

Klorprifos-Etil Uygulanan Diyabetli Ratlarda Likopenin Antioksidan ve Hipoglisemik Etkilerinin Araştırılması[#]

Ruhi TÜRKMEN, Mehmet ÖZDEMİR*

Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar / TÜRKİYE

[#]Bu proje, AKÜ BAP Komisyonu tarafından 10.VF.17 kodu ile desteklenerek AKÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nce 2013/004 nolu Doktora Tezi olarak kabul edildi. AKÜ Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'ndan izin alındı (13/10/2009, AKÜHADYEK-68-09).

ÖZET

Bu çalışmada, klorprifos-etil'in (KP) normal ve diyabetli ratlardaki oksidatif stres ve hiperglisemi üzerine likopenin etkisi araştırıldı. Wistar albino 56 rat kullanıldı. Ratlar her grupta 7 adet olacak şekilde rastgele 8 gruba ayrıldı. Gruplar; Grup 1 kontrol (K) (0,5 ml mısır yağı), Grup 2 diyabet (D) (50 mg/kg streptozotosin (STZ)), Grup 3 klorprifos-etil (KP) (2,7 mg/kg), Grup 4 likopen (L) (10 mg/kg), Grup 5 D+KP, Grup 6 D+L, Grup 7 L+KP, Grup 8 D+L+KP olarak isimlendirildi. Dört haftalık çalışma süresince canlı ağırlıkları ve açlık kan şekeri düzeyleri ölçüldü. Çalışma sonunda tam kanda, malondialdehid (MDA), indirgenmiş glutatyon (GSH) düzeyleri; plazmada, süperoksid dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), insülin, asetilkolinesteraz (AChE), nitrik oksid (NO) düzeyleri; serumda ise aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), glikoz, tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) ve total antioksidan kapasite (TAK) düzeyleri belirlendi. K grubuyla karşılaştırıldığında STZ ve KP uygulamalarının açlık kan şekeri ve serum glikoz düzeylerini yükselttiği, plazma insülin düzeylerini azalttığı görüldü. Aynı uygulamaların MDA düzeylerini artırdığı, antioksidan enzim aktiviteleri ile birlikte GSH ve TAK düzeylerini ise azalttığı ortaya konuldu. Ayrıca likopenin D grubundaki ratların MDA düzeylerini azalttığı, antioksidan enzim aktiviteleri ile birlikte GSH ve TAK düzeylerini artırdığı tespit edildi. Sonuç olarak likopenin diyabet ve klorprifos-etil tarafından oluşturulan hiperglisemi ve buna bağlı olarak ortaya çıkabilecek komplikasyonların tedavisine yardımcı olabileceği önerilebilir.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, Klorprifos-etil, Likopen, Oksidatif stres, Streptozotosin



Investigation of the Hypoglycemic and Antioxidant Effects of Lycopene in Chlorpyrifos-Ethyl Treated Diabetic Rats

SUMMARY

The present study was carried out to investigate the antioxidant and hypoglycemic effect of lycopene (L) on chlorpyrifos-ethyl (CP) induced oxidative stress and hyperglycemia in normal and diabetic rats. Wistar albino 56 adult rats were used. Rats were randomly divided into eight groups, n=7. The groups were called as Group 1 control (C) (0.5 ml corn oil); Group 2 diabetes (D) (50 mg/kg STZ); Group 3 CP (2.7 mg/kg); Group 4 L (10 mg/kg); Group 5 D+CP; Group 6 D+L; Group 7 L+CP; Group 8 D+L+CP. Rat weight gains and fasting blood glucose were measured every week for 4 weeks. At the end of the study, malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) were assessed in whole blood. Superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), insulin, acetylcholinesterase (AChE) and nitric oxide (NO) were determined in plasma. The aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), glucose, tumor necrosis factor- α (TNF- α) and total antioxidant capacity (TAC) were assessed in serum. Treatment of rats with of streptozotocin (STZ) and CP were showed that decreased in plasma insulin level while fasting blood glucose and serum glucose increased compared to the control group. Same treatments were revealed increased in MDA while TAC and GSH levels were decreased with a consistently significant decreased in the activity of antioxidative enzymes. Moreover administration of lycopene to rat in D group was found that decrease in MDA while TAC and GSH levels were increased with a consistently increased in the activity of antioxidative enzymes. This study suggests that lycopene acts as a safe and efficient choice in helper to treatment of diabetes and chlorpyrifos-ethyl induced hyperglycemia and their complications.

Key Words: Diabetes mellitus, Chlorpyrifos-ethyl, Lycopene, Oxidative stress, Streptozotocine

GİRİŞ

Diyabet (Diabetes mellitus, DM) yaşam boyu süren, sürekli izleme ve sağaltım gerektiren, akut ve kronik komplikasyonları nedeniyle hastanın yaşam kalitesini oldukça azaltan ve ölüme yol açabilen kronik metabolik bir hastalıktır (Türkmen ve Özdemir 2011). Son yıllarda yapılan çalışmalar, serbest radikallerin fazla miktarda oluşumu ve lipid peroksidasyonun (LPO) DM gibi birçok hastalığın patogenezinde rol aldığını göstermektedir (Ceriello 2003, Yardım-Akaydın ve ark 2006). Normal şartlar altında kısa süre içinde oluşan serbest radikaller; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) gibi vücudun doğal antioksidan enzimleri tarafından hızlı bir şekilde temizlenir. DM'li hastaların dokularında ve eritrositlerin hücre zarlarında, doğal antioksidan enzimlerinin ve hücre içi enzim olmayan doğal antioksidan indirgenmiş glutatyon (GSH) düzeyinin azaldığı belirtilmiştir (Abou-Seif ve Youssef 2004). Klinik ve deneysel diyabet çalışmalarında LPO son ürünü olan malondialdehid (MDA) düzeyinin arttığı, bunun DM'nin damar komplikasyonlarının patogenezinde önemli olabileceği bildirilmiştir (Velazquez ve ark 1991, Venkateswaran ve Pari 2003).

Organik fosforlu (OF) bileşikler, bugün dünyada en çok kullanılan insektisidlerden birisidir. OF'lara maruziyet her yıl önemli sayıda ölümlere ve zehirlenmelere neden olur (Shadnia ve ark 2005). OF'lar asetilkolin esterazı (Ake) inhibe ederek memelilerde zehirlenmeye ve sinaptik kavşaklarda asetilkolinin (Ak) birikimi sonucu kolinerjik toksisiteye yol açan postsinaptik hücrelerin aşırı uyarılmasına neden olurlar (Ecobichon 2001). Ake inhibisyonu, kolinerjik etkilerinin yanında hem insanlarda hem de hayvanlarda hiperglisemi komplikasyonuna sebep olmaktadır (Seifert 2001). Bunun dışında oksidatif stres te insan ve hayvanlarda zararlı etkilere yol açabilmektedir (Abdollahi ve ark 2004a). Klorprifos-etil (KP), OF insektisidlerin fosforotioat sınıfına aittir. KP'in insan sağlığı üzerindeki riskleri üzerine, Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (USEPA) tarafından 2000 yılında evde kullanımı yasaklanmış olmasına rağmen günümüzde halen tarım, ev, bahçe ve çim alanlarındaki böcek ve eklem bacaklılarla mücadele amacıyla kullanılan geniş spektrumlu bir insektisiddir (Iyer ve ark 2008). KP, diğer OF bileşikler gibi Ake inhibisyonu ile memeli hayvanlara ait zehirlenmeden sorumludur (Mansour ve Mossa 2009). SOD, CAT, GPx gibi antioksidan enzimlerin KP tarafından önemli derecede etkilenmiş olabileceği ifade edilmiştir (Mansour ve Mossa 2010, Verma ve ark 2007). KP hücre içi oksidatif stresi indüklemeye ve serbest radikal üretiminde artışı içeren hücreler

üzerinde çeşitli etkilere sahiptir. Bu etkileri sonucunda da normal hücresel gelişim ve farklılaşmayı bozabileceği kanaatine varılmıştır (Bebe ve Panemangalore 2003).

Karotenoidler; bitkiler, bakteriler, algler ve mantarlar tarafından sentezlenen; hayvanlar ve insanlar tarafından sentez edilemeyip diyet aracılığıyla alınan, meyve ve sebzelere sarıdan kırmızıya kadar değişen renkleri veren pigmentli bileşiklerin bir ailesidir (Rao ve Rao 2007, Tapiero ve ark 2004). Likopen , domates (*Lycopersicon esculentum*) ve domates ürünlerinde doğal olarak bulunan bir karotenoiddir. Özellikle muhtemel kemoprotektif ajan olarak araştırmacıların dikkatini çekmiştir (Atessahin ve ark 2006, Turk ve ark 2007, Yılmaz ve ark 2006). Son zamanlarda, likopenin antioksidan etkileri araştırmaların odak noktası olmuştur (Yonar 2012, Ural 2013). Likopenin hipoglisemik etkilerinin olduğu ortaya konulmuştur (Mamdouh ve Fatma 2009). Likopenin hipoglisemik etkileri vücudun antioksidan yeteneğini artırmak, β hücrelerinin hasarını iyileştirmek, insülin salınımını uyarmak, insülinin etkisini geliştirmek gibi birkaç mekanizmaya bağlanabilir (Ali ve Agha 2009, El-Missiry ve El-Gindy 2000). Son yıllarda yapılmış çalışmalarda çeşitli antioksidanların KP ile indüklenen hasarı veya zehirliliğe bağlı bazı olumsuz durumları azaltıcı etkiye sahip olduğu ve vücuttaki antioksidan parametreleri koruduğu bulunmuştur (Ahmed ve ark 2010, Aly ve ark 2010, Shittu ve ark 2012, Uzun ve ark 2011). Ancak bugüne kadar kuvvetli bir antioksidan olan likopenin, KP ile indüklenen oksidatif hasar üzerinde nasıl bir etkiye sahip olduğu konusunda bir çalışma yapılmamıştır.

Bu çalışmada, organik fosforlu bileşiklerden klorprifos-etil'in normal ve diyabet oluşturulmuş ratlarda, meydana getirdiği oksidatif stres ve hiperglisemi üzerine likopenin etkilerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOD

Deney Hayvanı

Araştırmada kullanılan 3 aylık (200–300 g), 64 adet Wistar albino ırkı erkek ratlar, Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Ratların 8'i KP'in diyabetli ratlardaki dozunun belirlenmesi için yapılan ön çalışmada, 56'sı ise ana çalışmada kullanıldı. Ratların bakım ve beslemeleri çalışma boyunca $21 \pm 2^\circ\text{C}$ oda sıcaklığı, %55–60 nem ve 12:12 saatlik aydınlık-karanlık şartlarında gerçekleştirildi. Çalışma grubundaki ratlara standart rat yemi ve temiz içme suyu *ad libitum* verildi. Çalışma boyunca hayvanlara yapılacak tüm müdahaleler AKÜ Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu tarafından bildirilen kurallar

doğrultusunda, AKÜ Hayvancılık Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yapıldı.

Kimyasallar

KP (*klorprifos-etil, O,O-dietil-O-(3,5,6-triklor-2-piridil* olarak Dursban 4'ten; Dow Agrosiences, USA) mısır yağında, likopen (Redivivo %10 CWS/S-TG; DSM Nutritional Products, İstanbul, Türkiye) ise suda çözülürülerek stok solüsyon olarak hazırlandı. Diğer bütün kimyasallarda Sigma-Aldrich ürünleri kullanıldı.

