontrol den farklıdır, <sup>c</sup>: p < 0.001 Kontrol den farklıdır, n=8

Beyin dokusunda MDA düzeyi Kontrol grubunda en yüksek, Gözlem grubunda en düşük bulunmuştur. RES20 (p<0.05) ve RES40 (p<0.01) verilen gruplarda MDA düzeyi anlamlı oranda azalmıştır. RES10, PAM40 ve PAM+RES gruplarında anlamlı bir azalma bulunmamıştır. Beyin dokusundaki MDA düzeyleri Gözlem grubunda 171.25±17.3 nmol/ml, Kontrol grubunda 235.02±27.8 nmol/ml, RES10 grubunda 217.52±21.2 nmol/ml, RES20 grubunda 198.75±24.7 nmol/ml, RES40 grubunda 187.57±28.7 nmol/ml, PAM40 grubunda 216.25±25.6 nmol/ml, PAM+RES grubunda 220.08±19.3 nmol/ml olarak bulunmuştur.

## Karaciğer Dokusunda MDA Düzeyine İlişkin Bulgular

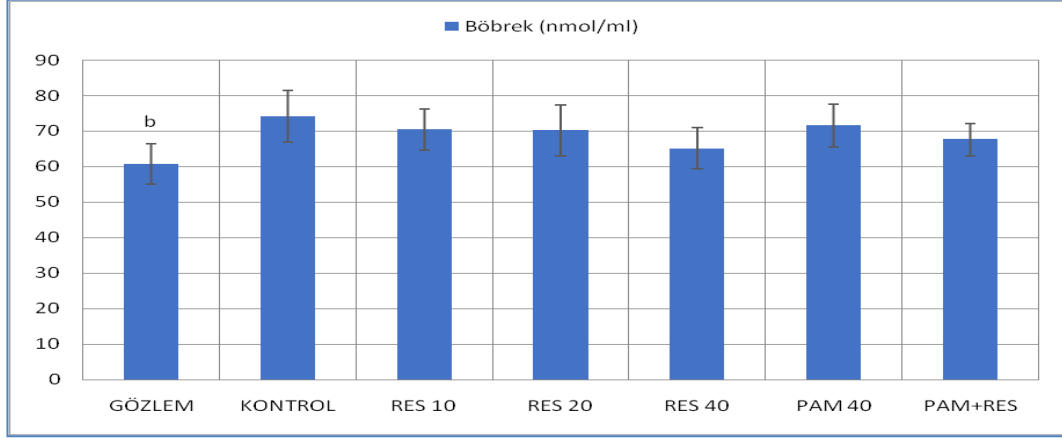


Şekil 19. Karaciğer Dokusu MDA (nmol/ml) Düzeyine İlişkin Bulgular, <sup>b</sup>: p < 0.01 Kontrol den farklıdır, <sup>c</sup>: p < 0.001 Kontrol den farklıdır, n=8

Karaciğer dokusunda MDA düzeyi Kontrol grubunda en yüksek, Gözlem grubunda en düşük bulunmuştur. Kontrol grubu ile kıyaslandığında RES20 (p<0.01), RES40 (p<0.001), PAM40 (P<0.01), PAM+RES (p<0.01) gruplarında karaciğer dokusunda MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Karaciğer dokusundaki MDA düzeyleri Gözlem grubunda

12.17±3.9, Kontrol grubunda 35.24±6.7, RES10 grubunda 29.14±4.8, RES20 grubunda 25.58±3.9, RES40 grubunda 19.97±3.4, PAM40 grubunda 24.67±5.9, PAM+RES grubunda 25.45±5.7 olarak bulunmuştur.

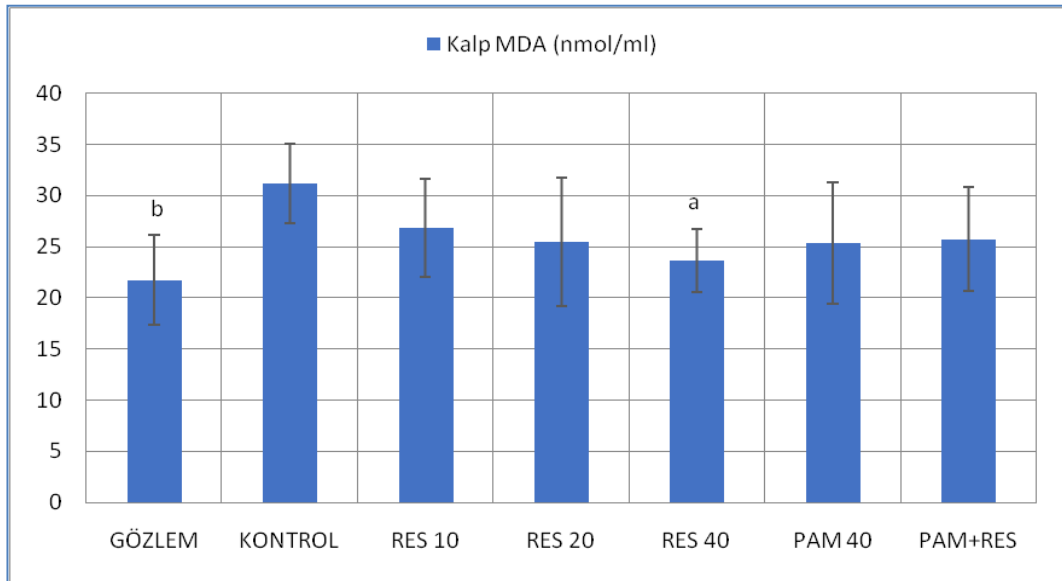
### Böbrek Dokusunda MDA Düzeyine İlişkin Bulgular



Şekil 20. Böbrek Dokusu MDA (nmol/ml) Düzeyine İlişkin Bulgular, <sup>b</sup>: p < 0.01 Kontrolden farklıdır, n=8

Böbrek dokusunda MDA düzeyi Kontrol grubunda en yüksek, Gözlem grubunda en düşük bulunmuştur (p < 0.01). Kontrol grubu ile kıyaslandığında RES40 ve PAM+RES gruplarında böbrek dokusunda en fazla düşüş gözlenmiş olsa da bu değerler istatistiksel olarak bir anlam ifade etmemektedir. Böbrek dokusundaki MDA düzeyleri Gözlem grubunda 60.69±5.7 nmol/ml, Kontrol grubunda 74.16±7.2 nmol/ml, RES10 grubunda 70.41±5.8 nmol/ml, RES20 grubunda 70.19±7.1 nmol/ml, RES40 grubunda 65.08±5.8, PAM40 grubunda 71.57±6.1, PAM+RES grubunda 67.62±4.6 olarak bulunmuştur.

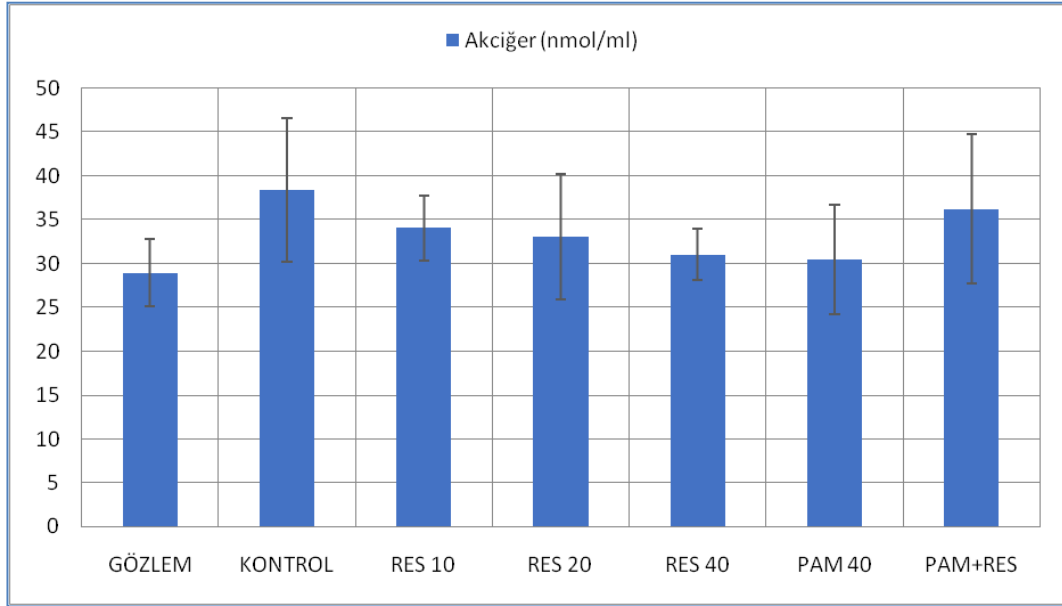
### Kalp Dokusunda MDA Düzeyine İlişkin Bulgular



Şekil 21. Kalp Dokusu MDA (nmol/ml) Düzeyine İlişkin Bulgular, <sup>a</sup>: p < 0.05 Kontrolden farklıdır, <sup>b</sup>: p < 0.01 Kontrolden farklıdır, n=8

Kalp dokusunda MDA düzeyi Kontrol grubunda en yüksek, Gözlem grubunda en düşük bulunmuştur ( $p<0.01$ ). Kontrol grubu ile kıyaslandığında tedavi verilen grupların hepsinde düşüş olmakla birlikte en fazla düşüş RES40 ( $p<0.05$ ) grubunda gözlenmiştir. Kalpteki MDA düzeyleri Gözlem grubunda  $21.74\pm 4.4$  nmol/ml, Kontrol grubunda  $31.17\pm 3.9$  nmol/ml, RES10 grubunda  $26.81\pm 4.8$  nmol/ml, RES20 grubunda  $25.43\pm 6.3$  nmol/ml, RES40 grubunda  $23.61\pm 3.1$  nmol/ml, PAM40 grubunda  $25.34\pm 5.9$  nmol/ml, PAM+RES grubunda  $25.73\pm 5.1$  nmol/ml olarak bulunmuştur.

### Akciğer Dokusunda MDA Düzeyine İlişkin Bulgular



Şekil 22. Akciğer Dokusu MDA (nmol/ml) Düzeyine İlişkin Bulgular, n=8

Akciğer dokusunda MDA düzeyi Kontrol grubunda en yüksek, Gözlem grubunda en düşük bulunmuştur. Kontrol grubu ile kıyaslandığında tedavi verilen grupların hepsinde de belli bir miktar düşüş olmasına rağmen bu değerler istatistiksel olarak bir anlam ifade etmemektedir. Akciğer dokusundaki MDA düzeyleri Gözlem grubunda  $28.97\pm 3.8$  nmol/ml, Kontrol grubunda  $38.41\pm 8.2$  nmol/ml, RES10 grubunda  $34.06\pm 3.7$  nmol/ml, RES20 grubunda  $33.03\pm 7.1$  nmol/ml, RES40 grubunda  $31.05\pm 2.9$  nmol/ml, PAM40 grubunda  $30.43\pm 6.2$  nmol/ml, PAM+RES grubunda  $36.22\pm 8.5$  nmol/ml olarak bulunmuştur.

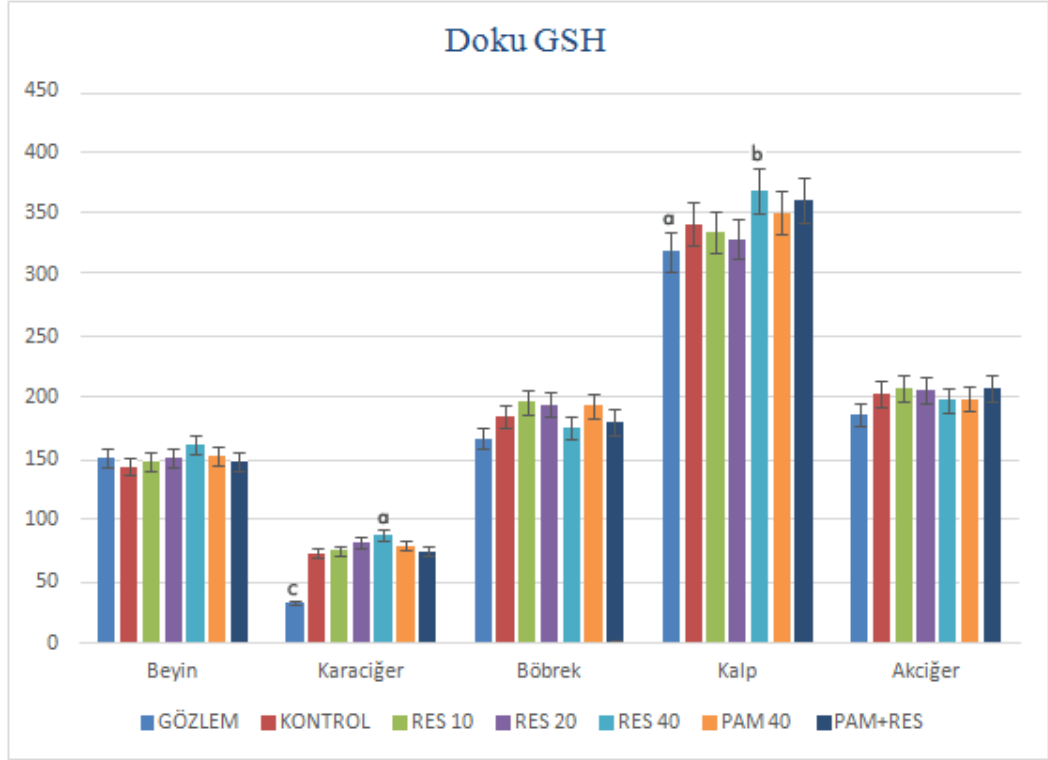
## Dokularda GSH Düzeyine İlişkin Bulgular

Çizelge4. Çalışma Gruplarına İlişkin Elde Edilen Beyin, Karaciğer, Böbrek, Kalp ve Akciğer Doku GSH Değerleri

n=8	GÖZL.	KONT.	RES 10	RES 20	RES 40	PAM 40	PAM+RES
<b>Beyin</b>	151.11	143.88	147.83	150.58	162.14	153.37	148.09
±	±	±	±	±	±	±	±
<b>SH</b>	13.4	14.3	10.6	15.1	10.2	13.9	11.9
<b>Karaciğer</b>	33.17	73.44	75.67	82.29	88.43	79.78	74.89
±	±	±	±	±	±	±	±
<b>SH</b>	7.1 <sup>c</sup>	8.6	10.5	7.9	9.1 <sup>a</sup>	10.9	7.3
<b>Böbrek</b>	166.88	184.52	196.63	194.47	175.53	193.38	177.12
±	±	±	±	±	±	±	±
<b>SH</b>	8.6	11.3	18.3	14.8	10.9	11.5	12.9
<b>Kalp</b>	319.60	342.04	334.56	329.80	369.48	350.95	360.85
±	±	±	±	±	±	±	±
<b>SH</b>	6.3 <sup>a</sup>	16.8	13.9	16.7	10.9 <sup>b</sup>	10.6	11.3
<b>Akciğer</b>	186.15	203.48	207.52	206.52	198.40	199.31	207.54
±	±	±	±	±	±	±	±
<b>SH</b>	12.3	16.6	11.2	12.8	10.9	11.3	10.2

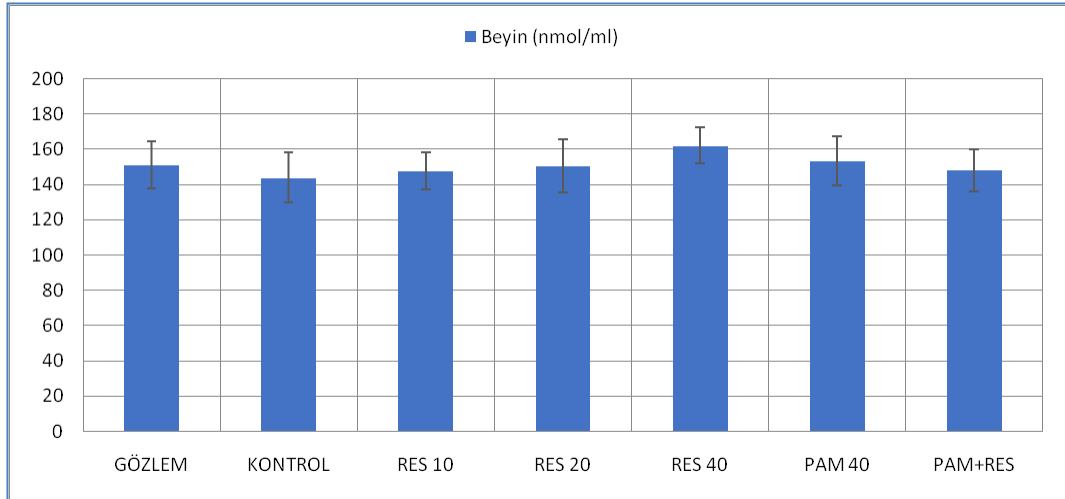
<sup>a</sup>: p < 0.05 Kontrolnden farklıdır, <sup>b</sup>: p < 0.01 Kontrolnden farklıdır

<sup>c</sup>: p < 0.001 Kontrolnden farklıdır



Şekil 23. Çalışma Gruplarına İlişkin Elde Edilen Beyin, Karaciğer, Böbrek, Kalp ve Akciğer Doku GSH Değerleri, <sup>a</sup>:  $p < 0.05$  Kontrolden farklıdır, <sup>b</sup>:  $p < 0.01$  Kontrolden farklıdır, <sup>c</sup>:  $p < 0.001$  Kontrolden farklıdır,  $n=8$

### Beyin Dokusunda GSH Düzeyine İlişkin Bulgular

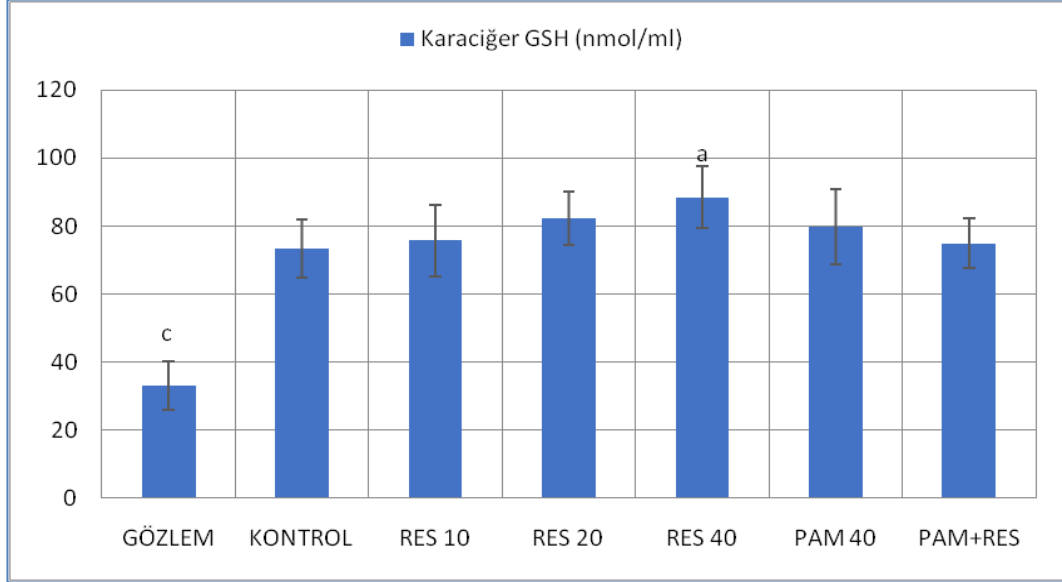


Şekil 24. Beyin Doku GSH (nmol/ml) Düzeyine İlişkin Bulgular,  $n=8$

Beyin dokusunda GSH düzeyi RES40 grubunda en yüksek, Kontrol grubunda en düşük bulunmuştur. Kontrol grubu ile kıyaslandığında Gözlem dahil tüm gruplarda GSH düzeyi artmış olmasına rağmen bu değerler istatistiksel olarak bir anlam ifade etmemektedir. Beyin dokusundaki GSH düzeyleri Gözlem grubunda  $151.11 \pm 13.4$  nmol/ml, Kontrol grubunda  $143.88 \pm 14.3$  nmol/ml, RES10 grubunda

147.83±10.6 nmol/ml, RES20 grubunda 150.58±15.1 nmol/ml, RES40 grubunda 162.14±10.2 nmol/ml, PAM40 grubunda 153.37±13.9, PAM+RES grubunda 148.09±11.9 olarak bulunmuştur.

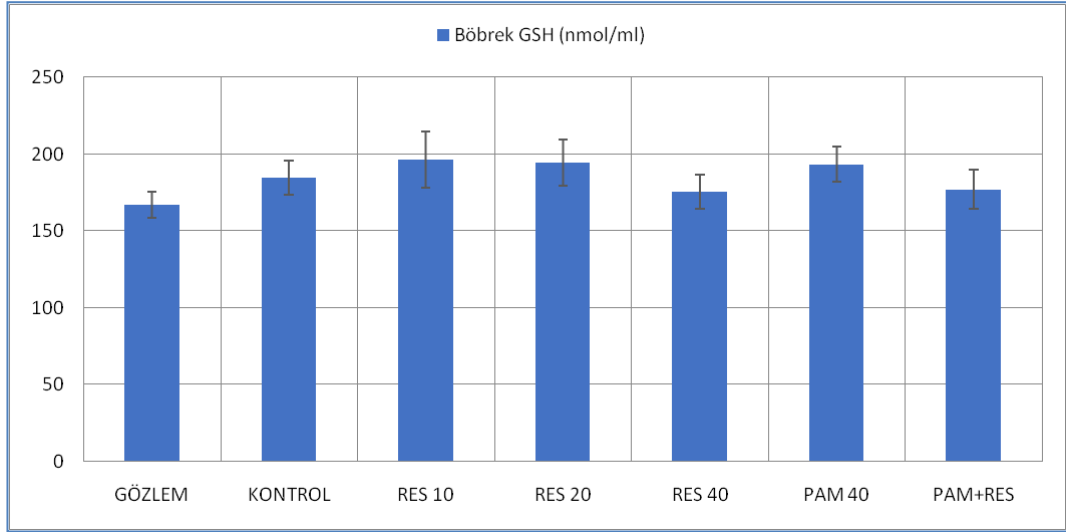
### Karaciğer Dokusunda GSH Düzeyine İlişkin Bulgular



Şekil 25. Karaciğer Dokusu GSH (nmol/ml) Düzeyine İlişkin Bulgular, <sup>a</sup>: p < 0.05 Kontrolden farklıdır, <sup>c</sup>: p < 0.001 Kontrolden farklıdır, n=8

Karaciğer dokusunda GSH düzeyi RES40 grubunda en yüksek (p<0.05), Gözlem grubunda en düşük (p<0.001) bulunmuştur. Gözlem grubuna göre değerlendirildiğinde karaciğer dokularında RES40 grubunda OF zehirlenmesine bağlı olarak GSH düzeyi anlamlı şekilde yükselmiştir. Karaciğer dokusundaki GSH düzeyleri Gözlem grubunda 33.17±7.1 nmol/ml, Kontrol grubunda 73.44±8.6 nmol/ml, RES10 grubunda 75.67±10.5 nmol/ml, RES20 grubunda 82.29±7.9 nmol/ml, RES40 grubunda 88.43±9.1 nmol/ml, PAM40 grubunda 79.78±10.9 nmol/ml, PAM+RES grubunda 74.89±7.3 nmol/ml olarak bulunmuştur.

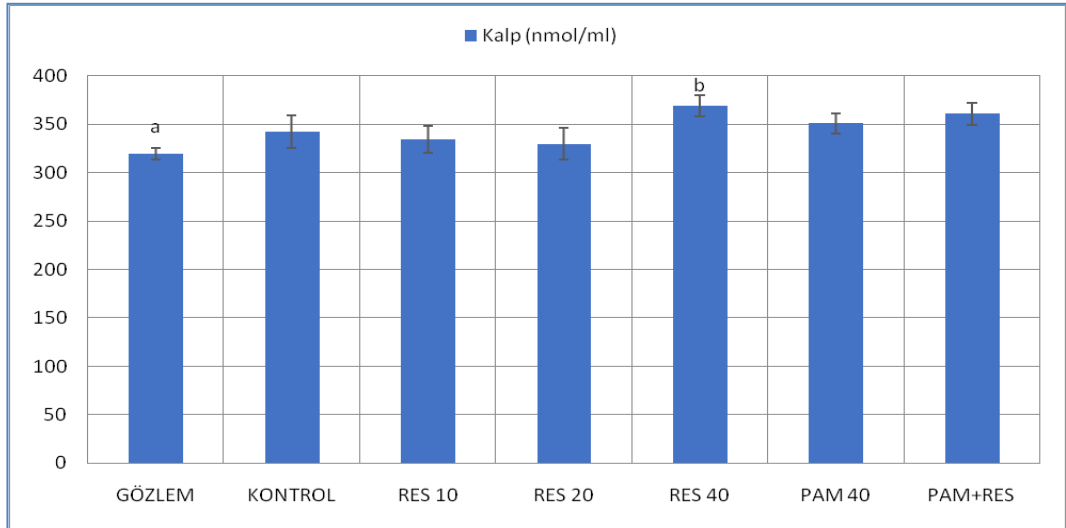
## Böbrek Dokusunda GSH Düzeyine İlişkin Bulgular



Şekil 26. Böbrek Dokusu GSH (nmol/ml) Düzeyine İlişkin Bulgular, n=8

Böbrek dokusunda GSH düzeyi Gözlem grubunda en düşük bulunmuş olup fenthion verilen gruplarda GSH düzeyi artmıştır. Fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Böbrekteki GSH düzeyleri Gözlem grubunda  $166.88 \pm 8.6$  nmol/ml, Kontrol grubunda  $184.52 \pm 11.3$  nmol/ml, RES10 grubunda  $196.63 \pm 18.3$  nmol/ml, RES20 grubunda  $194.47 \pm 14.8$  nmol/ml, RES40 grubunda  $175.53 \pm 10.9$  nmol/ml, PAM40 grubunda  $193.38 \pm 11.5$  nmol/ml, PAM+RES grubunda  $177.12 \pm 12.9$  nmol/ml olarak bulunmuştur.

