

**ORGANOFOSFAT TOKSİKASYONUNA KARŞI
ROYAL JELLY KORUYUCU VE TEDAVİ EDİCİ
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS

Yasemin ALPER

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Laçine AKSOY

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Temmuz, 2013

Bu tez çalışması 12.FEN.BİL.09 numaralı proje ile BAP tarafından desteklenmiştir.

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS

ORGANOFOSFAT TOKSİKASYONUNA KARŞI ROYAL JELLY
KORUYUCU VE TEDAVİ EDİCİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Yasemin ALPER

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Laçine AKSOY

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Temmuz, 2013

TEZ ONAY SAYFASI

Yasemin Alper tarafından hazırlanan “ORGANOFOSFAT TOKSİKASYONUNA KARŞI ROYAL JELLY KORUYUCU VE TEDAVİ EDİCİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI” adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca 15/07/2013 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyokimya Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : (Yrd. Doç. Dr., Laçine Aksoy)

Başkan : Doç. Dr., Mustafa Kargıoğlu
Fen Edebiyat Fakültesi, İmza

Üye : Yrd. Doç. Dr., Laçine Aksoy
Fen Edebiyat Fakültesi, İmza

Üye : Yrd. Doç. Dr., Ömer Hazman
Fen Edebiyat Fakültesi İmza

Afyon Kocatepe Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun
...../...../..... tarih ve
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....
Prof. Dr. Mevlüt DOĞAN
Enstitü Müdürü

ÖZET
Yüksek Lisans Tezi

**ORGANOFOSFAT TOKSİKASYONUNA KARŞI ROYAL JELLY KORUYUCU VE
TEDAVİ EDİCİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yasemin ALPER

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyokimya Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Laçine AKSOY

Bu çalışmada sıklıkla kullanılan bir organofosfat olan malatyonun meydana getirdiği toksikasyon ve biyokimyasal değişiklikler ile Royal Jelly'nin koruyucu ve tedavi edici özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bunun için oluşturulan deneysel çalışmada ratlar 6 gruba ayrıldı. Sham grubu (grup 1) ratlara herhangi bir madde enjeksiyonu yapılmadı. Kontrol grubu (grup 2) ratlara, taşıyıcı olarak kullanılan kimyasallar (metil selüloz, DMSO, FTS) uygulandı. OP grubundaki (grup 3) ratlara subkütan yoldan 0.8 g/kg dozunda malatyon enjeksiyonu yapıldı. Royal Jelly grubundaki (grup 4) ratlara, 100 mg/kg Royal Jelly gavajla verildi. Royal Jelly + OP grubu (grup 5) ratlara, subkütan yoldan 0.8 g/kg dozunda malatyonun enjeksiyonundan 1 saat önce Royal Jelly 100 mg/kg gavajla uygulandı. OP + Royal Jelly grubu (grup 6) ratlara ise subkütan yoldan 0.8 g/kg dozunda malatyonun enjeksiyonundan 1 saat sonra Royal Jelly 100 mg/kg gavajla uygulandı. Plazma, karaciğer, böbrek ve beyinde malatyon gruplarındaki MDA konsantrasyonları diğer gruplara göre istatistiksel anlamlılıkta ($p<0.05$) yüksek seviyede bulundu. GSH konsantrasyon değerleri kontrol ve sham gruplarına göre malatyon grubunda eritrosit, karaciğer ve böbrekte azalma gösterirken, beyinde artış gösterdi. CAT konsantrasyonu malatyon grubunda eritrosit, karaciğer, böbrek ve beyin değerlerinde sham ve kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) azalma gösterdi. RJ+Malatyon ve Malatyon+RJ gruplarında ise eritrosit, karaciğer, böbrek ve beyin CAT konsantrasyonları malatyon grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) artış gösterdi. Malatyon grubunda plazma, karaciğer NO konsantrasyonları kontrol gruplarına göre artarken,

koruyucu ve tedavi edici gruplarda plazma ve karaciğerde anlamlı ($p<0.05$) azalma olduğu belirlendi. Malatyon grubu eritrosit SOD konsantrasyonu sham, kontrol, RJ, RJ+Malatyon ve Malatyon+RJ gruplarının değerlerine göre anlamlı ($p<0.05$) azalma gösterirken, tedavi edici ve koruyucu grupların SOD konsantrasyon değerleri ise diğer gruplara göre anlamlı ($p<0.05$) artma gösterdiği görülmüştür. Serum asetilkolinesteraz konsantrasyonu malatyon grubunda sham ve kontrol gruplarına göre anlamlı ($p<0.05$) azalma gösterdiği bulunmuştur. RJ+Malatyon ve Malatyon+RJ verilen grupların asetilkolinesteraz değerleri Malatyon grubuna göre artış gösterdi.

Bu bulgular sonucunda, malatyonun kan, karaciğer, böbrek ve beyin dokuları üzerinde oksidatif stres oluşturduğu söylenebilir. Malatyonun neden olduğu oksidatif strese karşı royal jelly'nin gerek koruyucu gerekse tedavi edici olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

2013, xv + 111 sayfa

Anahtar Kelimeler: Apiterapi, Royal Jelly, Pestisitler, Malatyon, Serbest radikaller, Oksidatif stres, Antioksidanlar.

ABSTRACT
M.Sc Thesis

Royal jelly against organophosphate toxicity assess the effects of preventive and curative

Yasemin ALPER

Afyon Kocatepe University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biochemistry

Supervisor: Yrd. Doç. Dr. Laçine AKSOY

In this study, which is a widely used organophosphate intoxication and biochemical changes caused by malatyonun Royal Jelly to determine the preventive and curative properties. For this study, the experimental rats were divided into 6 groups. Sham group (group 1) injection of any substance made to rats. Individuals (Group 2) The rats are used as carriers chemicals (methyl cellulose, DMSO, PBS) was applied. malathion group (group 3) subcutaneous administration to rats, 0.8 g/kg dose was injected malathion. Royal Jelly group (group 4) rats, 100 mg/kg was given by gavage Royal Jelly. Royal Jelly+OP group (group 5) rats, subcutaneously 0.8 g/kg 1 hour before the injection of malathion Royal Jelly 100 mg/kg administered by gavage. OP + Royal Jelly group (group 6) subcutaneously in rats, 0.8 g/kg dose of 1 hour after injection of malatyonun Royal Jelly 100 mg/kg administered by gavage. Plasma, liver, kidney and brain MDA concentrations of malathion groups were found statistical significance ($p<0.05$) in high levels compared to other groups. GSH concentrations in erythrocytes, liver and kidney of malathion group showed a decrease ($p<0.05$) compared to control and sham group. CAT concentration of the malathion group, erythrocyte, liver, kidney, and brain levels compared to the sham and control groups ($p<0.05$) decreased. RJ+ Malathion, Malathion+ RJ groups and the erythrocyte, liver, kidney, and brain CAT concentrations was significantly ($p<0.05$) increased compared with malathion group. Malathion group, plasma, liver, NO concentrations compared to control groups, while plasma and liver protective and therapeutic groups was significantly ($p<0.05$) were decreased. Serum SOD concentrations of malathion group a significant decrease (p

<0.05) showed in the therapeutic and protective groups, the SOD concentration values compared to other groups (p <0.05) increase in the has been demonstrated. Serum concentration of acetylcholinesterase malathion group were found to be decreased (p<0.05) compared to the sham and control groups. Serum concentration of acetylcholinesterase in RJ+Malathion, Malathion+RJ groups were showed significantly (p<0.05) increased compared to malathion group.

As a result of these findings, it can be said that malathion can caused oxidative stress on blood, liver, kidney, and brain tissues. Malathion against oxidative stress caused by the royal jelly could be used as both preventive and curative.