Rat Yeminin Organik Fosforlu İnsektisid Yönünden Analizi

Çalışma için kullanılan standart rat yeminin OF insektisidler yönünden analizleri, Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nde LC-MS/MS cihazı ile gerçekleştirildi.

Tip 1 Diabetes Mellitus Modelinin Oluşturulması

Deneysel Tip 1 DM oluşturmak için STZ kullanılmıştır. Tip 1 DM oluşturulacak ratlar STZ enjeksiyonundan önce bir gece (12 saat) aç bırakıldı. Sodyum sitrat tamponunda (pH 4,5) taze hazırlanmış STZ çözeltisinden 50 mg/kg olacak şekilde tek doz halinde Pİ enjeksiyonla verilerek deneysel Tip 1 DM oluşturuldu. Enjeksiyondan 48 saat sonra ve çalışma boyunca her hafta ölçümden bir gece önce aç bırakılan ratların açlık kan şekeri (AKŞ) değerleri ölçüldü (Accu Check Go, Roche Müstahzarlar Sanayi A.Ş., İstanbul, Türkiye). Kan örneklerinde glikoz düzeyi 80-150 mg/dL arasında olanlar kontrol, 250 mg/dL ve üzerinde olanlar ise diyabetik grup olarak ayrıldı.

Ön Çalışma: Çalışmada Kullanılacak Klorprifos-etil ve Likopen Dozunun Belirlenmesi

Diyabetik ratlarda pestisid ile oluşturulan oksidatif hasarı ortaya koyan daha önce yapılmış araştırmaya rastlanmadığı için, oluşabilecek muhtemel aksaklıkları tespit etmek amacıyla çalışmaya başlamadan önce ön çalışma yapıldı. Ön çalışma için ayrılan 8 ratın öncelikle 4'ü kullanıldı. Tip 1 DM modeli protokolü uygulandı (Lei ve ark 2005). Bu ratlarda diyabet oluşması sağlandı. Mansour ve Mossa (2010), 4 hafta boyunca mısır yağında çözülürülerek oral gavaj ile verilen KP'in ÖD₅₀'sinin 1/20'si (6,75 mg/kg) olan dozunun diyabetik olmayan normal ratlarda ölüme yol açmaksızın oksidatif hasara, biyokimyasal ve histopatolojik değişikliklere neden olduğunu göstermişlerdir. Ön çalışmada bu doz referans alınarak diyabetik ratlara aynı şekilde uygulandı. Ön çalışmanın 2. gününde diyabetik 2 ratta ölüm diğer 2'sinde ise şiddetli zehirlenme belirtileri gözlemlendi. Yapılan literatür taramalarında KP'in median dozu olarak kabul edilen ÖD₅₀'sinin 1/50'si (2,7 mg/kg) düşünülerek, ön çalışma için ayrılan diğer 4 rata

uygulandı (Wang ve ark 2009). On gün süren uygulama sonunda deney hayvanlarında hiçbir ölüm gözlenmediğinden çalışmamızda da bu doz kullanıldı. Duzguner ve ark (2008) yaptıkları çalışmada, STZ ile Tip 1 DM modeli oluşturdukları ratlara oral gavaj ile 10 mg/kg dozunda verdikleri likopenin antioksidan ve hipoglisemik etkilerini ortaya koymuşlardır. Ana çalışmada bu doz referans alınarak 4 hafta boyunca deney gruplarına uygulandı.

Çalışma Grupları

On günlük bir adaptasyondan sonra, ratlar her grupta 7 adet olacak şekilde toplam 8 gruba rastgele ayrıldı. Grup 1'e kontrol grubu (K) olarak 28 gün boyunca 0,5 ml mısır yağı oral yolla verildi. Grup 2'deki (D) ratlar diyabet grubunu (50 mg/kg STZ) oluşturdu. Grup 3'teki (KP) ratlara 2,7 mg/kg KP, Grup 4'teki (L) ratlara 10 mg/kg L, Grup 5'teki (D+KP) diyabetik ratlara 2,7 mg/kg KP, Grup 6'daki (D+L) diyabetik ratlara 10 mg/kg L, Grup 7'deki (L+KP) ratlara eş zamanlı olarak 10 mg/kg L ile 2,7 mg/kg KP, Grup 8'deki (D+L+KP) diyabetik ratlara eş zamanlı olarak 10 mg/kg L ile 2,7 mg/kg KP 28 gün boyunca oral yolla verildi.

Canlı Ağırlık ve Açlık Kan Şekeri Ölçümleri

Deney hayvanlarında Tip 1 DM modeli oluşturulduktan sonra 4 haftalık çalışma süresince kontrol ve deney gruplarındaki tüm ratların haftada bir canlı ağırlıkları ve AKŞ ölçümleri yapıldı. Ölçümler öncesinde 12 saat boyunca aç bırakılan ratların canlı ağırlıkları elektronik terazi ile ölçüldü. Kuyruk venasından alınan 1 damla kan ile şeker ölçümleri Accu Check Go cihazı (Roche Müstahzarlar Sanayi A.Ş., İstanbul, Türkiye) yardımıyla yapıldı.

Örnek Toplama ve Analizi

Çalışmanın sonunda, 12 saat boyunca aç bırakılan ratlar 13 mg/kg ksilazin ve 87 mg/kg ketamin HCl enjeksiyonu ile anestezi altına alındı (Kaya 2006). Anestezi altında kalbe punksiyon yapılarak antikoagülanlı (K₃-EDTA) ve antikoagülanlı tüplere kanlar toplandı. Antikoagülanlı tüplere alınan kan örneklerinin 1 ml'si MDA ve GSH düzeylerinin tayininde kullanılmak üzere hiçbir işleme tabi tutulmadan tam kan olarak ayrıldı ve aynı gün taze olarak çalışıldı. Kanlar toplandıktan sonra 30 dakika içinde 3500 r/dakika (600 g) 15 dakika santrifüj edilerek eritrositler çöktürüldü. Plazma ve serum örnekleri ayrılarak -30°C'de 2 hafta saklandı. Ticari ELISA kitleri kullanılarak plazma örneklerinde SOD (Cat:706002, Cayman Chemical Company, Michigan, ABD), CAT (Cat:707002, Cayman Chemical Company, Michigan, ABD), GPx (Cat:703102, Cayman Chemical Company, Michigan, ABD), insülin (Cat:EZRMI-13K, EMD Millipore Corporation, Billerica, MA, ABD), Ake (Cat:CSB-

E11304r, Cusabio Biotech Co. Ltd., Çin), NO (Cat:780001, Cayman Chemical Company, Michigan, ABD) analizleri ile serum örneklerinde TNF- α (Cat:BMS622, eBioscience, SanDiego, CA, ABD) ve TAK (Cat:709001, Cayman Chemical Company, Michigan, ABD) analizleri ELISA cihazı (Multiscan Spectrum, Thermo Labsystem) yardımıyla; AST, ALT, glikoz analizleri ise COBAS test kitleri (Roche Diagnostics Systems, İstanbul, Türkiye) kullanılarak otoanalizörde gerçekleştirildi. MDA düzeyi ölçümü, Draper ve Hadley'in (1990) çift kaynatmalı tiyobarbitürik asit reaktivitesi metoduna göre yapıldı. Tam kanda GSH tayini Beutler ve ark.'nın (1963) metoduna göre yapıldı.

İstatistik Analiz

Araştırmadan elde edilen sonuçlar, SPSS 11.5 istatistik paket programında tek yönlü ANOVA testi uygulanarak yapıldı. İstatistiki fark bulunan sonuçlara Duncan testi uygulandı, veriler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edildi ($X\pm SD$). İstatistiki anlamlılık için $p < 0,05$ kabul edildi.

BULGULAR

Canlı Ağırlık Düzeyleri

Çalışma süresince ratlara ait ağırlık değişimleri Tablo 1'de gösterildi.

Grup içi canlı ağırlıklar incelendiğinde, sadece Grup 5 ve Grup 8'de 1. haftadan itibaren canlı ağırlık düzeylerinin başlangıca göre istatistikî anlamda ($p < 0,05$) düştüğü saptandı.

Tablo 1. Kontrol ve deneme gruplarındaki ortalama canlı ağırlık değişimleri (g).

Table 1. Mean values of live body weight changes in control and experimental groups (g).

Gruplar	Başlangıç	1. Hafta	2. Hafta	3. Hafta	4. Hafta
Grup 1 (K)	205,00 \pm 15,07	209,29 \pm 11,88	212,57 \pm 10,74	215,14 \pm 15,66	218,43 \pm 17,73
Grup 2 (D)	250,00 \pm 30,08	240,43 \pm 30,13	240,29 \pm 30,43	239,14 \pm 31,70	231,29 \pm 33,48
Grup 3 (KP)	234,67 \pm 31,70	240,50 \pm 36,80	246,67 \pm 36,88	252,83 \pm 35,66	256,50 \pm 35,00
Grup 4 (L)	205,14 \pm 9,00	207,71 \pm 8,20	210,14 \pm 12,03	212,29 \pm 18,95	217,57 \pm 19,88
Grup 5 (D+KP)	300,00 \pm 13,97 ^a	275,00 \pm 14,34 ^b	265,50 \pm 13,34 ^b	260,83 \pm 17,90 ^b	255,50 \pm 22,21 ^b
Grup 6 (D+L)	211,29 \pm 22,32	211,57 \pm 25,59	213,00 \pm 24,15	216,71 \pm 23,49	220,29 \pm 24,03
Grup 7 (L+KP)	233,86 \pm 17,99	239,00 \pm 19,97	239,29 \pm 19,97	246,43 \pm 19,92	253,71 \pm 20,04
Grup 8 (D+L+KP)	272,14 \pm 19,31 ^a	230,71 \pm 27,87 ^b	229,85 \pm 32,92 ^b	229,14 \pm 19,17 ^b	219,29 \pm 15,96 ^b

^{a, b}: Aynı satırda farklı harfler istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$).

K: Kontrol, D: Diabet, KP: Klorprifos-etil, L: Likopen.

Açlık Kan Şekeri Düzeyleri

Çalışmada ratlara ait AKŞ değişimleri ve istatistikî analizleri Tablo 2'de gösterildi.

Grup 3 ve Grup 5'te ortalama AKŞ düzeylerinin çalışmanın başlangıcından sonuna kadar olan 4 haftalık sürede kademeli olarak artış gösterdiği

görüldü. AKŞ'ndeki bu artışın Grup 3'te 4. haftadan, Grup 5'te ise 2. haftadan itibaren istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) olduğu belirlendi. Likopen verilen gruplardan Grup 6'da AKŞ'nin başlangıcına göre 3. haftadan, Grup 7 ve Grup 8'de ise 2. haftadan itibaren düşüşün istatistiksel olarak önemli ($p < 0,05$) olduğu tespit edildi.

Tablo 2. Kontrol ve deneme gruplarındaki ortalama açlık kan şekeri düzeyleri (mg/dL).

Table 2. Mean values of fasting blood glucose levels in the control and experimental groups (mg/dL).