## Kalp Dokusunda GSH Düzeyine İlişkin Bulgular

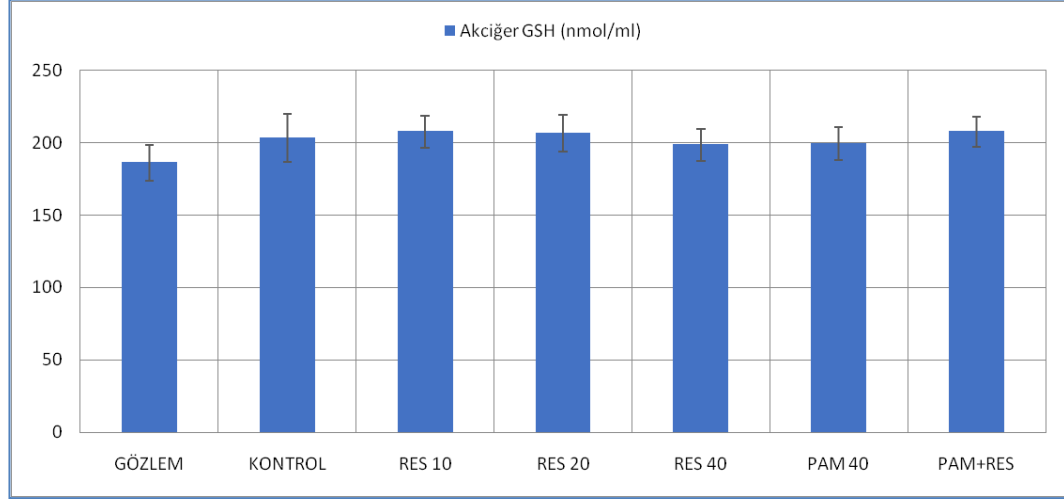


Şekil 27. Kalp Dokusu GSH (nmol/ml) Düzeyine İlişkin Bulgular, <sup>a</sup>:  $p < 0.05$  Kontrolden farklıdır, <sup>b</sup>:  $p < 0.01$  Kontrolden farklıdır, n=8

Kalp dokusunda GSH düzeyi Gözlem grubuna göre değerlendirildiğinde tüm gruplarda yükselmiş olmasına rağmen istatistiksel olarak RES40 grubunda ( $p < 0.01$ ) anlamlı yükselme gözlenmiştir. Kalp dokusunda GSH düzeyleri Gözlem grubunda  $319.60 \pm 6.3$  nmol/ml, Kontrol grubunda  $342.04 \pm 16.8$  nmol/ml, RES10

grubunda  $334.56 \pm 13.9$  nmol/ml, RES20 grubunda  $329.80 \pm 16.7$  nmol/ml, RES40 grubunda  $369.48 \pm 10.9$  nmol/ml, PAM40 grubunda  $350.95 \pm 10.6$  nmol/ml, PAM+RES grubunda  $360.85 \pm 11.3$  nmol/ml olarak bulunmuştur.

### Akciğer Dokusunda GSH Düzeyine İlişkin Bulgular



Şekil 28. Akciğer Dokusu GSH (nmol/ml) Düzeyine İlişkin Bulgular, n=8

Akciğer dokusunda GSH düzeyi Gözlem grubunda en düşük düzeyde bulunmuş olup diğer gruplarda gözlenen yükseklik istatistiksel olarak bir anlam ifade etmemektedir. Akciğer dokusunda GSH düzeyleri Gözlem grubunda  $186.15 \pm 12.3$  nmol/ml, Kontrol grubunda  $203.48 \pm 16.6$  nmol/ml, RES10 grubunda  $207.52 \pm 11.2$  nmol/ml, RES20 grubunda  $206.52 \pm 12.8$  nmol/ml, RES40 grubunda  $198.40 \pm 10.9$  nmol/ml, PAM40 grubunda  $199.31 \pm 11.3$  nmol/ml, PAM+RES grubunda  $207.54 \pm 10.2$  nmol/ml olarak bulunmuştur.



## İmmünohistokimyasal Bulgular

	Gözlem	Kontrol	RES10	RES20	RES40	PAM40	PAM+RES
Kasp- 8							
Kasp -3							
Tunel							
Bcl-2							
Bax							
HE							

Şekil 29. Tüm gruplarda HE, Bax, Bcl-2, TUNEL, Kaspaz- 3 ve Kaspaz- 8'e ilişkin Mikroskopik Görüntüler

HE boyaması: Gözlem grubunda normal mikroskopik görünüm ve sırasıyla azalan (Kontrol, RES10, RES20, RES40, PAM40, PAM+RES) şiddette histopatolojik değişiklikler (yangısal hücre infiltrasyonu, sinuslarda genişleme, konjesyon, kordonlarda dissosiasyon).

Bax immunohistokimyasal boyaması: Gözlem grubunda minimum seviyede bax pozitifliği ve diğer gruplarda sırasıyla azalan şiddette bax pozitifliği.

Bcl-2 immunohistokimyasal boyamasında; Gözlem grubunda belirgin bcl-2 pozitifliği, Kontrol grubunda minimum seviyede ve diğer gruplarda sırasıyla artan şiddette bcl-2 pozitifliği.

TUNEL, Kaspaz-3, Kaspaz-8 immunohistokimyasal boyamaları: gelişmiş, güzel dağılmış, normal karaciğer parenkimine uygun boyanmalar, gruplar arasında farklılık mevcut değildir. (İmmünohistokimyasal boyamalarda kahverengi-kırmızı

renk pozitif reaksiyonu göstermekte, mavi renk ise standart Zemin boyamasını ifade etmektedir)

Mikroskopik incelemede; Gözlem grubu dışındaki hayvanların karaciğerlerinde konjesyon, sentral ve portal venlerde dilatasyon, hepatik sinüzoidlerde genişleme, hepatik kordonlarda dissosiasyon ve kupffer hücrelerinde aktivasyon ilk bakışta gözlenen bulgular olup Kontrol grubu hayvanlarında bu bulgulara ek olarak perisentral yerleşimli çoğunluğu lenfositik seriden olmak üzere mononükleer hücreler de gözlendi. Bahsedilen lezyonlar aynı gruptaki hayvanlarda ve aynı örneğin farklı bölgelerinde bile farklılıklar gösterebildiğinden çalışmanın geneli grup ortalamasına göre değerlendirildi. Işık mikroskopik incelemeleri desteklemek için yapılan histokimyasal boyamalardan Van Gieson boyamasında ne periportal ne de perisentral bölgelerde fibrozise ilişkin bir bulgu izlenmedi. Yine histokimyasal boyalardan Periodic Acid Schiff boyaması doğrulaması ile hepatositlerde farklı bir birikim dikkati çekmedi. Patolojik lezyonların şiddeti gruplara göre sıralanacak olursa, en şiddetli lezyonların Kontrol'de olduğu, bunu sırası ile RES10, RES20, RES40, PAM, PAM+RES grubunun takip ettiği, Gözlem grubunun ise normal olduğu görüldü.

İmmunohistokimyasal incelemeler programlanmış hücre ölümüne yönelik olarak yapılmıştır. Anti-Bax antikoru ile yapılan boyamalarda, boyanmaların perisentral bölgeye lokalize olduğu dikkati çekmiştir. Anti-Bcl-2 antikorumun da bu bölgelerde lokalize olduğu ancak yoğunluğunun Anti-Bax yoğunluğu ile ters olarak etkilendiği yönünde bir görünüm sergilemiştir. Anti-kaspaz-3, anti-kaspaz-8 ve TUNEL boyamalarda ise perisentral bölgelerde herhangi bir pozitiflik gözlenmemiş, parankime gelişigüzel dağılmış ve normal bir karaciğer dokusuna benzer bir şekilde ve fizyolojik limitler içerisinde olacak şekilde hepatositlerde, kupffer hücrelerinde ve diğer destek hücrelerinde pozitiflikler izlenmiştir. Histopatolojik bulguları destekler nitelikte en şiddetli Anti-Bax pozitifliği Kontrol grubunda gözlenmiş ve pozitifliğin şiddeti RES10, RES20, RES40, PAM, PAM+RES ve Gözlem olarak azalarak takip etmiştir. Anti-Bcl-2 pozitifliği ise Anti-Bax antikorumun aksi bir seyir göstermiş olup en yoğun olarak Gözlem grubunda daha sonra da PAM+RES, PAM, RES40, RES20, RES10 ve en az olarak da Kontrol grubunda ortaya çıkmıştır. Anti-Bcl-2 boyamasında dikkati çeken husus boyanın lokalizasyonu olmuştur. Gözlem grubunda perisentral hepatositler tek ve düzgün bir sıra halinde boyanmış görünürlerken diğer gruplarda ikinci ve hatta üçüncü sıradaki hepatositlerde de gözlenen düzensiz boyanmalar fark edilmiştir.

## TARTIŞMA

Besin maddelerinin üretimi, tüketimi ve depolanmaları sırasında, besin değerini bozan ve besinleri yok eden, zarar veren haşereleri, mikroorganizmaları ve diğer zararlıları (pestleri) yok etmek için kullanılan fiziksel, kimyasal veya biyolojik savaş maddelerinden olan pestisitler, birbirinden oldukça farklı kimyasal yapı ve özelliğe sahip yüzlerce bileşikten oluşmaktadır (Vural, 1996; Eddleston ve ark., 2002; Özkaya ve ark., 2013). Pestisitlere maruziyet oral, inhalasyon, dermal yollarla direkt temas ile olabildiği gibi besin zinciri, içme suyu kontaminasyonu, mesleki maruziyet, kaza ve intihar girişimi sonucu indirekt yollarla da olabilmektedir (Boobis ve ark., 2008). Gıdalardaki pestisit kalıntıları önemli bir kontaminasyon kaynağıdır ve çoğu kanser, sinir sistemi harabiyeti ve benzer kronik hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (Blasco ve ark., 2006). Tavsiye edilen dozun üzerinde kullanıldığı, gereğinden fazla sayıda ilaçlama yapıldığı, gerekmediği halde birden fazla ilaç karıştırılarak kullanıldığı veya son ilaçlama ile hasat dönemi arasında bırakılması gereken süreye uyulmadığı durumlarda, pestisitler gıda maddelerinde fazla miktarda kalıntı bırakabilmektedir. Özellikle çiğ yenilen sebze ve meyveler yüksek derecede riske sahip ürünlerdir (Chen ve ark., 2011). Pestisitlerin tarımda kullanım mecburiyetinin yanı sıra, meydana getirdiği zehirlenmeler ve diğer toksik etkiler nedeniyle, pestisit kalıntıları için bir tolerans değeri belirlenmiştir (Knezevic ve Serdar, 2009; Kmellara ve ark., 2010). Türkiye’de pestisitlerin hangi üründe, ne miktarda kullanılacağı Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı 29099 sayılı ve 25 Ağustos 2014 tarihli “Türk Gıda Kodeksi Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği” ile düzenlemiştir. Söz konusu pestisit kalıntı miktarlarının tolerans değerinin altında olup olmadığının bilinmesi hem sağlık açısından hem de ihraç edilen ürünlerin ülke piyasasına geri dönmemesi açısından büyük bir önem taşımaktadır. Fakat 2013 yılında Akdeniz Üniversitesi Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırmalar Merkezi’nin yaptığı bir çalışmada, 2013 yılının Ocak ve Nisan ayları arasında toplamda 400 gıda örneği pestisit açısından analiz edilmiş olup, analiz sonucunda bu ürünlerin yüzde 21’inin mevzuatta belirtilen limit değerlerinin üzerinde pestisit kalıntısı içerdiği gösterilmiştir. Aynı çalışma 2014’te de toplam 309 gıda örneğinde yapılmış ve bu ürünlerin de yüzde 25’inin limit değerlerin üzerinde pestisit kalıntısı içerdiği tespit edilmiştir (http-1).

Gıdalardaki pestisit kalıntı düzeyi çevre, insan ve hayvan sağlığı üzerinde zararlı etkiler doğurmayacak şekilde tolerans değerinin altında olmalıdır. Buna rağmen yapılan çalışmalarda piyasadaki toplanan meyve ve sebzelerin pestisit kalıntılarının bu limitin çok üstünde olduğu gözlenmiştir (Cönger ve ark., 2012).

Tüm dünyada hayvanlarda, bitkilerde, meyve ve sebzelerde, bal, kaymak, tereyağı, et, süt ürünlerinde pestisit kalıntıları önemli bir sorun teşkil etmekte ve bununla ilgili birçok çalışma yapılmaktadır (Ahmad ve ark., 2010; Bai ve ark., 2006; Blasco ve ark., 2006; Chen ve ark., 2011; Hjorth ve ark., 2011; Bulut ve ark., 2010; Bakırcı ve Hışıl, 2011; Bakırcı ve ark., 2014).

Pestisitler tarımsal verimliliği arttırdığı gibi, bilinçsiz ve hatalı kullanıldıklarında insan ve çevre sağlığı için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. İnsanlar ve diğer canlılar yüksek dozda pestisit kalıntısı içeren gıdaların tüketilmesi sonucu akut veya kronik zehirlenmeye maruz kalabilir (Eddleston ve ark., 2007).

Pestisit grubu bileşiklerin içinde yer alan ve böceklere karşı kullanılan insektisitler, tarımsal üretimi arttırmak amacıyla kullanıldığı gibi evde ve diğer pek çok alanda kullanımları söz konusudur. Yaygın kullanım alanlarına paralel olarak, kullanım sırasında koruyucu giysi ve maske kullanmamak gibi dikkatsizlikler, ambalajlama ve saklama yanlışlıkları, bilinçsiz tüketim gibi nedenler ve intihar amaçlı alımına bağlı olarak toplumda insektisit zehirlenmeleri ile karşılaşmaktadır (Eddleston ve ark., Özkaya ve ark., 2013).

İnsektisit grubunun en önemli üyelerinden olan kolinesteraz inhibitörlerinden organofosfatlı bileşikler yaygın kullanımları ve kolay elde edilebilirliği sebebiyle sıklıkla zehirlenme vakalarına sebep olabilmektedir. UZEM (Ulusal Zehir Danışma Merkezi) 2008 verilerine göre ülkemizde %8.3 ile tarım ilaçları ile zehirlenme, tüm zehirlenme vakaları arasında 2. sıradadır. Bu vakaların da % 47.7' sini insektisitler oluşturmaktadır. İnsektisit ile zehirlenme vakalarında en sık kullanılan ajanların %21 ile organofosfatlı insektisitler olduğu saptanmıştır. Yaygın kullanımı nedeniyle oluşabilecek akut ve kronik zehirlenmelere karşı gerekli önlemler alınmalıdır (Özkaya ve ark., 2013).

Bu yüzden dünyada ve ülkemizde pestisitlerle oluşan zehirlenmeler halen güncelliğini koruyan önemli bir ölüm nedenidir (Eddleston ve ark.,2008; Kozacı, 2012; Özkaya ve ark.,2013).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, OFB'in AKE enzimini geri dönüşümsüz inhibe ederek muskarinik, nikotinik, kolinerjik yan etkilerinin yanı sıra oksidatif stresin nedenlerinden biri olduğu üzerinde durulmuştur (Kamanyire ve Karalliedde, 2004; Soltaninejad ve Abdollahi, 2009; Moshiri ve ark., 2012). OFB'in yoğun ROT üretimine neden olduğunu gösteren birçok çalışma yapılmıştır (Dandapani ve ark., 2003; Abdollahi ve ark., 2004; Altuntaş, 2004; Lukaszewicz-Hussain, 2010). Bununla birlikte karaciğer, böbrek, kaslar, immün sistem, hematolojik sistemler ve daha birçok organ ve sistemin OFB tarafından etkilendiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Garcia ve ark., 2003; Kamanyire ve Karalliedde, 2004; Moshiri ve ark., 2012; Chowdhary ve ark., 2014). Oksidatif stres sonucu ortaya çıkan serbest radikaller hücre membran lipit ve proteinlerini yıkararak, hücre membranının yapısını bozarak, nükleer membranı geçip çekirdekdeki genetik materyale etki edip DNA'yı kırılma ve mutasyonlara açık hale getirerek hücre fonksiyonlarının ve bütünlüğünün bozulmasına neden olabilmektedir (Bagchi ve ark., 1995; Milatovic ve ark., 2006; Karami-Mohajeri ve Abdollahi, 2013). Lipitler serbest radikal hasarlarına karşı en hassas yapılardır. Serbest radikaller, yağ asitlerindeki doymamış bağlarla kolayca reaksiyona girerek lipitlerin peroksidasyonuna neden olabilmektedir. Hücre içi ve hücre dışı membranlarda lipit peroksidasyonunun artması organ, doku ve hücrelere zarar vermektedir (Danpadani ve ark., 2003; Abdollahi ve ark., 2004; Karalliedde ve ark., 2006; Karami-Mohajeri ve Abdollahi, 2010; El-Sokkary ve ark., 2010; Ojha ve ark., 2011; Chen, 2012).

Yapılan çalışmalarda oksidatif stres altındaki hücrelerde belirgin şekilde lipit peroksidasyonunun arttığı gözlemlenmiş, bunun sonucu olarak da vücudun kendi antioksidan savunma sisteminin bir ürünü olan MDA düzeyi artış göstermiş ve bu amaçla çalışmalarda kanda ve dokularda MDA düzeyi lipit peroksidasyonunun saptanmasında indikatör olarak sıklıkla kullanılmıştır (Vidyasagar ve ark., 2004;

Büyükokuroğlu, 2008a,b; Soltaninejad ve Abdollahi, 2009; Karami-Mohajeri ve Abdollahi, 2010; Lukaszewicz-Hussain; 2010; Ojha ve ark., 2011). Yapılan bir çalışmada Altuntaş ve Delibaş (2002) fenthionun sıçanlarda lipit peroksidasyonunu arttırmak suretiyle oksidatif strese neden olduğunu ve bu etkinin E ve C vitamini ile azaltılabileceğini göstermişlerdir. Benzer şekilde Büyükokuroğlu ve arkadaşları (2008a,b); Cemek ve arkadaşları (2010), Kanter ve Çelik (2011) fenthionun; Sütçü ve arkadaşları (2006) methidathionun; Altuntaş ve arkadaşları (2004), El-Demerdash ve Nash (2014) diazinonun; Font ve arkadaşları (2008), Ohja ve arkadaşları (2011) klorpirifos, parathion ve malathionun lipit peroksidasyonu sonucu oksidatif stresi arttırdığını göstermişlerdir.

Öğüt ve arkadaşlarının (2015) uzun dönem farklı pestisitlere maruz kalmış tarım işçileri üzerinde yaptığı bir çalışmada pestisitlerin kronik maruziyete bağlı olarak oksidatif stresi arttırdığı gösterilmiştir. Son dönemde yapılan çalışmalarda oksidatif stres parametreleri, antioksidan savunma mekanizmaları ve bunlarla bağlantılı hastalıklar üzerine birçok araştırma yapılmıştır (Mohajeri ve Abdollahi, 2010; Mostafalou ve Abdollahi, 2013; Li ve ark., 2015).

Oksidatif strese karşı gelişen hücre içi antioksidan savunma mekanizmaları öncelikli olarak hücre zarının yapısının korunmasını ve dokularda hasarın önlenmesini sağlamaktadırlar. Vücuttaki çeşitli fizyolojik olaylar sırasında oluşan serbest radikaller antioksidanlar savunma mekanizmaları tarafından etkisiz hale getirilirler (Poljsak ve ark., 2013).

Antioksidanların OF zehirlenmelerine karşı öncesinde koruyucu olarak ya da zehirlenme sonrası rutin tedavi protokolüne eklenmesiyle hücre ve doku ölümlerine karşı faydalı olabileceği çeşitli çalışmalarla öne sürülmüştür. Bu amaçla Büyükokuroğlu ve arkadaşları (2008b) dantroleni, Pena-Llopis ve arkadaşları N-asetilsisteini (2005), Altuntaş ve arkadaşları (2002) E ve C vitaminlerini, İsmail (2013) C vitaminini, Öncü ve arkadaşları (2002), Büyükokuroğlu ve arkadaşları (2008a) melatonini, Ranjbar ve arkadaşları (2010) pentoksifillini, Heikal ve arkadaşları (2011) yeşil çay ekstresini, El-Demerdash ve Nasr (2014) selenyumunu, Uchendu ve arkadaşları (2014) alfa-lipoik asiti deneysel olarak çeşitli ajanlarla oluşturulan OF zehirlenmelerinde kullanarak antioksidan etkileri ile zehirlenme sonucu oluşan oksidatif stresi azalttıklarını göstermişlerdir.

Resveratrol serbest radikal süpürücü etkisinin yanı sıra birçok antioksidan özellikteki enzimin aktivitesini düzenlemek suretiyle güçlü antioksidan etki göstermektedir. Çeşitli çalışmalarla resveratrolün eNOS enzimini aktive ederek glutasyon düzeyini arttırarak, NADPH ve ksantin oksidazı inhibe ederek serbest radikalleri süpürücü olarak antioksidan aktivite gösterdiği belirtilmiştir (De la Lastra, 2007; Gülçin, 2010; Tyagi, 2010; Li ve ark., 2012).

Literatürde oksim türevlerinin antioksidan aktivite tayini için yapılmış çalışmalar çok az olmakla birlikte Puntel ve arkadaşlarının (2008) farklı oksim türlerinde antioksidan aktivite tayini dikkat çekicidir. *In vitro* H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile oluşturulan LPO'na karşı oksim türevlerinden 3-(fenilhidrazono)butan-2-on oksim yapısı antioksidan aktivite göstermiş; yine aynı araştırmacılar tarafından yapılan bir başka çalışmada da (2009) butan-2,3-dionethiosemikarbazon da aynı yöntemle radikal tutucu özellik göstererek antioksidan aktivite sağlamıştır.

Benzer şekilde hücre kültürü çalışmalarında monokrotofos ile oluşturulmuş zehirlenme sonrası gelişen oksidatif strese karşı trans-resveratrolün antioksidan aktivitesi sonucu hücrelerde koruyucu etki gösterdiği gözlenmiştir (Kumar ve ark., 2013).

Reaktif oksijen türlerine (ROS) maruziyet, biyomembranlarda çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu ile hücresel fonksiyonel değişimlere veya hücre ölümlerine 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 çoğunlukla indirekt göstergeler kullanılmaktadır (Moore ve Roberts, 1998;Ojha ve ark., 2011; Niki, 2014).

Büyükokuroğlu ve arkadaşlarının (2008a) fenthion ile akut OF zehirlenmesinde melatoninin antioksidan aktivitesini değerlendirdikleri çalışmalarında, gözlem grubunda oksidatif stres parametresi olan MDA en düşük değerde iken, fenthion ile zehirlenme sonrasında MDA'nın en yüksek değerde çıktığı gözlemlenmiştir.

Yürümez ve arkadaşlarının (2007b) yaptıkları bir çalışmada sıçanlarda fenthion ile meydana getirilen OF toksikasyonunda tedavi amacıyla N-asetilsistein kullanılmış, çalışmada oksidatif stresin önemli bir göstergesi olan MDA'nın tedavi gruplarında azaldığı ve GSH konsantrasyonunun arttığı görülmüştür.

Gülçen ve arkadaşları (2011) da yaptıkları çalışmada melatoninin güçlü antioksidan etkisi ile dokularda lipit peroksidasyonu sonucu oluşan oksidatif hasarı önlediğini göstermişlerdir. Ögütçü ve arkadaşları (2006) diazinon toksikasyonunun sıçanlarda kan MDA değerini arttırdığını, E vitamininin artan MDA değerini düşürerek LPO önlemek suretiyle kardiyoprotektif etki gösterdiğini saptamışlardır.

Cemek ve arkadaşları (2010) yaptıkları bir çalışmada fenthion ile zehirlenen sıçanlarda Vitamin E ve Selenyumun tek başına ve kombine kullanımını değerlendirmişler; serumda askorbik asit, retinol,  $\beta$ -karoten, seruloplazmin değerleri ile tam kanda ve bazı dokularda MDA, GSH değerlerini ölçmek suretiyle MDA ve GSH'ın OF toksikasyonunda kontrol grubuna göre daha yüksek değerde olduğunu; askorbik asit, retinol,  $\beta$ -karoten düzeylerinde de kontrol grubunda gözlem, vitamin E ve vitamin E + selenyum verilen gruplara göre daha düşük oranda olduğunu göstermişlerdir. Fenthionun toksisiteye bağlı olarak lipit peroksidasyonunu ve serbest radikal oluşumunu hem dokularda hem de kan parametrelerinde arttırdığını; kullanılan vitamin E ve selenyumun antioksidan özellikleri ile OF toksisitesinde koruyucu etkilerini göstermişlerdir.