2013, xv + 111 pages

Key Words: Apitherapy, Royal Jelly, Pesticides, Malatyon, Free radicals, Oxidative stress, Antioxidants

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın her aşamasında emek veren, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, desteğini hiç bir zaman esirgemeyen çok değerli Hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Laçine AKSOY'a,

Çalışmamın laboratuvar aşamasında bilgi ve becerilerini esirgemeyen Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyokimya Anabilim dalında görev yapan Sayın Yrd. Doç. Dr. Ömer HAZMAN'a ve Afyon Kocatepe Üniversitesi Çay Meslek Yüksek Okulunda görev yapan Öğr. Gör. Ahmet BÜYÜKBEN'e,

Ayrıca laboratuvar çalışmalarımda desteklerini esirgemeyen değerli arkadaşlarım, yüksek lisans öğrencileri Serhat OVALI, Oktay CÜNEDİOĞLU ve Zeyneb ASLAN'a, Yasin AĞİLÖNÜ ve Erdi KOLAY'a,

Çalışmalarım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, her zaman yanımda olan, başarılarımı görmeyi en çok hak eden ve sevgisi ile en büyük desteği veren AİLEM'e,

sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yasemin ALPER

AFYONKARAHİSAR, 2013

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiv
RESİMLER DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR BİLGİLERİ	3
2.1 Apiterapi	3
2.1.1 Arı Zehiri	3
2.1.1.1 Arı Zehiri Bileşimi.....	4
2.1.1.2 Arı Zehirinin Faydaları.....	5
2.1.2 Bal	6
2.1.2.1 Bal İçeriği	7
2.1.2.2 Bal İçeriğinde Bulunan Şekerler.....	7
2.1.2.3 Bal İçeriğinde Bulunan Vitaminler	8
2.1.2.4 Bal İçeriğinde Bulunan Mineraller	8
2.1.2.5 Bal İçeriğinde Bulunan Enzimler	8
2.1.2.6 Balın Asitliği ve pH	8
2.1.2.7 Balın Etkileri	9
2.1.2.8 Balın Kullanım Alanları	9
2.1.3 Polen	9
2.1.3.1 Polenin Bileşimi	10
2.1.3.2 Polenin Kullanım Alanları	12
2.1.3.3 Polenin Faydaları	12
2.1.4 Bal Mumu	13
2.1.4.1 Bal Mumu Bileşimi	13
2.1.4.2 Bal Mumu Kullanım Alanları	14
2.1.5 Propolis	14

2.1.5.1 Propolisin Bileşimi	15
2.1.5.2 Propolisin Kullanım Alanları	16
2.1.5.3 Propolisin Faydaları	16
2.1.6 Arı Sütü (Royal Jelly)	17
2.1.6.1 Arı Sütünün Fiziksel Özellikleri	18
2.1.6.2 Arı Sütünün Bileşimi	19
2.1.6.3 Arı Sütü Üretimi ve Muhafazası	20
2.1.6.4 Arı Sütünün Etkileri	21
2.1.6.5 Arı Sütünün Kullanım Alanları	23
2.1.6.6 Arı Sütünün Pazarlanması	23
2.1.6.7 Arı Sütünün Etki Ettiği Hastalıklar	24
2.1.7 Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE)	25
2.1.7.1 Yapısı ve Kimyasal Özellikleri	25
2.1.7.2 CAPE'in Fonksiyonel Etkileri	26
2.2 Pestisitler	26
2.2.1 Pestisitlerin Sınıflandırılması	28
2.2.2 İnektisitler	28
2.2.2.1 İnektisitlerin Sınıflandırılması	29
2.2.3 Organofosfatlar	29
2.2.3.1 Organofosfatların Sınıflandırılması	31
2.2.3.2 Malatyon	33
2.2.3.3 Asetilkolinesteraz	34
2.2.3.4 Organofosfatların Organizmaya Giriş Yolları ve Etki Mekanizmaları	36
2.2.3.5 Organlarda Görülen Organofosfatlı Bileşiklerin Etkileri	39
2.2.3.6 Organofosfatlı İnektisitler ve Reaktif Oksijen Türleri	40
2.3 Serbest Radikaller	42
2.3.1 Reaktif Oksijen Türevleri	43
2.3.1.1 Süperoksit Radikali	44
2.3.1.2 Hidrojen Peroksit	45
2.3.1.3 Hidroksil Radikali	46
2.3.1.4 Singlet Oksijen	48

2.3.2 Serbest Oksijen Radikalleri Kaynakları	48
2.3.3 Serbest Radikallerin Etkileri	49
2.3.3.1 Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkisi	50
2.3.3.2 Serbest Radikallerin Proteinlere Etkisi	50
2.3.3.3 Serbest Radikallerin DNA'ya Etkisi	51
2.3.3.4 Lipid Peroksidasyonu	53
2.4 Antioksidanlar	56
2.4.1 Enzimatik Antioksidanlar	57
2.4.1.1 Süperoksit Dismutaz	57
2.4.1.2 Katalaz	58
2.4.1.3 Glutasyon Peroksidaz	59
2.4.2 Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	61
2.4.2.1 Vitamin A	61
2.4.2.2 Vitamin C	62
2.4.2.3 Vitamin E	64
3. MATERYAL ve METOT	67
3.1 Materyal	67
3.1.1 Kimyasal Materyal	67
3.1.2 Hayvan Materyali	67
3.2 Metot	67
3.2.1 Kan Örneklerinin Alınması	68
3.2.2 Eritrosit Paketinin Hazırlanması	69
3.2.3 Doku Homejenizasyonu	69
3.2.4 Biyokimyasal Analizler	69
3.2.4.1 Hemogloblin Tayini	69
3.2.4.2 Total Protein Tayini	69
3.2.4.3 Asetilkolinesteraz Ölçümü	70
3.2.4.4 Redükte glutasyon (GSH) tayini	70
3.2.4.5 Malondialdehit (MDA) tayini	70
3.2.4.6 Glutasyon peroksidaz (GPx) tayini	71
3.2.4.7 Süperoksit dismutaz (SOD) tayini	72
3.2.4.8 Katalaz (CAT) tayini	72

3.2.4.9 Nitrik oksit (NO) tayini	72
4. BULGULAR	74
4.1 MDA Değerleri	74
4.2 GSH Değerleri	77
4.3 CAT Değerleri	80
4.4 NO Değerleri.....	82
4.5 SOD Değerleri	85
4.6 GPx Değerleri	87
4.7 Asetilkolinesteraz Değerleri	88
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	90
6. KAYNAKLAR.....	102
6.1 İnternet Kaynakları	111
ÖZGEÇMİŞ.....	112

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

mm	milimetre
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HO ₂ [·]	Hidroperoksit radikali
HCl	Hidroklorik asit
OH [·]	Hidroksil radikali
¹ O ₂	Singlet oksijen
μmol	mikromol
Mg	miligram
μg	Mikrogram
R [·]	Organik radikaller
RO [·]	Alkoksil radikali
ROO [·]	Peroksil radikali
RCOO [·]	Organik peroksit radikali
O ₂ ^{-·}	Süperoksit radikali
NO [·]	Nitrik oksit
L [·]	Lipid radikali
LOO [·]	Lipid peroksil radikali
LOOH	Lipid hidroperoksit
ONOO	Peroksinitrit
HOCl	Hipokloröz asit
HOX	Hipohalöz asit

Kısaltmalar

GPx	Glutasyon peroksidaz
GSH	Glutasyon
GR	Glutasyon redüktaz
MDA	Malondialdehit
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
CAT	Katalaz
GSSG	Okside glutasyon
GST	Glutasyon-S-transferaz
ROS	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
PUFA	Poliansature yağ asitleri
TBA	Tiyobarbütirik asit
CAPE	Kafeik asit fenetil ester
TEPP	Tetraetilpirofosfat
ACh	Asetilkolin
AChE	Asetilkolin esteraz
OPH	Organofosfat hidrolaz
DNA	Deoksiribonükleik asit
RNA	Ribonükleik asit
ATPaz	Adenozin trifosfataz
LPO	Lipid peroksidasyonu
NAD ⁺	Yükseltgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid
FAD	Flavin adenin dinükleotid
FADH ₂	İndirgenmiş flavin adenin dinükleotid
OP	Organofosfatlar
OPH	Organofosfat hidrolaz
OCl	Organoklorlular
SSS	Santral Sinir Sistemi
10-HDA	10-hidroksi-2-dekanoik asit

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1 Kafeik asit fenetil ester (CAPE) yapısı	25
Şekil 2.2 Organofosfatların genel yapıları	30
Şekil 2.3 Organofosfatların genel kimyasal yapıları	31
Şekil 2.4 Parathion	31
Şekil 2.5 Fenthion	32
Şekil 2.6 Diklorvos	32
Şekil 2.7 Diazinon	32
Şekil 2.8 Malatyon	33
Şekil 2.9 Malatyonun memelilerde ve böceklerde biyotransformasyonu	34
Şekil 2.10 Asetilkolin	35
Şekil 2.11 AChE enziminin ACh'i hidrolizi	36
Şekil 2.12 I.faz reaksiyonu ile meydana gelen desülfürasyon	37
Şekil 2.13 Fenthionun AChE enzimi inhibisyonu	38
Şekil 2.14 Rejenerasyonun 2-PAM ile hızlandırılması	39
Şekil 2.15 ATP'nin ilk oluşum yeri	41
Şekil 2.16 ATP'nin ikinci oluşum yeri	41
Şekil 2.17 Serbest radikallerin toksik etkileri	50
Şekil 2.18 Bazı nükleik asit bazlarına reaktif oksijen türlerinin etkileri	52
Şekil 2.19 Radyasyonun reaktif oksijen türlerini meydana getirmesi	53
Şekil 2.20 Malondialdehit yapısı	55
Şekil 2.21 Katalaz enziminin katalitik (1) ve peroksidatik (2) aktiviteleri	59
Şekil 2.22 GSH-Px'in katalitik aktivasyonu.....	60