Gruplar	Başlangıç	1. Hafta	2. Hafta	3. Hafta	4. Hafta
Grup 1 (K)	86,86 ± 3,13	89,57 ± 6,85	90,14 ± 5,73	85,71 ± 5,09	88,86 ± 6,04
Grup 2 (D)	374,14 ± 40,93	384,86 ± 41,64	389,14 ± 22,47	386,14 ± 21,16	386,57 ± 61,99
Grup 3 (KP)	82,33 ± 6,98 ^b	86,33 ± 7,81 ^b	88,50 ± 9,22 ^b	89,83 ± 6,27 ^b	101,00 ± 9,01 ^a
Grup 4 (L)	85,14 ± 2,48	85,71 ± 3,15	85,57 ± 3,64	84,86 ± 6,20	85,86 ± 4,60
Grup 5 (D+KP)	329,17 ± 37,97 ^c	354,00 ± 27,37 ^{bc}	400,17 ± 44,20 ^{ab}	409,83 ± 76,42 ^{ab}	432,50 ± 73,77 ^a
Grup 6 (D+L)	350,29 ± 90,18 ^a	316,86 ± 30,20 ^{ab}	313,00 ± 66,57 ^{ab}	279,14 ± 19,36 ^{bc}	248,57 ± 26,32 ^c
Grup 7 (L+KP)	98,00 ± 8,62 ^a	94,43 ± 8,24 ^a	84,71 ± 6,24 ^b	82,57 ± 4,08 ^b	77,28 ± 6,80 ^b
Grup 8 (D+L+KP)	436,57 ± 13,90 ^a	434,14 ± 71,60 ^a	370,86 ± 46,82 ^b	359,29 ± 50,16 ^b	340,43 ± 5,88 ^b

^{a, b, c}: Aynı satırda farklı harfler istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$).

K: Kontrol, D: Diabet, KP: Klorprifos-etil, L: Likopen.

MDA ve GSH Düzeyleri

MDA ve GSH düzeylerine diyabet, klorprifos-etil ve bunların kombinasyonları üzerine likopenin etkileri Tablo 3'te gösterildi.

Grup 2 ve Grup 5'te tam kan MDA düzeylerinin önemli oranda arttığı, bu grupların Grup 1, Grup 4 ve Grup 6 gruplarla aralarında istatistikî açıdan önemli ($p < 0,05$) bir fark oluştuğu belirlendi. Grup 2'deki diyabetik hayvanlara likopen verilmesi, Grup 2 ile Grup 6 karşılaştırıldığında tam kan MDA düzeyini anlamlı ($p < 0,05$) şekilde azalttığı ve kontrol MDA düzeyine yaklaştırdığı gözlemlendi. KP ve D+KP gruplarına likopen verilmesi, Grup 7 ve Grup 8 de görüldüğü üzere tam kan MDA düzeylerini azaltsada aralarında istatistikî açıdan herhangi bir fark oluşmadığı belirlendi.

Grup 5 ve Grup 8'de tam kan GSH düzeylerinin önemli oranda ($p < 0,05$) azaldığı belirlendi. Sadece D grubu likopen verilmesinin tam kan GSH düzeyini anlamlı ($p < 0,05$) şekilde yükselttiği ve kontrol grubuna yaklaştırdığı gözlemlendi.

Tablo 3. Kontrol ve deneme gruplarındaki ortalama MDA ve GSH düzeyleri.

Table 3. Mean values of MDA and GSH levels in the control and experimental groups.

Gruplar	MDA (nmol/mL)	GSH (mg/dL)
Grup 1 (K)	6,12 ± 0,68 ^c	31,72 ± 2,87 ^a
Grup 2 (D)	10,03 ± 1,26 ^a	24,24 ± 1,70 ^{cd}
Grup 3 (KP)	9,23 ± 1,78 ^{ab}	26,82 ± 3,26 ^{bc}
Grup 4 (L)	6,92 ± 1,35 ^c	31,50 ± 4,07 ^a
Grup 5 (D+KP)	10,15 ± 1,37 ^a	20,33 ± 3,68 ^e
Grup 6 (D+L)	7,65 ± 1,59 ^{bc}	28,82 ± 2,48 ^{ab}
Grup 7 (L+KP)	8,95 ± 2,09 ^{ab}	27,47 ± 5,52 ^{bc}
Grup 8 (D+L+KP)	9,70 ± 2,73 ^{ab}	22,90 ± 2,07 ^{de}

^{a, b, c, d, e}: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$)

K: Kontrol, D: Diabet, KP: Klorprifos-etil, L: Likopen
MDA: Malondialdehid, GSH: İndirgenmiş glutatyon.

SOD, CAT, GPx ve TAK Düzeyleri

SOD, CAT, GPx ve TAK düzeylerine diyabet, klorprifos-etil ve bunların kombinasyonları üzerine likopenin etkileri Tablo 4'te gösterildi.

Grup 1, diğer gruplarla (Grup 4 hariç) karşılaştırıldığında plazma SOD ve CAT düzeyleri bakımından istatistiksel anlamda ($p<0,05$) fark

bulundu. Sadece Grup 2'deki D hayvanlara likopen verilmesi, SOD ve CAT düzeylerini anlamlı ($p<0,05$) şekilde yükselttiği gözlemlendi. Yine benzer şekilde sadece Grup 2'deki D hayvanlara likopen verilmesi plazma GPx ve serum TAK düzeylerini yükseltmiş olup, aralarındaki farkın anlamlı ($p<0,05$) olduğu görüldü.

Tablo 4. Kontrol ve deneme gruplarındaki ortalama SOD, CAT, GPx ve TAK düzeyleri.

Table 4. Mean values of SOD, CAT, GPx and TAC levels in the control and experimental groups

Gruplar	SOD (U/mL)	CAT (nmol/dk/mL)	GPx (nmol/dk/mL)	TAK (mM)
Grup 1 (K)	51,03 ± 3,11 ^a	889,46 ± 60,94 ^a	39,23 ± 4,80 ^a	6,05 ± 1,18 ^a
Grup 2 (D)	41,00 ± 5,29 ^d	357,97 ± 28,84 ^d	30,41 ± 3,05 ^{cd}	4,02 ± 0,93 ^{cd}
Grup 3 (KP)	41,52 ± 3,15 ^{cd}	548,55 ± 17,08 ^{bc}	30,12 ± 6,05 ^{cd}	3,78 ± 1,17 ^{cd}
Grup 4 (L)	50,18 ± 5,40 ^{ab}	887,27 ± 71,70 ^a	39,10 ± 4,37 ^a	6,02 ± 1,35 ^a
Grup 5 (D+KP)	38,57 ± 6,40 ^d	300,51 ± 21,35 ^e	26,85 ± 4,75 ^d	3,10 ± 0,78 ^d
Grup 6 (D+L)	46,06 ± 3,41 ^{bc}	537,93 ± 27,20 ^c	36,09 ± 3,46 ^{ab}	5,52 ± 1,30 ^{ab}
Grup 7 (L+KP)	43,45 ± 2,70 ^{cd}	589,82 ± 34,29 ^b	33,65 ± 6,05 ^{bc}	4,67 ± 0,98 ^{bc}
Grup 8 (D+L+KP)	40,06 ± 3,65 ^d	320,37 ± 29,36 ^{de}	28,64 ± 4,41 ^{cd}	3,26 ± 0,78 ^d

^{a, b, c, d, e}: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$).

K: Kontrol, D: Diyabet, KP: Klorprifos-etil, L: Likopen.

SOD: Süperoksit dismutaz, CAT: Katalaz, GPx: Glutasyon peroksidaz, TAK :Total antioksidan kapasite.

İnsülin, Ake, NO ve TNF- α Düzeyleri

İnsülin, Ake, NO ve TNF- α düzeylerine diyabet, klorprifos-etil ve bunların kombinasyonları üzerine likopenin etkileri Tablo 5'te gösterildi.

İnsülin düzeylerinin Grup 5'de en az, Grup 4'de ise en yüksek olmasına rağmen, Grup 2 ve Grup 3'deki KP uygulanmış hayvanlara likopen uygulamasının plazma insülin düzeylerini istatistikî anlamda artırdığı ($p<0,05$) ve sadece Grup 6 ve 7'de plazma insülin düzeylerini kontrol grubu seviyelerine kadar yükselttiği belirlendi. Benzer şekilde Grup 2'deki D ve Grup 3'te KP uygulanmış hayvanlara likopen verilmesi, plazma Ake düzeylerini istatistikî anlamda artırdığı ($p<0,05$), Grup 6 ve 7'de likopenin plazma Ake düzeylerini kontrol grubu seviyelerine kadar yükselttiği belirlendi.

Grup 5 en yüksek NO düzeyine sahip olmasına rağmen, sadece Grup 2'deki D hayvanlara likopen verilmesinin plazma NO düzeylerini önemli ölçüde azalttığı ($p<0,05$) görüldü. TNF- α düzeylerinin ise Grup 1'de en düşük, Grup 5'de ise en yüksek olduğu; ancak, Grup 2'deki D ve Grup 3'teki KP uygulanmış hayvanlara likopen uygulamasının serum TNF- α düzeylerini istatistikî anlamda azalttığı ($p<0,05$) ve sadece Grup 6 ve 7'de likopenin serum TNF- α düzeylerini kontrol grubu seviyelerine kadar düşürdüğü belirlendi.

Tablo 5. Kontrol ve deneme gruplarındaki ortalama insülin, AChE, NO ve TNF- α düzeyleri.**Table 5.** Mean values of insulin, AChE, NO and TNF- α levels in the control and experimental groups.

Gruplar	İnsülin (ng/mL)	AChE (ng/mL)	NO (μ mol)	TNF- α (pg/mL)
Grup 1 (K)	0,45 \pm 0,09 ^a	42,25 \pm 10,49 ^a	14,31 \pm 5,66 ^c	246,51 \pm 19,77 ^c
Grup 2 (D)	0,26 \pm 0,05 ^b	22,0 \pm 4,19 ^b	28,30 \pm 6,65 ^{bc}	283,79 \pm 25,03 ^b
Grup 3 (KP)	0,32 \pm 0,07 ^b	24,36 \pm 3,69 ^b	23,69 \pm 6,82 ^{cd}	281,98 \pm 25,60 ^b
Grup 4 (L)	0,49 \pm 0,13 ^a	42,02 \pm 8,21 ^a	14,39 \pm 4,20 ^c	246,90 \pm 16,02 ^c
Grup 5 (D+KP)	0,22 \pm 0,03 ^b	3,44 \pm 0,87 ^c	36,56 \pm 5,78 ^a	341,67 \pm 43,03
Grup 6 (D+L)	0,41 \pm 0,14 ^a	37,15 \pm 5,55 ^a	17,63 \pm 5,60 ^{de}	251,83 \pm 17,48 ^c
Grup 7 (L+KP)	0,43 \pm 0,06 ^a	38,60 \pm 4,24 ^a	20,15 \pm 4,63 ^{de}	250,50 \pm 20,83 ^c
Grup 8 (D+L+KP)	0,24 \pm 0,03 ^b	4,38 \pm 0,72 ^c	32,30 \pm 4,82 ^{ab}	334,13 \pm 27,26 ^a

^{a, b, c, d, e}: Aynı sütündeki farklı harfler istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$).

K: Kontrol, D: Diabet, KP: Klorprifos-etil, L: Likopen.