Ahmed ve arkadaşlarının (2000) yaptığı bir çalışmada da malathionun tek başına ve oral yoldan *Zingiber officinales* ekstresi ile birlikte dört haftalık subkronik uygulaması sonrasında malathion grubunda lipit peroksidasyonundaki artışa bağlı olarak MDA düzeyinin yükselmiş, zencefil ekstresi ile birlikte malathion verilen grupta azalan LPO'na bağlı olarak MDA düzeyinde anlamlı düşüş gözlenmiştir.

El-Demerdash ve Nasr (2014) sıçanlara diazinonun tek başına ve oral yoldan selenyum ile birlikte 30 günlük subkronik uygulanması sonrasında OFB'in lipit peroksidasyonunu arttırdığını ve selenyumun artan lipit peroksidasyonunu azalttığını göstermişlerdir.

Zhang ve arkadaşlarının (2014) yaptığı bir çalışmada arsenik zehirlenmesi sonucu oluşan oksidatif strese bağlı olarak yüksek olan MDA değeri resveratrol uygulaması sonucu anlamlı şekilde düşmüştür. Silan (2008) yılında yaptığı bir çalışmada streptozosin ile oluşturulmuş deneysel diyabet modelinde kronik resveratrol uygulaması ile diyabetin neden olduğu oksidatif strese bağlı artan MDA düzeyini resveratrolün düşürdüğünü göstermiştir. Benzer şekilde Kumar ve arkadaşları (2007) da diyabete bağlı oksidatif stresle artan MDA düzeyinin 10 mg/kg ve 20 mg/kg resveratrol uygulaması sonucu dozla birlikte ters orantılı olarak düştüğünü gözlemlemişlerdir.

Literatüre uyumlu olarak bu çalışmada da tek doz fenthiona maruz kalan tüm gruplarda lipit peroksidasyonunun belirteci olan MDA değeri gözlem grubuna kıyasla artmış, bu artış en çok kontrol grubunda olmuştur. Tüm tedavi gruplarında MDA değeri kontrol grubuna göre düşüş göstermiştir. **Şekil 9** ve **Çizelge 1**'de görüldüğü üzere 800 mg/kg s.c. fenthion ile akut zehirlenme sonucu kanda ölçülen MDA düzeyi kontrol grubunda en yüksek çıkarken kontrole karşılaştırıldığında tüm dozlarda resveratrol, PAM ve PAM+RES MDA düzeyindeki bu yükselmeyi istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaltmıştır. Tedaviye oksim grubundan AKE reaktivatörü PAM eklenmesi de MDA düzeyini olumlu derecede etkilemiştir. Sonuçlardaki MDA düzeyindeki düşüş RES'ün artan dozlarda LPO'nu önlediğini göstermiştir. Gruplar arasında LPO'na karşı en iyi etki RES40 grubunda gözlenmiştir.

LPO organizma için çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve indirekt olarak reaktif aldehytler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar vermektedir. Bu reaksiyonlar sonucu hücrel membranların oksidatif yıkımı ve ciddi doku hasarı ile gözlenmektedir. Peroksidasyonla oluşan MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna yol açabilmektedir. Deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirebilmektedir. Bunun sonucunda da MDA'nın mutajenik, genotoksik ve karsinojenik etkileri ortaya çıkabilir (Niki ve ark., 2005). Fenthion sonrası resveratrol uygulanması sonucu MDA düzeyindeki düşüş RES'in serbest radikallerini süpürerek lipit peroksidasyonunu geri çevirdiğini göstermektedir.

Yapılan çalışmanın sonuçları göstermiştir ki resveratrol fenthion toksisitesi nedeniyle ortaya çıkan lipit peroksidasyonunu azaltmaktadır. Tedaviye PAM eklenmesi de LPO'na karşı etkili olmuştur. PAM ile birlikte resveratrolün verilmesi anlamlı etkiyi potansiyelize etmemiştir.

Hücre içi savunma mekanizmalarında önemli rol alan endojen antioksidanlardan biri olan GSH, hücre içinde indirgenmiş glutatyon (GSH) ve okside glutatyon (GSSG) olarak iki formda bulunmaktadır. İndirgenmiş GSH'un, bu özelliği sayesinde, serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı organizmayı korurken aynı zamanda antioksidan enzimlere substrat olarak ve serbest radikal tutucusu olarak işlev gördüğü çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Singhal ve ark., 1987; Sies, 1999; Mates, 2000). Redükte GSH peroksidaz enzim ailesinin bir kofaktörü olmasının yanısıra askorbik asit metabolizmasını, hücrelerarası iletişimin sürdürülmesini sağlayan ve genel olarak proteinlerin sülfidril (-SH) gruplarının okside olmasını ve çapraz bağlanmasını engelleyen diğer birçok metabolik süreçte yer almaktadır.

GSH OH<sup>-</sup> radikalinin yanı sıra azot trioksit (N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) ve peroksinitrit ile çok hızlı ve non-enzimatik olarak tepkimeye girmektedir (Griffith, 1999). Oksidatif stres sürecinde GSH düzeyi azalırken GSSG artmaktadır. GSH peroksitlerin GSH-Px ile enzimatik olarak indirgenmesini sağlayarak normal fizyolojik koşullarda antioksidan savunmaya destek olmaktadır. Hücrenin indirgeme kapasitesi yetersiz kaldığında GSH/GSSG oranında azalmalar görülmektedir. GSSG ve GSH miktarı oksidatif stres indikatörü olarak değerlendirilirken, GSH/GSSG oranı hücrel redoks durumu hakkında bilgi sağlamaktadır (Cnubben ve ark.,2001; Pastore ve ark.,2003).

Ojha ve Srivastava (2012) sıçanlarda farklı pestisitlerle toksisite oluşturmak suretiyle antioksidan özellikteki vitaminlerden olan vitamin A, E ve vitamin C'nin koruyucu etkilerini araştırdıkları çalışmalarında; bu pestisitlerin uzun dönemde GSH düzeyini düşürdüğü, GSSG düzeyini arttırdığı ve buna karşı kullanılan antioksidan vitaminlerin bu düzeyleri tam tersi yönünde etkilediğini göstermişlerdir.

Sigh ve arkadaşlarının (2006) sıçan eritrositlerinde akut ethion, klorpirifos, dimethoat, monokrotofos ile yaptıkları çalışmada; toksikasyon sonucunda kandaki GSH düzeylerinde kontrol grubuna göre artış gözlenmiştir.

Deneysel karaciğer intoksikasyonunda N-asetilsisteinin glutasyon metabolizması üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada da benzer şekilde CCl<sub>4</sub> ile N-asetilsistein verilen grupta, tek başına CCl<sub>4</sub> verilen gruba oranla GSH düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir (Akşit ve ark., 2015).

Banerjee ve arkadaşlarının (1999) lindan, malathion ve propoxur ile ayrı ayrı toksikasyon oluşturduğu deney modelinde, GSH düzeyleri kontrol grubuna kıyasla toksikasyon oluşturulan grupların hepsinde de anlamlı oranda düşmüştür. Bunun nedeni malathion ve propoxurun oluşturduğu oksidatif stresin GSH tüketimini aşırı arttırması ve endojen GSH üretiminin bu kaybı karşılamada yetersiz kalması ile ilişkilendirilmiştir.

Yürümez ve arkadaşlarının (2007b) fenthiona bağlı oksidatif stres geliştirdiği deneysel modelde fenthion uygulanan kontrol grubunda GSH düzeyi gözlem grubuna oranla düşmüş olmakla birlikte tedaviye antioksidan özellikteki N-asetilsistein eklenmesi GSH düzeyini kontrol grubuna oranla arttırmıştır.

Büyükokuroğlu ve arkadaşlarının (2008b) dantrolenin antioksidan aktivitesini incelemek üzere yaptıkları çalışmada da benzer şekilde antioksidan uygulaması sonrasında GSH düzeylerinde artış gözlenmiştir. Bu durum doğal savunmanın bir parçası olarak görülmüştür.

John ve arkadaşlarının (2001), dimethoat ve malathionun ayrı ayrı ve kombine kullanılarak oluşturulan toksikasyon sonucu gelişen oksidatif strese karşı E vitamininin koruyucu etkisinin sıçanlarda araştırıldığı çalışmasında, kontrol grubuna oranla dimethoat, malathion ve dimethoat-malathion gruplarındaki GSH seviyeleri daha yüksek bulunmuştur.

Yapılan çalışmada da **Şekil 10** ve **Çizelge 1** 'de görüldüğü üzere GSH düzeylerinin RES20 hariç bütün gruplarda gözleme göre anlamlı şekilde arttığı, resveratrol veya PAM'ın kontrole göre anlamlı bir etki oluşturmamakla birlikte en çok artışın RES40 grubunda olduğu gözlenmiştir.



Literatürde resveratrolün –SH gruplarının oksidasyonunu önleyerek hücre içi GSH düzeyini arttırdığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. GSH, membran proteinlerindeki –SH gruplarını indirgenmiş halde tutarak hücreleri serbest radikallerden korumakla görevli, protein yapısında olmayan, önemli bir hücre içi hidrofilik antioksidandır (Pandey ve Rizvi, 2011). 2003 yılında Yen ve arkadaşları resveratrolün H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile indüklenen oksidatif hasara karşı hücre içi GSH düzeyini arttırarak kuvvetli antioksidan özellik oluşturduğunu yaptıkları çalışmalarında göstermişlerdir. Yine Ateş ve arkadaşları (2007) resveratrolün serbest radikal süpürücü etkisine bağlı olarak GSH düzeyini arttırdığını ortaya koymuşlardır.

Sunulan çalışmada da kandaki GSH değeri akut toksikasyon sonrası gözlem grubuna kıyasla tüm toksikasyon gruplarında artmış olup, resveratrol ve PAM uygulaması GSH değerini daha da arttırmıştır. En yüksek artış RES40 grubunda görülmüş olup bu artış resveratrolün GSH üretimini aktive ederek, literatürle uyumlu olarak antioksidan savunma sistemlerini desteklediği söylenebilir.

Askorbik asit organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici ajan olarak görev yapmakla birlikte bu özelliği sebebiyle lipoproteinleri lipid peroksidasyonuna karşı koruyan güçlü bir endojen antioksidandır. Askorbik asit singlet oksijen, süperoksit, hidroksil, hidroperoksil, lipid peroksil ve lipid alkoksil gibi oksidatif hasar sonucu oluşan radikalleri ortamdan temizleyerek GSH benzeri antioksidan etki göstermektedir. Ayrıca tokoferol radikali haline gelmiş ve antioksidan özelliğini kaybetmiş vitamin E'nin tekrar aktif hale dönüştürülmesinde rol oynar (Rucker ve ark., 2001). Askorbik asit hidrofilik yapısı sebebiyle ekstraselüler sıvılardaki reaktif oksijen türlerini temizlerken, yağda çözünebilir vitamin E hücre içerisindeki reaktif metabolitlerce üretilen serbest radikalleri etkisizleştirerek lipid peroksidasyonunun oluşmasının önüne geçer. Vitamin E ile GSH-Px arasındaki birbirini tamamlayıcı özelliğe benzer şekilde askorbik asit ile vitamin E arasında da etki gösterdiği alanlar bakımından bir ilişki mevcuttur.

Narayana ve arkadaşlarının (2006) sıçanlar üzerinde metil parathionun toksik etkisini araştırdığı çalışmada tüm gruplarda askorbik asit düzeyinde kontrol grubuna oranla düşme görülmüş, bu durum askorbik asitin OF maruziyeti sonucu ROS süpürücü etkisinin artmış olabileceği şeklinde yorumlanmıştır.

Büyükokuroğlu ve arkadaşlarının (2008a) yaptığı çalışmada fenthion toksikasyonu oluşturulan kontrol grubundaki askorbik asit düzeyinin gözlem grubuna oranla daha az olduğu görülmüştür. Tedavi grupları olan profilaktik melatonin ve terapötik melatonin gruplarında ise askorbik asit konsantrasyonu toksikasyon grubuna oranla artmıştır.

Cemek ve arkadaşları (2010) fenthion zehirlenmesine karşı Vitamin E, Selenyum ve Vitamin E+Selenyum kullanılan gruplarda askorbik asitin vitamin E ve selenyum ile sinerjik etki göstermesi sonucunda askorbik asit düzeyini arttırdığını ve bunun da lipid peroksidasyonunu azalttığını göstermişlerdir.

Palsamy ve Subramanian (2011) resveratrolün diyabetik sıçanlarda böbreği askorbik asit düzeyini arttırarak hiperglisemiye bağlı oksidatif strese karşı koruduğunu göstermişlerdir.

Schmatz ve arkadaşları (2012) streptozosin ile deneysel oluşturulan diyabet sonucu gelişen oksidatif stres sonucu kanda düşen askorbik asit seviyesinin resveratrol uygulaması sonrasında yükseldiğini ve resveratrolün antioksidan aktivite sonucu askorbik asit düzeyini arttırdığını bildirmişlerdir.

Sunulan çalışmada **Şekil 11** ve **Çizelge 1'** de görüleceği gibi fenthion verilen kontrol grubu, gözlem grubu ve tedavi uygulanan diğer gruplar arasında kandaki askorbik asit düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Karotenoidlerin bir kısmı retinole metabolize olarak memelilerde A vitamini prekürsörü olarak görev yapmaktadır. Avitamini vücutta karotenoid türevleri halinde bulunur. İhtiyaç halinde  $\beta$ -karotenden sentezlenmektedir. Retinol ve  $\beta$ -karoten hücreyi triplet molekülleri ve singlet oksijeni süpürerek, hidroksil, peroksi ve alkoksi radikalleriyle de doğrudan reaksiyona girerek lipid peroksidasyon zincir reaksiyonunu önleyerek, serbest radikalleri inhibe ederek oksidatif stresten korumaktadırlar. (Sies ve Stahl, 1995; Rock, 1997; Edge, 1997).

Cemek ve arkadaşları (2010) fenthion ile zehirlenen sıçanlarda retinol ve  $\beta$ -karoten düzeylerini gözlem grubuna göre kıyasladıklarında her ikisinin de anlamlı şekilde azalmış olduğunu göstermişlerdir.  $\beta$ -karoten düzeyi Selenyum ve E vitamini uygulaması sonrasında kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde artmıştır.

Büyükokuroğlu ve arkadaşlarının (2008b) fenthion toksisitesine karşı dantrolen ile yaptığı çalışmada fenthionun azalttığı retinol seviyesinin dantrolen uygulaması sonucu yükseldiği, dantrolenin retinolün bozulmasının önüne geçerek bu etkiyi yapmış olabileceği ifade edilmiştir.

Büyükokuroğlu ve arkadaşlarının yaptığı (2008b) önceki çalışmada bu etki bulunmazken bu çalışmada  $\beta$ -karoten düzeylerinde anlamlı değişiklikler olmuştur. Buradan yola çıkarak karotenoidlerin biyolojik sistemde güçlü antioksidan aktivite gösterdiği ve OF zehirlenmelerinde resveratrolün A vitamini düzeyini arttırdığı söylenebilir.

Bununla birlikte yapılan çalışmada **Şekil 12** ve **Çizelge 1'**de görüldüğü üzere sadece fenthion uygulanan kontrol grubunun retinol düzeyi gözlem grubuna göre kıyaslandığında anlamlı şekilde azalmıştır. Fenthion toksikasyonu sonucu oluşan oksidatif stres retinol ihtiyacını arttırmış olup  $\beta$ -karoten ve retinol miktarı kontrol grubunda gözlem grubuna oranla belirgin düşüş göstermiştir. Diğer yandan toksikasyon sonrası artan konsantrasyonlarda resveratrol ve PAM kandaki  $\beta$ -karoten ve retinol düzeyini yükseltmiştir. Kontrol grubuna göre kıyaslandığında RES40 ve PAM40 gruplarında retinol düzeyleri anlamlı şekilde artmıştır.

Çalışmada kontrol grubunun  $\beta$ -karoten düzeyi **Şekil 13** ve **Çizelge 1'**de gösterildiği üzere gözlem grubuna göre kıyaslandığında aynı şekilde anlamlı şekilde azalmıştır. Bütün tedavi gruplarındaki  $\beta$ -karoten düzeyleri kontrole göre kıyaslandığında anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. RES40 ve PAM40 gruplarında  $\beta$ -karoten düzeyleri anlamlı şekilde artmıştır.

Vücudun enzimatik savunma sisteminin önemli üyelerinden biri olan SOD enzimi  $O_2^-$  serbest radikalini hızlı bir şekilde  $O_2$ 'e ve  $H_2O_2$ 'e dönüştürerek  $O_2^-$  radikalini ortamdaki katalitik olarak uzaklaştıran bir metalloenzimdir (Miller, 2012).  $O_2^-$  radikali ekstraselüler ortamda yüksek oranda üretilmesine rağmen intraselüler

düzeyi SOD enzimi sayesinde düşük tutulur. SOD enzimi membranı geçemeyen  $O_2^-$  radikalini membranı kolaylıkla geçebilen  $H_2O_2$ 'ye dönüştürür.  $H_2O_2$  ise geçiş metal iyonları varlığında Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonu ile aktif OHradikaline dönüşmektedir. Bu nedenle SOD aktivitesindeki aşırı artış aşırı  $H_2O_2$  birikmesine yol açacaktır ki bunun da ancak KAT, GSH-Px enzimlerinin artan aktiviteleri ile kontrol altında tutulabileceği düşünülmektedir.

Enzimatik savunma sisteminin bir diğer üyesi olan KAT hidrojen peroksite su ve oksijene dönüşümünü katalizleyen bir enzimdir. GSH-Px ise birçok dokuda bulunan, enzimatik özellikte doğal bir antioksidandır. GSH-Px substrat olarak H donörü özelliğinde olan GSH'ı kullanır. Hidroperoksitleri kullanarak GSH'ın oksidasyonunu katalizler ve hidroperoksitleri alkol türevlerine redükler. Bu enzim LPO sonucu oluşan hasarın onarılmasında rol oynar. 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 ve ark., 2005).

Akghari ve Abdollahi (2003) de deneysel olarak oluşturulan subkronik malathion toksisitesinin karaciğer ve kırmızı kan hücrelerinde oluşturduğu oksidatif hasarı saptamak amacıyla SOD, KAT aktivitelerini ölçtükleri çalışmalarında malathionun hem karaciğerde hem de kan hücrelerinde her iki enzimin de aktivitesinin arttığını saptamıştır.

John ve arkadaşlarının (2001), dimethoat ve malathionun ayrı ayrı ve kombine kullanılarak oluşturulan toksikasyon sonucu gelişen oksidatif strese karşı E vitamininin koruyucu etkisinin rat eritrositlerinde araştırıldığı çalışmalarında, SOD ve KAT enzim aktivitelerinde anlamlı artış olduğunu, zehirlenme öncesi E vitamini uygulamasının tüm gruplarda enzim aktivitelerinde anlamlı düşüş oluşturduğunu gözlemişlerdir. John ve arkadaşları bu artışın  $O_2^-$  radikallerinin dismutasyonunu arttırmak ve  $H_2O_2$  ayrıştırmak amacıyla olduğunu ve OF toksisitesindeki artmış reaktif oksijen türlerine cevap olarak bu enzimlerdeki artışın gerçekleştiğini savunmuşlardır.

Banerjee ve arkadaşlarının (1999) lindan, malathion ve propoxur ile ayrı ayrı toksikasyon oluşturduğu deney modelinde, SOD ve KAT düzeyleri kontrol grubuna kıyasla toksikasyon oluşturulan grupların hepsinde de anlamlı oranda artmıştır.

Kumar ve arkadaşlarının (2007) streptozosin kaynaklı diyabetik sıçanlarda KAT aktivitesine dair yaptıkları ölçümlerde KAT aktivitesi kontrol grubuna oranla oksidatif stres sonucu azalmış olmakla beraber, tedaviye resveratrol eklenen gruplarda enzim aktivite düzeyi artmıştır.

Resveratrolün endojen antioksidanların ve faz II enzimlerin aktivitesini arttırma özelliğine sahip olduğu bildirilmiştir. Resveratrol  $H_2O_2$  oluşumunu azaltmakta, okside glutasyon redüktaz ve miyeloperoksidaz aktivitesini azaltmaktadır. Doksorubisin ile kardiyomiyopati oluşturulan farelere oral resveratrol uygulaması doksorubisine maruziyet sonrası artan MDA düzeyini düşürmüş, SOD, KAT, GSH-Px aktivitesini arttırmış, miyokard dokusundaki GSH düzeyini arttırmıştır (Wang ve ark., 2015).

Mishra ve arkadaşları (2013) yaptıkları çalışmada OF ile toksikasyon oluşturulmuş grupta artan SOD ve KAT enzim aktivitelerinin PAM ve atropin ile belirgin şekilde azaldığını göstermişlerdir. PAM'ın, LPO ile SOD ve KAT enzim aktivitesini azaltırken AKE enzimini reaktif ederek kolinerjik etkilerin azalmasına bağlı olarak da oksidatif stresi azaltıp antioksidan savunma sistemine katkı sağladığını belirtmişlerdir.

Sunulan çalışmada **Şekil 14** ve **Çizelge 2**'de gösterildiği üzere gözlem grubuna kıyasla, fenthion SOD aktivitesinde anlamlı artışlara neden olmuştur. Ancak uygulanan tedaviler, kontrol ile karşılaştırıldığında SOD aktivitesinde kısa dönemde anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Bu sonuçlara göre fenthion toksisitesinin  $O_2^-$  radikali oluşumunu arttırdığı ve buna bağlı olarak SOD aktivitesinin arttığını söylemek mümkündür. SOD aktivitesi RES40 grubunda gözlem grubuna en yakın değerde gözlenmiştir.

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

Büyükokuroğlu ve arkadaşlarının (2008a) gerçekleştirdiği çalışmada ise fenthion ile oluşturulan toksikasyon grubunun GSH-Px aktivasyon düzeyi, hiçbir kimyasalın verilmediği gözlem grubuna göre anlamlı bir şekilde daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca tedavi grupları olan profilaktik melatonin ve terapotik melatonin gruplarına ilişkin GSH-Px aktivitelerinde ise fenthion grubuna oranla bir düşüş söz konusudur.

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

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

Lukaszewicz-Hussain'in (2008) subkronik OF toksikasyonu oluşturarak yaptığı çalışmada toksikasyon oluşturulmayan kontrol grubuna göre toksikasyon gruplarında SOD, KAT ve GSH-Px enzim aktiviteleri anlamlı şekilde artış göstermiştir.

Resveratrol, endotelial nitrik sentetazı (eNOS) aktive ederek glutatyon düzeyini artırır; metal iyonlarını bağlayarak, enzim ekspresyonunu düzenleyerek; *uv* ile uyarılmış DNA hasarını glutatyon peroksidaz, katalaz ve oksijenaz-1 ekspresyonunu artırarak antioksidan etki gösterir (Pandey ve Rizvi, 2011; Saeidnia ve Abdollahi, 2013). Aynı zamanda resveratrolün hidrojen peroksit ile aktive olan insan lenfositlerinde glutatyon miktarını arttırdığı, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve glutatyon-S-transferaz gibi glutatyon metabolizması ile ilgili

enzimlerin de miktarını arttırdığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (de la Lastra ve Villegas, 2007; Diaz-Gerevini, 2015).

Soufi ve arkadaşları (2012), diyabetik ratlarda oluşan oksidatif strese kontrol grubuna oranla resveratrolün antioksidan etkinliğini saptadıkları bir çalışmada, GSH-Px, SOD ve KAT enzim aktivitelerini kontrol grubuna oranla arttırdığını göstermişlerdir.

Sebai ve arkadaşları (2010) bakteriyel lipopolisakkarit kaynaklı hepatotoksositeye bağlı oluşturdukları oksidatif stres deney modelinde resveratrol uygulanmasının SOD, KAT ve GSH-Px enzim aktivitelerini arttırarak lipopolisakkaritin oluşturduğu oksidatif hasarı önlediğini göstermişlerdir.

Bu çalışmada da gözlem grubuyla karşılaştırıldığında, fenthion toksikasyonu tüm gruplarda GSH-Px aktivitesinde anlamlı artışlara neden olmuştur. **Şekil 15** ve **Çizelge 2'**de görüldüğü üzere uygulanan tedaviler kontrol ile karşılaştırıldığında GSH-Px aktivitesinde anlamlı değişikliğe neden olmamıştır. gözleme en yakın değer RES40 grubunda gözlenmiştir.

**Şekil 16** ve **Çizelge 2'** de görüldüğü üzere fenthion toksisitesi gözlem grubu ile karşılaştırıldığında KAT aktivitesinde anlamlı artışlara neden olmuştur. Gözleme göre en çok artış kontrol grubunda gözlenmiştir. Tedavi grupları arasında kontrol ile karşılaştırıldığında KAT aktivitesinde anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Tedavi grupları arasında gözlem grubuna en yakın KAT değeri RES40 grubunda gözlenmiştir.

$O_2^-$  radikali ekstraselüler ortamda yüksek oranda üretilmesine rağmen intraselüler düzeyi SOD enzimi sayesinde düşük tutulur. SOD enzimi membrane geçemeyen  $O_2^-$  radikalini membranı kolaylıkla geçebilen  $H_2O_2$ 'ye dönüştürür.  $H_2O_2$  ise geçiş metal iyonları varlığında Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonu ile aktif OH-radikaline dönüşmektedir. Bu nedenle SOD aktivitesindeki aşırı artış  $H_2O_2$  birikmesine yol açacaktır ki bunun da ancak KAT, GSH-Px enzimlerinin artan aktiviteleri ile kontrol altında tutulabileceği düşünülmektedir (Mates, 2000; Johnson, 2005). Yapılan çalışmada fenthion toksisitesi nedeniyle SOD aktivitesi artmış, buna paralel olarak, GSH-Px ve KAT aktivitelerinde de anlamlı bir artış ortaya çıkmıştır. Yapılan çalışmanın sonuçları yukarıda belirtilen düşüncüyü desteklemektedir.