Şekil 2.23	Glutatyonun geri dönüşümü	61
Şekil 2.24	Vitamin A yapısı	61
Şekil 2.25	C vitamini yapısı	62
Şekil 2.26	Vitamin E (α -tokoferol) yapısı	64
Şekil 4.1	MDA Değerlerinin Grafikselsel Gösterimi	75
Şekil 4.2	GSH Değerlerinin Grafikselsel Gösterimi	77
Şekil 4.3	CAT Değerlerinin Grafikselsel Gösterimi	81
Şekil 4.4	NO Değerlerinin Grafikselsel Gösterimi	84
Şekil 4.5	SOD Değerlerinin Grafikselsel Gösterimi	86
Şekil 4.6	GPx Değerlerinin Grafikselsel Gösterimi	88
Şekil 4.7	Asetilkolinesteraz Değerlerinin Grafikselsel Gösterimi	89

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1 Arı zehiri kuru madde bileşimi5
Çizelge 2.2 Süzme balın bileşimi7
Çizelge 2.3 Polenin kimyasal bileşimi11
Çizelge 2.4 Bal mumu bileşenleri14
Çizelge 2.5 Propolis bileşenleri.....	.16
Çizelge 2.6 Arı sütünün bileşimi.....	.20
Çizelge 2.7 Arı sütü vitamin içeriği20
Çizelge 2.8 Reaktif oksijen türevleri43
Çizelge 2.9 Antioksidanların sınıflandırılması.....	.57
Çizelge 3.1 TBARS ölçümünde uygulanan işlem.....	.71
Çizelge 4.1 MDA Değerleri75
Çizelge 4.2 GSH Değerleri.....	.77
Çizelge 4.3 CAT Değerleri.....	.81
Çizelge 4.4 NO Değerleri.....	.84
Çizelge 4.5 SOD Değerleri.....	.85
Çizelge 4.6 GPx Değerleri87
Çizelge 4.7 Asetilkolinesteraz Değerleri88

RESİMLER DİZİNİ

	Sayfa
Resim 2.1 Arı zehiri.....	4
Resim 2.2 Bal.....	6
Resim 2.3 Polen.....	10
Resim 2.4 Bal mumu.....	13
Resim 2.5 Arı sütünde yüzen larvalar.....	17
Resim 2.6 Arı sütü	19

1. GİRİŞ

Arı ürünlerinin tedavi amaçlı kullanımı çok eski zamanlara dayanmaktadır ve günümüzde de bu tedavi yöntemlerinin çeşitli hastalıklara karşı hızla iyileşme göstermesi, kullanım alanlarını ve kullananların sayılarını arttırmıştır. Apiterapide denilen bu yöntemlerde bal, bal mumu, propolis, arı zehiri, polen ve arı sütü sağlık amaçlı kullanılmaktadır. Her geçen gün yapılan araştırmalar toplumların dikkatini bu konu üzerine çekmiştir. Özellikle Uzakdoğu ülkelerinde başlayan ve dünyada hızla gelişen arı ürünleri ile tedavi yöntemleri hızla yaygınlaşmaktadır. Ülkemizde henüz apiterapinin aktif olarak uygulandığı merkezler faaliyette olmasa da insanlar bu konu hakkında günden güne bilinçlenmektedir.

Bal, bal mumu, propolis, arı zehiri ve polenin yanında önemli bir arı ürünü olan arı sütü de çok değerli ve faydalıdır. Arı sütü, 5 ile 15 günlük işçi arıların alt çene (mandibular) ve yavru besini bezi olarak da adlandırılan boğaz (hypopharyngeal) bezlerinden ergin ana arı ve genç larvaları beslemek için salgılanan bir üründür (Şahinler 2000, Korkmaz ve Öztürk 2010, Karabağ vd. 2010). Arı sütünün bileşenleri su, protein, şeker, lipit ve mineral tuzlarıdır. Yapısındaki bileşenler ve oranları arı ırkına, üretim yöntemlerine, larvaların yaşına, coğrafik ve iklimsel koşullara ve farklı kolonilere bağlı olarak değişebilir (Şahinler 2000, Korkmaz ve Öztürk 2010, Kaynar 2010, Karacaoğlu vd. 2004). Arı sütünün birden fazla etkisi vardır. Bu etkiler; antioksidan etki, nörotropik etki, insülin benzeri etki, kan düzenleyici etki, antitümör etki, antibiyotik etki, antialerjik etki ve yara iyileştirici etki olarak tanımlanabilir. Arı sütünü diğer besinlerden ayıran en önemli özelliği; insan vücudunda bütün hücreleri yenilemesi, beslemesi, onarması, tamir etmesi, geliştirmesi, metabolizma dengesini kurması ve yaşlanma hızını azaltmasıdır (Suver 2008).

Organofosfatlı insektisitler, eski tarihlerden beri ülkemizde ve dünyada en yaygın kullanılan insektisitler olup, bu nedenle insanlarda sıklıkla zehirlenmelere yol açmaktadırlar (Büyükben 2008). Her yıl farklı sebeplerden dolayı 750.000 ile 3.000.000 arasında insan dünyada OP'ların sebep olduğu zehirlenmelere maruz kalmakta, bunların çoğu ölümlle sonuçlanmaktadır. OP'lı insektisitler yağlarda ve organik çözücülerde kolaylıkla çözünebilirken, suda az çözünürler. Bu özelliklerinden dolayı deri, mukoza,

göz, solunum ve gastrointestinal sistemden hızla absorbe olurlar. OP'lı bileşiklerin toksik etkilerinden biri, asetilkolinesteraz (AChE) enziminin etkisini engellemesidir. OP'lı insektisitlerin toksik etkileri P=S bağı içeren bileşiklerin P=O bağına biyotransformasyonu ile gerçekleşir. Bir nörotransmitter olan asetilkolinin (ACh) sinaps boşluğunda birikmesi sonucu aşırı stimülasyonlar oluşur ve ACh'ni AChE enzimi inhibe ederek bu stimülasyonları durdurur. OP'lar ortamdaki AChE enzimine geri dönüşümsüz olarak bağlanarak işlevlerini yerine getirmesini engeller. Yani ACh'i taklit ederek onların yerine geçer ve AChE oranını düşürür (Büyükben 2008).

OP'lı insektisitlerin AChE enzimini inhibe etmesi dışında diğer bir toksik etkisi de reaktif oksijen türleri (ROS) denilen yıkıcı molekülleri oluşturması ve lipit peroksidasyonuna (LPO) neden olmasıdır. Reaktif oksijen türlerinin DNA'ya, proteinlere, karbohidratlara ve lipidlere zararlı etkileri vardır (Büyükben 2008). LPO kendi kendini devam ettirme özelliği bulunan zincir reaksiyonu şeklinde ilerlediğinden ve geri dönüşümsüz olduğundan metabolizma için en zararlı reaksiyonlardandır (Gülcü Bulmuş 2006). Bu özelliklerinden dolayı hem ROS'ların hem de LPO'nun engellenmesi gerekir.

Antioksidanlar, canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbohidrat ve DNA gibi maddelerin oksidasyonunu önleyen yada geciktirebilen, lipit peroksidasyonunu durdurarak dokuları ve hücreleri koruyan ve vücut savunmasını sağlayan maddelerdir (Gülcü Bulmuş 2006).

Sunulan çalışmanın amacı, OP toksikasyonuna karşı terapötik antioksidan etkileri bilinen arı sütünün koruyucu ve tedavi edici etkisinin rat modelinde araştırılmasıdır.