AChE : Asetilkolinesteraz, NO: Nitrik oksid; TNF- α : Tümör nekrozis faktör- α .

AST, ALT ve Glikoz Düzeyleri

AST, ALT ve glikoz düzeylerine diyabet, klorprifos-etil ve bunların kombinasyonları üzerine likopenin etkileri Tablo 6'da gösterildi.

AST, ALT ve glikoz düzeylerinin Grup 2'deki D ve Grup 3'deki KP uygulanmış hayvanlara likopen verilmesi, serum AST, ALT ve glikoz düzeylerini önemli oranda düşürdüğü ($p < 0,05$) belirlendi.

Tablo 6. Kontrol ve deneme gruplarındaki ortalama AST, ALT ve glikoz düzeyleri.**Table 6.** Mean values of AST, ALT and glucose levels in the control and experimental groups.

Gruplar	AST (U/L)	ALT (U/L)	Glikoz (mg/dL)
K	97,43 \pm 20,26 ^d	64,71 \pm 13,83 ^d	104,43 \pm 16,90 ^f
D	263,00 \pm 44,63 ^b	171,00 \pm 25,84 ^b	520,29 \pm 27,15 ^b
KP	176,00 \pm 18,57 ^c	171,83 \pm 20,87 ^b	200,67 \pm 22,11 ^d
L	97,57 \pm 14,09 ^d	64,86 \pm 7,88 ^d	115,43 \pm 22,42 ^f
D+KP	354,33 \pm 31,32 ^a	235,50 \pm 25,65 ^a	577,17 \pm 38,43 ^a
D+L	176,29 \pm 40,29 ^c	123,14 \pm 23,53 ^c	470,0 \pm 34,98 ^c
L+KP	123,86 \pm 23,83 ^d	78,43 \pm 11,04 ^d	160,29 \pm 28,06 ^e
D+L+KP	323,00 \pm 66,96 ^a	226,88 \pm 16,53 ^a	567,7 \pm 36,37 ^a

^{a, b, c, d, e, f}: Aynı sütündeki farklı harfler istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$).

K: Kontrol, D: Diabet, KP: Klorprifos-etil, L: Likopen.

AST: Aspartat aminotransferaz, ALT: Alanin aminotransferaz.

TARTIŞMA

Deneysel diyabet modelleri; diyabetin komplikasyonlarının incelenmesi ve bunlara yönelik tedavi yaklaşımlarının belirlenmesinde önemli bir yer tutmaktadır (Yegin ve ark 2013). STZ geniş spektrumlu bir antibiyotik olup, insülin salgılayan pankreasın β hücrelerinde harabiyet yaparak deney hayvanlarında Tip 1 DM oluşturmaktadır (Altan ve ark 2006, Lenzen 2008). Bu çalışmada da diyabetojenik ilaç olarak STZ kullanılmıştır.

Tip 1 diyabet modeli oluşturulduktan sonra, 4 haftalık çalışma süresince ratların canlı ağırlık düzeyleri incelendi. Yapılan çalışmalarda KP'e maruz kalan ratların canlı ağırlıklarının arttığı vurgulandığı (Ambali 2009, Ambali ve ark 2010, Icenogle ve ark 2004, Lassiter ve Brimijoin 2008) gibi, aksine KP maruziyetinin canlı ağırlığı azalttığına dair çalışmalar da mevcuttur (Acker ve ark 2012, Karanth ve Pope 2003, Tripathi ve Srivastav 2010). Ortaya çıkan bu farklı sonuçların KP'in beyin içindeki serotonin düzeylerini değiştirmesinden buna bağlı olarak da meydana gelen iştah bozukluklarından kaynaklanabileceği belirtilmiştir (Lowinson ve ark 2005). Dyer (2011) yaptığı bir çalışmada ise ratlara 7 hafta boyunca uygulanan düşük doz (1 mg/kg) ve yüksek doz (5 mg/kg) KP'in canlı ağırlıklarda herhangi bir değişikliğe yol açmadığını ortaya koymuştur.

Sağlıklı ve diyabetli ratlarda değişik dozlarda kullanılan likopenin canlı ağırlık üzerinde herhangi bir farklılığa yol açmadığı gözlenmiştir (Aydın ve Çelik 2012, Mellert ve ark 2002). Ancak, Duzguner ve ark (2008) yaptıkları çalışmada 10 mg/kg dozda uygulanan likopenin diyabetik ratlarda meydana gelen canlı ağırlıktaki azalmayı önlediğini belirtmişlerdir. Diyabetik hayvanlarda genelde görülen canlı ağırlık kaybı, bu çalışmada da kısmen görülmüş fakat bu istatistikî anlamlılık değerlerine ulaşmamıştır.

Bu çalışmada, haftalara göre grup içi canlı ağırlık değişimleri incelendiğinde; ratlara uygulanan likopenin ve KP'in canlı ağırlık değişimleri üzerinde bir etkisinin olmadığı, D+KP ve D+L+KP gruplarında ise çalışmanın başlangıcında ölçülen canlı ağırlık değerlerinin 1. haftada düştüğü belirlendi. Bu gruplarda meydana gelen canlı ağırlıktaki azalmanın, hücrelerin ihtiyaç duyduğu glikozu lipoliz ve glukoneojenez yoluyla elde etmesinin bir sonucu olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca KP'in toksik metaboliti olan klorprifos-oksonun, stres hormonlarının düzenlenmesinde rol oynayan kolesteril ester hidrolazı engellediği gösterilmiştir (Civen ve ark 1977). Daha önce yapılan çalışmada tekrarlanan dozlarda verilen KP'in adrenal kortekse bulunan zona fasikülatada vaskuolizasyona neden

olduğu belirtilmiştir (Yano ve ark 2000). Adrenal korteksin bu bölgesi, strese aralıklı ve uzun süreli verilen cevaplar için gerekli hormonlar olan kortizol ve kortikosteronun üretilmesinden sorumludur. Bu nedenle D+KP grubunda meydana gelen canlı ağırlık kaybının, KP'in oksidatif, toksik ve kolinerjik stres gibi birçok yan etkilerinin bir kombinasyonu sonucu olabileceği düşünülmektedir.

Farklı deneysel hayvan modellerinde OF insektisidlerin tek ve tekrarlanan dozlarının kan glikoz düzeyini arttırdığı birçok çalışmada vurgulanmıştır (Abdollahi ve ark 2004b, Kamath ve Rajini 2007, Panahi ve ark 2006, Pournourmohammadi ve ark 2005). Ambali de (2009) en çok kullanılan OF insektisidlerden birisi olan KP'in hiperglisemiye neden olduğunu belirtmiştir. Duzguner ve ark (2008) likopenin, STZ ile diyabet oluşturulan ratlarda plazma glikoz düzeyi artışını yaklaşık %25 oranında azalttığını belirtmişlerdir. Yine Aydın ve Çelik (2012) yaptıkları çalışmada diyabetik ratlarda AKŞ düzeyi artışını likopenin önemli oranda düşürdüğünü göstermişlerdir. Benzer şekilde Uchiyama ve Yamaguchi (2005) bir karotenoid olan β -kriptoksantin, STZ ile diyabet oluşturulmuş ratlarda plazma glikoz düzeyini azalttığını tespit etmişlerdir. Çalışmamızda da D+KP ve KP gruplarının ortalama AKŞ düzeylerinin artış gösterdiği, likopenin verilen gruplarda (D+L, D+L+KP ve L+KP) ise AKŞ düzeyinin azaldığı görüldü. OF insektisidlerin insülin aktivitesini engelleyerek ve glukagon aktivitesini uyararak glikojenoliz ve glukoneojenezi artırabileceği bu nedenle de hiperglisemiye neden olabilecekleri düşünülmektedir. Bu sonuç; likopenin, diyabetik ve KP verilmiş gruplarda serbest radikal artışına bağlı olarak ortaya çıkan oksidatif hasarı önlemiş ya da azaltmış olabileceği ve artmış olan glikojenoliz ile glukoneojenezi tersine çevirebileceği şeklinde yorumlanabilir.

MDA, çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonun başlıca oksidasyon ürünlerinden birisidir (Mansour ve Mossa 2010) ve bu yüzden MDA içeriği, LPO düzeyinin değerlendirilmesinde kullanılır (Messarah ve ark 2010). Daha önce yapılmış birçok çalışmada KP uygulanan rat ve farelerde MDA düzeylerinin arttığı, kullanılan çeşitli antioksidanların ise MDA düzeyi artışını düşürdüğü belirlenmiştir (Aly ve ark 2010, Demir ve ark 2011, Mansour ve Mossa 2009, Saxena ve ark 2011, Uzun ve Kalender 2013). Bu çalışmada da sadece KP verilen grup ile KP verilen diyabetik gruptaki MDA düzeyi, KP'in hücre membranlarındaki yan etkilerine bağlı olarak kontrol grubuna göre kıyaslandığında artmıştır. Sadece KP verilen grup ile KP verilen diyabetik gruplara likopenin verilmesi, MDA düzeyini azaltsa da istatistikî anlamda önemli olmadığı

belirlendi. Diyabetik ratlarda MDA düzeyi artışı likopenin düşürdüğünü gösteren çalışmalar mevcuttur (Ali ve Agha 2009, Aydın ve Çelik 2012, Duzguner ve ark 2008, Zhu ve ark 2011). Bu çalışmada da diyabetik grupta MDA düzeyi, kontrol grubuna göre kıyaslandığında artmıştır. Diyabetik gruptaki MDA düzeyinin artmış olması, hiperglisemi kaynaklı glikoz otooksidasyonunu ve glikolize proteinlerin LPO'yu artırdığını göstermektedir. Likopen verilen diyabetik grupta MDA düzeyinin önemli oranda düştüğü görüldü. Likopenin, kan glikoz düzeyini düşürerek hiperglisemi kaynaklı glikoz otooksidasyonu ile glikolize proteinlerin oluşumunu önlediği ve böylelikle LPO düzeyini düşürdüğü düşünülmektedir.

GSH, nonenzimatik antioksidan olarak vücudun antioksidan savunma sisteminde önemli görevler üstlenir. Ayrıca GPx'in ko-substratı olduğu gibi direkt olarak serbest radikalleri temizlemede de rol oynar. Aynı zamanda hücre içi redoks tampon sisteminin de ana bileşeni olup, pestisidler gibi ksenobiyotikler ile reaksiyona girerek kompleks formlar oluştururlar. GSH'nin bu şekilde hücreleri ksenobiyotiklerin toksik etkilerinden korunduğu bildirilmiştir (Chhabra ve ark 1993, Johansen ve ark 2005). Oksidatif stres durumlarında artmış LPO'ya bağlı olarak meydana gelen peroksitlerin detoksifikasyonunda görev alan enzimler tarafından GSH tüketildiği ifade edilmiştir (Cathcart 1985). Birçok çalışmada KP'e maruz kalan hayvanlarda (Goel ve ark 2005, Verma ve ark 2007, Yu ve ark 2008) ve STZ ile DM oluşturulan hayvanlarda (Aksoy ve ark 2005, Aydın ve Çelik, 2012, Düzgüner 2005, Kağa 2006) GSH'un tüketildiği, çeşitli antioksidanlar kullanılarak GSH düzeylerinin artırılabilirliği ortaya konulmuştur. Bu araştırmada da bu sonuçlara benzer şekilde diyabetik grup, sadece KP verilen grup ile KP verilen diyabetik gruptaki GSH düzeyi kontrol grubuna göre kıyaslandığında azalmıştır. Daha önce yapılan çalışmalara benzer şekilde likopen verilen diyabetik grupta GSH düzeyinin önemli oranda arttığı görüldü. Likopenin güçlü antioksidan etkisiyle serbest radikalleri ve peroksitleri temizleyerek diyabetik ratlarda GSH düzeyini yükselttiği düşünülmektedir.