OFB lipofilik karakterleri nedeniyle zararlı etkilerini vücudun çeşitli yerlerinde göstermektedirler. Sinir sistemi, kardiyovasküler, immün, endokrin, solunum, boşaltım gibi çeşitli sistemlerdeki organların fonksiyonlarında bozulmaya bağlı olarak gelişen hastalıkların çoğunun etiolojisinde pestisit kalıntılarının maruziyet önemli bir etki oluşturmaktadır. *In vivo* ve *in vitro* deneysel çalışmalar, akut, subakut ve kronik OFB'e maruziyet sonucu ortaya çıkan hepatotoksosite, nörotoksosite, genotoksosite, embriyotoksosite, immünotoksosite gibi etkenlerin temelinde OFB'in yol açtığı artmış reaktif oksijen türlerinin neden olduğu oksidatif doku hasarının rol oynadığını ortaya koymuştur. Bu çalışmalarda, karaciğer, beyin ve kalp, akciğer, böbrek gibi çeşitli organlardaki doku örneklerinde, serum ve eritrositlerde LPO'nun bir göstergesi olan tiyobarbitürik asit reaktif substansları seviyelerinde artışın ve enzimatik antioksidan savunma elemanlarından SOD, KAT, GSH-Px, GSH-Rd aktivitelerindeki değişikliklerin

gösterilmesiyle OFB'in oksidatif hasarda rol oynayabileceği belirtilmiştir (Banerjee ve ark., 1999; Mohammad ve ark., 2004; Milatovic ve ark., 2006; Franco ve ark., 2009; Lukaszewicz-Hussain, 2010; Bayrami ve ark., 2012; Karami-Mohajeri ve Abdollahi, 2013; Mostafalou ve Abdollahi, 2013).

Büyükokuroğlu ve arkadaşlarının (2008a) fenthion ile akut toksisite sonucu oluşturdukları oksidatif stresin hasarını çeşitli dokularda ölçmek ve melatoninin profilaktik ve terapötik dozlarda antioksidan etkilerini saptamak amacıyla yaptıkları çalışmada karaciğer dokularındaki MDA düzeyinde kontrol grubunda gözlem grubuna kıyasla anlamlı artış gözlenmiş olmakla birlikte melatoninin profilaktik veya tedavi dozlarında MDA düzeyini anlamlı oranda düşürmediğini saptamışlardır. Böbreklerde fenthion uygulanan kontrol grubundaki MDA düzeyi gözlem grubuna oranla anlamlı derecede yüksek çıkmıştır. Profilaktik melatonin uygulaması MDA düzeyini kontrol grubuna göre anlamlı oranda düşürmüştür. Beyin dokusunda, fenthion uygulanan kontrol grubundaki MDA düzeyi gözlem grubuna oranla anlamlı derecede yüksek çıkmış olup profilaktik melatonin uygulaması MDA düzeyini kontrol grubuna oranla anlamlı derecede düşürmüştür. Akciğerlerde ise MDA düzeyinde deney gruplarının hiçbirinde belirgin etki gözlenmemiştir. Kalp dokusundaki MDA düzeyleri gözlem grubuna göre fenthion uygulanan kontrol grubunda anlamlı oranda artmış, profilaktik melatonin uygulanması kontrol grubuna oranla MDA düzeyini anlamlı ölçüde düşürmüştür. Çizgili kaslarda ise MDA düzeyleri gözlem grubuna göre fenthion uygulanan kontrol grubunda anlamlı oranda artmış, melatonin uygulaması MDA düzeyi üzerinde anlamlı bir sonuç göstermemiştir. Buradan yola çıkarak fenthion toksisitesinde özellikle karaciğer, böbrek, beyin, kalp ve çizgili kas dokularında oksidatif stres sonucu oluşan lipid peroksidasyonuna bağlı olarak MDA artışı gözlemlendiğini ifade etmişlerdir.

Bu çalışmada da fenthion toksisitesi oluşturulmuş sıçanların beyin, karaciğer, böbrek, kalp ve akciğer dokularındaki MDA düzeyleri araştırılmıştır (**Şekil 17, Çizelge 3**).

Ojha ve arkadaşlarının (2011) OF toksikasyonu sonrası beyin dokularında LPO'nu saptamak için yaptıkları ölçümlerde aynı şekilde MDA düzeylerinin kontrole kıyasla bütün gruplarda arttığı gözlenmiş, bu artışın en çok beyin dokularında, bunu takiben de karaciğer dokularında olduğu ifade edilmiştir.

Banks ve Lein (2012) yaptıkları bir çalışmada, akut ve kronik OFB'e maruziyete bağlı oluşan toksikasyonlarda hücre içi inflamasyon medyatörlerinin aktivasyonu beyin dokularında hasara sebep olduklarını göstermişlerdir. Benzer şekilde Lim ve arkadaşları (2011) kronik parathion toksisitesinde, Johnson ve arkadaşları (2011) akut soman, sarin ve klorpirifos toksisitesinde OFB'lerin sıçan beyinlerinde nöroinflamasyona yol açtığını bildirmişlerdir.

Singh ve arkadaşları (2015) subakut klorpirifos toksikasyonu sonrasında oksidatif hasara bağlı olarak deneklerin hafıza, öğrenme ve motor koordinasyonlarında bozulmalar meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Resveratrolün, streptozosin ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda serebral kortekste, hipokampuste ve serebellumdaki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, resveratrol AKE enzim aktivitesini arttırmak, diyabete bağlı hafıza problemlerini önlemek suretiyle nöroprotektif etki göstermiştir (Schmatz ve ark., 2009).

Atmaca ve arkadaşları (2014) sıçanlarda florür maruziyetine bağlı oluşturulan oksidatif stres deney modelinde resveratrolün beyin dokusunda LPO'nu önleyerek antioksidan ve nöroprotektif etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Zini ve arkadaşları (1998) *in vitro* beyin hücrelerindeki mitokondriyel solunum zincirine resveratrolün etkisini araştırdıkları çalışmalarında resveratrolün beyin dokusunda doza bağımlı olarak superoksit radikallerini süpürücü etki oluşturarak antioksidan etki oluşturduğunu göstermişlerdir.

Benzer olarak **Şekil 18** ve **Çizelge 3**'te gösterildiği üzere zengin lipit yapısının yanı sıra AKE'in inhibisyonu sonucu MSS'nde oluşan hasarlanma sebebiyle, fenthion toksikasyonu oluşturulan tüm gruplarda LPO belirteci olan MDA düzeyi artmıştır. Gözleme kıyasla en yüksek artış kontrol grubunda görülmüştür. Resveratrol MDA düzeyini artan dozlarda RES20 ve RES40 grubunda kontrolle karşılaştırıldığında anlamlı şekilde düşürmüştür. RES artan dozlarda beyinde oluşan LPO'nu azaltmıştır. Pralidoksimin tek başına ve resveratrolle birlikte verilmesi beyin MDA düzeyinde anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır.

OFB yağlı dokularda birikerek çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olmaktadır. Bu durum, özellikle lipit içeriği ve oksijen gereksinimi yüksek olan nöral hücrelerde dramatik sonuçlara sebep olabilir. Bununla birlikte OFB MSS'nde öğrenme ve hafıza ile ilgili bir çok nöropatolojik oluşuma da neden olabilmektedirler.

Ojha ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (2011) klorpirifos, parathion, malathion ve bunların karışımı ile zehirlenme sonucu sıçan karaciğer dokularında yapılan MDA düzeylerinin ölçümünde, grupların hepsinde de kontrol grubuna oranla anlamlı MDA artışı gözlenmiştir. OFB karaciğer dokularında da artan LPO'na bağlı olarak hepatotoksisite oluşturmuşlardır.

Benzer şekilde malathion, anilofos ve bunların kombinasyonları erkek sıçanların karaciğer, beyin ve eritrositlerinde LPO'nu arttırmıştır (Hazarika, 2003). Organofosforlu insektisit dimethioate'a maruziyet sonucu sıçanların beyin ve karaciğerinde oksidatif stres artmış, LPO oluşmuştur (Sharma ve ark., 2005).

Kadmiyuma bağlı oluşturulan deneysel toksisite modelinde lipit peroksidasyonunda artışa bağlı olarak gelişen oksidatif strese karşı toksisite öncesi profilaktik melatonin, resveratrol ve kurkumin uygulanan sıçanlarda, resveratrol uygulanan sıçanların karaciğer dokularında kadmiyum grubuna kıyasla MDA düzeyinde düşme görülmüştür (Eybl ve ark., 2006).

Çeşitli ksenobiyotiklerle oluşturulan deneysel hepatotoksisite modellerinde resveratrolün, serbest radikalleri süpürücü etkisi, hücre içi antioksidan savunma sistemi enzimlerine etkisi, metabolizasyonda görevli faz I ve faz II enzimlere etkisi ile karaciğeri koruduğu gösterilmiştir (McGill ve ark., 2015).

Resveratrol, etanolla karaciğer hasarı oluşturulmuş sıçan deneysel modelinde etanolün sebep olduğu LPO'nu geri çevirmek ve faz II metabolizasyon enzim ekspresyonunu arttırmak suretiyle hepatoprotektif etkinlik göstermiştir (Kasdallah-Grissa ve ark., 2006).

Yapılan çeşitli *in vivo* çalışmalarda, hepatik iskemi-reperfüzyon, etanol toksisitesi, asetaminofen, naftalin, CCl<sub>4</sub> toksisitesi deney modellerinde resveratrolün farklı

mekanizmalarla karaciğer üzerinde koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir (Bishayee ve ark., 2010b; McGill ve ark., 2015).

Oksimlerle tedavi sırasında en sık görülen yan etkilerden biri hepatotoksisitedir (Balali-Mood ve Shariat, 1998). Doza ve uygulama süresine bağlı olarak gelişen bu durum hastaların yaklaşık %10'unda görülmektedir (Jokanovic, 2009).

**Şekil 19** ve **Çizelge 3**'te görüldüğü gibi yapılan çalışmada karaciğer dokularında MDA düzeyi gözlem grubuna kıyasla fenthion toksikasyonuna maruz kalan tüm gruplarda artmış olmakla birlikte en fazla artış kontrol grubunda gözlenmiştir. RES 20 ve RES40, PAM40 ve PAM+RES gruplarında MDA düzeyindeki artış, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı şekilde azalmıştır. Buradan özellikle artan dozlarda resveratrolün, pralidoksimin tek başına ve pralidoksimin resveratrol ile kombinasyonunda, karaciğer dokularında oluşan oksidatif strese bağlı LPO'nu azalttığını söylemek mümkündür.

Hou ve arkadaşları (2014) kronik diklorvos toksisitesi oluşturulan sıçanlarda hücre içi enzimatik antioksidan savunma enzimleri olan SOD, KAT ve GSH-Px enzim düzeylerinde artışla birlikte böbrek dokularında artan MDA düzeyine bağlı olarak LPO geliştiğini gözlemiştir.

Kalender ve arkadaşları (2007), metilparathion ile oluşturulan OF toksikasyonunda vitamin E ve C'nin antioksidan aktivitelerini araştırdıkları çalışmalarında, metilparathionun böbrek dokularında MDA düzeyini arttırdığını, Vitamin E ve C'nin OFB'in oluşturduğu LPO'nu geri çevirdiğini biyokimyasal ve histopatolojik yöntemlerle göstermiştir.

Yılmaz ve arkadaşlarının yaptığı (2007) potasyum bromat kullanılarak oluşturulan deneysel renal oksidatif hasara karşı resveratrol uygulanan sıçanlarda potasyum bromat ile birlikte resveratrol uygulanan gruptaki MDA düzeyi kontrol grubuna göre düşüş göstermiştir.

Arseniktrioksit ( $As_2O_3$ ) ile oluşturulan nefrotoksosite deney modelinde resveratrol renal dokularda MDA düzeyini arttırarak LPO'nu önlemiştir (Yu ve ark., 2013).

**Şekil 20** ve **Çizelge 3**'te görüldüğü üzere bu çalışmada da gözlem grubu dışındaki fenthion toksisitesi oluşturulan tüm gruplarda böbrek doku MDA düzeylerinde anlamlı artış gözlenmiştir. Ancak uygulanan tedaviler, kontrol ile karşılaştırıldığında, MDA düzeylerinde anlamlı düşüş oluşturmamıştır. Dolayısıyla verilen dozlarda resveratrol ve pralidoksim uygulaması böbreklerde oluşan lipid peroksidasyonunu geri çevirmeye yeterli olmamıştır.

Öğütçü ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (2006) diazinon ile oluşturulan kronik toksikasyon sonucu sıçanlarda kalp dokusundaki miyokard hücrelerindeki MDA düzeyini saptamak amacıyla diazinon, vitamin E, Diazinon+Vitamin E gruplarında 1.,4.,7., haftada yaptıkları ölçümlerde 7. haftanın sonunda diazinon grubunda MDA düzeyi kontrol grubuna oranla anlamlı ölçüde artmış, oluşan lipid peroksidasyonuna karşı vitamin E'nin koruyucu etki göstererek Vitamin E+Diazinon gruplarında MDA düzeyini diazinon grubuna göre azalttığı gösterilmiştir.

Intraperitoneal etanol uygulaması ile etanole bağlı oksidatif stres oluşturulmuş sıçanlara etanole birlikte resveratrol verilmiş, beyin, kalp, karaciğer



dokularındaki MDA düzeylerinde 6. haftanın sonunda etanol uygulanan grupta artma olmakla birlikte resveratrol+ etanol grubunda bu düzeyler kontrol grubuna kıyasla belirgin olarak düşüş göstermiştir (Kasdallah-Grisa ve ark., 2006).

Yapılan çalışmada da (**Şekil 21** ve **Çizelge 3**) yukarıdaki çalışmaya benzer şekilde kalp dokusu MDA düzeyi, gözlem grubu ile karşılaştırıldığında kontrol grubunda anlamlı artış göstermiştir. Diğer yandan RES40 grubunun MDA düzeyi, kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı şekilde azalmıştır. RES40 grubu artan LPO'nu gözlem grubuna yakın değerlerde düşürerek anlamlı kardiyoprotektif etki göstermiştir.

Akciğer dokusu MDA değerlerine bakıldığında **Şekil 22** ve **Çizelge 3**'te gösterildiği gibi gözlem grubu ile kıyaslandığında fenthion toksikasyonu oluşturulan bütün gruplarda MDA artmış, RES ve PAM tedavisi kontrol grubuna kıyasla tüm gruplarda anlamlı düşüş oluşturamamıştır.

Büyükokuroğlu ve arkadaşlarının (2008a) fenthion ile akut toksisite sonucu oluşturdukları oksidatif stresi çeşitli dokularda ölçmek ve melatoninin profilaktik ve terapötik dozlarda antioksidan etkilerini saptamak amacıyla yaptıkları çalışmada karaciğer dokularındaki GSH düzeyi gözlem grubuna kıyasla kontrol grubunda anlamlı olarak artmış olup terapötik melatonin grubunda GSH düzeyi kontrole göre artmıştır. Böbreklerde deney gruplarının GSH düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Beyin GSH düzeylerinde profilaktik ve terapötik melatonin gruplarında kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir artış olmuştur. Akciğer dokusundaki GSH düzeylerinde anlamlı fark bulunmamıştır. Kalp dokusunda ise profilaktik melatonin kontrol grubuna göre anlamlı artış göstermiştir.

Benzer şekilde Cemek ve arkadaşlarının (2010), akut fenthion toksisitesi oluşturulan sıçanlarda oluşan oksidatif hasarı önlemek amacıyla antioksidan olarak vitamin E, selenyum ve Vitamin E+Selenyumun koruyucu etkilerinin araştırıldığı çalışmada fenthion toksikasyonu sonucunda gözlem grubuna kıyasla karaciğer, kalp, akciğer, böbrek dokularında GSH düzeyi artmış, selenyum ve vitamin E bu değeri daha da arttırmıştır. Çalışmacılar artan GSH düzeyini antioksidan savunmanın beklenen sonucu olarak değerlendirmişlerdir.

Lukaszewicz-Hussain (2008) klorfenvinpiros toksikasyonunda sıçanlarda beyin dokusunda antioksidan enzimlerin aktivitesinin arttığını, buna karşılık artan GSH tüketimine bağlı olarak GSH düzeylerinin düştüğünü belirtmiştir.

Benzer şekilde Cemek ve arkadaşları (2010) da fenthion toksisitesi sonucu beyin dokusunda GSH düzeyinin gözlem grubuna göre düşüş gösterdiğini, vitamin E'nin bu düzeyi arttırdığını göstermişlerdir.

Elsaid ve arkadaşları (2014) diazinon ile subkronik toksisite oluşturulmuş sıçanlarda beyin dokusunda GSH düzeyinin toksisite oluşturulmayan kontrol grubuna göre düşüş gösterdiğini, papatya ekstresinin GSH düzeyini arttırarak nöroprotektif etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> deney hayvanlarında sitotoksik etki ile beyin hücrelerinin yapısını bozmak ve apoptozis yolaklarını aktive etmek suretiyle beyin dokularında hasara sebep olmaktadır. As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ile oluşturulan toksisite deney modelinde kontrol grubuna kıyasla As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> grubunda GSH düzeyi düşmüş, resveratrol GSH'ı anlamlı şekilde

arttırmış ve arsenik toksisitesine karşı nöroprotektif etki göstermiştir (Yu ve ark., 2013).

Yapılan çalışmada **Şekil 24** ve **Çizelge 4**'te, görüldüğü üzere sıçanların beyin dokularındaki GSH düzeylerinde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Fenthion toksisitesi sonrasında beyin dokusunda azalan GSH düzeyi en yüksek artışı RES40 grubunda göstermiştir.

45 gün boyunca her gün aynı saatte oral malathion toksisitesine maruz kalmış sıçanlarda oluşan oksidatif strese karşı vitamin E ve selenyumun antioksidan etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada (Al-Othman ve ark., 2011), malathion toksisitesi karaciğerde kontrol grubuna kıyasla GSH düzeyini düşürmüş, selenyum ve vitamin E takviyesi bu düzeyi kontrole göre belirgin şekilde arttırmıştır. Hatta vitamin E ve selenyumun birlikte verildiği grupta GSH değeri OFB toksisitesine maruz kalmamış kontrol grubuna en yakın değerde bulunmuştur. Aynı çalışmada böbrek GSH değerlerine bakıldığında kontrole kıyasla toksikasyon oluşturulan malathion grubunda GSH değerleri düşmüş olup tedavi verilen tüm gruplarda GSH kontrol grubuna göre artış göstermiştir. Bu artış en çok vitamin E ve selenyum grubuna olduğu gözlenmiştir. Araştırmacılar bu sonucu ksenobiyotiklere karşı vücudun doğal antioksidan savunmasının bir parçası olarak değerlendirmişlerdir. GSH reaktif oksijen türlerinin detoksifikasyonunda önemli role sahip endojen antioksidanlardandır.

Kadmiyuma bağlı oluşturulan deneysel toksisite modelinde lipit peroksidasyonunda artışa bağlı olarak gelişen oksidatif strese karşı toksisite öncesi profilaktik melatonin, resveratrol ve kurkumin uygulanan sıçanlarda, resveratrol uygulanan sıçanların karaciğer GSH düzeyleri kontrol grubuna göre düşüş göstermiştir. Her üç antioksidanın da karaciğer dokularında oluşan oksidatif hasarı azalttığı ifade edilmiştir. (Eybl ve ark., 2006).

Rezerpin ile oluşturulan deneysel depresyon modelinde akut rezerpin enjeksiyonu sonrasında karaciğer dokusunda GSH düzeyi düşmüş, resveratrol tedavisi artan dozlarda GSH miktarını arttırmıştır (Ahmed ve ark., 2014).

**Şekil 25** ve **Çizelge 4**'te görüldüğü üzere karaciğer GSH düzeyleri gözlem grubuna kıyasla tüm fenthion toksikasyonu oluşturulan gruplarda anlamlı artış göstermiştir. Resveratrolün artan dozlarında GSH düzeyi kontrol grubuna göre daha da artmıştır. Ancak uygulanan tedaviler arasında karaciğer dokularında en yüksek GSH değeri RES40 grubunda görülmüştür.

Kanter ve Çelik (2012) yaptıkları çalışmada akut fenthion toksisitesi sonrasında kontrol grubu deneklere kıyasla fenthion toksisitesine maruz kalmış hayvanların böbrek doku GSH değerlerinin arttığını, bu artışın zamana bağlı olarak azaldığını dolayısıyla vücudun kendi antioksidan savunma sistemlerinin belli bir süre sonra yetersiz kaldığını göstermişlerdir.

Sisplatin çeşitli kanser türlerinde sıklıkla kullanılan bir kemoterapötik ajandır. En önemli yan etkileri ototoksisite, nöropati ve nefrotoksisitedir. Do-Amaral ve arkadaşları (2008) sisplatin ile nefrotoksisite oluşturulmuş sıçanlarda böbrek dokusundaki oksidatif doku hasarını inceledikleri bir çalışmalarında sisplatin toksisitesi sonrasında GSH düzeyinin toksisite oluşturulmamış kontrol grubuna kıyasla belirgin düşüş gösterdiğini, sisplatin öncesi resveratrol uygulanan

sıçanlarda GSH değerinin anlamlı şekilde arttığını, bu artışın kontrol grubuna en yakın değere geldiğini bildirmişlerdir.

Böbrek GSH düzeylerinde **Şekil 26** ve **Çizelge 4**'te belirtildiği üzere tedavi grupları arasında anlamlı fark bulunamamış olmakla birlikte gözlem grubuna kıyasla tüm fenthion toksisitesi oluşturulan gruplarda böbrek doku GSH düzeyi artmıştır.

OFB'den geniş kullanım alanına sahip olan diazinon ile subakut zehirlenmeye bağlı olarak oluşan oksidatif hasara karşı kalp dokularındaki etkilerini araştırdıkları çalışmalarında Razavi ve arkadaşları (2013) karotenoid yapısındaki safran bitkisinden elde edilen krokinin kalp dokularında zehirlenmeye bağlı olarak azalan GSH miktarını arttırdığını göstermişlerdir. Kalp dokularındaki GSH oranı toksisite oluşturulan grupta kontrol grubuna oranla düşüş göstermiş, krokin bu GSH değerini toksisite grubuna göre belirgin derecede arttırmıştır. Araştırmacılar buradan yola çıkarak özellikle kalp dokusunda -SH grubu içeren antioksidan savunma sistemlerinin ikinci bir savunma hattı oluşturarak hücreleri serbest radikal hasarına koruduğunu ifade etmişlerdir.

Mokni ve ark., 2007; Zhao ve ark., 2015; Raj ve ark., 2015 yaptıkları çalışmada resveratrolün antioksidan aktivitesinin yanı sıra kardiyoprotektif etki oluşturduğunu ifade etmişlerdir. Dernek ve arkadaşları (2006) iskemi-reperfüzyon sonrası miyokard hücrelerinde azalan GSH düzeyini resveratrol uygulamasının belirgin oranda arttırdığını yaptıkları çalışmada göstermişlerdir.

Bu çalışmada da kalp dokusundaki GSH düzeyini karşılaştırdığımızda **Şekil 27**'de ve **Çizelge 4**'te görüldüğü üzere gözlem grubu ile karşılaştırıldığında kontrol grubu GSH düzeyi anlamlı şekilde artmıştır. Uygulanan tedavilerden RES40 grubunun GSH düzeyi, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, anlamlı bir şekilde yükselmiştir.

**Şekil 28** ve **Çizelge 4**'te görüldüğü üzere deney gruplarının akciğer doku GSH düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Genel olarak bakıldığında, GSH konsantrasyonu redoks değişimlerine bağlı olup, kısa sürede değişiklikler göstermekle birlikte, toksikasyona ilk tepki olarak akut zehirlenmelerin çoğunda vücudun kendi antioksidan savunma sistemlerinin devreye girmesi sebebiyle GSH düzeyi artmaktadır. Fakat uzun dönem toksikasyona maruz kalan deneklerde zamanla vücudun kendi antioksidan savunma sistemi yetersiz kalıp dışarıdan ek takviyeye ihtiyaç olmaktadır. Dolayısıyla akut çalışmaların çoğunda artan toksikasyona bağlı artan GSH değeri vücudun kendi doğal antioksidan savunma sisteminin bir parçası olarak değerlendirilmiştir.

Bu tez çalışmasında biyokimyasal parametrelerin yanı sıra karaciğerin histopatolojik olarak doku düzeyleri de incelenmiş olup mikroskopik incelemede; **Şekil 29**'da gösterildiği üzere gözlem grubu dışındaki hayvanların karaciğerlerinde konjesyon, sentral ve portal venlerde dilatasyon, hepatik sinüzoidlerde genişleme, hepatik kordonlarda dissosiasyon ve kupffer hücrelerinde aktivasyon gözlenmiştir. Fenthion toksisitesine maruz kalan gruplar arasında kontrol grubu hayvanlarında bu bulgulara ek olarak perisentral yerleşimli çoğunluğu lenfositik seriden olmak üzere mononükleer hücreler de

gözlenmiştir. Bahsedilen lezyonlar aynı gruptaki hayvanlarda ve aynı örneğin farklı bölgelerinde bile farklılıklar gösterebildiğinden çalışmanın geneli grup ortalamasına göre değerlendirilmiştir.