2. LİTERATÜR BİLGİLERİ

2.1 Apiterapi

Apiterapi'nin kelime anlamı, bal arısı ürünlerinin sağlık amaçlı kullanılmasıdır. Bu ürünler bal, bal mumu, polen, propolis, arı sütü ve arı zehiridir. Apiterapi, söz konusu ürünlerin sağlık amacıyla kullanımında nelere dikkat edilmesi gerektiği, kimlerin hangi ürünü ne amaçla ve nasıl kullanabileceği, ürünlere karşı hassasiyet ve alerjik durumlara doğru yaklaşımlar gibi konular üzerinde durur (İnt. Kyn. 1).

Arı ürünlerinin tedavi amaçlı kullanımı çok eski zamanlara dayanmaktadır ve günümüzde de bu tedavi yöntemlerinin çeşitli hastalıklara karşı hızla iyileşme göstermesi, kullanım alanlarını ve kullananların sayılarını arttırmıştır (İnt. Kyn. 2). Her geçen gün artan araştırmalar toplumların dikkatini bu konu üzerine çekmiştir. Özellikle Uzakdoğu ülkelerinde başlayan ve dünyada hızla gelişen arı ürünleri ile tedavi yöntemleri hızla yaygınlaşmaktadır. Başta Japonya, Doğu Asya ülkeleri, Amerika, Kanada gibi ülkelerde apiterapi merkezleri kurulmuştur. Ülkemizde henüz apiterapinin aktif olarak uygulandığı merkezler faaliyette olmasa da insanlar bu konu hakkında günden güne bilinçlenmekte ve arı ürünlerinden alternatif olarak faydalanmaktadır (İnt. Kyn. 2).

2.1.1 Arı Zehiri

Arı zehiri, işçi arıların zehir bezlerinde üretilip zehir torbalarında biriken enzimler, proteinler ve aminoasitlerden oluşan bir sıvıdır (İnt. Kyn. 1, Kelle 2007). Hipokrat ve Galen döneminden beri arı zehiri apiterapi ürünü olarak kullanılmaktadır. Günümüzde 1500'den fazla çalışmada tedavi edici özellikleri araştırılan arı zehiri ile ilgili ilk çalışma 1864'te yapılmıştır. Arı zehiri tedavisi Amerika, Bulgaristan, Rusya, Çin, Kore ve çeşitli Avrupa ülkelerinde uzun süredir kullanılmaktadır (Kelle 2007).

Arı zehiri keskin kokulu, acı tatta, sarımtırak renkte, suda çözünebilen, hava ile temasında hemen kuruyup kristalize olan bir maddedir (Kelle 2007, Şahinler 2000). Hava ile temasında çökelen kristaller gri-beyaz ya da opaktır. Kuruduktan sonra ise beyaz renkli bir toz halini alır.



Resim 2.1 Arı Zehiri

Arı zehiri, arılarda asit ve alkali salgı bezlerinde üretilerek kanal yardımıyla zehir torbasına bağlanır ve burada depolanır. Arı bir kimseyi soktuğu zaman iğne içerisindeki kanaldan zehir kişiye enjekte edilir (Şahinler 2000). Arı zehiri elde edilmesinde en sık kullanılan yöntem, arıya elektrik şoku uygulamasıdır. Bu uygulamada, kovana yerleştirilen bir tel ızgara, alt kısmına yerleştirilen geçirgen bir yüzey ile zehrin toplanacağı haznedan oluşur. Elektrik şoku 30 dakikalık seanslar şeklinde verilmektedir. Arılar bu elektrik şokunu tehdit olarak algıladıklarından geçirgen yüzeye iğnelerini batırarak zehirlerini akıtırlar. Arı zehiri elde edilmesinde kullanılan diğer yöntem ise, tüm arının kurutulmasıdır. Fakat bu yöntemde arı zehiri, polen, feçes, toz, nektar ve bal ile kontamine olmuş durumdadır. Genellikle krem, merhem ve solüsyon içerisinde kullanılır. Rutubet ve nemden uzak tutulduğunda 5 yıl bozulmadan saklanabilir. Muhafazada en uygun yöntem derin dondurucuda saklamaktır (Kelle 2007).

2.1.1.1 Arı Zehiri Bileşimi

Arı zehiri yapısında başlıca kimyasal yapının yaklaşık %50'sini oluşturan polipeptit yapıdaki mellitin, apamin, MCD-peptidi, histamin, hyaluronidaz, fosfolipaz-A2 bulunmaktadır (Çizelge 2.1) (Şahinler 2000, Suver 2008).

Çizelge 2.1. Arı Zehiri Kuru Madde Bileşimi (Bogdanov 2012)

Madde Grubu	Bileşen	Kuru Madde (%)
Proteinler	Fosfolipaz A2	10-12
	Fosfolipaz B	1
	Hyaluronidaz	1-2
	Fosfataz	1
	α - glikozidaz	0.6
Peptitler	Melittin	40-50
	Apamine	2-3
	MCD peptit	2-3
	Secapine	0.5-2
	Pamine	1-3
	Minimine	2
	Adolapine	0.5-1
	Procamine A,B	1-2
	Proteaz inhibitör	0.1-0.8
	Tertiapine, Cardiopep, melittin F	1-2
Fosfolipidler		1-3
Biyojenik aminler	Histamin	0.5-2
	Dopamin	0.2-1
	Noradrenalin	0.1-0.5
Aminoasitler	aminobütirik asit, α -amino asitler	1
Şekerler	Glikoz, fruktoz	2-4
Uçucu (feromonlar)	Karmaşık eterler	4-8
Mineraller	P, Ca, Mg	3-4

2.1.1.2 Arı Zehiri'nin Faydaları

Arı zehiri, eklem rahatsızlıklarında, romatizmal hastalıklarda, alerjik hastaların tedavisinde, gut hastalığında, gribal enfeksiyonlarda ve ortopedik hastalıklarda

kullanılmakta, iltihap kurutucu ve analjezik (ağrı kesici) etkileri bulunmaktadır. Amerikan Apiterapi Birliği, mafsal iltihabı, doku sertleşmesi, deri veremi, yaşlılarda görülen deri sertleşmesi, kronik yorgunluk sendromu, yara izi, deri kanseri, egzama gibi hastalıkların tedavisinin arı zehiri ile yapılabileceğini bildirmiştir (Şahinler 2000).

2.1.2 Bal

Türk Standartları Enstitüsü'ne göre bal, bitkilerin çiçeklerinde yada diğer canlı kısımlarında bulunan nektar bezlerinden salgılanan nektarın ve bitki üzerinde yaşayan bazı böceklerin, bitkilerin canlı kısımlarından yararlanarak salgıladığı tali maddelerin, bal arıları tarafından toplanması, vücutlarında bileşimlerinin değiştirilip petek gözlerine depo edilmesi ve buralarda olgunlaşması sonucunda meydana gelen tatlı üründür (Ulusoy 2012). Bal oluşumunu ekonomik öneme sahip olan *Apis mellifera* türü arılar yapmaktadır (Ceyhan 2000). Balın tarihine bakıldığında, polen ve nektar üreten bitkiler ile bunlardan yararlanan böceklerin varlığı 100-150 milyon yıl önce Jurassic/Cretaceous devresinde ortaya çıktığı düşünölmektedir. Yaklaşık 80-100 milyon yıllık arı fosiline rastlanmıştır. Bal ile ilgili ilk resmi dokümanlar Anadolu'da Çatalhöyük'te bulunmuştur (Ulusoy 2012).



Resim 2.2 Bal

2.1.2.1 Bal İçeriği

Balın yaklaşık %80'i değişik şekerlerden, %17'si sudan meydana gelir. Geri kalan %3'lük kısım ise başta enzimler olmak üzere mineral maddeler, azotlu ve fosforlu bileşikler, pigmentler, vitaminler, aroma maddeleridir (Suver 2008, Ceyhan 2000). Nektar oluşumu, miktarı, rengi ve kokusu; çiçeklerin büyüklüğü, yaşı ve olgunluk derecesi, çiçeğin bitki üzerindeki pozisyonu, nektar haznesinin büyüklüğü gibi i faktörler ile toprağın tipi ve nemi, gübre kullanımı, rüzgar, sıcaklık gibi dış faktörler ile değişmektedir (Ceyhan 2000). Balın rengi açık sarıdan koyu renge doğru değişiklik göstermektedir. ABD'nde 490 bal üzerinde yapılan çalışma sonucunda süzme balın bileşimi izelge 2.2 de verilmiştir (şahinler 2000).