Normal fizyolojik şartlarda SOD, CAT, GPx gibi hücre içi antioksidan enzimler reaktif oksijen türlerini (ROT) ortadan kaldırarak hücrelerin antioksidan savunma sisteminde bütünleyici bir rol oynarlar (Bukowska 2004). SOD, süperoksit radikallerini H₂O₂'e dönüşümünü katalize ederken, CAT H₂O₂'i suya dönüştürür. Bu antioksidan enzimler bu yüzden ROT'nin toksik etkilerini azaltabilir (Mansour ve Mossa 2009). GPx'in en önemli görevi, GSH'un substratı olarak kullanılmasıdır. Bu şekilde kullanılarak eriyebilir H₂O₂'i ve alkil peroksitleri azaltır (Bebe ve Panemangalore 2003). GPx aynı

zamanda H₂O₂'i suya ayırıştırır (Tian ve ark 1998). GPx aktivitesindeki azalma GSH'un tüketilmesiyle ilişkilidir. Bunun sonucunda da oksidatif stres meydana gelebilir. Demir ve ark (2011) yaptıkları çalışmada KP verilen grupta eritrosit SOD, CAT ve GPx aktivitelerinde azalma olduğunu, kateşin ve kuersetin gibi flavonoid antioksidanların KP tarafından oluşturulan oksidatif stresi önlediğini saptamışlardır. Benzer şekilde, Mansour ve Mossa (2009) yaptıkları çalışmada KP verilen grupta eritrosit SOD ve CAT aktivitelerinde azalma olduğunu, çinkonun KP tarafından oluşturulan oksidatif stresi önlediğini öne sürmüşlerdir. DM'un SOD, CAT, GPx gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerine etkisi konusunda çelişkili ifadeler bulunmaktadır. Can (2003) yaptığı bir çalışmada eritrosit GPx ve CAT aktivitelerinde diyabetik grupta kontrol grubuna göre değişiklik saptamazken, eritrosit SOD enzim aktivitesinde anlamlı bir azalma bildirmiştir. Aydın ve Çelik (2012) ise plazma SOD ve CAT aktivitelerinin D ve D+L gruplarında arttığını, GPx aktivitesinin ise D grubunda azaldığını, D+L grubunda ise arttığını tespit etmişlerdir. Duzguner ve ark (2008) ise K, D ve D+L olmak üzere 3 grubu plazma SOD aktiviteleri bakımından karşılaştırmış, gruplar arasında bir farklılık olmadığını belirtmişlerdir.

TAK ölçümü, antioksidanların tek tek ölçümünden daha değerli bilgiler verebilir. Plazma ve vücut sıvılarında bulunan bütün antioksidanların toplam etkisini antioksidan aktivite yansıtır. Bu yüzden kanın antioksidan durumunu saptamada bireysel antioksidanlar yerine bunların toplam antioksidan değerini veren antioksidan aktivite ölçümü kullanılmaktadır. Ayrıca TAK, serumda bulunan antioksidan özellikli maddelerin toplam aktivitesini yansıttığı için daha doğru bir yaklaşım sağlamaktadır (Ching ve ark 2002). STZ ile deneysel diyabet oluşturulmuş hayvanlarda ve diyabetli kişilerde bireysel antioksidanların yıkımı ve TAK düzeyinin azalması, diyabet ile oksidatif stres arasındaki ilişkiyi doğrulamaktadır (Laight ve ark 2000). Mamdouh ve Fatma (2009) yaptıkları çalışmada diyabetik grupta TAK düzeyinin kontrol grubuna göre %75 oranında azaldığını, 10, 30, 60 ve 90 mg/kg dozunda 30 gün boyunca uygulanan likopenin TAK düzeyini diyabetik gruba göre sırasıyla %19, %37,5, %81 ve %160 oranlarında artırdığını göstermişlerdir. El-Banna ve ark (2009) ise ratların dekapitasyonundan 24 saat önce oral yolla tek doz uygulanan KP'in düşük doz (5,4 mg/kg) ve yüksek doz (13,5 mg/kg) gruplarında TAK düzeyinin kontrol grubuna göre önemli oranda azaldığını, bu gruplara 15 gün boyunca verilen sarımsağın ise KP verilen gruplara göre TAK düzeylerini normal haline getirdiğini belirtmişlerdir.

Bu çalışmada SOD, CAT, GPx ve TAK aktiviteleri bakımından gruplar karşılaştırıldığında diyabetik

grup, sadece KP verilen grup ile KP verilen diyabetik gruptaki antioksidan enzim aktivitelerinin kontrol grubuna göre kıyaslandığında önemli oranda azaldığı görüldü. Bu durum, diyabetik ve KP uygulanan gruplarda artan süperoksit radikallerin suya dönüşümü esnasında SOD enziminin, serbest radikallerin ve H₂O₂'in parçalanması işlemleri esnasında ise CAT ve GPx enzimlerinin doyumluğa ulaştığı ve zamanla aktivitelerinde azalma olduğu şeklinde yorumlanabilir. Likopen verilen diyabetik gruptaki SOD, CAT, GPx ve TAK aktiviteleri diyabet grubuna göre kıyaslandığında önemli oranda yükselmiştir. Bu durum likopenin, tekli oksijen ve serbest radikalleri temizlemede güçlü antioksidan etkisine bağlanabilir.

NO bazı durumlarda bir antioksidan gibi davranarak hücreyi LPO'ten korur. Bununla birlikte süperoksit düzeylerinin arttığı durumlarda süperoksitle reaksiyona girer ve bir prooksidan olan peroksinitrit oluşturur (Praticò 2005). Zhou ve ark (2002), akut OF insektisid zehirlenmesi görülen hastalarda plazma NO düzeylerinin arttığını göstermişlerdir. Benzer şekilde Gupta ve ark (2001), OF insektisid ve karbamat pestisidlerin sitrulin düzeylerinin artışı ile ilgili olarak rat beyin NO düzeylerinde önemli bir artışa neden olduğunu rapor etmişlerdir. Yakın zamanda yapılan bir diğer çalışmada da KP uygulanan ratların karaciğer NO düzeylerinin önemli oranda arttığı gösterilmiştir (Elelaımy ve ark 2012). Ayrıca 3 ve 14 gün 2,5, 5 ve 25 mg/kg dozda ratlara oral yolla uygulanan KP'in plazma NO düzeylerini önemli derecede arttığı bildirilmiştir (Alvarez ve ark 2008). Benzer şekilde bu çalışmada da sadece KP ve D+KP gruplarında NO düzeyi, kontrol grubuna göre kıyaslandığında artmıştır. Bu gruplara likopen verilmesi, NO düzeyini azaltsa da bu istatistikî anlamda önemli bulunmamıştır.

Diyabette görülen endotel fonksiyon bozukluklarından endoteldeki NO üretiminin azalması sorumlu tutulmaktadır (Xia ve ark 2006). Ancak diyabette NO'nun artmış olduğunu rapor eden araştırmacılar da vardır (Abou-Seif ve Youssef 2004, Anwar ve Meki 2003, Astaneie ve ark 2005). Aydın ve Çelik (2012) yaptıkları çalışmada diyabet grubunda artan plazma NO düzeyinin, likopen verilen diyabet grubunda azaldığını hatta kontrol grubu değerlerine ulaştığını belirtmişlerdir. Duzguner ve ark (2008)'nın yaptıkları kısa süreli diyabet çalışmasında da artan NO düzeyinin likopen verilen diyabet grubunda kontrol grubu değerlerine yaklaştığı belirlenmiştir. Bu çalışmada da yapılan çalışmalara benzer şekilde diyabet grubunda NO düzeyinin kontrol grubuna göre önemli oranda arttığı, likopen verilen diyabet grubunda NO düzeyinin azalarak kontrol grubu değerlerine yaklaştığı görülmüştür. DM ve beraberinde ortaya çıkan hiperglisemi durumunda, artmış olan serbest radikaller ve NO'nun reaksiyona

girerek β hücrelerinin yıkılmasında rol oynayan peroksinitritlerin oluşabileceği, likopenin ise hiperglisemi durumunu normal düzeylerine getirerek serbest radikaller ve NO düzeyini azaltabileceği düşünülmektedir.

OF insektisidlerin insülin salınımını engellediğine dair yapılan bir çalışmada diazinonun, izole edilmiş rat pankreas adacıklarında glikoz ile uyarılmış insülin salınımını engellediği belirlenmiştir (Pourkhalili ve ark 2009). Abdollahi ve ark (2004b) elle toplanmış pankreas adacıklarına 4 hafta boyunca 200 ve 400 ppm miktarında uygulanan malatyonun glikoz ile uyarılmış insülin salınımını %69,6'ya kadar varan oranda azalttığını göstermişlerdir. İn vitro yapılan bir diğer çalışmada ise KP'in pankreas adacıklarında apoptoz ve nekroza yol açarak pankreatik insülin içeriğinde önemli oranda azalmaya, bunun sonucunda da hiperglisemiye neden olduğu vurgulanmıştır (Yan 2010). Bu çalışmada KP verilen grupta plazma insülin düzeyinin düştüğü ve serum glikoz düzeyinin yükseldiği gözlenirken likopen verilmesi, plazma insülin düzeyini arttırmış, serum glikoz düzeyini ise düşürmüştür. Bu sonuçlara göre KP'in pankreasta proinsülini insüline dönüştüren enzimlere zararlı etkileri olabileceği (Yan 2010), likopenin ortaya çıkan bu zararlı etkileri tersine çevirebileceği düşünülmektedir.

Pankreatik β hücrelerinin antioksidan yeterliliği diğer dokulara nazaran daha düşük olduğu için STZ'nin pankreatik β hücreleri hasara uğratması imkan dahilindedir. Bu yüzden pankreatik β hücreleri oksidatif strese genel olarak duyarlıdır (Tiedge ve ark 1997). Bunun sonucunda da insülin gen transkripsiyonu ve glikoz ile uyarılmış insülin salınımının baskılanması ve hatta apoptoz meydana gelmektedir (Kaneto ve ark 2001). Bu olaylar dizisi, insülin salınım oranı ve plazma insülin konsantrasyonunda önemli oranda azalma ile sonuçlanır ki; hiperglisemi olarak bilinen klinik durum meydana gelir. Bu çalışmada da, STZ ile diyabet oluşturulan grupta plazma insülin düzeylerinde azalma ve serum glikoz düzeylerinde artış gözlemlendi. D grubuna likopen verilmesi, meydana gelen insülin düzeylerinde artış ve glikoz düzeylerinde azalma, likopenin β hücrelerinde mevcut insülin salınımı üzerine muhtemel olumlu bir etkisinin olabileceğini düşündürmüştür. Nitekim yapılan bir çalışmada da, gittikçe artan dozlarda verilen likopenin dozuna bağımlı olarak pankreas dokusundaki insülin düzeyinde de bir artış olduğu ortaya konulmuştur (Mamdouh ve Fatma 2009). Aydın ve Çelik (2012) yaptıkları çalışmada diyabet grubu insülin düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük tespit etmiş, likopen verilen diyabetik ratlarda ise plazma insülin düzeylerinin kontrol grubu değerlere ulaşmamış olsa da anlamlı şekilde yükseldiğini belirtmişlerdir.