Işık mikroskopik incelemelerini desteklemek için yapılan histokimyasal boyamalardan Van Gieson boyamasında ne periportal ne de perisentral bölgelerde fibrozise ilişkin bir bulgu izlenmemiştir. Yine histokimyasal boyalardan Periodic Acid Schiff boyaması doğrulaması ile hepatositlerde farklı bir birikim dikkati çekmemiştir.

Patolojik lezyonların şiddeti gruplara göre sıralandığında, en şiddetli lezyonların kontrol grubunda olduğu, bunu sıra ile RES10, RES20, RES40, PAM, PAM+RES grubunun takip ettiği, gözlem grubunun ise normal olduğu görülmüştür.

Kalender ve arkadaşları (2010), OFB'den malathion ile toksikasyon oluşturulmuş sıçanların karaciğer dokularına vitamin E ve C'nin iyileştirici etkilerini araştırdıkları immünohistokimyasal çalışmada ışık mikroskobu altında, malathiona maruz kalan sıçanların karaciğer dokularında kontrol grubundan farklı olarak çekirdek yapısında bozulma, sinüzoidlerde genişleme, hemoraji, kalsifikasyon, vakuoler dejenerasyon, vasküler konjesyon ve nekrotik hücreler gözlemlenmişlerdir. Vitamin E ve C tedavisinin vakuoler dejenerasyon, kalsifikasyon ve nekrozu önlediğini bildirmişlerdir. Flehi-Slim ve arkadaşları (2015) da benzer şekilde karaciğer dokuları üzerinde farklı dozlarda malathion toksisitesi oluşturarak yaptıkları çalışmada, parankimal dokularda doz artışına bağlı olarak hücre organellerinin yapısının bozularak yüksek dozlarda nekroz oluştuğunu bildirmişlerdir.

Oksidatif strese bağlı olarak gelişen hücresel hasar yeterince ağırsa hücre zarar görür ve ölür. Hücre ölümü tarihsel olarak nekroz ve apoptoz olarak ikiye ayrılır. Nekroz ve apoptozun bazı mekanizmaları reaktif oksijen türlerinin sebep olduğu oksidatif stres ile ilişkilidir. Mitokondriyer güçlü ROT üreticileridir; aynı zamanda hücrenin yapıtaşlarından olan lipitler, proteinler ve DNA üzerindeki etkileri sonucunda oluşan oksidatif hasarlardan da sorumludurlar. Organizmalar kendilerini serbest radikal ve bağlantılı hasarlardan korumak için, serbest radikalleri intraselüler ortamdan uzaklaştırmaya yönelik bir takım savunma mekanizmaları geliştirmiştir. Serbest radikal oluşumu, organizmanın savunma kapasitesini aştığı zaman moleküler hasar ortaya çıkar. Bu hasar arttıkça sonuçta hücrelerin, organların ve organizmanın bizzat kendisinin ölümüne sebep olacak şekilde hücresel fonksiyonlarda bozulmalar meydana gelir. Apoptoz çeşitli travmatik hücre dışı lezyonlar ya da genetik faktörlerle aktive edilen hücrenin kendisi tarafından programlanmış bir mekanizma vasıtasıyla hücre ölümünü kontrol eden aktif bir işlem olup hücrenin intiharı olarak tanımlanabilir. Organofosfat zehirlenmesi de organizmada apoptoz yolaklarını indüklediği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Li ve ark., 2007; Saquib ve ark., 2012; Kumar ve ark., 2013).

Oksidatif stres hücrede P53 seviyesinin artmasına sebep olmaktadır. Apoptozis olayının başlamasından önce hücresel replikasyon ve DNA onarımı işlemi durur, eğer bu sırada DNA tamiri gerçekleşmezse apoptozis ile başlayan olaylar zinciri görülür. Bcl-2 apoptozisi düzenlemede önemli role sahip olan, antiapoptotik ve proapoptotik üyelerden oluşan onkoprotein grubudur. Bcl-2 apoptozu engelleme

fonksiyonunu kaspazların öncü formlarını durdurarak ya da kaspaz akışını direkt olarak aktive eden sitoplazmadaki sitokrom-C gibi apoptogenik faktörlerin mitokondriden serbestleşmesini engelleyerek gerçekleştirir. Bax gibi proapoptotik üyeler heterodimerizasyon yoluyla kaspaz serbestleşmesini uyarır ve mitokondri zarının geçiş porlarının açıklığını değiştirerek sitokrom C'yi serbestleştirir. Dolayısıyla kaspaz aktivasyonuna yol açar. Bcl-2 salgılanması sonucu apoptoz inhibe edilirken aşırı bax apoptozu aktive eder (Altunkaynak ve Özbek, 2008).

Bu çalışmada da immunohistokimyasal incelemeler programlanmış hücre ölümüne yönelik olarak yapılmıştır. **Şekil 29'**da görüldüğü gibi anti-Bax antikoru ile yapılan boyamalarda, boyanmaların perisentral bölgeye lokalize olduğu dikkati çekmiştir. Anti-Bcl-2 antikorunun da bu bölgelerde lokalize olduğu ancak yoğunluğunun anti-Bax yoğunluğu ile ters olarak etkilendiği yönünde bir görünüm sergilemiştir. Anti-kaspaz-3, anti-kaspaz-8 ve TUNEL boyamalarda ise perisentral bölgelerde herhangi bir pozitiflik gözlenmemiş, parankime gelişigüzel dağılmış ve normal bir karaciğer dokusuna benzer bir şekilde ve fizyolojik limitler içerisinde olacak şekilde hepatositlerde, kupffer hücrelerinde ve diğer destek hücrelerinde pozitiflikler izlenmiştir. Histopatolojik bulguları destekler nitelikte en şiddetli anti-Bax pozitifliği kontrol grubunda gözlenmiş ve pozitifliğin şiddeti RES10, RES20, RES40, PAM, PAM+RES ve gözlem olarak azalarak takip etmiştir. Anti-Bcl-2 pozitifliği ise anti-Bax antikorunun aksi bir seyir göstermiş olup en yoğun olarak gözlem grubunda daha sonra da PAM+RES, PAM, RES40, RES20, RES10 ve en az olarak da kontrol grubunda ortaya çıkmıştır. Anti-Bcl-2 boyamasında dikkati çeken husus boyanın lokalizasyonu olmuştur. Gözlem grubunda perisentral hepatositler tek ve düzgün bir sıra halinde boyanmış görünürlerken diğer gruplarda ikinci ve hatta üçüncü sıradaki hepatositlerde de gözlenen düzensiz boyanmalar fark edilmiştir.

Programlanmış hücre ölümünü sürecinde Bax Bcl-2'yi antagonize eder ve kaspaz-3 aktivasyonu ile devam eden süreci başlatır. Anti-Bax pozitifliğine nazaran anti-kaspaz-3, anti-kaspaz-8 ve TUNEL boyamalarının perisentral bölgelerde negatif olması fenthion verilmesi ile örnek alınması arasındaki zamanlamadan kaynaklanabilir veya olası bir hücre ölümü farklı bir mekanizma ile şekillenebilir.

Sundquist ve arkadaşları (2006) Anti-Bax pozitifliğine nazaran Anti-kaspaz-3, anti-kaspaz-8 ve son aşama TUNEL boyamalarının negatif çıkmasının bir sebebinin de zamanlama olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada da hepatik hücrelerde apoptozis başlamış fakat sonuçlanamamıştır.

OFB'in insan NK hücrelerinde (Li ve ark., 2007), immün sistem ve nöral hücrelerde mitokondriyel yolak üzerinden apoptozu indüklediğine; klorpirifos ve diklorvosun oksidatif strese bağlı olarak kaspaz bağımlı yolağı indüklediğine dair çalışmalar gösterilmiştir (Franco ve ark., 2009).

Saquib ve arkadaşları (2012) OFB'den forat ile yaptıkları çalışmada, 14 gün farklı dozlarda forat ile toksikasyon oluşturulan sıçanların karaciğer hücrelerinde oluşan oksidatif strese bağlı olarak tümör supresör P53, kaspaz-3 ve kaspaz-9 yolakları üzerinden intrinsik apoptotik yolları aktive olduğunu göstermişlerdir.

RES'ün de apoptoz sırasında çeşitli yolları kullandığı bildirilmiştir. Kaspaz-3 ve kaspaz-9 aktivasyonu (Ulakcsai ve ark., 2015), pro-apoptotik Bax ekspresyonu, antiapoptotik Bcl-2 ekspresyonunda azalma, FasL/CD95 sinyal kaskadını

kullanma, mitokondriden sitoplazmaya sitokrom C salımının aktivasyonu ve mitokondride translokasyonu arttırmak suretiyle etki ettiği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Ergin ve Yaylalı, 2013).

Kumar ve arkadaşları (2013) monokrotofös ile zehirlenen sıçanlarda *in vitro* sıçan PC12 hücre kültürü çalışmalarında monokrotofös maruziyeti sonrasında resveratrolün koruyucu etkilerini inceledikleri çalışmalarında resveratrol PC12 hücreleri üzerinde monokrotofös kaynaklı oksidatif hasara karşı apoptozisi önleyerek belirgin koruyucu etki göstermiştir.

**Şekil 29**'da görüldüğü üzere yapılan histopatolojik çalışmada artan dozlarda RES uygulaması fenthionun oluşturduğu oksidatif hasara bağılı olarak gelişen apoptozisi durdurmuştur.

Organofosfatlı insektisitler etkilerini sadece sinir sistemi üzerinde göstermeyip immün sistem, pankreas, karaciğer, üreme sistemi, hematolojik sistemlerde de hasar yapıcı istenmeyen etkilere sebep olurlar. Bir önemli özellikleri de farklı dokularda reaktif oksijen türlerinin oluşumuna bağılı olarak oksidatif strese neden olmalarıdır.

Fosforotiyoat tipi OFB'den olan fenthionun meydana getirdiği reaktif oksijen türlerinin karaciğer ve beyinde LPO oluşturdüğü, DNA'nın tek kolunda kırıklara ve laktat dehidrogenazın ekstraselluler sıvıya sızıntısında artışa neden olduğı Bağchi ve arkadaşları (1995) tarafından ortaya konulmuştur. Son dönemde yapılan *in vivo*, *in vitro* çalışmalarda OFB ile zehirlenme sonucu kolinerjik yolların dışında mitokondriyel disfonksiyona bağılı olarak oksidatif stres geliştiğı gösterilmiştir. Mitokondri hücrenin enerji yollarında ATP üretiminde, ROT üretimi ve hücre yaşamının sonlanmasında önemli role sahiptir (Dikalov, 2011; Marchi ve ark., 2012). Hepatik, kardiyovasküler, nörodejeneratif ve inflamatuvar hastalıkların çoğunun etiolojisinde mitokondriyel hasarlar yatmaktadır (Ando ve Wakamatsu, 1985; Kaur ve ark., 2007; Binukumar ve ark., 2010; Bayrami ve ark., 2012). Mitokondriyel solunum zincirinden elektron kaçacağı sonucu oluşan ROT oksidatif hasara yol açtığı gösterilmiştir (Brookes, 2005). Mitokondride oluşan fonksiyonel ve yapısal bozukluklar sonucu hücre solunumu ve enerji üretiminin bozulmasına bağılı olarak apoptozis ve nekroz ile karşılaşmaktadır. Son dönemdeki çalışmalarda OF'ların mitokondriyel fonksiyonlarda önemli role sahip olduğı gösterilmiştir (Mohajeri ve Abdollahi, 2013). Bu toksinler mitokondriyel solunumu ve solunumda görevli enzimlerin yapılarını değıştirmek (Shabarchin ve ark., 1979; Spetale ve ark., 1977; Yamano ve Morita, 1993) ve enerji üretimini bozmak suretiyle etki göstermektedir (Massicotte ve ark., 2005; Chan ve ark., 2006; Venkatesh ve ark., 2009; Binukumar ve ark., 2010; Shafiee ve ark., 2010).

Sonuç olarak OFB lipit peroksidasyonunu arttırarak oksidatif strese neden olmaktadır. RES kuvvetli antioksidan özelliğı sebebiyle artan oksidatif stresi anlamlı baskılamaktadır. En çok bilinen antioksidanlar olan E vitamini ve C vitamininden daha güçlü olan resveratrol, OH<sup>•</sup> ve O<sub>2</sub><sup>-•</sup> radikallerini süpürerek, OH<sup>•</sup> radikalinin neden olduğı lipit peroksidasyonu inhibe ederek, demir ve bakırla şelasyon yaparak, hücre içi antioksidan enzimlerin aktivitesini arttırarak, OH<sup>•</sup> ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in neden olduğı DNA hasarını önleyerek antioksidan aktivite göstermektedir. Protein oksidasyonunu engeller. Serum antioksidan kapasitesini

artırır. Düşük dansiteli lipoproteinlere bağlanarak lipoprotein peroksidasyonunu inhibe eder.

Hepatoprotektif etkisi ile de OFB'in karaciğerde oluşturduğu hasarı önler. Aynı zamanda kardiyoprotektif etkisi ile kalp dokusunu korur. En önemli etki yeri karaciğer ve kalptir.

## SONUÇ ve ÖNERİLER

Deneysel olarak oluşturulan akut fenthion toksisitesine karşı farklı dozlarda uygulanan RES tedavisi, PAM ve PAM+RES tedavisi kontrol grubuna kıyasla lipid peroksidasyon belirteci olan MDA düzeyini uygulanan bütün dozlarda (RES10; RES20; RES40) düşürmüştür. En fazla düşüş RES40 grubunda görülmüştür. PAM, tek başına veya RES ile birlikte verildiğinde lipid peroksidasyonunu azaltmıştır. Bu çalışmada RES akut fenthion zehirlenmesinde antioksidan olarak literatürde ilk defa kullanılmıştır.

Fenthionun neden olduğu oksidatif strese bağlı olarak GSH düzeylerinin RES20 hariç bütün gruplarda anlamlı şekilde arttığı, RES veya PAM'ın kontrole göre anlamlı bir etki oluşturmadığı görülmüştür. Bu sonuçlar fenthionun endojen antioksidan olan GSH'un sentezinde bir artışa yol açtığını ancak RES veya PAM'ın GSH düzeyleri üzerinde anlamlı etkilerinin olmadığını göstermektedir.

Fenthion toksisitesi askorbik asit seviyelerinde anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır. Fenthion toksisitesi nedeniyle kontrol grubunun retinol düzeyi gözlem grubuna göre kıyaslandığında anlamlı şekilde azalmıştır. Ancak kontrol grubuna kıyasla retinol düzeyi RES40 ve PAM40 gruplarında anlamlı şekilde artmıştır. Retinol düzeyi kontrol grubuna kıyasla en fazla RES40 grubunda artmıştır. Fenthion toksisitesi nedeniyle kontrol grubunun  $\beta$ -karoten düzeyi gözlem grubuna kıyasla aynı şekilde anlamlı şekilde azalmıştır. Bütün tedavi gruplarındaki  $\beta$ -karoten düzeyleri, kontrole göre kıyaslandığında anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Buradan yola çıkarak karotenoidlerin biyolojik sistemde güçlü antioksidan aktivite gösterdiği ve OF zehirlenmelerinde RES'un kandaki A vitamininin düzeyini arttırarak hücre içi antioksidan savunma sistemlerini güçlendirdiği gösterilmiştir.

Endojen antioksidan enzimatik savunma sistemlerinden KAT, GSH-Px ve SOD düzeyleri fenthion ile zehirlenme sonucu gözlem grubuna kıyasla anlamlı artış göstermiştir. Gözlem grubuna kıyasla RES ve PAM gruplarında da enzim miktarı artmıştır.

RES fenthion toksisitesine bağlı olarak artan enzimatik ve non-enzimatik hücre içi antioksidan savunma sistemlerine olumlu yönde destek olmuştur.

Fenthionun en çok karaciğer, beyin ve kalp dokularında lipid peroksidasyonuna bağlı oksidatif hasar oluşturduğu, RES'un tüm dozlarda karaciğerde ve kalpte oluşan oksidatif hasarı azaltarak koruyucu etki oluşturduğu gösterilmiştir.

RES karaciğerde hem lipid peroksidasyonunu önlemiş, hem de doku düzeyinde koruyucu etki göstermiştir.

Bu çalışmada RES'un karaciğer üzerinde koruyucu etkisi immünohistokimyasal yöntemlerle de gösterilmiştir.

Aynı zamanda histopatolojik çalışmalarda fenthion karaciğer hücrelerinde apoptozis yolaklarını aktive etmiş, RES fenthionun aktive ettiği apoptozisi artan dozlarda durdurmuştur.

OFB'e kronik maruziyetin özellikle oksidatif stresi arttırarak hücrel mitokondriyel bozulmalar, DNA hasarları sonucunda çeşitli doku ve organlarda hasarlara neden olarak kronik hastalıkların patofizyolojisinde rol oynadığı göz



önünde bulundurulacak olursa RES'ün koruyucu olarak kullanımının bu etkileri azaltabileceği söylenebilir.

Pestisitler yanlış kullanımı sonucu gıda maddelerinde fazla miktarda kalıntı bırakabilmektedir. Bu veya benzeri şekilde gelişen kronik maruziyete karşı resveratrolün kullanımı bu pestisitlerin sebep olacağı zararlı etkilere karşı koruyucu olabilir. Bu çalışma OFB'in toksik etkileri ile ilgili ileride yapılacak kronik zehirlenme çalışmalarına ışık tutacaktır.

## KAYNAKLAR

Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S., Rezaiee, A., Pesticides and oxidative stress: a review, *Med. Sci. Rew.*, 10 (6), RA141-RA147 (2004).

Abdollahi, M., Karami-Mohajeri, S., A comprehensive review on experimental and clinical findings in intermediate syndrome caused by organophosphate poisoning, *Toxicol. Appl. Pharm.*, 258 (3), 309-314 (2012).

Abou-Donia, M. B., Lapadula, D. M., Mechanisms of organophosphorus ester-induced delayed neurotoxicity: type I and type II, *Annu. Rev. Pharmacol.*, 30 (1), 405-440 (1990).

Agarwal, B., Baur, J. A., Resveratrol and life extension. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1215 (1), 138-143 (2011).

Ahmad, A., Syed, F. A., Singh, S., Hadi, S. M., Prooxidant activity of resveratrol in the presence of copper ions: mutagenicity in plasmid DNA, *Toxicol. Lett.*, 159 (1), 1-12 (2005).

Ahmad, R., Salem, N. M., Estaitieh, H., Occurrence of organochlorine pesticide residues in eggs, chicken and meat in Jordan, *Chemosphere*, 78, 667-671 (2010).

Ahmed, R., Seth, V., Pasha, S. T., Banerjee, B. D., Influence of dietary ginger (*Zingiber officinales* Rosc) on oxidative stress induced by malathion in rats, *Food Chem. Toxicol.*, 38 (5), 443-450 (2000).

Ahmed, R. F., Abdel-Rahman, R. F., Farid, O. A., El-Marasy, S. A., Hessin, A. F., Combined hepatoprotective and antidepressant effects of resveratrol in an acute model of depression, *Bull. Pharm. Sci.*, 52 (2), 191-197 (2014).

Akhgari, M., Abdollahi, M., Kebryaezadeh, A., Hosseini, R., Sabzevari, O., Biochemical evidence for free radical-induced lipid peroxidation as a mechanism for subchronic toxicity of malathion in blood and liver of rats, *Hum. Exp. Toxicol.*, 22 (4), 205-211 (2003).

Aksit, H., Akşit, D., Bildik, A., Kara, H., Yavuz, Ö., Seyrek, K., Effects of N-acetyl cysteine on glutathione metabolism and lipid peroxidation in the experimental hepatic intoxication, *Ankara Üniv. Vet. Fak.*, 62 (1), 1-5 (2015).

Al-Othman, A. M., Al-Numair, K. S., El-Desoky, G. E., Yusuf, K., Al Othman, Z. A., Aboul-Soud, M. A., Giesy, J. P., Protection of  $\alpha$ -tocopherol and selenium against acute effects of malathion on liver and kidney of rats, *Afr. J. Pharm. Pharm.*, 5, 1263-1271 (2011).

Altunkaynak, B. Z., Özbek, E., Programlanmış hücre ölümü; apoptoz nedir, *Tıp Araş. Derg.*, 6 (2), 93-104 (2008).

Altuntas, I., Delibas, N., Effects of organophosphate insecticide fenthion on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat erythrocytes: role of vitamins E and C, *Biomed. Res.*, 13 (1), 43-47 (2002).

Altuntas, I., Delibas, N., Demirci, M., Kilinc, I., Tamer, N., The effects of methidathion on lipid peroxidation and some liver enzymes: role of vitamins E and C, *Arch. Toxicol.*, 76 (8), 470-473 (2002).

- Altuntas, I., Kilinc, I., Orhan, H., Demirel, R., Koylu, H., Delibas, N., The effects of diazinon on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in erythrocytes in vitro, *Hum. Exp. Toxicol.*, 23(1), 9-13 (2004).
- Ames, B. N., Shigenaga, M. K., Hagen, T. M., Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 90 (17), 7915-7922 (1993).
- Andersen, H. R., Nielsen, J. B., Nielsen, F., Grandjean, P., Antioxidative enzyme activities in human erythrocytes, *Clin. Chem.*, 43 (4), 562-568 (1997).
- Anderson, M. E., Meister, A., Dynamic state of glutathione in blood plasma, *J. Biol. Chem.*, 255 (20), 9530-9533 (1980).
- Arthur, J. R., The glutathione peroxidases, *Cell. Mol. Life Sci.*, 57 (13-14), 1825-1835 (2001).
- Ates, O., Cayli, S. R., Yucel, N., Altinoz, E., Kocak, A., Durak, M. A., Yologlu, S., Central nervous system protection by resveratrol in streptozotocin-induced diabetic rats, *J. Clin. Neurosci.*, 14 (3), 256-260 (2007).
- Atmaca, N., Atmaca, H. T., Kanici, A., Antepioglu, T., Protective effect of resveratrol on sodium fluoride-induced oxidative stress, hepatotoxicity and neurotoxicity in rats, *Food Chem. Toxicol.*, 70, 191-197 (2014).
- Badrane, N., Askour, M., Berechid, K., Abidi, K., Dendane, T., Zeggwagh, A. A., Severe oral and intravenous insecticide mixture poisoning with diabetic ketoacidosis: a case report, *BMC Res. Notes*, 7(1), 485 (2014).
- Bagchi, D., Bagchi, M., Hassoun, E. A., Stohs, S. J., In vitro and in vivo generation of reactive oxygen species, DNA damage and lactate dehydrogenase leakage by selected pesticides, *Toxicol.*, 104 (1), 129-140 (1995).
- Bai, Y., Zhou, L., Wang, J., Organophosphorus pesticide residues in market foods in Shaanxi area, China, *Food Chem.*, 98, 240-242 (2006).
- Baile, C. A., Yang, J. Y., Rayalam, S., Hartzell, D. L., Lai, C. Y., Andersen, C., Della-Fera, M. A., Effect of resveratrol on fat mobilization, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1215 (1), 40-47 (2011).
- Bajgar, J., Organophosphates Nerve Agent Poisoning: Mechanism of Action, Diagnosis, Prophylaxis, And Treatment, *Adv. Clin. Chem.*, 38, 151-216 (2004).
- Bakirci, G. T., Hisil, Y., Fast and simple extraction of pesticide residues in selected fruits and vegetables using tetrafluoroethane and toluene followed by ultrahigh-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry, *Food Chem.*, 135, 1901-1913 (2011).
- Bakirci, G. T., Acay, D. B. Y., Bakirci, F., Ötleş, S., Pesticide residues in fruits and vegetables from the Aegean region, Turkey, *Food Chem.*, 160, 379-392 (2014).
- Balali-Mood, M., Balali-Mood, K., Neurotoxic disorders of organophosphorus compounds and their managements, *Arch. Iran. Med.*, 11 (1), 65-89 (2008).
- Balali-Mood, M., Shariat, M., Treatment of organophosphate poisoning. Experience of nerve agents and acute pesticide poisoning on the effects of oximes, *J. Physiology-Paris*, 92 (5), 375-378 (1998).