Çizelge 2.2. Süzme Balın Bileşimi

Balın Bileşimi	Oran (%)
Su	17.20
şekerler	79.59
Asitler	0.57
Protein	0.26
Mineral Maddeler	0.17
Diğer Bileşikler	2.21

Çizelge 2.2 de verilen %2.21 oranındaki diğer bileşikler içerisinde şeker alkolleri, tanninler, asetilkolin, enzimler, vitaminler, pigment, aroma ve tat maddeleri bulunmaktadır.

2.1.2.2 Bal İçeriğinde Bulunan şekerler

Bal, başlıca glukoz, fruktoz ve sakkarozdan oluşmaktadır. Bu üç şekerin oranları farklılık göstermektedir. Bal vücuda alındığında kan şekeri düzeyi artar ve fiziksel yorgunluk giderilir. Bunun sebebi bal içeriğindeki şekerlerin sindirilmeden hemen

absorbe edilip kan dolaşımına geçmesidir. Bal, yoğun şeker içeriği nedeniyle yüksek bir ozmotik basınca sahiptir. Bu özelliği sayesinde de mikroorganizmalar üzerinde oluşturulan ozmotik şok ile barınamayacakları bir ortam oluşturulmaktadır (Ceyhan 2000).

2.1.2.3 Bal İçeriğinde Bulunan Vitaminler

Balda C vitamini bol miktarda bulunmaktadır. Bunun yanında B kompleks vitaminleri de (tiyamin, riboflavin, nikotinik asit, biotin, pridoksin) bal içerisinde bulunan vitaminlerdendir (Ceyhan 2000).

2.1.2.4 Bal İçeriğinde Bulunan Mineraller

Bal içeriğinde bulunan mineral maddelerin miktarları düşüktür, fakat buna karşın insan vücudu için önemleri fazladır (Ceyhan 2000). Koyu renkli bal açık sarı renkteki bala göre daha fazla mineral madde içeriğine sahiptir. Bu mineraller; kalsiyum (Ca), sodyum (Na), potasyum (K), demir (Fe), bakır (Cu), çinko (Zn), magnezyum (Mg), klor (Cl), fosfor (P), kükürt (S), silisyum (Si), alüminyum (Al), krom (Cr) ve nikel (Ni) dir (Şahinler 2000, Suver 2008).

2.1.2.5 Bal İçeriğinde Bulunan Enzimler

Bal içeriğinde bulunan enzimler bala nektar, polen ya da arının bezlerinden geçmektedir. Bu enzimler; amilaz, sakkaraz, glukozoksidaz, katalaz ve asit fosfataz'dır (Ceyhan 2000). Doğal ve ısıtılmamış ballarda enzim miktarı yüksektir ve daha değerlidir (Suver 2008).

2.1.2.6 Balın Asitliği ve pH

Balda bulunan asitler; glukonik asit, sitrik asit, formik asit, asetik asit, bütirik asit, süksinik asit, laktik asit, piroglutamik asit, malik asit, maleik asit, okzalik asit, glikolik asit, α -ketoglutarik asit, pirüvik asit ve tartarik asittir (Ceyhan 2000). Balın pH'ı 3.2 ile 4.5 değerleri arasında değişmektedir (Mandal and Mandal 2011).

2.1.2.7 Balın Etkileri

Balın antimikrobiyal etkisi yüksek molarite, düşük rutubet, asidik karakter ve yapısında bulundurduğu hidrojen peroksit, flavonoidler ve fenolik asit özelliğinden kaynaklanmaktadır. Bal, bu özellikler sayesinde insanlarda hastalık oluşturan bir çok bakteri için uygun olmayan bir ortam oluşturmaktadır.

Antioksidatif etkisi, yapısında bulunan tokoferol, askorbik asit, flavonoidler, glukoz oksidaz, katalaz ve peroksidaz tarafından gerçekleştirilmektedir. Bu etki insanları, oksidatif olaylar sonucunda oluşabilecek rahatsızlıklara, kansere, kardiyovasküler kollapsa ve şeker hastalığına karşı korur (Sönmez 2004).

Sindirim sistemine etkisi, mide ülserinin gerilemesine neden olmaktadır. Bununla birlikte yağ sindirimini kolaylaştırması, iştah açması, bağırsak hareketlerini düzenlemesi açısından da olumlu etkileri vardır.

Sinir sistemine etkisi, agresif durumlara, depresyona, baş ağrısına ve uyku problemlerine iyi geldiği bildirilmiştir (Sönmez 2004).

2.1.2.8 Balın Kullanım Alanları

- Gıda sanayinde tatlandırıcı olarak,
- Pasta ve fırıncılıkta tatlandırıcı ve bayatlamayı önleyici olarak,
- Sofralarda kullanımı,
- Şeker, helva, marmelat sanayinde,
- Süt, yoğurt, dondurma sanayinde,
- İçki sanayinde,
- İlaç sanayinde kullanılmaktadır (Suver 2008).

2.1.3 Polen

Çiçekli bitkilerde, çiçek erkek organlarının üst kısmında bulunan anterlerin içerisinde

bitkinin tüm kalıtsal özelliklerini taşıyan tozlara polen adı verilmektedir (Şahinler 2000, Çankaya ve Korkmaz 2008). Bal arıları kendileri için polen ve nektar alırken aynı anda bitkinin çiçeklerinin de tozlaşmasını (*polinasyonunu*) sağlarlar. Polen tozları arıların vücutlarındaki kıllara yapışır ve arka bacaklarında bulunan polen sepetçiklerine depolanır. Kovana geri döndüğünde ise petek gözleri içerisine bırakılır (Çankaya ve Korkmaz 2008). Arıların büyüyüp gelişmeleri ve salgı bezlerinin gelişmesi için polen, gerekli bir protein kaynağıdır (Şahinler 2000). Polen olmadığında koloninin yavru üretip devamlılığı sağlaması imkansızdır (Çankaya ve Korkmaz 2008). Polen taneleri 6-200 mm çapında ve kremden siyaha doğru değişen renklerde, farklı şekillerde ve yapıdadırlar (Suver 2008, Çankaya ve Korkmaz 2008).



Resim 2.3 Polen

2.1.3.1 Polenin Bileşimi

İnsan metabolizması için değerli besin maddeleri içeren polen taneleri farklı bitkilerden toplandıktan sonra standart bir bileşiminin ortaya çıkarılması da zordur (Çankaya ve Korkmaz 2008, Erdoğan ve Dodoloğlu 2005). Polen taneleri yüksek oranda protein ve karbonhidrat kaynağı olmasının yanında zengin vitamin ve mineral deposudur. Polen bileşimine ait değerler Tablo 2.3'te verilmiştir.

Tablo 2.3. Polenin Kimyasal Bileşimi (Schmidt 1997)

Bileşenler	Değerler	Bileşenler	Değerler
Enerji	2.46 kcal/gr	Bakır	14 ppm
Protein	% 23.7	Nikel	4.5 ppm
Karbonhidrat	% 27	Fosfor	% 0.53
Yağ	% 4.8	Potasyum	% 0.58
Vitamin E	14 ppm	Kalsiyum	% 0.225
Vitamin C	350 ppm	Magnezyum	% 0.148
Tiamin	9.4 ppm	Sodyum	% 0.044
Riboflavin	18.6 ppm	Çinko	78 ppm
Niasin	157 ppm	Manganez	100 ppm
Folik Asit	5.2 ppm	Demir	140 ppm
Biotin	0.32 ppm	Pantotenat	28 ppm
Pridoksin	9 ppm	Karotenler	95 ppm

Polen bileşiminde aminoasitler, yağlar ve şekerler bulunurken, çok fazla miktarda iz elementler ve mineral maddeler de bulunmaktadır. Bulunan mineral maddeler; kalsiyum (Ca), fosfor (P), demir (Fe), bakır (Cu), potasyum (K), magnezyum (Mg), manganez (Mn), silisyum (Si), sülfür (S), sodyum (Na), iyot (I), klor (Cl), bor (B) ve molibden (Mo) dir. Bulunan iz elementler ise alüminyum (Al), çinko (Zn), nikel (Ni) ve titanyum (Ti) dur. Polen yapısında arılar için esansiyel olan ve olmayan 22 çeşit aminoasit bulunmaktadır. Bu aminoasitler içerisinde alanin, arginin (%5,3), sistin, glisin, histidin (%2.5), izolösin (%5.1), lisin (%6.4), fenilalanin (%4.1), metiyonin (%1.9), prolin, serin, threonin (%4.1), triptofan (%1.4) ve valin (%5.8) sayılabilir (Çankaya ve Korkmaz 2008, Erdoğan ve Dodoloğlu 2005).