KP gibi OF insektisidlerin şiddetli bir şekilde sitokin sentezini uyardığı rapor edilmiştir (Gordon ve Rowsey 1999, Rowsey ve Gordon 1999). Ayrıca KP'e bağlı pankreatitisin bir sonucu olarak pankreas içerisinde monosit ve lökosit infiltrasyon düzeylerinin yükselmesi, TNF- α gibi yangısal mediyatörlerin artışı bildirilmiştir (Yan 2010). Bu çalışmada da, KP uygulanan grubun serum TNF- α düzeyinin kontrol grubuna göre önemli bir artış gösterdiği, likopen ilavesinin ise serum TNF- α düzeyinin kontrol grubu seviyelerine kadar azaldığı belirlenmiştir. Bu sonuçla likopenin, KP tarafından oluşturulan yangısal doku hasarını azaltabileceği düşünülmektedir.

TNF- α gibi yangısal sitokinlerin oksidatif ve nitrozatif stresin yanı sıra hiperglisemi durumunda da düzeylerinin arttığı belirtilmiştir (Fukuhara ve ark 2007, Kowluru ve Kanwar 2007). TNF- α , Tıp 1 diyabetin patogeneğinde önemli bir rol oynayabileceği gibi insülin direncinin gelişiminde de katkısı bulunabilir (Alexandraki ve ark 2008). Kontrol altına alınamamış diyabette TNF- α düzeylerinde önemli bir artış rapor edilirken (Sharma ve ark (2007), likopeninde TNF- α düzeylerini azalttığı gösterilmiştir (Kuhad ve ark 2008b, Li ve ark., 2007, Riso ve ark 2006). Kuhad ve ark (2008a) STZ ile diyabet oluşturulmuş ratlarda serum TNF- α düzeylerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 8 katı artış gösterdiğini, likopenin serum TNF- α düzeyini önemli oranda azalttığını ve likopenin tek başına ise serum TNF- α düzeylerini etkilemediğini belirtmişlerdir. Yapılan çalışmalara benzer şekilde diyabetik grupta serum TNF- α düzeylerinin kontrol grubuna göre önemli bir artış gösterdiği, likopen uygulanan diyabetik grupta ise serum TNF- α düzeylerinin kontrol grubu seviyelerine kadar azaldığı görüldü. Bu durum likopenin hiperglisemi durumunu düzelterek yangısal cevapları azaltabileceği şeklinde yorumlanabilir.

AkE'lerin engellenmesi ile OF insektisidler tarafından oluşturulan zehirlik belirtileri arasında doğrudan bir ilişki vardır. Yapılan birçok çalışmada (Ahmed ve Zaki 2009, El-Banna ve ark 2009, Mansour ve Mossa 2009, Mansour ve Mossa 2010), KP verilen ratların ölçülen kan örneklerinde AkE düzeylerinin kontrol grubuna göre önemli oranda azaldığı, kullanılan çeşitli antioksidanların ise AkE düzeylerini yükselttiği belirlenmiştir. Bu çalışmada da, KP verilen grupta plazma AkE düzeyinin kontrol grubu ile kıyaslandığında önemli oranda azaldığı, likopen ilavesinin ise azalmış AkE düzeyini kontrol grubu düzeyine kadar yükselttiği görülmüştür. Bu sonuçla likopenin, fosforilasyonda kullanılmayan AkE enzimini oluşturmada bir etkisinin olabileceği, böylece KP'in nörotoksik etkilerini azaltabileceği düşünülmektedir.

Kuhad ve ark (2008a) yaptıkları çalışmada, diyabetik rat beyin kabuğu AkE aktivite düzeyinde kontrol grubuna göre 1,8 katı oranında bir artış olduğunu, hipokampüste ise AkE aktivite düzeylerinde bir değişiklik meydana gelmediğini rapor etmişlerdir. Aynı çalışmada likopenin 1, 2 ve 4 mg/kg miktarlarının doza bağımlı bir şekilde diyabetik rat beyin kabuğu AkE aktivite düzeylerini azalttığı, tek başına kullanılan likopenin ise AkE aktivite düzeyleri üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı belirtilmiştir. Vitamin E (Tuzcu ve Baydas 2006), kurkumin (Kuhad ve Chopra 2007), susam yağı (Kuhad ve Chopra 2008) ve resveratrol (Schmatz ve ark 2009) gibi diğer antioksidanlarla yapılan diyabetik rat çalışmalarında da benzer sonuçlar görülmüştür. Bu sonuçlara karşın AkE aktivite düzeyinin diyabetik beyin dokusunda azaldığını belirten birçok araştırmacı diyabette ortaya çıkan oksidatif stres sonucu artan hidroksil radikallerin AkE molekülü aktif bölgesine zararlı etkileri olabileceği, bunun sonucunda da AkE aktivite düzeyinde bir azalma meydana gelebileceğini vurgulamıştır (Ashokkumar ve ark 2006, Ghareeb ve Hussen 2008, Kamboj ve ark 2008, Tsakiris 2001). Bu araştırmada da diyabetli ratlarda plazma AkE düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azaldığı, likopen ilavesi ile azalmış AkE düzeyini kontrol grubu düzeyine kadar yükselttiği görüldü. Bu durum, enzim molekülü üzerinde serbest radikallerin direkt etkileri veya lipid-protein etkileşimi yoluyla enzim aktivitelerini değiştirebilen LPO artışına bağlı olarak zar yapısındaki değişikliklerin bir yansıması şeklinde yorumlanabilir (Ashokkumar ve ark 2006).

Karaciğer organizma için gerekli olan birçok maddenin sentez ve metabolize edildiği yaşamsal organdır. Karaciğerdeki morfolojik değişimler organizmadaki metabolik olayları etkilemektedir. Hücre zarının geçirgenliğinin değişmesi veya hücrenin parçalanması sonucu bazı karaciğer enzimlerinin kana salınması nedeni ile transaminazlar (AST, ALT), alkalin fosfataz, laktat dehidrojenaz gibi hücresel enzimlerin serumdaki aktiviteleri artmaktadır (Çömelekoğlu ve Mazmanlı 2000). KP tarafından oluşturulan karaciğer hasarında serum AST ve ALT düzeylerinin arttığı birkaç çalışmada gösterilmiştir (El-Banna ve ark 2009, Khalifa ve ark 2011, Mansour ve Mossa 2010). Bu çalışmada da, benzer bulgular elde edilmiş olup KP grubunda serum AST ve ALT düzeylerinin kontrol grubuna göre önemli oranda arttığı; likopen ilavesi ise AST ve ALT seviyelerinin kontrol grubu düzeylerine kadar azaldığı görülmüştür. Bu sonuçlara göre likopenin, KP ile oluşmuş karaciğer hasarı üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olabileceği düşünülmektedir.

AST ve ALT gibi hücre içi enzimlerin diyabette meydana gelen karaciğer hasarında serum düzeylerinin arttığı belirtilmiştir (Rajasekaran ve ark 2006, Sancheti ve ark 2013). Bu çalışmada da, benzer şekilde diyabetik ratlarda serum AST ve ALT düzeylerinin kontrol grubuna göre önemli oranda arttığı, likopen ilavesi ise artmış olan serum AST ve ALT düzeylerini, diyabetik gruba göre önemli derecede azaltmıştır. Bu sonuçlara göre likopenin diyabet ile oluşmuş karaciğer hasarı üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olabileceği düşünülmektedir.

SONUÇ

Bu çalışma; diyabetli ratlara KP verilerek vücutta oluşan oksidatif stresin araştırılması yönüyle orijinal bir çalışma konumundadır. KP'in ortalama 135 mg/kg olan ÖD₅₀'sinin 1/20'si olan dozunun diyabetli hayvanlarda şiddetli zehirlenme belirtilerine ve ölüme yol açtığı belirlendi. Bu nedenle bu çalışmanın 28 gün boyunca sürdürülebilmesi için, deney hayvanlarına KP'in ÖD₅₀'sinin 1/50'si (2,7 mg/kg) olan dozu verilerek hayvanlarda zehirlenme ve ölüm belirtileri gözlenmeden çalışmanın tamamlanması sağlandı. Diyabetli hayvanlarda daha sonra yapılacak pestisid çalışmalarında bu durumun gözönüne alınması gerekmektedir. Ayrıca, likopenin D grubundaki ratların MDA düzeylerini azalttığı, antioksidan enzim aktiviteleri ile birlikte GSH ve TAK düzeylerini artırdığı tespit edildi. Likopenin hiperglisemi ve buna bağlı olarak ortaya çıkabilecek komplikasyonların tedavisine yardımcı, güvenli ve etkili bir alternatif olabileceği sonucuna varıldı. Daha sonra yapılacak çalışmalarda, diyabetli canlılarda oluşabilecek pestisid toksikasyonunda likopenin farklı dozlarda veya diğer antioksidan maddelerle kombine kullanımının araştırılması önerilmektedir

KAYNAKLAR

- Abdollahi M, Donyavi M, Pournourmohammadi S, Saadat M,** Hyperglycemia associated with increased hepatic glycogen phosphorylase and phosphoenolpyruvate carboxykinase in rats following subchronic exposure to malathion. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 2004b; 137(4):343-347.
- Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaie A,** Pesticides and oxidative stress: a review. *Med Sci Monit.* 2004a; 10(6):RA141-147.
- Abou-Seif MA, Youssef AA,** Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients. *Clin Chim Acta.* 2004; 346(1):161-170.