- Banerjee, B.D., Seth, V., Bhattacharya, A., Pasha, S.T., Chakraborty, A.K., Biochemical Effects of Some Pesticides on Lipid Peroxidation and Free Radical Scavengers, *Toxicol. Lett.*, 107, 33-47 (1999).
- Bánhegyi, G., Braun, L., Csala, M., Puskás, F., Mandl, J., Ascorbate metabolism and its regulation in animals, *Free Radical Bio. Med.*, 23 (5), 793-803 (1997).
- Barr, D. B., Needham, L. L., Analytical methods for biological monitoring of exposure to pesticides: a review, *J. Chromatogr. B*, 778 (1), 5-29 (2002).
- Battin, E. E., Brumaghim, J. L., Antioxidant activity of sulfur and selenium: a review of reactive oxygen species scavenging, glutathione peroxidase, and metal-binding antioxidant mechanisms, *Cell Biochem. Biophys.*, 55 (1), 1-23 (2009).
- Baur, J. A., Sinclair, D. A., Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence, *Nat. Rev. Drug Discov.*, 5 (6), 493-506 (2006).
- Bayr, H. (2005), Reactive oxygen species, *Crit.Care Med.*, 33 (12), S498-S501.
- Bayrami, M., Hashemi, T., Malekirad, A. A., Ashayeri, H., Faraji, F., Abdollahi, M., Electroencephalogram, cognitive state, psychological disorders, clinical symptom, and oxidative stress in horticulture farmers exposed to organophosphate pesticides, *Toxicol. Ind. Health*, 28 (1), 90-96 (2012).
- Beyer, R. E., The role of ascorbate in antioxidant protection of biomembranes: interaction with vitamin E and coenzyme Q, *J. Bioenerg. Biomembr.*, 26 (4), 349-358 (1994).
- Binukumar, B. K., Bal, A., Sunkaria, A., Gill, K. D., Mitochondrial energy metabolism impairment and liver dysfunction following chronic exposure to dichlorvos, *Toxicology*, 270 (2), 77-84 (2010).
- Bishayee, A., Darvesh, A. S., Politis, T., McGory, R., Resveratrol and liver disease: from bench to bedside and community, *Liver Int.*, 30 (8), 1103-1114 (2010a).
- Bishayee, A., Politis, T., Darvesh, A. S., Resveratrol in the chemoprevention and treatment of hepatocellular carcinoma, *Cancer Treat. Rev.*, 36 (1), 43-53 (2010b).
- Black, R. M., History and perspectives of bioanalytical methods for chemical warfare agent detection, *J. Chromatogr. B*, 878 (17), 1207-1215 (2010).
- Blasco, C., Font, G., Picó, Y. Evaluation of 10 pesticide residues in oranges and tangerines from Valencia (Spain), *Food Control*, 17 (11), 841-846 (2006).
- Blokhina, O., Virolainen, E., Fagerstedt, K. V., Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review, *Ann. Bot-London*, 91 (2), 179-194 (2003).
- Bomser, J. A., Quistad, G. B., Casida, J. E., Chlorpyrifos oxon potentiates diacylglycerol-induced extracellular signal-regulated kinase (ERK 44/42) activation, possibly by diacylglycerol lipase inhibition, *Toxicol. Appl. Pharm.*, 178 (1), 29-36 (2002).
- Boobis, A. R., Ossendorp, B. C., Banasiak, U., Hamey, P. Y., Sebestyen, I., Moretto, A., Cumulative risk assessment of pesticide residues in food, *Toxicol. Lett.*, 180 (2), 137-150 (2008).

- Bradamante, S., Barenghi, L., Villa, A., Cardiovascular protective effects of resveratrol, *Cardiovasc. Drug Rev.*, 22 (3), 169-188 (2004).
- Bradley-Whitman, M. A., Lovell, M. A., Biomarkers of lipid peroxidation in Alzheimer disease (AD): an update, *Arch. Toxicol.*, 1-10 (2015).
- Branco V., Canario, J., Lu, J., Holmgren, A., Carvalho, C., Mercury and selenium interaction in vivo: Effects on thioredoxin reductase and glutathione peroxidase, *Free Radical Bio. Med.*, 52 (4), 781-793 (2012).
- Bravo, L., Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance, *Nutr. Rev.*, 56 (11), 317-333 (1998).
- Brigelius-Flohe, R., Traber, M. G., Vitamin E: function and metabolism, *FASEB J.*, 13 (10), 1145-1155 (1999).
- Brookes, P. S., Mitochondrial H<sup>+</sup> leak and ROS generation: an odd couple, *Free Radical Bio. Med.*, 38 (1), 12-23 (2005).
- Buckley, N. A., Eddleston, M., Li, Y., Bevan, M., Robertson, J., Oximes for acute organophosphate pesticide poisoning, *Coch. Lib.* 1, 25-32 (2011).
- Bulut, S., Akkaya, L., Gok, V., Konuk, M. Organochlorine pesticide residues in butter and kaymak in Afyonkarahisar, Turkey, *J. Anim. Vet. Adv.*, 9 (22), 2797–2801 (2010).
- Burkon, A., Somoza, V., Quantification of free and protein-bound trans-resveratrol metabolites and identification of trans-resveratrol-C/O-conjugated diglucuronides—Two novel resveratrol metabolites in human plasma, *Mol. Nutr. Food Res.*, 52(5), 549-557 (2008).
- Burton, G. W., Traber, M. G., Vitamin E: antioxidant activity, biokinetics, and bioavailability, *Annu. Rev. Nutr.*, 10(1), 357-382 (1990).
- Büyükokuroğlu, M. E., Cemek M., Yürümez Y., Yavuz, Y., Aslan, A., Antioxidative role of melatonin in organophosphate toxicity in rats, *Cell Biol Toxicol.*, 24 (2), 151-158 (2008a).
- Büyükokuroğlu, M. E., Cemek, M., Tosun, M., Yürümez, Y., Baş, O., Yavuz, Y., Dantrolene may prevent organophosphate-induced oxidative stress and muscle injury, *Pestic. Biochem. Phys.*, 92 (3), 156-163 (2008b).
- Carlberg, I., Mannervik, B., Purification and characterization of the flavoenzyme glutathione reductase from rat liver, *J. Biol. Chem.*, 250 (14), 5475-5480 (1975).
- Carlson, K.R., The molecular mechanisms of organophosphorus compound-induced cytotoxicity, Thesis of Doctor of Philosophy, Faculty of the Virginia Polytechnic Institute, Blacksburg, Virginia (2000).
- Carpentier, P., Delamanche, I. S., Le Bert, M., Blanchet, G., Bouchaud, C., Seizure-related opening of the blood-brain barrier induced by soman: possible correlation with the acute neuropathology observed in poisoned rats, *Neurotoxicology*, 11 (3), 493-508 (1989).
- Carr, A. C., Zhu, B. Z., Frei, B., Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (vitamin C) and  $\alpha$ -tocopherol (vitamin E), *Circ. Res.*, 87 (5), 349-354 (2000).

- Casida, J.E., *Pest Toxicology: The Primary Mechanisms of Pesticide Action in Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology*, 103-117 (2010).
- Catalgol, B., Batirel, S., Taga, Y., Ozer, N. K., Resveratrol: French paradox revisited, *Front. Pharm.*, 3, 1-18 (2012).
- Cemek, M., Büyükben, A., Büyükkuroğlu, M. E., Aymelek, F., Tür, L., Protective roles of vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol), selenium and vitamin E plus selenium in organophosphate toxicity in vivo: A comparative study. *Pestic. Biochem. Phys.*, 96 (3), 113-118 (2010).
- Chambers H. W., Meek, E. C., Chambers, J. E., *Chemistry of Organophosphorus Insecticides in Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology*, 1395-1407 (2010).
- Chan, J. Y., Chan, S. H., Dai, K. Y., Cheng, H. L., Chou, J. L., Chang, A. Y., Cholinergic receptor-independent dysfunction of mitochondrial respiratory chain enzymes, reduced mitochondrial transmembrane potential and ATP depletion underlie necrotic cell death induced by the organophosphate poison mevinphos. *Neuropharmacology*, 51 (7), 1109-1119 (2006).
- Chanvitayapongs, S., Draczynska-Lusiak, B., Sun, A. Y., Amelioration of oxidative stress by antioxidants and resveratrol in PC12 cells. *Neuroreport*, 8 (6), 1499-1502 (1997).
- Chelikani, P., Fita, I., Loewen, P. C., Diversity of structures and properties among catalases. *Cell. Mol. Life Sci.*, 61 (2), 192-208 (2004).
- Chen, C., Qian, Y., Chen, Q., Tao, C., Li, C., Li, Y., Evaluation of pesticide residues in fruits and vegetables from Xiamen, China, *Food Control*, 22 (7), 1114-1120 (2011).
- Chen, Y., Organophosphate-induced brain damage: mechanisms, neuropsychiatric and neurological consequences, and potential therapeutic strategies, *Neurotoxicology*, 33 (3), 391-400 (2012).
- Cherubini, A., Ruggiero, C., Polidori, M. C., Mecocci, P., Potential markers of oxidative stress in stroke, *Free Radical Bio. Med.*, 39 (7), 841-852 (2005).
- Chowdhary, S., Bhattacharyya, R., Banerjee, D., Acute organophosphorus poisoning, *Clin. Chim. Acta*, 431, 66-76 (2014).
- Chugh, S. N., Aggarwal, N., Dabla, S., Chhabra, B., Comparative evaluation of atropine alone and atropine with pralidoxime (PAM) in the management of organophosphorus poisoning, *J. Indian Acad. Clin. Med.*, 6, 33-7 (2005).
- Cnubben, N. H., Rietjens, I. M., Wortelboer, H., van Zanden, J., van Bladeren, P. J., The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense, *Environ. Toxicol. Phar.*, 10 (4), 141-152 (2001).
- Connors, N. J., Harnett, Z. H., Hoffman, R. S., Comparison of Current Recommended Regimens of Atropinization in Organophosphate Poisoning, *J. Med. Toxicol.*, 10 (2), 143-147 (2014).
- Costa, L. G., Current issues in organophosphate toxicology, *Clin. Chim. Acta*, 366 (1), 1-13 (2006).

Cönger, E., Aksu, P., Yiğit, N., Dokumacı, S., Baloğlu, Z., Burçak, A., Bazı pestisitlerin sebzelerdeki kalıntı davranışlarının belirlenmesi üzerine çalışmalar, *Bitki Koruma Bülteni*, 52 (3), 273-288 (2012).

Cross, A. R., Jones, O. T. G., Enzymic mechanisms of superoxide production, *BBA-Bioenergetics*, 1057 (3), 281-298 (1991).

Cummings, J. L., Cholinesterase inhibitors: a new class of psychotropic compounds. *Am J Psyc.* (2014).

Dandapani, M., Zachariah, A., Kavitha, M. R., Jeyaseelan, L., Oommen, A., Oxidative damage in intermediate syndrome of acute organophosphorous poisoning, *Indian J. Med. Res.*, 117, 253-259 (2003).

Darley-Usmar, V., Halliwell, B., Blood radicals: reactive nitrogen species, reactive oxygen species, transition metal ions, and the vascular system, *Pharm. Res.*, 13 (5), 649-662 (1996).

Darvesh, A. S., Carroll, R. T., Bishayee, A., Geldenhuys, W. J., Van der Schyf, C. J., Oxidative stress and Alzheimer's disease: dietary polyphenols as potential therapeutic agents, *Exp. Rev. Neurotherap.*, 10 (5), 729-745 (2010).

Das, D. K., Maulik, N., Resveratrol in cardioprotection: a therapeutic promise of alternative medicine, *Mol. Interv.*, 6 (1), 36 (2006).

De Bleecker, J. L., Intermediate syndrome: prolonged cholinesterase inhibition, *J. Toxicol. Clin. Tox.*, 31 (1), 197-199 (1993).

De Bleecker, J., van Den Neucker, K., Colardyn, F., Intermediate syndrome in organophosphorus poisoning: A prospective study, *Crit. Care Med.*, 21 (11), 1706-1711 (1993).

De la Lastra, C.A., Villegas, I. Resveratrol as an antioxidant and pro-oxidant agent: mechanisms and clinical implications. *Biochem. Soc. T.*, 35 (Pt5), 1156-1160 (2007).

Delmas, D., Jannin, B., , Latruffe, N. Resveratrol: preventing properties against vascular alterations and ageing, *Mol. Nutr. Food Res.*, 49 (5), 377-395 (2005).

Delmas, D., Aires, V., Limagne, E., Dutartre, P., Mazué, F., Ghiringhelli, F., Latruffe, N. Transport, stability, and biological activity of resveratrol. *Ann. NY. Acad. Sci.*, 1215 (1), 48-59 (2011).

Dernek, S., Ikizler, M., Erkasap, N., Ergun, B., Koken, T., Yilmaz, K., Kural, T., Cardioprotection with resveratrol pretreatment: improved beneficial effects over standard treatment in rat hearts after global ischemia, *Scand. Cardiovasc. J.*, 38 (4), 245-254 (2004).

Diaz-Gerevini, G. T., Repposi, G., Dain, A., Tarres, M. C., Das, U. N., Eynard, A. R., Beneficial action of resveratrol: How and why?, *Nutrition* (2015).

Dikalov, S., Cross talk between mitochondria and NADPH oxidases, *Free Radical Bio. Med.*, 51 (7), 1289-1301 (2011).

Do Amaral, C. L., Francescato, H. D. C., Coimbra, T. M., Costa, R. S., Darin, J. D. A. C., Antunes, L. M. G., Bianchi, M. D. L. P., Resveratrol attenuates cisplatin-induced nephrotoxicity in rats, *Arch. Toxicol.*, 82 (6), 363-370 (2008).

- Dröge, W., Free radicals in the physiological control of cell function, *Physiol. Rev.*, 82 (1), 47-95 (2002).
- Eddleston, M., Bateman, D.N., *Pesticides, Medicine*, 40 (3), 147-150 (2012).
- Eddleston, M., Buckley, N. A., Eyer, P., Dawson, A. H., Management of acute organophosphorus pesticide poisoning, *Lancet*, 371 (9612), 597-607 (2008).
- Eddleston, M., Dawson, A., Karalliedde, L., Dissanayake, W., Hittarage, A., Azher, S., Buckley, N. A., Early management after self-poisoning with an organophosphorus or carbamate pesticide—a treatment protocol for junior doctors, *Crit. Care*, 8 (6), R391 (2004).
- Eddleston, M., Karalliedde, L., Buckley, N., Fernando, R., Hutchinson, G., Isbister, G., Smit, L. Pesticide poisoning in the developing world—a minimum pesticides list, *Lancet*, 360 (9340), 1163-1167 (2002).
- Eddleston, M., Mohamed, F., Davies, J. O., Eyer, P., Worek, F., Sheriff, M. R., Buckley, N. A., Respiratory failure in acute organophosphorus pesticide self-poisoning, *Qjm*, 99(8), 513-522 (2006).
- Edge, R., McGarvey, D. J., Truscott, T. G., The carotenoids as anti-oxidants a review, *J. Photoch. Photobio. B.*, 41 (3), 189-200 (1997).
- Ehrich, M., Jortner, B.S., *Organophosphorus-Induced Delayed Neuropathy in Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology*, 1479-1504, Academic Press, New York (2010).
- El-Demerdash, F. M., Nasr, H. M., Antioxidant effect of selenium on lipid peroxidation, hyperlipidemia and biochemical parameters in rats exposed to diazinon, *J. Trace Elem. Med. Bio.*, 28 (1), 89-93 (2014).
- Elsaid, F. G., Shati, A. A., Sarhan, M. A., Role of *Matricaria recutita* L. and *Asparagus officinalis* L. against the neurotoxicity of diazinon in rats, *The J. Basic Appl. Zool.*, 72, 26-35 (2015).
- El-Sokkary, G. H., Nafady, A. A., Shabash, E. H., Melatonin administration ameliorates cadmium-induced oxidative stress and morphological changes in the liver of rat, *Ecotox. Environ. Safe.*, 73 (3), 456-463 (2010).
- Ergin, K., Yaylalı, A., Resveratrol ve etkileri üzerine bir gözden geçirme, *Med. J. SDU.*, 20 (3), 8-14 (2013).
- Esterbauer, H., Schaur, R. J., Zollner, H., Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes, *Free Radical Bio. Med.*, 11 (1), 81-128 (1991).
- Eybl, V., Kotyzova, D., Koutensky, J., Comparative study of natural antioxidants—curcumin, resveratrol and melatonin—in cadmium-induced oxidative damage in mice, *Toxicology*, 225 (2), 150-156 (2006).
- Eyer P., Neuropsychopathological changes by organophosphorus compounds: a review, *Hum. Exp. Toxic.*, 14, 857–64 (1995).
- Eyer P., The role of oximes in the management of organophosphorus pesticide poisoning, *Toxicol Rev.*, 22, 165–90 (2003).



- Fang, Y. Z., Yang, S., Wu, G., Free radicals, antioxidants, and nutrition, *Nutrition*, 18 (10), 872-879 (2002).
- Flehi-Slim, I., Chargui, I., Boughattas, S., El Mabrouk, A., Belaïd-Nouira, Y., Neffati, F., Cheikh, H. B., Malathion-induced hepatotoxicity in male Wistar rats: biochemical and histopathological studies, *Environ. Sci. Pollut. R.*, 22 (22), 17828-17838 (2015).
- Font, G., Juan-García, A., Fernández, M., Ruiz, M. J., In vitro effect of organophosphate pesticides, Malathion and chlorpyrifos, on lipid peroxidation and antioxidant enzymes, *Toxicol. Lett.*, (180), S103-S104 (2008).
- Francis, J. I., Barnes, J. M., Studies on the mammalian toxicity of fenthion, B. World Health Organ., 29 (2), 205 (1963).
- Franco, R., Sánchez-Olea, R., Reyes-Reyes, E. M., Panayiotidis, M. I., Environmental toxicity, oxidative stress and apoptosis: menage a trois, *Mutat. Res.-Gen. Tox. En.*, 674 (1), 3-22 (2009).
- Frei, B., Stocker, R., Ames, B. N., Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human blood plasma, *Proc. Nat. Ac. Sci.*, 85 (24), 9748-9752 (1988).
- Frémont, L., Biological effects of resveratrol, *Life Sci.*, 66 (8), 663-673 (2000).
- Fridovich, I., Superoxide anion radical ( $O_2^-$ ), superoxide dismutases, and related matters, *J. Biol. Chem.*, 272 (30), 18515-18517 (1997).
- Gaido, K. W., Leonard, L. S., Lovell, S., Gould, J. C., Babai, D., Portier, C. J., McDonnell, D. P., Evaluation of chemicals with endocrine modulating activity in a yeast-based steroid hormone receptor gene transcription assay, *Toxicol. Appl. Pharm.*, 143 (1), 205-212 (1997).
- Galloway, T., Handy, R., Immunotoxicity of organophosphorous pesticides. *Ecotoxicology*, 12 (1-4), 345-363 (2003).
- Garcia, S., Abu-Qare, A., Meeker-O'Connell, W., Borton, A., Abou-Donia, M., Methyl parathion: a review of health effects, *J. Toxicol. Env. Heal. B.*, 6 (2), 185-210 (2003).
- García-López, J. A., Monteoliva, M. Physiological changes in human erythrocyte cholinesterase as measured with the " pH-stat", *Clin. Chem.*, 34 (10), 2133-2135 (1988).
- Giacobini, E., Cholinesterase inhibitors: new roles and therapeutic alternatives, *Pharmacol. Res.*, 50 (4), 433-440 (2004).
- Glen King, C., The discovery and chemistry of vitamin C., *Proc. Nutr. Soc.*, 12 (03), 219-227 (1953).
- Gresele, P., Cerletti, C., Guglielmini, G., Pignatelli, P., de Gaetano, G., Violi, F. Effects of resveratrol and other wine polyphenols on vascular function: an update, *J. Nutr. Biochem.*, 22 (3), 201-211 (2011).
- Griffith, O. W., Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis, *Free Radical Bio. Med.*, 27 (9), 922-935 (1999).

- Gultekin, F., Ozturk, M., Akdogan, M., The effect of organophosphate insecticide chlorpyrifos-ethyl on lipid peroxidation and antioxidant enzymes (in vitro), *Arch. Toxicol.*, 74 (9), 533-538 (2000).
- Gutteridge, J. M., Halliwell, B., The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems, *Trends biochem. Sci.*, 15 (4), 129-135 (1990).
- Gutteridge, J. M., Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection. *Chem. Biol. Interact.*, 91, 133-140 (1994).
- Gutteridge, J. M., Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin. Chem.*, 41 (12), 1819-1828 (1995).
- Gutteridge, J. M., Halliwell, B, Antioxidants: Molecules, medicines, and myths. *Biochem. Bioph. Res. Co.*, 393 (4), 561-564 (2010).
- Gülçen, B., Karaca, Ö., Kuş, M. A., Akpolat, N. İ., Kuş., Deneysel kadmiyum toksisitesinde melatonin hormonunun karaciğer üzerindeki koruyucu etkisi: immunohistokimyasal bir çalışma. *Düzce Ün. SBE Derg.*, 1 (2), 13-17 (2011).
- Gülçin, İ., Antioxidant properties of resveratrol: a structure–activity insight, *Innov. Food Sci. Emerg.*, 11 (1), 210-218 (2010).
- Güven, M., Bayram, F., Ünlühizarci, K., Kelestimur, F., Endocrine changes in patients with acute organophosphate poisoning, *Hum. Exp. Tox.*, 18 (10), 598-601 (1999).
- Halliwell, B., Antioxidants in human health and disease, *Annu. Rev. Nutr.*, 16 (1), 33-50 (1996).
- Halliwell, B, Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning), *Free Rad. Res.*, 31 (4), 261-272 (1999).
- Halliwell, B., Free radicals and other reactive species in disease, *Enc.Life Sci.*, 1-7 (2005).
- Halliwell, B., Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life, *Plant Physiol.*, 141 (2), 312-322 (2006a).
- Halliwell, B., Phagocyte-derived reactive species: salvation or suicide?, *Trends Biochem. Sci.*, 31 (9), 509-515 (2006b).
- Halliwell, B., The wanderings of a free radical, *Free Radical Bio. Med.*, 46 (5), 531-542 (2009).
- Halliwell, B., Aeschbach, R., Löliger, J., Aruoma, O. I., The characterization of antioxidants, *Food Chem. Toxicol.*, 33 (7), 601-617 (1995).
- Halliwell, B., Chirico, S., Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance, *Am. J. Clin. Nutr.*, 57 (5), 715S-724S (1993).
- Halliwell, B., Antioxidant characterization: methodology and mechanism, *Biochem. Pharm.*, 49 (10), 1341-1348 (1995).
- Halliwell, B., Free radicals and antioxidants—quo vadis, *Trends Pharmacol. Sci.*, 32 (3), 125-130 (2011).

- Halliwell, B., Zhao, K., Whiteman, M., Nitric oxide and peroxy nitrite. The ugly, the uglier and the not so good: a personal view of recent controversies, *Free Rad. Res.*, 31 (6), 651-669 (1999).
- Harputluoğlu, M. M., Demirel, U., Alan, H., Ateş, F., Aladağ, M., Pancreatic pseudocyst development due to organophosphate poisoning. *Turk J Gastroenterol*, 18 (2), 122-125 (2007).
- Hazarika, A.N. Sankar, S. Hajare, M. Kataria, J.K. Malik, Influence of malation pretreatment on toxicity of anilofos in male rats: a biochemical interaction study, *Toxicology*, 185, 1-8 (2003).
- He, F., Xu, H., Qin, F., Xu, L., Huang, J., He, X., Intermediate myasthenia syndrome following acute organophosphates poisoning-an analysis of 21 cases, *Hum. Exp. Toxic.*, 17 (1), 40-45 (1998).
- Headlam, H. A., Davies, M. J., Cell-mediated reduction of protein and peptide hydroperoxides to reactive free radicals. *Free Radical Bio. Med.*, 34 (1), 44-55 (2003).
- Heikal, T. M., Ghanem, H. Z., Soliman, M. S. Protective effect of green tea extracts against dimethoate induced DNA damage and oxidant/antioxidant status in male rats, *Biohealth. Sci. Bulletin.*, 3(1), 1-11 (2011).
- Hemnani, T., Parihar, M. S., Reactive oxygen species and oxidative DNA damage, *Indian J. Physi Pharm.*, 42, 440-452 (1998).
- Hinder R.A, Stein H.J., Oxygen-derived free radicals, *Arch Surg.*, 126, 104-105 (1991).
- Hjorth, K., Johansen, K., Holen, B., Andersson, A., Christensen, H. B., Siivinen, K., Toome, M. Pesticide residues in fruits and vegetables from South America–A Nordic project, *Food Control*, 22 (11), 1701-1706 (2011).
- Hodgson, E., Metabolism of pesticides in *Handbook of Pesticide Toxicology*, 893-921, Academic Press, New York, (2010).
- Holas, O., Musilek, K., Pohanka, M., Kuca, K., The progress in the cholinesterase quantification methods, *Expert Op. Drug Disc.*, 7 (12), 1207-1223 (2012).
- Hou, Y., Zeng, Y., Li, S., Qi, L., Xu, W., Wang, H., Sun, C., Effect of quercetin against dichlorvos induced nephrotoxicity in rats, *Exp. Toxicol. Pathol.*, 66 (4), 211-218 (2014).
- Hsieh, B. H., Deng, J. F., Ger, J., Tsai, W. J., Acetylcholinesterase inhibition and the extrapyramidal syndrome: a review of the neurotoxicity of organophosphate, *Neurotoxicology*, 22 (4), 423-427 (2001).
- http-1 gidada pestisit kalintısı, <http://bianet.org/bianet/tarim/165871-gidada-pestisit-kalintisi-ve-saglik> (08.07.2015).
- Hudson, D. A., Gannon, S. A., Thorpe, C., Oxidative protein folding: From thiol–disulfide exchange reactions to the redox poise of the endoplasmic reticulum, *Free Radical Bio. Med.*, 80, 171-182 (2015).
- Husain, K., Phenyl valerate and choline ester hydrolases in the platelets of human, hen, rat and mouse, *Hum. Exp. Toxic.*, 13 (3), 157-159 (1994).