2.1.3.2 Polenin Kullanım Alanları

- İlaç sanayinde,
- Küçük çocuklar için iştah açmada,
- Apiterapide,
- Gıda sanayinde,
- Bombus arısı yetiştiriciliğinde,
- Arı kolonilerinin beslenmesinde,
- Yarış atlarının beslenmesinde,
- Kozmetik sanayinde,
- Polinasyon çalışmalarında,
- Çevre kirliliği çalışmalarında kullanılır (Suver 2008, Çankaya ve Korkmaz 2008).

2.1.3.3 Polenin Faydaları

- Kansızlığın giderildiği (alyuvar sayısını %25-30, hemoglobini %15 arttırır),
- Vücudu zinde tuttuğu,
- Sporda yüksek performans göstermeye katkı sağladığı,
- Saç dökülmesini önlediği,
- Mikrop öldürücü etkisi olduğu,
- Zekayı güçlendirdiği ve düşünme yeteneğini arttırdığı,
- Sinir ve stresi azalttığı,
- Kalp kasının çalışmasını güçlendirdiği, kılcal damarların fazla kanamasını engellediği,
- İçerisinde bulunan antibiyotikler sayesinde bağırsak iltihaplarını iyileştirdiği,
- Büyüme ve gelişmeyi hızlandırdığı,
- Görme yeteneğini arttırdığı,
- Yüksek tansiyon ve soğuk algınlığında etkili olduğu,
- Hücreyi yenilediği ve yaşlanmayı geciktirdiği,
- Deri ve göz kapağı iltihaplarını önlediği,

- Mide rahatsızlıklarını iyileştirdiği,
- Yara ve yanıkları iyileştirdiği,
- Hemoroidi iyileştirdiği ve kabızlığı ortadan kaldırdığı,
- Prostat hastalarını iyileştirdiği belirtilmiştir (Çankaya ve Korkmaz 2008).

2.1.4 Bal Mumu

Bal mumu işçi arıların 12-18 gnlk yaş dnemlerinde karın halkalarındaki mum salgı bezlerinden salgılanan bir maddedir. Yaşlı arılarda bal mumu bezleri aktivitesi azalır. Arılar bal mumunu depo gzlerini rmek için salgırlar. Bal mumu oluşumu için gerekli hammadde karbonhidratlardır. Arılar 1 kg bal mumu retebilmek için 6-10 kg bal yemeleri gerekmektedir (şahinler 2000, Suver 2008, Bogdanov 2009).



Resim 2.4 Bal mumu

2.1.4.1 Bal Mumu Bileşimi

Balmumu 300 farklı madde içeren son derece kompleks bir rndr. Bal mumunda farklı oranlarda monoesterler, diesterler, triesterler, hidroksi ve poliesterler, asit ve poliesterler, yağ asitleri ve hidrokarbonlar bulunmaktadır. Bunların yanında yaklaşık 50 aroma bileşenleri tespit edilmiştir (şahinler 2000, Bogdanov 2009). Bal mumu bileşenleri Tablo 2.4 te gsterilmiştir.

Tablo 2.4. Bal Mumu Bileşenleri (Bogdanov 2009)

Bileşenler	Oran %
Monoesterler	35
Diesterler	14
Triesterler	3
Hidroksi monoesterler	4
Hidroksi poliesterler	8
Asit esterler	1
Asit poliesterler	2
Hidrokarbonlar	14
Serbest asitler	12
Alkoller	1
Diğerleri	6

2.1.4.2 Bal Mumu Kullanım Alanları

Bal mumu,

- Kozmetik sanayinde (dudak boyası, vücut bakım kremleri, yüz maskeleri yapımında),
- Mum üretiminde,
- İlaç sanayinde ve dişçilikte,
- Küçük biblo ve heykel yapımında,
- Arıcılıkta temel petek yapımında,
- Mobilya ve zemin cilalarında,
- Boya endüstrisinde kullanılır (Şahinler 2000, Suver 2008).

2.1.5 Propolis

Propolis, bazı ağaçların yada çeşitli bitkilerin yaprak, tomurcuk, kabuk ve benzeri kısımlarından işçi arılar tarafından toplanan yapışkan ve mum kıvamında bir maddedir

(Kutluca vd. 2008, Albayrak ve Albayrak 2008). Propolis insanlar tarafından binlerce yıldır kullanılmaktadır. Eski çağlarda Avrupa, Kuzey Afrika, Mısır, Yunanistan ve Romalılarca yaygın kullanılmıştır. Propolis Hipokrat, Herodot, Aristo ve diğer antik dönem bilginleri tarafından övgü ile söz edilmiştir. Propolis ilk kez Yunanlılar tarafından bulunmuş ve antibiyotik olarak kullanılmıştır. Propolis sözcüğü, pro (*ilk yada savunma*) polis (*şehir*) ' den türetilmiştir (Kutluca vd. 2008).

Propolisin fiziksel özellikleri kaynağına göre değişmektedir. Genel olarak keskin ve güzel kokulu, suda erimeyen, oda sıcaklığında yarı katı halde bulunan ve rengi sarı, yeşil ve kahverengi olabilen bir maddedir (Suver 2008, Kutluca vd. 2008, Albayrak ve Albayrak 2008). Propolis 10°C'nin altında katı ve kırılkan, 30-40°C ise yapışkandır. %95'lik alkolde büyük ölçüde çözünürken eter, kloroform ve diğer organik çözücülerde daha az oranda çözünür. Propolis koyu kaplarda, karanlıkta ve 12°C'nin altında saklanmalıdır (Kutluca vd. 2008, Seven vd. 2007).

2.1.5.1 Propolisin Bileşimi

Propolisin kimyasal yapısı arıların ziyaret ettiği bitki çeşitlerine, bölgeye, mevsime ve koloniye göre farklılık göstermektedir (Suver 2008, Kutluca vd. 2008). Arıların bitkiden aldığı maddenin kimyasal bileşimini değiştirip değiştirmediği henüz açıklanamamasına rağmen propolise bal mumu karıştırdıkları bilinmektedir. Propolisin kimyasal bileşenlerini bulmak için kromatografik ve spektroskopik yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler ile organik çözücülerde çözünen 149 bileşik, 20 iz element ve propolisin çoğu kısmını oluşturan reçine, polen, balmumu varlığıda tespit edilmiştir. Propolis bileşiminde %50 reçine, %30 bitkisel mumları %10 esansiyel yağlar, %5 polen, %5 organik bileşikler ve mineral maddeler bulunmaktadır (Tablo 2.5) (Kutluca vd. 2008). Propolis bileşiminde yer alan bileşenler flavonoid grubu (flavonlar, flavonoller, flavononlar), çeşitli fenolik maddeler, aromatik maddeler, pinosembrin, pinobanksin, galangin, kafeik asit, benzil ester, quercetin, kaempferol, luteolin, benzoik asit, sinamik asit, kafeik asit fenil ester, fenilik asit, krizin, apigenin ve sakuraretin'dir. Propoliste bulunan bazı mineral maddeler; kalsiyum (Ca), sodyum (Na), magnezyum (Mg), potasyum (K), demir (Fe), bakır (Cu), çinko (Zn) ve mangan (Mn), kobalt (Co),

kurşun (Pb), kadmiyum (Cd), nikel (Ni) ve krom (Cr) 'dur (Suver 2008, Kutluca vd. 2008, Seven vd. 2007).

Tablo 2.5. Propolis Bileşenleri (Şahinler 2000)

Kimyasal Madde	Oran (%)
Reçine	50
Mumlu Bitkiler	30
Esansiyel yağlar	10
Polen	5
Organik maddeler ve Mineral maddeler	5

2.1.5.2 Propolisin Kullanım Alanları

Propolis değişik kimyasal maddeler içermesi, antibakteriyel etkisi, antioksidan, antiviral, antitümör, antiülser, antiinflamator ve antifungal etkisinden dolayı birçok alanda kullanılabilir (Kutluca vd. 2008, Seven vd. 2007).

- Dermatolojide,
- Kozmetik alanında (krem, şampuan, macun, diş macunları, sabunlar, yüz maskeleri),
- Tıp alanında (boğaz pastili, boğaz spreyleri ve burun spreyleri),
- Gıda alanında (besleyici ve tatlandırıcı) kullanılır (Suver 2008, Kutluca vd. 2008).