- Acker CI, Souza ACG, Dos Santos MP, Mazzanti CM, Nogueira CW,** Diphenyl diselenide attenuates hepatic and hematologic toxicity induced by chlorpyrifos acute exposure in rats. *Environ Sci Pollut Res.* 2012; 19:3481-3490.
- Ahmed MM, Zaki NI,** Assessment the ameliorative effect of pomegranate and rutin on chlorpyrifos-ethyl-induced oxidative stress in rats. *Nat Sci.* 2009; 7(10):49-61.
- Ahmed NS, Mohamed AS, Abdel-Wahhab MA,** Chlorpyrifos-induced oxidative stress and histological changes in retinas and kidney in rats: Protective role of ascorbic acid and alpha tocopherol. *Pestic. Biochem. Physiol.* 2010; 98(1):33-38.
- Aksoy N, Vural H, Sabuncu T, Arslan O, Aksoy S,** Beneficial effects of vitamins C and E against oxidative stress in diabetic rats. *Nutr Res.* 2005; 25(6):625-630.
- Alexandraki K., Piperi C, Ziakas PD, Apostolopoulos NV, Makrilakis K, Syriou V, Diamanti-Kandarakis E, Kaltsas G, Kalofoutis A,** Cytokine secretion in long-standing diabetes mellitus type 1 and 2: associations with low-grade systemic inflammation. *J Clin Immunol.* 2008; 28(4):314-321.
- Ali MM, Agha FG,** Amelioration of streptozotocin-induced diabetes mellitus, oxidative stress and dyslipidemia in rats by tomato extract lycopen. *Scand J Clin Lab Invest.* 2009; 69:371-379.
- Altan N, Dinçel AS, Koca C,** Diabetes mellitus and oxidative stress. *Turk J Biochem.* 2006; 31(2):51-56.
- Alvarez AA, Ramírez-San Juan E, Canizales-Román A,** Chlorpyrifos induces oxidative stress in rats. *Toxicol Environ Chem.* 2008; 90(5):1019-1025.
- Aly N, El-Gendy K, Mahmoud F, El-Sebae AK,** Protective effect of vitamin C against chlorpyrifos oxidative stress in male mice. *Pestic Biochem Physiol.* 2010; 97(1):7-12.
- Ambali SF,** Ameliorative effect of antioxidant vitamins C and E on neurotoxicological, haematological and biochemical changes induced by chronic chlorpyrifos exposure in Wistar rats. PhD Dissertation, Ahmadu Bello University, Zaria, Nigeria. 2009.
- Ambali SF, Ayo JO, Ojo SA, Esievo KA,** Vitamin E protects rats from chlorpyrifos-induced

increased erythrocyte osmotic fragility in Wistar rats. *Food Chem Toxicol.* 2010; 48(12):3477-3480.

- Anwar MM, Meki AR,** Oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats: effects of garlic oil and melatonin, *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* 2003; 135(4):539-547.
- Ashokkumar N, Pari L, Ramkumar KM,** N-Benzoyl-D-phenylalanine attenuates brain acetylcholinesterase in neonatal streptozotocin-diabetic rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2006; 99:246–250.
- Astaneie F, Afshari M, Mojtahedi A, Mostafalou S, Zamani MJ, Larijani B, Abdollahi M,** Total antioxidant capacity and levels of epidermal growth factor and nitric oxide in blood and saliva of insulin-dependent diabetic patients. *Arch Med Res.* 2005; 36(4):376-381.
- Atessahin A, Karahan I, Turk G, Gur S, Yilmaz S, Ceribas AO,** Protective role of lycopene on cisplatin induced changes in sperm characteristics, testicular damage and oxidative stress in rats. *Reprod Toxicol.* 2006; 21:42–47.
- Aydın M, Çelik S,** Effects of lycopene on plasma glucose, insulin levels, oxidative stress, and body weights of streptozotocin-induced diabetic rats. *Turk J Med Sci.* 2012; 42(Sup 2):1406-1413
- Bebe FN, Panemangalore M,** Exposure to low doses of endosulfan and chlorpyrifos modifies endogenous antioxidants in tissues of rats. *J Environ Sci Health B.* 2003; 38(3):349-363.
- Beutler E, Duron O, Kelly BM,** Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med.* 1963; 61:882-888.
- Bukowska B,** 2,4,5-T and 2,4,5-TCP induce oxidative damage in human erythrocytes: the role of glutathione. *Cell Biol Int.* 2004; 28(7):557-563.
- Can M,** Diyabetik ratlarda pufa alımının hipokampus NMDA reseptör subünit konsantrasyonları ve lipid peroksidasyonu üzerine etkisi. Tıpta Uzmanlık Tezi. Süleyman Demirel Üniv. Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Isparta. 2003.
- Cathcart RF,** Vitamin C: the nontoxic, nonrate-limited, antioxidant free radical scavenger. *Med Hypotheses.* 1985; 18:61-77.
- Ceriello A,** New insights on oxidative stress and diabetic complications may lead to a “causal” antioxidant therapy. *Diabetes Care.* 2003; 26(5): 1589–1596.
- Chhabra SK, Hashim S, Rao AR,** Modulation of hepatic glutathione system of enzymes in suckling mouse pups exposed translocationally to malathion. *J Appl Toxicol.* 1993; 13:411–416.
- Ching S, Ingram D, Hahnel R, Beilby J, Rossi E,** Serum levels of micronutrients, antioxidants and total antioxidant status predict risk of breast cancer in a case control study. *J Nutr.* 2002; 132:303–306.
- Civen M, Brown CB, Morin RJ,** Effects of organophosphate insecticides on adrenal cholesteryl ester and steroid metabolism. *Biochem Pharmacol.* 1977; 26(20):1901-1907.
- Çömelekoğlu Ü, Mazmancı B,** Pestisidlerin kronik etkisine maruz kalan tarım işçilerinde karaciğer fonksiyonlarının incelenmesi. *Turk J Biol.* 2000; 24:461–466.
- Demir F, Uzun FG, Durak D, Kalender Y,** Subacute chlorpyrifos-induced oxidative stress in rat erythrocytes and the protective effects of catechin and quercetin. *Pestic Biochem Physiol.* 2011; 99:77-81.
- Draper HH, Hadley M,** Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1990; 186:421-431.
- Düzgüner V,** Deneysel olarak diyabet oluşturulan tavşanlarda çinkonun lipid peroksidasyonu ve antioksidan sistem üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Mustafa Kemal Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Hatay. 2005.
- Duzguner V, Kucukgul A, Erdogan S, Celik S, Sahin K,** Effect of lycopene administration on plasma glucose, oxidative stress and body weight in streptozotocin diabetic rats. *J Appl Anim Res.* 2008; 33:17-20.
- Dyer AM,** Effects of an organophosphate pesticide (chlorpyrifos) on sprague-Dawley body weight in correlation to high fat diet and forced exercise. PhD Thesis. Department of Environmental Science Allegheny College, Meadville, Pennsylvania. 2011
- Ecobichon DJ,** Toxic Effects of Pesticides. Casarett & Doull's Toxicology The Basic Science of Poisons. Ed; Klaassen CD, 6th Ed. McGraw-Hill, New York. 2001; pp.763-810.

- El-Banna SG, Attia AM, Hafez AM, El-Kazaz SM,** Effect of garlic consumption on blood lipid and oxidant/antioxidant parameters in rat males exposed to chlorpyrifos. *Slovak J Anim Sci.* 2009; 42(3):111-117.
- Elelaimy IA, Ibrahim HM, Ghaffar FRA, Alawthan YS,** Evaluation of sub-chronic chlorpyrifos poisoning on immunological and biochemical changes in rats and protective effect of eugenol. *JAPS.* 2012; 02(06):51-61.
- El-Missiry MA, El-Gindy AM,** Amelioration of alloxan induced diabetes mellitus and oxidative stress in rats by oil of *Eruca sativa* seeds. *Ann Nutr Metab.* 2000; 44:97-100.
- Fukuhara M, Matsumura K, Wakisaka M, Takata Y, Sonoki K, Fujisawa K, Ansai T, Akifusa S, Fujii K, Lida M, Takehara T,** Hyperglycemia promotes microinflammation as evaluated by C reactive protein in the very elderly. *Intern Med.* 2007; 46(5):207-212.
- Ghareeb DA, Hussen HM,** Vanadium improves brain acetylcholinesterase activity on early stage alloxan-diabetic rats. *Neurosci Lett.* 2008; 436:44-47.
- Goel A, Dani V, Dhawan DK,** Protective effects of zinc on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and hepatic histoarchitecture in chlorpyrifos-induced toxicity. *Chem Biol Interact.* 2005; 156(2-3):131-140.
- Gordon CJ, Rowsey PJ,** Are circulating cytokines interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha involved in chlorpyrifos-induced fever? *Toxicology.* 1999; 134:9-17.
- Gupta RC, Milatovic D, Dettbarn WD,** Nitric oxide modulates high-energy phosphates in brain regions of rats intoxicated with diisopropylphosphorofluoridate or carbofuran: prevention by N-tert-butyl-alpha-phenylnitron or vitamin E. *Arch Toxicol.* 2001; 75(6):346-356.
- Icenogle LM, Christopher NC, Blackwelder WP, Caldwell DP, Qiao D, Seidler FJ, Slotkin TA, Lewin ED,** Behavioral alterations in adolescent and adult rats caused by a brief subtoxic exposure to chlorpyrifos during neurulation. *Neurotoxicol Teratol.* 2004; 26(1):95-101.
- Iyer P, Kaufman F, Wu KL,** Pharmacokinetics and Metabolism. In: Evidence on the Developmental and Reproductive Toxicity of Chlorpyrifos. *Reproductive and Cancer Hazard Assessment Branch Office of Environmental Health Hazard Assessment California. Environmental Protection Agency,* 2008; pp. 7-12.
- Johansen JS, Harris AK, Rychly DJ, Ergul A,** Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. *Cardiovasc Diabetol.* 2005; 4(1):5. doi:10.1186/1475-2840-4-5
- Kağa S,** Streptozotocin ile diyabet oluşturulan sıçanlarda papatya (*Matricaria Chamomilla L.*) ekstresinin antidiyabetik ve antioksidatif etkisinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar. 2006.
- Kamath V, Rajini PS,** Altered glucose homeostasis and oxidative impairment in pancreas of rats subjected to dimethoate intoxication. *Toxicology.* 2007; 231:137-146.
- Kamboj SS, Chopra K, Sandhir R,** Neuroprotective effect of N-acetylcysteine in the development of diabetic encephalopathy in streptozotocin-induced diabetes. *Metab Brain Dis.* 2008; 23(4):427-443.
- Kaneto H, Xu G, Song KH, Suzuma K, Bonner-Weir S, Sharma A, Weir GC,** Activation of the hexosamine pathway leads to deterioration of pancreatic beta-cell function through the induction of oxidative stress. *J Biol Chem.* 2001; 276(33):31099-31104.
- Karanth S, Pope C,** Age-related effects of chlorpyrifos and parathion on acetylcholine synthesis in rat striatum. *Neurotoxicol Teratol.* 2003; 25(5):599-606.
- Kaya S,** Genel Anestezikler. *Veteriner Farmakoloji, Cilt 1, 4. Baskı.* Ed; Kaya S, Medisan Yayınları, Ankara. 2006; sy. 181-330.
- Khalifa FK, Khalil FA, Barakat HA, Hassan MM,** Protective role of wheat germ and grape seed oils in chlorpyrifos-induced oxidative stress, biochemical and histological alterations in liver of rats. *Aust J Basic Appl Sci.* 2011; 5(10):54-66.
- Kowluru RA, Kanwar M,** Effects of curcumin on retinal oxidative stress and inflammation in diabetes. *Nutr Metabol (Lond).* 2007; 16:4-8.
- Kuhad A, Chopra K,** Curcumin attenuates diabetic encephalopathy in rats: behavioral and biochemical evidences. *Eur J Pharmacol.* 2007; 576(1-3):34-42.