- Iyer, R., Iken, B., Leon, A., Developments in alternative treatments for organophosphate poisoning, *Toxicol. Lett.*, 233 (2), 200-206 (2015).
- Jamshidi, H. R., Ghahremani, M. H., Ostad, S. N., Sharifzadeh, M., Dehpour, A. R., Abdollahi, M., Effects of diazinon on the activity and gene expression of mitochondrial glutamate dehydrogenase from rat pancreatic Langerhans islets, *Pestic. Biochem. Phys.*, 93 (1), 23-27 (2009).
- Jannin, B., Menzel, M., Berlot, J. P., Delmas, D., Lançon, A., Latruffe, N., Transport of resveratrol, a cancer chemopreventive agent, to cellular targets: plasmatic protein binding and cell uptake, *Biochem. Pharm.*, 68 (6), 1113-1118 (2004).
- John, S., Kale, M., Rathore, N., Bhatnagar, D., Protective effect of vitamin E in dimethoate and malathion induced oxidative stress in rat erythrocytes, *J. Nutr. Biochem.*, 12 (9), 500-504 (2001).
- John, M., Oommen, A., Zachariah, A., Muscle injury in organophosphorous poisoning and its role in the development of intermediate syndrome, *Neurotoxicology*, 24 (1), 43-53 (2003).
- Johnson, F., Giulivi, C., Superoxide dismutases and their impact upon human health, *Mol. Aspects Med.*, 26 (4), 340-352 (2005).
- Johnson, M. K., Jacobsen, D., Meredith, T. J., Eyer, P., Heath, A. J., Ligtenstein, D. A., Marrs, T.C., Szinicz, L. Vale, J.A., Haines, J. A., Evaluation of antidotes for poisoning by organophosphorus pesticides, *Emerg. Med. J.*, 12 (1), 22-37 (2000).
- Johnson, E. A., Dao, T. L., Guignet, M. A., Geddes, C. E., Koemeter-Cox, A. I., Kan, R. K., Increased expression of the chemokines CXCL1 and MIP-1a by resident brain cells precedes neutrophil infiltration in the brain following prolonged soman-induced status epilepticus in rats, *J. Neuroinflamm.*, 8, 41 (2011).
- Jokanović, M., Biotransformation of organophosphorus compounds. *Toxicology*, 166 (3), 139-160 (2001).
- Jokanović, M., Medical treatment of acute poisoning with organophosphorus and carbamate pesticides, *Toxicol. Lett.*, 190 (2), 107-115 (2009).
- Jokanović, M., Kosanović, M., Brkić, D., Vukomanović, P., Organophosphate induced delayed polyneuropathy in man: an overview, *Clin. Neurol. Neurosur.*, 113 (1), 7-10 (2011).
- Jones, D. P., Carlson, J. L., Mody Jr., V. C., Cai, J., Lynn, M. J., Sternberg Jr, P., Redox state of glutathione in human plasma, *Free Radical Bio. Med.*, 28 (4), 625-635 (2000).
- Kalender, S., Kalender, Y., Durak, D., Ogutcu, A., Uzunhisarcikli, M., Cevrimli, B. S., Yildirim, M., Methyl parathion induced nephrotoxicity in male rats and protective role of vitamins C and E, *Pestic. Biochem. Phys.*, 88 (2), 213-218 (2007).
- Kalender, S., Uzun, F. G., Durak, D., Demir, F., Kalender, Y., Malathion-induced hepatotoxicity in rats: the effects of vitamins C and E, *Food Chem. Toxicol.*, 48 (2), 633-638 (2010).

- Kalyanaraman, B., Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: oxidants, antioxidants and disease mechanisms, *Redox Biol.*, 1 (1), 244-257 (2013).
- Kamanyire, R., Karalliedde, L., Organophosphate toxicity and occupational exposure. *Occup. Med-C.*, 54 (2), 69-75 (2004).
- Kandalaf, K., Liu, S., Manivel, C., Borner, J. W., Dressel, T. D., Sutherland, D. E. R., Goodale, R. L., Organophosphate increases the sensitivity of human exocrine pancreas to acetylcholine, *Pancreas*, 6 (4), 398-403 (1991).
- Kanter, A., Celik, I., Acute effects of fenthion on certain oxidative stress biomarkers in various tissues of frogs (*Rana ridibunda*), *Toxicol. Ind. Health*, 28 (4), 369-376 (2012).
- Karakaya, M., Boyraz, N., Gıda Kirlenmesinde Pestisitler ve Korunma Yolları, *Ekol. Çevre Derg.*, 1 (4), 11-15 (1992).
- Karalliedde, L., Baker, D., Marrs, T. C., Organophosphate-Induced Intermediate Syndrome. *Toxicol. Rev.*, 25 (1), 1-14 (2006).
- Karami-Mohajeri, S., Abdollahi, M., Mitochondrial dysfunction and organophosphorus compounds, *Toxicol. Appl. Pharm.*, 270 (1), 39-44 (2013).
- Karami-Mohajeri, S., Abdollahi, M., Toxic effects of organophosphate, carbamate, and organochlorine pesticides on cellular metabolism of lipids, proteins, and carbohydrates: A comprehensive review, *Hum. Exp. Toxicol.*, 1 (23), 33-47 (2010).
- Karczmar, A. G., Acute and long lasting central actions of organophosphorus agents, *Fund. Appl. Toxicol.*, 4 (2), S1-S17 (1984).
- Karczmar, A., Invited Review Anticholinesterases: dramatic aspects of their use and misuse, *Neurochem. Int.*, 32 (5), 401-411 (1998).
- Kasdallah-Grissa, A., Mornagui, B., Aouani, E., Hammami, M., Gharbi, N., Kamoun, A., El-Fazaa, S., Protective effect of resveratrol on ethanol-induced lipid peroxidation in rats, *Alcohol Alcoholism*, 41 (3), 236-239 (2006).
- Kasiotis, K. M., Pratsinis, H., Kletsas, D., Haroutounian, S. A., Resveratrol and related stilbenes: Their anti-aging and anti-angiogenic properties, *Food Chem. Toxicol.*, 61, 112-120 (2013).
- Kassa, J., Review of oximes in the antidotal treatment of poisoning by organophosphorus nerve agents, *J. Toxicol. Clin. Tox.*, 40 (6), 803-816 (2002).
- Kaur, R., Parshad, V. R., Effects of dietary selenium on differentiation, morphology and functions of spermatozoa of the house rat, *Rattus rattus* L., *Mutat. Res.-Gen. Tox. En.*, 309 (1), 29-35 (1994).
- Kawada, N., Seki, S., Inoue, M., Kuroki, T., Effect of antioxidants, resveratrol, quercetin, and N-acetylcysteine, on the functions of cultured rat hepatic stellate cells and Kupffer cells, *Hepatology*, 27 (5), 1265-1274 (1998).
- Kayaalp, O. S., Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Hacettepe-TAŞ Kitapçılık Ltd. Şti, Ankara, 958-960 (2002).

- Kehrer, J. P., Free radicals as mediators of tissue injury and disease, *Crit. Rev. In Toxicol.*, 23 (1), 21-48 (1993).
- Keskin, N., Noyan, T., Kunter, B. Resveratrol ile Üzümden Gelen Sağlık. *Turk. J. Med. Sci.*, 29 (5), 1273-1279 (2009).
- King, R. E., Bomser, J. A., Min, D. B., Bioactivity of resveratrol, *Compr. Rev. Food Sci. F.*, 5 (3), 65-70 (2006).
- Kirkman, H. N., Gaetani, G. F., Mammalian catalase: a venerable enzyme with new mysteries, *Trends biochem. Sci.*, 32 (1), 44-50 (2007).
- Kitamura, S., Suzuki, T., Ohta, S., Fujimoto, N., Antiandrogenic activity and metabolism of the organophosphorus pesticide fenthion and related compounds, *Environ. Health Persp.*, 111 (4), 503 (2003).
- Kmellára, B., Abrankóá, L., Fodora, P., Lehotay, S. J. Routine approach to qualitatively screening 300 pesticides and quantification of those frequently detected in fruit and vegetables using liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). *Food Addit. Contam.*, 27 (10), 1415-1430 (2010).
- Knežević, Z., Serdar, M., Screening of fresh fruit and vegetables for pesticide residues on Croatian market, *Food Control*, 20 (4), 419-422 (2009).
- Kohen, R., Nyska, A., Invited review: Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification, *Toxicol. Pathol.*, 30 (6), 620-650 (2002).
- Kolluru, G. K., Shen, X., Kevil, C. G., A tale of two gases: NO and H<sub>2</sub>S, foes or friends for life?, *Redox Biol.*, 1 (1), 313-318 (2013).
- Kozaci, N., Akpınar, A. A., Satar, S., İçme, F., Causes of Death and Treatment of Organophosphorus Pesticide Poisoning, *Emerg. Med. J.*, 11 (3), 176-178 (2012).
- Kumar, A., Kaundal, R. K., Iyer, S., Sharma, S. S., Effects of resveratrol on nerve functions, oxidative stress and DNA fragmentation in experimental diabetic neuropathy, *Life Sci.*, 80 (13), 1236-1244 (2007).
- Kumar, V., Tripathi, V. K., Singh, A. K., Lohani, M., Kuddus, M., Transresveratrol restores the damages induced by organophosphate pesticide-monocrotophos in neuronal cells, *Toxicol. Int.*, 20 (1), 48-54 (2013).
- Kulkarni, S. S., Canto, C., The molecular targets of resveratrol, *BBA-Mol. Basis Dis.*, 1852 (6), 1114-1123 (2015).
- Lançon, A., Hanet, N., Jannin, B., Delmas, D., Heydel, J. M., Lizard, G., Latruffe, N., Resveratrol in human hepatoma HepG2 cells: metabolism and inducibility of detoxifying enzymes, *Drug Metab. Dispos.*, 35 (5), 699-703 (2007).
- Lasram, M. M., Dhoub, I. B., Annabi, A., El Fazaa, S., Gharbi, N., A review on the molecular mechanisms involved in insulin resistance induced by organophosphorus pesticides, *Toxicology*, 322, 1-13 (2014).
- Li, H., Xia, N., Förstermann, U., Cardiovascular effects and molecular targets of resveratrol, *Nitric Oxide*, 26 (2), 102-110 (2012).

- Li, Q., Kobayashi, M., , Kawada, T., Organophosphorus pesticides induce apoptosis in human NK cells, *Toxicology*, 239 (1), 89-95 (2007).
- Li, D., Huang, Q., Lu, M., Zhang, L., Yang, Z., Zong, M., Tao, L., The organophosphate insecticide chlorpyrifos confers its genotoxic effects by inducing DNA damage and cell apoptosis, *Chemosphere*, 135, 387-393 (2015).
- Lim, K. L., Tay, A., Nadarajah, V. D., Mitra, N. K., The effect of consequent exposure of stress and dermal application of low doses of chlorpyrifos on the expression of glial fibrillary acidic protein in the hippocampus of adult mice, *J. Occup. Med. Toxicol.*, 6 (1), 4 (2011).
- Liochev, S. I., Fridovich, I., Mutant Cu, Zn superoxide dismutases and familial amyotrophic lateral sclerosis: evaluation of oxidative hypotheses, *Free Radical Bio. Med.*, 34 (11), 1383-1389 (2003).
- Liochev, S. I., Fridovich, I., Mechanism of the peroxidase activity of Cu, Zn superoxide dismutase, *Free Radical Bio. Med.*, 48 (12), 1565-1569 (2010).
- Lodge, J. K., Vitamin E bioavailability in humans. *J. Plant Physiol.*, 162 (7), 790-796 (2005).
- Lorenz, P., Roychowdhury, S., Engelmann, M., Wolf, G., Horn, T. F., Oxyresveratrol and resveratrol are potent antioxidants and free radical scavengers: effect on nitrosative and oxidative stress derived from microglial cells, *Tanig. Symp. Brain Sci.*, 9 (2), 64-76 (2003).
- Lotti, M., Clinical Toxicology of Anticholinesterase Agents in Humans: In Krieger, R. Hayes' handbook of pesticide toxicology (Vol. 1). Academic press, 1543-1589 (2010).
- Lukaszewicz-Hussain, A., Subchronic intoxication with chlorfenvinphos, an organophosphate insecticide, affects rat brain antioxidative enzymes and glutathione level, *Food Chem. Toxicol.*, 46 (1), 82-86 (2008).
- Lukaszewicz-Hussain, A., Role of oxidative stress in organophosphate insecticide toxicity—Short review, *Pestic. Biochem. Phys.*, 98 (2), 145-150 (2010).
- Machlin, L. J., Bendich, A., Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients, *FASEB J.*, 1 (6), 441-445 (1987).
- Marchi, S., Giorgi, C., Suski, J. M., Agnoletto, C., Bononi, A., Bonora, M., Pinton, P., Mitochondria-ros crosstalk in the control of cell death and aging. *Journal of signal transduction*, 21 (1), 1-17 (2012).
- Marchioli, R., Schweiger, C., Levantesi, G., Tavazzi, L., Valagussa, F., Antioxidant vitamins and prevention of cardiovascular disease: epidemiological and clinical trial data, *Lipids*, 36 (1), S53-S63 (2000).
- Maritim, A. C., Sanders, R. A., Watkins, 3. J., Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J. Biochem. Mol. Tox.*, 17 (1), 24-38 (2003).
- Marnett, L. J., Riggins, J. N., West, J. D., Endogenous generation of reactive oxidants and electrophiles and their reactions with DNA and protein, *J. Clin. Invest.*, 111 (5), 583 (2003).

- Martinez, J., Moreno, J. J., Effect of resveratrol, a natural polyphenolic compound, on reactive oxygen species and prostaglandin production, *Biochem. Pharm.*, 59 (7), 865-870 (2000).
- Mason, H. J., Waine, E., Stevenson, A., Wilson, H. K., Aging and spontaneous reactivation of human plasma cholinesterase activity after inhibition by organophosphorus pesticides, *Hum. Exp. Toxic.*, 12 (6), 497-503 (1993).
- Massicotte, C., Knight, K., Van Der Schyf, C. J., Jortner, B. S., Ehrich, M., Effects of organophosphorus compounds on ATP production and mitochondrial integrity in cultured cells, *Neurotox. Res.*, 7 (3), 203-217 (2005).
- Masson, P., Rochu, D., Catalytic bioscavengers against toxic esters, an alternative approach for prophylaxis and treatments of poisonings, *Acta naturae*, 1 (1), 68 (2009).
- Mates, J. M., Pérez-Gómez, C., De Castro, I. N., Antioxidant enzymes and human diseases, *Clin. Biochem.*, 32 (8), 595-603 (1999).
- Mates, J. M., Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology, *Toxicology*, 153 (1), 83-104 (2000).
- May, J. M., Ascorbate function and metabolism in the human erythrocyte. *Front. Biosci.*, 3, d1-d10 (1998).
- McCalley, A. E., Kaja, S., Payne, A. J., Koulen, P., Resveratrol and calcium signaling: molecular mechanisms and clinical relevance, *Molecules*, 19 (6), 7327-7340 (2014).
- McCord, J. M., Fridovich, I., Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocyte (hemocuprein), *J. Biol. Chem.*, 244(22), 6049-6055 (1969).
- McGill, M. R., Du, K., Weemhoff, J. L., Jaeschke, H., Critical review of resveratrol in xenobiotic-induced hepatotoxicity, *Food Chem. Toxicol.*, 86, 309-318 (2015).
- Meister, A., Glutathione metabolism and its selective modification. *J. Biol. Chem.*, 263 (33), 17205-17208 (1988).
- Miao, Y., He, N., Zhu, J. J., History and new developments of assays for cholinesterase activity and inhibition, *Chem. Rev.*, 110 (9), 5216-5234 (2010).
- Milatovic, D., Jokanovic, M., Pyridinium oximes as cholinesterase reactivators in the treatment of OP poisoning. *Handbook of toxicology of chemical warfare agents*. 1st éd. Elsevier, San Diego, 985-996 (2009).
- Milatovic, D., Gupta, R. C., Aschner, M., Anticholinesterase toxicity and oxidative stress, *Sci. World J.*, 6, 295-310 (2006).
- Miller, A. F., Superoxide dismutases: active sites that save, but a protein that kills, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 8 (2), 162-168 (2004).
- Miller, A. F., Superoxide dismutases: ancient enzymes and new insights, *FEBS Lett.*, 586 (5), 585-595 (2012).



- Mishra, B.P., Badade, Z. G., Rastogi, S. K., Singh, S. Antioxidant status and oxidative stress in organophosphate pesticide poisoning. *Journal of Dental and Medical Sciences*, 7 (6), 20-24 (2013).
- Mohammad, A., Arkam, R., Shahin, S., Shekoufeh, N., Ali, R., Pesticides and oxidative stress: a review, *Med. Sci. Monitor*, 10, 141-147 (2004).
- Moore, K., Roberts, L. J., Measurement of lipid peroxidation, *Free Rad. Res.*, 28 (6), 659-671 (1998).
- Moshiri, M., Darchini-Maragheh, E., Balali-Mood, M., Advances in toxicology and medical treatment of chemical warfare nerve agents, *Daru*, 20 (1), 20-81 (2012).
- Mostafalou, S., Abdollahi, M., Pesticides and human chronic diseases: evidences, mechanisms, and perspectives, *Toxicol. Appl. Pharm.*, 268 (2), 157-177 (2013).
- Naderali, E. K., Doyle, P. J., Williams, G., Resveratrol induces vasorelaxation of mesenteric and uterine arteries from female guinea-pigs, *Clin. Sci.*, 98 (5), 537-543 (2000).
- Nakata, R., Takahashi, S., Inoue, H., Recent advances in the study on resveratrol. *Biol. Pharm. B.*, 35 (3), 273-279 (2012).
- Namasivayam, N., Chemoprevention in experimental animals, *Ann. NY. Acad. Sci.*, 1215 (1), 60-71 (2011).
- Narayana, K., Prashanthi, N., Nayanatara, A., Kumar, S. G., Kumar, H. H. C., Bairy, K. L., D'Souza, U. J. A broad-spectrum organophosphate pesticide O, O-dimethyl O-4-nitrophenyl phosphorothioate (methyl parathion) adversely affects the structure and function of male accessory reproductive organs in the rat, *Environ. Toxicol. Phar.*, 22 (3), 315-324 (2006).
- Neves, A. R., Lúcio, M., Lima, J. L. C., Reis, S., Resveratrol in Medicinal Chemistry: a Critical Review of its, *Food Chem.*, 47 (10), 4456-4461 (1999).
- Niki, E., Yoshida, Y., Saito, Y., Noguchi, N., Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects, *Biochem. Bioph. Res. Co.*, 338, 668-676 (2005).
- Niki, E., Biomarkers of lipid peroxidation in clinical material, *BBA-Gen. Subjects*, 1840 (2), 809-817 (2014).
- Noort, D., Benschop, H. P., Black, R. M., Biomonitoring of exposure to chemical warfare agents: a review, *Toxicol. Appl. Pharm.*, 184 (2) 116-126 (2002).
- Nurulain, S. M., Petroianu, G., Shafiullah, M., Kalász, H., Oz, M., Saeed, T., Adeghate, E., Sub- chronic exposure to paraoxon neither induces nor exacerbates diabetes mellitus in Wistar rat, *J. Appl. Toxicol.*, 33 (10), 1036-1043 (2013).
- Ogut, S., Kucukoner, E., Gultekin, F., Gurbuz, N. A Study of Long-Term Pesticide Application Amongst Agricultural Workers: Total Antioxidant Status, Total Oxidant Status and Acetylcholinesterase Activity in Blood, *P. Indian Acad. Sci. B.*, 85 (1), 155-159 (2015).

- Ojha, A., Yaduvanshi, S. K., Srivastava, N., Effect of combined exposure of commonly used organophosphate pesticides on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat tissues, *Pestic. Biochem. Phys.*, 99 (2), 148-156 (2011).
- Ojha, A., Srivastava, N., Redox imbalance in rat tissues exposed with organophosphate pesticides and therapeutic potential of antioxidant vitamins, *Ecotox. Environ. Safe.*, 75, 230-241 (2012).
- Ojha, A., Srivastava, N. In vitro studies on organophosphate pesticides induced oxidative DNA damage in rat lymphocytes, *Mutat. Res.-Gen. Tox. En.*, 761, 10-17 (2014).
- Olas, B., Nowak, P., Kolodziejczyk, J., Ponczek, M., Wachowicz, B., Protective effects of resveratrol against oxidative/nitrative modifications of plasma proteins and lipids exposed to peroxynitrite, *J. Nutr. Biochem.*, 17 (2), 96-102 (2006).
- Öğütçü, A., Uzunhisarcikli, M., Kalender, S., Durak, D., Bayrakdar, F., Kalender, Y., The effects of organophosphate insecticide diazinon on malondialdehyde levels and myocardial cells in rat heart tissue and protective role of vitamin E, *Pestic. Biochem. Phys.*, 86 (2), 93-98 (2006).
- Öncü, M., Gultekin, F., Karaöz, E., Altuntaş, İ., Delibaş, N., Klorprifos-Etil Tarafından Oluşturulan Oksidatif Hasarın Sıçan Karaciğerine Etkileri, *Türk Klin. J. Med. Sci.*, 22, 50-55 (2002).
- Özkaya, G., Çeliker, A., Koçer-Giray, B., İnsektisit zehirlenmeleri ve Türkiye'deki durumun değerlendirilmesi, *Türk Hij. Den. Biy. Derg.*, 70 (2), 75 – 102 (2013).
- Pace-Asciak, C. R., Hahn, S., Diamandis, E. P., Soleas, G., Goldberg, D. M., The red wine phenolics trans resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis: Implications for protection against coronary heart disease, *Clin. Chim. Acta*, 235 (2), 207-219 (1995).
- Paiva, S. A., Russell, R. M.,  $\beta$ -Carotene and other carotenoids as antioxidants. *J. Am. Coll. Nutr.*, 18 (5), 426-433 (1999).
- Palsamy, P., Subramanian, S., Resveratrol protects diabetic kidney by attenuating hyperglycemia-mediated oxidative stress and renal inflammatory cytokines via Nrf2-Keap1 signaling, *BBA-Mol. Basis Dis.*, 1812 (7), 719-731 (2011).
- Panahi, P., Vosough-Ghanbari, S., Pournourmohammadi, S., Ostad, S. N., Nikfar, S., Minaie, B., Abdollahi, M., Stimulatory effects of malathion on the key enzymes activities of insulin secretion in langerhans islets, glutamate dehydrogenase and glucokinase, *Toxicol. Mech. Method*, 16 (4), 161-167 (2006).
- Pancetti, F., Olmos, C., Dagnino-Subiabre, A., Rozas, C., Morales, B., Noncholinesterase effects induced by organophosphate pesticides and their relationship to cognitive processes: implication for the action of acylpeptide hydrolase, *J. Toxicol. Env. Heal. B*, 10 (8), 623-630 (2007).
- Pandey, K. B., Rizvi, S. I., Anti-oxidative action of resveratrol: Implications for human health, *Arab.J. Chem.*, 4 (3), 293-298 (2011).

- Pastore, A., Federici, G., Bertini, E., Piemonte, F., Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification, *Clin. Chim. Acta*, 333 (1), 19-39 (2003).
- Peña-Llopis, S., Antioxidants as potentially safe antidotes for organophosphorus poisoning, *Curr. Enz. Inh.*, 1 (2), 147-156 (2005).
- Petrovski, G., Gurusamy, N., Das, D. K., Resveratrol in cardiovascular health and disease, *Ann. NY. Acad. Sci.*, 1215 (1), 22-33 (2011).
- Piver, B., Fer, M., Vitrac, X., Merillon, J. M., Dreano, Y., Berthou, F., Lucas, D., Involvement of cytochrome P450 1A2 in the biotransformation of trans-resveratrol in human liver microsomes, *Biochem. Pharm.*, 68 (4), 773-782 (2004).
- Poljsak, B., Šuput, D., Milisav, I., Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants, *Oxid. Med. Cel. Long.* 2013, 1-11 (2013).
- Pope, C., Karanth, S., Liu, J., Pharmacology and toxicology of cholinesterase inhibitors: uses and misuses of a common mechanism of action, *Environ. Toxicol. Phar.*, 19 (3), 433-446 (2005).
- Pournourmohammadi, S., Ostad, S. N., Azizi, E., Ghahremani, M. H., Farzami, B., Minaie, B., Abdollahi, M., Induction of insulin resistance by malathion: Evidence for disrupted islets cells metabolism and mitochondrial dysfunction, *Pestic. Biochem. Phys.*, 88 (3), 346-352 (2007).
- Prakash, N., Narayana, K., Murthy, G. S., Moudgal, N. R., The effect of malathion, an organophosphate, on the plasma FSH, 17 beta-estradiol and progesterone concentrations and acetylcholinesterase activity and conception in dairy cattle, *Vet. Hum. Toxic.*, 34 (2), 116-119 (1992).
- Prasad, K., Resveratrol, wine, and atherosclerosis, *Int. J. Angiol.*, 21 (1), 7 (2012).
- Pryor, W.A., Free Radical Biology: Xenobiotics, Cancer, And Aging\*, *Ann. NY. Acad. Sci.*, 393 (1), 1-22 (1982).
- Puntel, G. O., de Carvalho, N. R., Gubert, P., Palma, A. S., Dalla Corte, C. L., Ávila, D. S., Soares, F.A.A., Butane-2, 3-dionethiosemicarbazone: an oxime with antioxidant properties, *Chem-biol. Interactions*, 177 (2), 153-160 (2009).
- Puntel, G.O., Gubert, P., Peres, G.L., Bresolin, L., Rocha, J. B. T., Pereira, M. E., Soares, F.A., Antioxidant properties of oxime 3-(phenylhydrazono) butan-2-one, *Arch. Toxicol.*, 82 (10), 755-762 (2008).
- RamaRao, G., Afley, P., Acharya, J., Bhattacharya, B. K., Efficacy of antidotes (midazolam, atropine and HI-6) on nerve agent induced molecular and neuropathological change, *BMC Neuroscience*, 15 (1), 47 (2014).
- Ranjbar, A., Ghahremani, M. H., Sharifzadeh, M., Golestani, A., Ghazi-Khansari, M., Baeri, M., Abdollahi, M., Protection by pentoxifylline of malathion-induced toxic stress and mitochondrial damage in rat brain, *Hum. Exp. Toxicol.*, 29 (10), 851-864 (2010).
- Rege, S. D., Kumar, S., Wilson, D. N., Tamura, L., Geetha, T., Mathews, S. T., Babu, J. R., Resveratrol protects the brain of obese mice from oxidative damage. *MCBU*, 2013 (1), 1-8 (2013).