2.1.5.3 Propolisin Faydaları

- Doku üzerinde yenileme ve iyileştirme etkisi,
- Mikrop ve mantar öldürücü etkisi,
- Kansere karşı koruyucu etkisi,

- Sindirim sistemine etkisi,
- Bağışıklık sistemine etkisi,
- Kalp ve damar sistemine etkisi,
- Diş ve diş eti rahatsızlıklarına iyileştirici etkisi,
- Mide ülseri hastalığının iyileşmesi,
- Vitamin C'nin okside olmasını engellemesi,
- Kulak enfeksiyonları, astım ve solunum yolu rahatsızlıklarının tedavisinde iyileştirici etkisi olduğu belirtilmiştir (Suver 2008, Kutluca vd. 2008).

2.1.6 Arı Sütü (Royal Jelly)

Arı sütü, 5 ile 15 günlük işçi arıların alt çene (mandibular) ve yavru besini bezi olarak da adlandırılan boğaz (hypopharyngeal) bezlerinden ergin ana arı ve genç larvaları beslemek için salgılanan bir üründür (Şahinler 2000, Korkmaz ve Öztürk 2010). Arı sütü 1972 yılında ilk defa Huber tarafından royal jelly (*gelee royale*) olarak tanımlanmıştır (Karabağ vd. 2010).



Resim 2.5 Arı sütünde yüzen larvalar

Genç işçi arılar bal ve polen ile beslendiklerinde bu besinler sindirim organlarında hazmedilir ve arı sütü yavru besin bezlerinde üretilir. Bu üretim için gerekli olan maddeler kan yoluyla süt salgı bezlerine gelir ve bu bezlerde üretilen süt ağız boşluğuna

verilir. Arı sütü salgılanır salgılanmaz doğrudan larva yada kraliçe arıyı (ana arı) beslemek için kullanılır. Arı sütü, kraliçe arının ana yiyeceğidir ve büyüme-gelişme sırasındaki farklılaşmayı sağlar. Bu farklılaşma sırasında rol oynayan faktör yada faktörlerin ne olduğu yapılan çalışmalara rağmen bulunamamıştır (Erem 2005, Kaynar 2010). Kraliçe arı ile işçi arı arasında çeşitli farklılıklar vardır:

Morfolojik farklılıklar: İşçi arının polen sepeti, güçlü çene kemikleri, yavru gıda bezleri ve balmumu bezleri iyi gelişirken kraliçe arının üreme organları iyi gelişmiştir.

Gelişim döneminde: İşçi arıların gelişimi için 21 gün gerekirken, kraliçe arı 15.5 günde gelişir.

Ömür uzunluğu: İşçi arılar birkaç ay yaşarken, kraliçe arı birkaç yıl yaşayabilir.

Davranış: İşçi arılar nadir olarak yumurtlarken, kraliçe arı bir günde binlerce yumurta yumurtlayabilir. Ana arı kovan içerisinde yumurtlama dışında başka faaliyetlere katılmaz (İnt. Kyn. 3).

2.1.6.1 Arı Sütünün Fiziksel Özellikleri

Arı sütü macun kıvamında homojen bir maddedir. Sarı, beyaz yada bej renklere, keskin fenolik kokuya ve karakteristik bir ekşi tada sahiptir. Yoğunluğu yaklaşık olarak 1,1 g/cm³tür. Suda kısmen çözünebilen bir maddedir. Arı sütünün viskozitesi yaşına ve su içeriğine bağlıdır. 5°C'de buzdolabında muhafaza edildiğinde daha viskoz olmaktadır (Korkmaz ve Öztürk 2010, Kaynar 2010,3).



Resim 2.6 Arı Sütü

2.1.6.2 Arı sütünün Bileşimi

Arı sütünün uluslararası bir standardı yoktur. Uluslararası bal komisyonu içerisindeki bir çalışma grubu bir standart hazırlamak için çalışmaktadır (Bogdanov 2011). Arı sütünün pH aralığının 3.6-4.2 olduğu bildirilmiştir (Korkmaz ve Öztürk 2010). Arı sütünün bileşenleri su, protein, şeker, lipit ve mineral tuzlarıdır (Tablo 2.6). Yapısındaki bileşenler ve oranları arı ırkına, üretim yöntemlerine, larvaların yaşına, coğrafik ve iklimsel koşullara ve farklı kolonilere bağlı olarak değişebilir (Şahinler 2000, Korkmaz ve Öztürk 2010, Kaynar 2010, Karacaoğlu vd. 2004).

Taze arı sütünün 2/3'ü (%60-70) sudur. Kuru ağırlığını ise şeker, protein, yağ ve aminoasitler oluşturur. Çok küçük miktarlarda ise vitaminler ve mineraller bulunur (Bogdanov 2011). Arı sütü bileşiminde insanlar için esansiyel olan tüm aminoasitler vardır. En önemli aminoasitler aspartik asit ve glutamik asittir. Bileşimde bulunan enzimler arasında glukoz oksidaz, fosfataz ve kolinesteraz sayılabilir. Toplam karbonhidratın büyük kısmını glukoz ve fruktoz oluştururken, daha az oranlarda maltoz, trehaloz, melibioz, riboz ve erloz bulunur. Lipit içeriğinin %80-90'ını serbest yağ asitleri oluşturur. Bulunan en önemli yağ asiti %1.9 oranında 10-hidroksi-2-dekanoik asittir. Arı sütünde bulunan mineraller potasyum (K), kalsiyum (Ca), sodyum (Na), çinko (Zn), demir (Fe), bakır (Cu) ve mangan (Mn)'dir (Korkmaz ve Öztürk 2010,

Kaynar 2010, Sabatini *et al.* 2009). Bileşimde riboflavin, tiamin, niasin, folik asit, piridoksin, biotin, pantotenik asit, inositol ve iz miktarda C vitamini bulunurken yağda çözünen A, D, E ve K vitaminleri bulunmaz (Bogdanov 2011).

Tablo 2.6. Arı sütünün bileşimi (Sabatini *et al.* 2009)

	Taze	Kurutulmuş
Su (%)	60-70	<5
Yağlar (%)	3-8	8-19
Protein (%)	9-18	27-41
Karbonhidrat (%)	7-18	-

Tablo 2.7. Arı sütü vitamin içeriği (mg/gr) (İnt. Kyn. 4)

	Tiamin (B ₁)	Riboflavin (B ₂)	Pantotenik asit (B ₅)	Pridoksin (B ₆)	Niasin (B ₃)	Folik Asit (B ₉)	Biotin (B ₇)
Asgari	1.44	5	159	1	48	0.130	1.1
Maksimum	6.70	25	265	48	88	0.530	19.8

2.1.6.3 Arı Sütü Üretimi ve Muhafazası

Arı sütü çağlar boyunca insanlar tarafından kullanılmaktadır. Üretimi zor ve emek gerektiren bir olay olmasına karşın yapılmaktadır (Korkmaz ve Öztürk 2010). Arı sütü üretimi 4 aşamada gerçekleşmektedir. Bunlar;

1. Yüksüklerin yapımı
2. Başlangıç kolonilerinin hazırlanması
3. Larva aşılama
4. Süt toplama dır.

Arı sütünü elde etmek için ana arı yüksükleri hazırlanır ve bunlara 1-1.5 günlük larvalar nakledilir. İşçi arılar bu larvaları beslemek için arı sütü salgırlar. Larvaların arı sütünü tüketmelerine fırsat verilmeden 24-36 saat sonra kovanlar açılarak çerçeveler alınır. Yüksükler içerisindeki larvalar çıkartılarak gözlerdeki sütler toplanır. Arı sütü toplamada zaman çok önemlidir (Şerefoğlu 2009).

Bazı faktörler elde edilecek arı sütü miktarını etkilemektedir. Bu faktörler;

1. Başlangıç koloni ve transfer edilen larva genotipine,
2. Güçlü kolonilerin kullanılmasına,
3. Başlangıç kolonilerinin beslenmesine,
4. Başlangıç kolonisine konulan larva sayısına,
5. Uygun yaşta larva kullanılmasına,
6. Koloniye gelen besin çeşidine,
7. Başlangıç kolonisinde bulunan işçi arı sayısına,
8. Larva transfer odasının sıcaklık ve nemine bağlıdır (Korkmaz ve Öztürk 2010, Şerefoğlu 2009).