- Kuhad A, Chopra K**, Effect of sesamol on diabetes-associated cognitive decline in rats. *Exp Brain Res*. 2008; 185(3):411-420.
- Kuhad A, Sethi R, Chopra K**, Lycopene attenuates diabetes-associated cognitive decline in rats. *Life Sci*. 2008a; 83:128-134.
- Kuhad A, Sharma S, Chopra K**, Lycopene attenuates thermal hyperalgesia in a diabetic mouse model of neuropathic pain. *Eur J Pain*. 2008b; 12(5):624-632.
- Laight DW, Carrier MJ, Anggard EE**, Antioxidants, diabetes and endothelial dysfunction. *Cardiovas Res*. 2000; 47:457-464.
- Lassiter TL, Brimijoin S**, Rats gain excess weight after developmental exposure to the organophosphate pesticide, chlorpyrifos. *Neurotoxicol Teratol*. 2008; 30(2):125-130.
- Lei YC, Hwang JS, Chan CC, Lee CT, Cheng TJ**, Enhanced oxidative stress and endothelial dysfunction in streptozotocin-diabetic rats exposed to fine particles. *Environ Res*. 2005; 99(3):335-343.
- Lenzen S**, The mechanisms of alloxan and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*. 2008; 51:216-226.
- Li BH, Zhang QX, Dong DJ, Lin XM**, Effect of lycopene on immunity in rats with acute lung injury. *Beijing Da Xue Xue Bao*. 2007; 39:77-82.
- Lowinson JH, Ruiz P, Millman RB, Langrod JG**, Substance Abuse: A Comprehensive Textbook. 4th Ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA. 2005; pp. 479-481.
- Mamdouh MA, Fatma GA**, Amelioration of streptozotocin-induced diabetes mellitus, oxidative stress and dyslipidemia in rats by tomato extract lycopene. *Scand J Clin Lab Invest*. 2009; 69(3):371-379.
- Mansour SA, Mossa AH**, Lipid peroxidation and oxidative stress in rat erythrocytes induced by chlorpyrifos and the protective effect of zinc. *Pestic Biochem Physiol*. 2009; 93:34-39.
- Mansour SA, Mossa AH**, Oxidative damage, biochemical and histological alterations in rats exposed to chlorpyrifos and the antioxidant role of zinc. *Pestic Biochem Physiol*. 2010; 96:14-23.
- Mellert W, Deckardt K, Gembardt C, Schulte S, Van Ravenzwaay B, Slesinski RS**, Thirteen-week oral toxicity study of synthetic lycopene products in rats. *Food Chem Toxicol*. 2002; 40(11):1581-1588.
- Messarah M, Boumendjel A, Chouabia A, Klibet F, Abdennour C, Boulakoud MS, El Feki A**, Influence of thyroid dysfunction on liver lipid peroxidation and antioxidant status in experimental rats. *Exp Toxicol Pathol*. 2010; 62(3):301-310.
- Panahi P, Vosough-Ghanbari S, Pournourmohammadi S, Ostad SN, 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 Methods*. 2006; 16(4):161-167.
- Pourkhalili N, Pournourmohammadi S, Rahimi F, Vosough-Ghanbari S, Baeri M, Ostad SN, Abdollahi M**, Comparative effects of calciumchannel blockers, autonomic nervous system blockers, and free radicalscavengers on diazinon-induced hyposecretion of insulin from isolated islets of langerhans in rats, *Arh Hig Rada Toxicol*. 2009; 60(2):157-164.
- Pournourmohammadi S, Farzami B, Ostad SN, Azizi E, Abdollahi M**, Effects of malathion subchronic exposure on rat skeletal muscle glucose metabolism. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2005; 19(1):191-196.
- Praticò D**, Antioxidants and endothelium protection. *Atherosclerosis*. 2005; 181(2):215-224.
- Rajasekaran S, Ravi K, Sivagnanam K, Subramanian S**, Beneficial effects of aloe vera leaf gel extract on lipid profile status in rats with streptozotocin diabetes. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2006; 33(3):232-237.
- Rao AV, Rao LG**, Carotenoids and human health. *Pharmacol Res*. 2007; 55:207-216.
- Riso P, Visioli F, Grande S, Guarnieri S, Gardana C, Simonetti P, Porrini M**, Effect of a tomato based drink on markers of inflammation, immunomodulation, and oxidative stress. *J Agric Food Chem*. 2006; 54:2563-2566.
- Rowsey PJ, Gordon CJ**, Tumor necrosis factor is involved in chlorpyrifos-induced changes in core temperature in the female rat. *Toxicol Lett*. 1999; 109:51-59.

- Sancheti, S., Sancheti, S., Seo, SY.,** Antidiabetic and antiacetylcholinesterase effects of ethyl acetate fraction of *Chaenomeles sinensis* (Thouin) Koehne fruits in streptozotocin induced diabetic rats. *Exp Toxicol Pathol.* 2013; 65(1-2):55-60.
- Saxena R, Garg P, Jain DK,** In vitro anti-oxidant effect of vitamin E on oxidative stress induced due to pesticides in rat erythrocytes. *Toxicol Int.* 2011; 18(1):73–76.
- Schmatz R, Mazzanti CM, Spanevello R, Stefanello N, Gutierrez J, Corrêa M, Da Rosa MM, Rubin MA, Chitolina Schetinger MR, Morsch VM,** Resveratrol prevents memory deficits and the increase in acetylcholinesterase activity in streptozotocin-induced diabetic rats. *Eur J Pharmacol.* 2009; 610(1-3):42-48.
- Seifert J,** Toxicologic significance of the hyperglycemia caused by organophosphorus insecticides. *Bull Environ Contamin Toxicol.* 2001; 67(1):463-469.
- Shadnia S, Azizi E, Hosseini R, Khoei S, Fouladdel S, Pajoumand J, Jalali N, Abdollahi M,** Evaluation of oxidative stress and genotoxicity in organophosphorus insecticide formulators. *Hum Exp Toxicol.* 2005; 24(9):439-445.
- Sharma S, Chopra K, Kulkarni SK,** Effect of insulin and its combination with resveratrol or curcumin in attenuation of diabetic neuropathic pain: participation of nitric oxide and TNF- α . *Phytother Res.* 2007; 21:278–283.
- Shittu M, Ayo JO, Ambali SF, Fatihu MY, Onyeansi BI, Kawu MU,** Chronic chlorpyrifos-induced oxidative changes in the testes and pituitary gland of Wistar rats: Ameliorative effects of vitamin C. *Pestic Biochem Physiol.* 2012; 102(1):79-85.
- Tapiero H, Townsend DM, Tew KD,** The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. *Biomed Pharmacother.* 2004; 58(2):100-110.
- Tian L, Cai Q, Wei H,** Alterations of antioxidant enzymes and oxidative damage to macromolecules in different organs of rats during aging. *Free Radic Biol Med.* 1998; 24(9):1477-1484.
- Tiedge M, Lortz S, Drinkgern J, Lenzen S,** Relation between antioxidant enzyme gene expression and antioxidative defense status of insulin-producing cells. *Diabetes.* 1997; 46(11):1733-1742.
- Tripathi S, Srivastav AK,** Nephrotoxicity induced by long-term oral administration of different doses of chlorpyrifos, *Toxicol Ind Health.* 2010; 26(7):439-447.
- Tsakiris S,** Effects of L-phenylalanine on acetylcholinesterase and Na (+), K (+)-ATPase activities in adult and aged rat brain. *Mech Ageing Dev.* 2001; 122:491–501.
- Turk G, Atessahin A, Sonmez M, Yuce A, Ceribas AO,** Lycopene protects against cyclosporine A-induced testicular toxicity in rats. *Theriogenology.* 2007; 67:778–785.
- Türkmen R, Özdemir M,** Diabetes mellitus'ta serbest radikallerin rolü. *Kocatepe Vet J.* 2011; 4(1):65-72.
- Tuzcu M, Baydas G,** Effect of melatonin and vitamin E on diabetes-induced learning and memory impairment in rats. *Eur J Pharmacol.* 2006; 537(1-3):106–110.
- Uchiyama S, Yamaguchi M,** Oral administration of beta-cryptoxanthin prevents bone loss in streptozotocin-diabetic rats in vivo. *Biol Pharm Bull.* 2005; 28(9):1766-1769.
- Ural MS,** Chlorpyrifos-induced changes in oxidant/antioxidant status and haematological parameters of *Cyprinus carpio carpio*: Ameliorative effect of lycopene. *Chemosphere.* 2013; 90:2059-2064.
- Uzun FG, Demir F, Kalender S, Bas H, Kalender Y,** Protective effect of catechin and quercetin on chlorpyrifos-induced lung toxicity in male rats. *Food Chem Toxicol.* 2011; 48(6):1714-1720.
- Uzun FG, Kalender Y,** Chlorpyrifos induced hepatotoxic and hematologic changes in rats: The role of quercetin and catechin. *Food Chem Toxicol.* 2013; 55:549–556.
- Velazquez E, Winocour PH, Kesteven P, Alberti KG, Laker MF,** Relation of lipid peroxides to macrovascular disease in type 2 diabetes. *Diabet Med.* 1991; 8:752–758.
- Venkateswaran S, Pari L,** Effect of *Coccinia indica* leaves on antioxidant status in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* 2003; 84(2-3):163-168.
- Verma RS, Mehta A, Srivastava N,** In vivo chlorpyrifos induced oxidative stress: Attenuation by antioxidant vitamins. *Pestic Biochem Physiol.* 2007; 88:191-196.

- Wang HP, Liang YJ, Long DX, Chen JX, Hou WY, Wu YJ**, Metabolic profiles of serum from rats after subchronic exposure to chlorpyrifos and carbaryl. *Chem Res Toxicol.* 2009; 22:1026-1033.
- Xia Z, Nagareddy PR, Guo Z, Zhang W, Mcneill JH**, Antioxidant N-acetylcysteine restores systemic nitric oxide availability and corrects depressions in arterial blood pressure and heart rate in diabetic rats. *Free Radic Res.* 2006; 40(2):175–184.
- Yan Z**, Characterization of chlorpyrifos toxicity on the pancreatic beta cell line RINM5F, Doctoral dissertation, Wright State University, USA. 2010.
- Yano BL, Young JT, Mattson JL**, Lack of carcinogenicity of chlorpyrifos insecticide in a high-dose, 2-year dietary toxicity study in Fischer 344 rats. *Toxicol Sci.* 2000; 53:135-144.
- Yardim-Akaydin S, Sepici A, Ozkan Y, Simsek B, Sepici V**, Evaluation of allantoin levels as a new marker of oxidative stress in Behçet's disease. *Scand J Rheumatol.* 2006; 35(1):61-64.
- Yegin SC, Yur F, Ceylan E**, Effect of lycopene application in rats with experimental diabetes using lipoprotein, paraoxonase and cytokines. *J Membrane Biol.* 2013; 246:621–626.
- Yilmaz S, Atessahin A, Sahna E, Karahan I, Ozer S**, Protective effect of lycopene on adriamycin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity. *Toxicology.* 2006; 218:164–171.
- Yonar ME**, The effect of lycopene on oxytetracycline-induced oxidative stress and immunosuppression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W.). *Fish Shellfish Immunol.* 2012; 32:994–1001.
- Yu F, Wang Z, Ju B, Wang Y, Wang J, Bai D**, Apoptotic effect of organophosphorus insecticide chlorpyrifos on mouse retina in vivo via oxidative stress and protection of combination of vitamins C and E. *Exp Toxicol Pathol.* 2008; 59(6):415-423.
- Zhou JF, Xu GB, Fang WJ**, Relationship between acute organophosphorus pesticide poisoning and damages induced by free radicals. *Biomed Environ Sci.* 2002; 15(2):177-186.
- Zhu J, Wang C, Xu Y**, Lycopene attenuates endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats by reducing oxidative stress. *Pharm Biol.* 2011; 49(11):1144–1149.