- Ren, J., Fan, C., Chen, N., Huang, J., Yang, Q., Resveratrol pretreatment attenuates cerebral ischemic injury by upregulating expression of transcription factor Nrf2 and HO-1 in rats, *Neurochem. Res.*, 36 (12), 2352-2362 (2011).
- Roberts, D. M., Aaron, C. K., Management of acute organophosphorus pesticide poisoning, *BMJ* ,334 (7594), 629-637 (2007).
- Rocha, K. K. R., Souza, G. A., Ebaid, G. X., Seiva, F. R. F., Cataneo, A. C., Novelli, E. L. B., Resveratrol toxicity: effects on risk factors for atherosclerosis and hepatic oxidative stress in standard and high-fat diets, *Food Chem. Toxicol.*, 47 (6), 1362-1367 (2009).
- Rock, C. L., Carotenoids: biology and treatment, *Pharmacol. Therapeut.*, 75 (3), 185-197 (1997).
- Rock, C. L., Jacob, R. A., , Bowen, P. E., Update on the biological characteristics of the antioxidant micronutrients: vitamin C, vitamin E, and the carotenoids, *J. Am. Diet. Assoc.*, 96 (7), 693-702 (1996).
- Rodrigo, R., González, J., Paoletto, F., The role of oxidative stress in the pathophysiology of hypertension, *Hypertens. Res.*, 34 (4), 431-440 (2011a).
- Rodrigo, R., Miranda, A., Vergara, L., Modulation of endogenous antioxidant system by wine polyphenols in human disease, *Clin. Chim. Acta*, 412 (5), 410-424 (2011b).
- Rosenfeld, C. A., Sultatos, L. G., Concentration-dependent kinetics of acetylcholinesterase inhibition by the organophosphate paraoxon, *Toxicol. Sci.*, 90 (2), 460-469 (2006).
- Ruckmani, A., Nayar, P. G., Konda, V. G. R., Madhusudhanan, N., Madhavi, E., Chokkalingam, M., Sundaravalli, S., Effects of inhalational exposure of malathion on blood glucose and antioxidants level in wistar albino rats, *Res. J. Env. Toxicol.*, 5 (5), 309 (2011).
- Sadayoshi, O., Yamashina, A., Takasu, N., Yamaguchi, T., Murai, T., Nakano, K., Hinohara, S., Sarin poisoning on Tokyo subway. *Southern Med. J.*, 90 (6), 587-593 (1997).
- Saeidnia, S., Abdollahi, M., Toxicological and pharmacological concerns on oxidative stress and related diseases, *Toxicol. Appl. Pharm.*, 273 (3), 442-455 (2013).
- Sahin, I. C., Onbasi, K., Sahin, H., Karakaya, C., Ustun, Y., Noyan, T., The prevalence of pancreatitis in organophosphate poisonings, *Hum. Exp. Toxic.*, 21 (4), 175-177 (2002).
- Santos, R. P., Cavaliere, M. J., Puga, F. R., Narciso, E. S., Pelegriño, J. R., Calore, E. E., Protective effect of early and late administration of pralidoxime against organophosphate muscle necrosis, *Ecotox. Environ. Safe.*, 53 (1), 48-51 (2002).
- Saquib, Q., Attia, S. M., Siddiqui, M. A., Aboul-Soud, M. A., Al-Khedhairy, A. A., Giesy, J. P., Musarrat, J., Phorate-induced oxidative stress, DNA damage and transcriptional activation of p53 and caspase genes in male Wistar rats, *Toxicol. Appl. Pharm.*, 259 (1), 54-65 (2012).

Satar, S., Satar, D., Tap, O., Koseoglu, Z., Kaya, M., Ultrastructural Changes in Rat Liver Treated with Pralidoxime Following Acute Organophosphate Poisoning, *Mt. Sinai J. Med.*, 71 (6), 405-410 (2004).

Savolainen, K., Understanding the Toxic Actions of Organophosphates in Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology, 1013-1041, Academic Press, New York (2001).

Saydam, C. K., Sözmen B., Aslan, S. L., Organofosfor zehirlenmelerine yaklaşım, *Turk. J. Med. Sci.*, 26 (1), 73-77 (2006).

Schmatz, R., Perreira, L. B., Stefanello, N., Mazzanti, C., Spanevello, R., Gutierrez, J., Morsch, V. M., Effects of resveratrol on biomarkers of oxidative stress and on the activity of delta aminolevulinic acid dehydratase in liver and kidney of streptozotocin-induced diabetic rats, *Biochimie*, 94 (2), 374-383 (2012).

Sebai, H., Sani, M., Yacoubi, M. T., Aouani, E., Ghanem-Boughanmi, N., Ben-Attia, M., Resveratrol, a red wine polyphenol, attenuates lipopolysaccharide-induced oxidative stress in rat liver, *Ecotox. Environ. Safe.*, 73 (5), 1078-1083 (2010).

Sen, C. K., Antioxidants in exercise nutrition, *Sports Med.*, 31 (13), 891-908 (2001).

Senanayake, N., Karalliedde, L., Neurotoxic effects of organophosphorus insecticides. *New Engl. J. Med.*, 316 (13), 761-763 (1987).

Sevgiler, Y., Piner, P., Durmaz, H., Üner, N. Effects of N-acetylcysteine on oxidative responses in the liver of fenthion exposed *Cyprinus carpio*, *Pestic. Biochem. Phys.*, 87 (3), 248-254 (2007).

Shafiee, H., Mohammadi, H., Rezayat, S. M., Hosseini, A., Baeri, M., Hassani, S., Abdollahi, M., Prevention of malathion-induced depletion of cardiac cells mitochondrial energy and free radical damage by a magnetic magnesium-carrying nanoparticle, *Toxicol. Mech Method*, 20 (9), 538-543 (2010).

Sharma, Y., Bashir, S., Irshad, M., Gupta, S. D., Dogra, T. D., Effects of acute dimethoate administration on antioxidant status of liver and brain of experimental rats, *Toxicology*, 206 (1), 49-57 (2005).

Shelton, G. D., Myasthenia gravis and disorders of neuromuscular transmission, *Vet. Clin. N. Am.*, 32 (1), 189-206 (2002).

Shrot, S., Ramaty, E., Biala, Y., Bar-Klein, G., Daninos, M., Kamintsky, L., Yaari, Y., Prevention of organophosphate-induced chronic epilepsy by early benzodiazepine treatment, *Toxicology*, 323, 19-25 (2014).

Shukla, Y., Singh, R., Resveratrol and cellular mechanisms of cancer prevention, *Ann. NY. Acad. Sci.*, 1215 (1), 1-8 (2011).

Sies, H., Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants, *Exp. Phys.*, 82, 291-295 (1997).

Sies, H., Glutathione and its role in cellular functions, *Free Rad. Bio. Med.*, 27(9), 916-921 (1999).

- Sies, H., Stahl, W. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants, *Am. J. Clin. Nutr.*, 62 (6), 1315S-1321S (1995).
- Signorelli, P., Ghidoni, R., Resveratrol as an anticancer nutrient: molecular basis, open questions and promises, *J. Nutr. Biochem.*, 16 (8), 449-466 (2005).
- Silan, C., The effects of chronic resveratrol treatment on vascular responsiveness of streptozotocin-induced diabetic rats, *Biol. Pharm. B.*, 31 (5), 897-902 (2008).
- Singh, M., Sandhir, R., Kiran, R., Erythrocyte antioxidant enzymes in toxicological evaluation of commonly used organophosphate pesticides, *Indian J. Exp. Biol.*, 44 (7), 580 (2006).
- Singh, S., Prakash, A., Kaur, S., Ming, L. C., Mani, V., Majeed, A. B. A, The role of multifunctional drug therapy as an antidote to combat experimental subacute neurotoxicity induced by organophosphate pesticides, *Environ. mental Toxicol.*, 1-10 (2015).
- Singhal, R.K., Anderson, M.E., Meister, A., Glutathione, a first line of defense against cadmium toxicity, *The FASEB J.*, 1 (3), 220-223 (1987).
- Sinha, K., Chaudhary, G., Gupta, Y. K., Protective effect of resveratrol against oxidative stress in middle cerebral artery occlusion model of stroke in rats, *Life Sci.*, 71 (6), 655-665 (2002).
- Sinko, G., Čalić, M., Bosak, A., Kovarik, Z., Limitation of the Ellman method: Cholinesterase activity measurement in the presence of oximes. *Anal.Biochem.*, 370 (2), 223-227 (2007).
- Soleas, G. J., Diamandis, E. P., Goldberg, D. M., Resveratrol: a molecule whose time has come? And gone, *Clin. Biochem.*, 30 (2), 91-113 (1997).
- Soares, D. G., Andrezza, A. C., Salvador, M., Sequestering ability of butylated hydroxytoluene, propyl gallate, resveratrol, and vitamins C and E against ABTS, DPPH, and hydroxyl free radicals in chemical and biological systems, *J. Agric.Food Chem.*, 51 (4), 1077-1080 (2003).
- Soltaninejad, K., Abdollahi, M., Current opinion on the science of organophosphate pesticides and toxic stress: a systematic review, *Med. Sci. Monit.*, 15 (3), 75-90 (2009).
- Srivastava, A. K., Mishra, J., Effects of fenthion on the blood and tissue chemistry of a teleost fish (*Heteropneustes fossilis*). *J. Comp. Pathol.*, 93 (1), 27-31 (1983).
- Stojanović, S., Sprinz, H., Brede, O., Efficiency and mechanism of the antioxidant action of trans-resveratrol and its analogues in the radical liposome oxidation, *Arch. Biochem. Biophys.*, 391 (1), 79-89 (2001).
- Straliozzo, M. R., Oliveira, J. D., Mancini, G., Bainy, A. C., Latini, A., Deobald, A. M., Bem, A. F. D., Disubstituted diaryl diselenides as potential atheroprotective compounds: Involvement of TrxR and GPx-like systems, *Eur. J. Pharm. Sci.* 48 (4), 717-725 (2013).
- Sumathi, M. E., Kumar, S. H., Shashidhar, K. N., Takkalaki, N., Prognostic significance of various biochemical parameters in acute organophosphorus poisoning, *Toxicol. Int.*, 21 (2), 167 (2014).

- Sun, A. Y., Chen, Y. M., James-Kracke, M., Wixom, P., Cheng, Y., Ethanol-induced cell death by lipid peroxidation in PC12 cells, *Neurochem. Res.*, 22 (10), 1187-1192 (1997).
- Sun, A. Y., Simonyi, A., Sun, G. Y., The “French paradox” and beyond: neuroprotective effects of polyphenols<sup>1, 2</sup>, *Free Radical Bio. Med.*, 32 (4), 314-318 (2002).
- Sundquist, T., Moravec, R., Niles, A., O’Brien, M., Riss, T., Timing your apoptosis assays, *Cell Notes*, 16, 18-21 (2006).
- Sütçü, R., Altuntas, I., Yildirim, B., Karahan, N., Demirin, H., Delibas, N., The effects of subchronic methidathion toxicity on rat liver: role of antioxidant vitamins C and E, *Cell Biol Toxicol.*, 22 (3), 221-227 (2006).
- Szkudelski, T., Szkudelska, K., Anti-diabetic effects of resveratrol, *Ann. NY. Acad. Sci.*, 1215 (1), 34-39 (2011).
- Tang, X., Wang, R., Xie, H., Hu, J., Zhao, W., Repeated pulse intramuscular injection of pralidoxime chloride in severe acute organophosphorus pesticide poisoning, *Am. J. Em. Med.*, 31 (6), 946-949 (2013).
- Temple, N.J., Antioxidants and disease: more questions than answers. *Nutrit. Res.*, 20 (3), 449-459 (2000).
- Thayer, K. A., Heindel, J. J., Bucher, J. R., Gallo, M.A., Role of environmental chemicals in diabetes and obesity: a National Toxicology Program workshop review, *Environ. Health Perspect.*, 120 (6), 779-789 (2012).
- Thiermann, H., Szinicz, L., Eyer, P., Felgenhauer, N., Zilker, T., Worek, F., Lessons to be learnt from organophosphorus pesticide poisoning for the treatment of nerve agent poisoning, *Toxicology*, 233 (1), 145-154 (2007).
- Thomas, M. J., The Role of free radicals and Antioxidants, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 35 (1-2), 21-39 (1995).
- Timchalk, C., Organophosphorus Insecticide Pharmacokinetics in Hayes’ Handbook of Pesticide Toxicology, 1409-1433, Academic Press, New York (2010).
- Toyokuni, S., Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology, *Pathol. Int.*, 49 (2), 91-102 (1999).
- Tsao, R., Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols, *Nutrients*, 2 (12), 1231-1246 (2010).
- Tsatsakis, A. M., Manousakis, A., Anastasaki, M., Tzatzarakis, M., Katsanoulas, K., Delaki, C., Agouridakis, P., Clinical and toxicological data in fenthion and omethoate acute poisoning. *J. Environ. Sci. Heal. B.*, 33 (6), 657-670 (1998).
- Tyagi, S., Singh, G., Sharma, A., Aggarwal, G., Clinical and medicinal applications of resveratrol: a review, *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 3 (1), 49-52 (2010).
- Uchendu, C., Ambali, S. F., Ayo, J. O., Esiebo, K. A., Umosen, A. J., Erythrocyte osmotic fragility and lipid peroxidation following chronic co-exposure of rats to

- chlorpyrifos and deltamethrin, and the beneficial effect of alpha-lipoic acid, *Toxicol. Rep.*, 1, 373-378 (2014).
- Ulakcsai, Z., Bagaméry, F., Vincze, I., Szökő, É., Tábi, T., Protective effect of resveratrol against caspase 3 activation in primary mouse fibroblasts, *Croat. Med. J.*, 56 (2), 78-84 (2015).
- Unger, T.A., Fenthion, *Pesticide Synthesis Handbook*, 324, Academic Press, New York 1996.
- Ungvari, Z., Orosz, Z., Rivera, A., Labinskyy, N., Xiangmin, Z., Olson, S., Csiszar, A., Resveratrol increases vascular oxidative stress resistance. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 292 (5), H2417-H2424 (2007).
- Valavanidis, A., Vlachogianni, T., Fiotakis, C., 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): a critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis, *J. Environ. Sci. Heal. C.*, 27 (2), 120-139 (2009).
- Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C. J., Telser, J., Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence, *Mol. Cel. Biochem.*, 266 (1-2), 37-56 (2004).
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., Telser, J., Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, *Int. J. Biochem. Cell Bio.*, 39 (1), 44-84 (2007).
- Vang, O., Ahmad, N., Baile, C. A., Baur, J. A., Brown, K., Csiszar, A., Wu, J. M., What is new for an old molecule? Systematic review and recommendations on the use of resveratrol, *PLoS One*, 6 (6), 1-11 (2011).
- Vaya, J., Exogenous markers for the characterization of human diseases associated with oxidative stress, *Biochimie*, 95(3), 578-584 (2013).
- Venkatesh, S., Ramachandran, A., Zachariah, A., Oommen, A., Mitochondrial ATP synthase inhibition and nitric oxide are involved in muscle weakness that occurs in acute exposure of rats to monocrotophos, *Toxicol. Mech. Method*, 19 (3), 239-245 (2009).
- Vidyasagar, J., Karunakar, N., Reddy, M. S., Rajnarayana, K., Surender, T., Krishna, D.R., Oxidative stress and antioxidant status in acute organophosphorous insecticide poisoning, *Indian J. Pharmacol.*, 36 (2), 76 (2004).
- Vural, N., *Toksikoloji, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara*, 342-354, 363-372 (1996).
- Walle, T., Bioavailability of resveratrol, *Ann. NY. Acad. Sci.*, 1215 (1), 9-15 (2011).
- Wang, D., Hang, T., Wu, C., Liu, W., Identification of the major metabolites of resveratrol in rat urine by HPLC-MS/MS, *J. Chromatogr. B*, 829 (1), 97-106 (2005).
- Wang, Y., Oguntayo, S., Wei, Y., Wood, E., Brown, A., Jensen, N., Nambiar, M. P., Neuroprotective effects of imidazenil against chemical warfare nerve agent soman toxicity in guinea pigs, *Neurotoxicology*, 33 (2), 169-177 (2012).



- Wang, H. L., Gao, J. P., Han, Y. L., Xu, X., Wu, R., Gao, Y., Cui, X. H., Comparative studies of polydatin and resveratrol on mutual transformation and antioxidative effect in vivo, *Phytomedicine*, 22 (5), 553-559 (2015).
- Wefers, H, Sies, H., The protection by ascorbate and glutathione against mitochondrial lipid peroxidation is dependent on vitamin E, *Eur. J. Biochem.*, 174, 353-357 (1988).
- Venkatesh, S., Ramachandran, A., Zachariah, A., Oommen, A., Mitochondrial ATP synthase inhibition and nitric oxide are involved in muscle weakness that occurs in acute exposure of rats to monocrotophos, *Toxicol. Mech. Method*, 19 (3), 239-245 (2009).
- Vidyasagar, J., Karunakar, N., Reddy, M. S., Rajnarayana, K., Surender, T., Krishna, D.R., Oxidative stress and antioxidant status in acute organophosphorous insecticide poisoning, *Indian J. Pharmacol.*, 36 (2), 76 (2004).
- Weiss, S. J., Young, J., LoBuglio, A. F., Slivka, A., Nimeh, N. F., Role of hydrogen peroxide in neutrophil-mediated destruction of cultured endothelial cells, *J. Clin. Invest.*, 68 (3), 714 (1981).
- Wenzel, E., Somoza, V., Metabolism and bioavailability of trans- resveratrol, *Mol. Nutr. Food Res.*, 49 (5), 472-481 (2005).
- Wilson, T., Knight, T.J., Beitz, D.C., Lewis, D.S., Engen, R.L., Resveratrol promotes atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits, *Life Sci.*, 59 (1), PL15-PL21 (1996).
- Wilson, B.W., Cholinesterases in Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology, 1457-1478 Academic Press, New York, (2010).
- Worek, F., Eyer, P., Thiermann, H., Determination of acetylcholinesterase activity by the Ellman assay: a versatile tool for in vitro research on medical countermeasures against organophosphate poisoning, *Drug Test Anal.*, 4 (3-4), 282-291 (2012).
- Worek, F., Koller, M., Thiermann, H., Szinicz, L., Diagnostic aspects of organophosphate poisoning, *Toxicology*, 214 (3), 182-189 (2005).
- Worek, F., Thiermann, H., The value of novel oximes for treatment of poisoning by organophosphorus compounds, *Pharmacol. Ther.*, 139 (2), 249-259 (2013).
- Wu, J. M., Hsieh, T. C., Resveratrol: a cardioprotective substance, *Ann. NY. Acad. Sci.*, 1215 (1), 16-21 (2011).
- Yamano, T., Morita, S., Effects of pesticides on isolated rat hepatocytes, mitochondria, and microsomes II, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 28 (1), 1-7 (1995).
- Yang, C. C., Deng, J. F., Intermediate syndrome following organophosphate insecticide poisoning, *J. Chin. Med. Assoc.*, 70 (11), 467-472 (2007).
- Yang, Z. P., Dettbarn, W. D., Lipid peroxidation and changes in cytochrome c oxidase and xanthine oxidase activity in organophosphorus anticholinesterase induced myopathy, *J. Physiology-Paris*, 92 (3), 157-161 (1998).

- Yatendra, S., Joshi, S. C., Singh, M., Joshi, A., Kumar, J., Organophosphorus Poisoning: An Overview, *Int. J. Health Sci. Res.*, 4 (8), 245-257 (2014).
- Yavuz, Y., Yurumez, Y., Ciftci, I. H., Sahin, O., Saglam, H., Buyukokuroglu, M., Effect of diphenhydramine on myocardial injury caused by organophosphate poisoning, *Clin. Toxicol.*, 46 (1), 67-70 (2008).
- Yen, G. C., Duh, P. D., Lin, C. W., Effects of resveratrol and 4-hexylresorcinol on hydrogen peroxide-induced oxidative DNA damage in human lymphocytes, *Free Rad. Res.*, 37 (5), 509-514 (2003).
- Yılmaz, İ., Antioksidan içeren bazı gıdalar ve oksidatif stres, *İnönü Ün. Tıp Fak. Derg.*, 17 (2), 143-153 (2010).
- Yılmaz, Ö., Keser, S., Tuzcu, M., Çetintaş, B., Resveratrol (trans-3, 4', 5-trihydroxystilbene) decreases lipid peroxidation level and protects antioxidant capacity in sera and erythrocytes of old female Wistar rats induced by the kidney carcinogen potassium bromate, *Environ. Toxicol. Phar.*, 24 (2), 79-85 (2007).
- Yoshida, Y., Umeno, A., Akazawa, Y., Shichiri, M., Murotomi, K., Horie, M., Chemistry of Lipid Peroxidation Products and Their Use as Biomarkers in Early Detection of Diseases, *J. Oleo Sci.*, 64 (4), 347-356 (2015).
- Yu, T.W., Anderson, D., Reactive oxygen species-induced DNA damage and its modification: a chemical investigation. *Mutat. Res.-Gen. Tox. En.*, 379.2: 201-210 (1997).
- Yu, M., Xue, J., Li, Y., Zhang, W., Ma, D., Liu, L., Zhang, Z., Resveratrol protects against arsenic trioxide-induced nephrotoxicity by facilitating arsenic metabolism and decreasing oxidative stress, *Arch. Toxicol.*, 87 (6), 1025-1035 (2013).
- Yürümez, Y., Yavuz, Y., Şahin, Ö., Çiftçi, İ. H., Özkan, S., Büyükokuroğlu, M. E., Can diphenhydramine prevent organophosphate-induced acute pancreatitis? An experimental study in rats, *Pestic. Biochem. Phys.*, 87 (3), 271-275 (2007a).
- Yürümez, Y., Cemek, M., Yavuz, Y., Birdane, Y. O., Buyukokuroglu, M. E., Beneficial effect of N-acetylcysteine against organophosphate toxicity in mice, *Biol. Pharm. Bull.*, 30 (3), 490-494 (2007b).
- Zhang, Z., Gao, L., Cheng, Y., Jiang, J., Chen, Y., Jiang, H., Cheng, B., Resveratrol, a natural antioxidant, has a protective effect on liver injury induced by inorganic arsenic exposure, *BioMed Res. Int.*, 1-7 (2014).
- Zhao, X. Y., Li, G. Y., Liu, Y., Chai, L. M., Chen, J. X., Zhang, Y., Yang, B. F., Resveratrol protects against arsenic trioxide induced cardiotoxicity in vitro and in vivo, *Br. J. Pharmacol.*, 154 (1), 105-113 (2008).
- Zini, R., Morin, C., Bertelli, A., Bertelli, A. A., Tillement, J. P., Effects of resveratrol on the rat brain respiratory chain, *Drugs Exp. Clin. Res.*, 25 (2-3), 87-97 (1998).



**T.C.**  
**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu**  
**(AKUHADYEK)**

**Sayı :** B.30.2.AKÜ.0.9D.00.00/81

**Tarih :** 05/09/2011

**Konu:** AKUHADYEK-44-11-Referans nolu araştırma

Prof. Dr. M. Emin BÜYÜKOKUROĞLU

A. K. Ü. Tıp Fakültesi Farmakoloji AD  
Afyonkarahisar

Üniversitemiz Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'na sunmuş olduğunuz "Organofosfat Toksisitesinde Resveratrolun Koruyucu Etkisi" konulu bilimsel çalışma teklifiniz Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu yönergeline ve bilimsel amaçlı hayvan kullanımına ilişkin evrensel etik prensiplere uyumlu bulunmuş ve çalışmalarınıza ONAY verilmiştir.

Görevi	Adı	İmza	Görevi	Adı	İmza
Başkan	Doç. Dr. Hilmi YAMAN		Üye	Doç. Dr. Reha DEMİREL	
					<i>Toplantıya katılmadık</i>
Üye	Prof. Dr. Hatice ÇİÇEK		Üye	Yrd.Doç.Dr. Hilmet KELEŞ	
		<i>Toplantıya katılmadık</i>			
Üye	Doç. Dr. Bülent ELİTOK		Üye	(sıvı toplantı katılımcısı üyesi) Halil KARİFA	
Üye	Doç. Dr. M. Ali SÖZEN		Üye	(Halk üyesi) S.Selcen HİDİROĞLU	
		<i>Toplantıya katılmadık</i>			
Üye	Doç.Dr.Zafer ÇETİNKAYA				

Gazlıgöl yolu üzeri A.N.S kampüsü 03200 AFYONKARAHİSAR\_Tel : (272) 214 96 70