Arı sütü hasadının öğleden önce, kuru ve gölge bir ortamda yapılması gerekir. Arı sütü ısı, ışık, nem, hava ve daha birçok faktörden etkilenmektedir. Bu yüzden muhafazası zordur. Soğutma ve dondurma işlemleri arı sütünün kimyasal özelliğinde çok fazla değişiklik yapmamaktadır. Koyu renkli cam kaplarda 0°-5°C'de buzdolabında saklanabilir. Oda sıcaklığında 6 saat, 5°C'de 2 ay, dondurulmuş ve kurutulmuş olarak -18°C'de ise 6 ay bozulmadan saklanabilir (Erdoğan 2010, Korkmaz ve Öztürk 2010, Şerefoğlu 2009).

2.1.6.4 Arı Sütünün Etkileri

Antioksidan etki

Son zamanlarda arı sütünün su, enzimatik hidroliz ve alkali ekstraksiyonu antioksidan özellikleri için test edilmiştir. Larva transferinden sonra 24 saat içinde toplanan arı

sütünün güçlü antioksidan etkisi vardır. Antioksidan özelliği laboratuvar hayvanlarında denenmiş ve lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği kanıtlanmıştır. Arı sütü, oksidatif hasarın DNA'yı etkilemesini engellemiştir (Pavel *et al.* 2011).

Nörotropik etki

Arı sütünün hafıza geliştirici, yaşlılık önleyici, enerji arttırıcı ve hiperaktifliği azaltıcı etkileri bilinmektedir (Pavel *et al.* 2011).

İnsülin benzeri etkisi

Çin ve Japonya'da diyabet ile mücadele etmek ve kan şekeri düzeylerini normal tutmak için arı sütü kullanır. Arı sütü insülin benzeri peptidler ve diğer bileşikler sayesinde kan şekeri seviyesini azaltır. Arı sütünde bulunan insülin memelilerde bulunan insüline çok benzerdir (Pavel *et al.* 2011).

Kan Düzenleyici Etkisi

Arı sütü kan basıncını düzenleyici olarak kardiyovasküler sistemi görür, onu uyarır ve organizmayı canlandırır. Alternatif tıp hipotansiyon, hipertansiyon ve anemi için arı sütünü tavsiye etmektedir (Pavel *et al.* 2011).

Antibiyotik etki

Arı zehiri ve propolisten sonra arı sütünün de güçlü bir antibiyotik aktivitesi vardır. Arı sütü yenmesi ile antibiyotik ve anti inflamatuvar etkileri gösteremeyen aktif maddelerin sindirim veya nötralizasyon ile yıkımıyla pH değişikliklerine neden olduğu görülür. Gram-pozitif bakterilere karşı arı sütünden gelen royalisin adındaki proteinin vitro çalışmalarda güçlü antibakteriyel olduğu kanıtlanmıştır. Fakat gram-negatif bakterilerde bu gözlenmemiştir (Pavel *et al.* 2011). In vitro çalışmalarda arı sütünde bulunan 10-hidroksi-2-dekanoik asit'in (10-HDA) antibakteriyel etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. 10-HDA, birçok bakteriye karşı antibiyotik aktivitesi gösterir (Kaynar 2010).

Antialerjik etki

In vitro ve in vivo deneylerde arı sütünün ve bileşenlerinin çeşitli bağışıklık sistemi üzerinde destek etkileri araştırılmış ve kanıtlanmıştır. Arı sütü içeriğinde bulunan amino ve gamma globulin, doymamış yağ asitleri, hormonlar, enzimler, protein, vitamin E ve A bağışıklık sistemi enfeksiyonlarıyla mücadelede yardımcı olur (Pavel *et al.* 2011).

Anti-inflammatuar aktivite ve yara iyileştirici etki

Kronik diyabetik ratlarda antiinflammatuar etki gösterdiği ve yara iyileşmesini hızlandırdığı bildirilmiştir (Kaynar 2010).

Toksitesi

Arı sütü 3 gr/kg miktarında ratlara enjekte edildiğinde toksik etki göstermemiştir. Kanıtlanmamış olsa da insanlar içinde güvenilir olduğu bildirilmiştir. Arı sütünün yan etkileri olarak kontak dermatit, akut astım, anaflaksi, eozinofilik gastroenterit gösterilebilir (Kaynar 2010).

2.1.6.5 Arı Sütünün Kullanım Alanları

- Beslenme ürünlerinde (bal ve arı sütü karıştırılarak),
- İlaç ürünlerinde,
- Kozmetiklerde ve dermatolojik preparatlarda,
- Hayvanların beslenmesinde kullanılır (Korkmaz ve Öztürk 2010).

2.1.6.6 Arı Sütünün Pazarlanması

- Saf halde arı sütü,
- Dondurulmuş ve kurutulmuş (liyofilize) arı sütü,
- Arı sütlü bal yada yoğurt,
- Jeller ve yumuşak karameller,

- Kurutulmuş meyve suyu konsantresi,
- Sıvı preparatlar,
- Tabletler,
- Kapsüller,
- Kozmetikler şeklindedir (Korkmaz ve Öztürk 2010).

2.1.6.7 Arı Sütünün Etki Ettiği Hastalıklar

Arı sütünü diğer besinlerden ayıran en önemli özelliği; insan vücudunda bütün hücreleri yenilemesi, beslemesi, onarması, tamir etmesi, geliştirmesi, metabolizma dengesini kurması, yaşlanma hızını azaltması olarak sayılabilir (Suver 2008). Arı sütünün etki ettiği hastalıklar şu şekildedir;

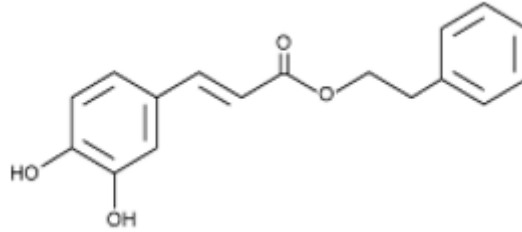
- Akne,
- Dermatit (isilik),
- Su toplaması (Fluid retention),
- Bronş astımı,
- Bronşit,
- Soğuk algınlığı,
- Alerjiler,
- Damar sertliği,
- Anemi (kansızlık),
- Böbrek ve idrar yolu rahatsızlıkları,
- Hipo- ve Hipertansiyon,
- Mide ve bağırsak hastalıkları,
- Romatizma,
- Zihinsel ve bedensel yorgunlukların giderilmesi,
- Hipoglisemik (kan şekerini düşürücü),
- Cilt ve saç hastalıklarında tedavi edici,
- Kanser ve lösemi (Şahinler 2000, Suver 2008).

2.1.7 Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE)

Arıların ürettiği maddelerden biri olan propoliste yüz çeşide yakın bileşen vardır. CAPE, propolisten elde edilen flavonoid benzeri bir bileşiktir (Oğuzhanoğlu 2009). CAPE koyu yeşil yada kahverenginde, acı tatta, keskin ve güzel kokulu bir maddedir (Uzar 2006, Özden 2008). Yağda çözünebilen bir bileşiktir (Gürsul 2006).

2.1.7.1 Yapısı ve Kimyasal Özellikleri

Yapısal olarak flavonoidlere benzeyen CAPE, Şekil 2.1'de görüldüğü gibi iki halkasal yapıya sahiptir. Halkaların bir tanesinde molekülün kimyasal özelliklerinin oluşmasında etkili olan iki tane -OH grubu vardır (Oğuzhanoğlu 2009, Özcan 2009).



Şekil 2.1. Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE) Yapısı (Oğuzhanoğlu 2009)

Hidroksil grupları aktif olarak elektron alıp vererek oksitleyici ve indirgeyici özellik gösterir. CAPE çok uzun aromatik ve alifatik yapıda karbon taşıdığı için lipofilik özellik gösterir, hücre membranından kolay bir şekilde geçer ve etki göstereceği bölgeye kolaylıkla ulaşır (Özcan 2009, Mutlu 2009).

CAPE, kafeik asit ve fenetil alkol üzerinden asit ile esterifikasyon yoluyla kimyasal olarak da üretilebilir (Son *et al.* 2001).

2.1.7.2 CAPE'in Fonksiyonel Etkileri

CAPE antioksidan, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antiviral ve antikansorejen etkileri olan bir bileşiktir (Oğuzhanoğlu 2009, Ramrez *et al.* 2008).

CAPE'in antiinflamatuvar etkisi ratlarda diklofenak ve hidrokortizon ile aynı değerlerde bulunmuştur (Oğuzhanoğlu 2009). Böbrek, kalp, testis ve bağırsak gibi organları iskemi/reperfüzyon hasarına karşı korumuştur (Gürsul 2006).

CAPE böbrek, akciğer ve meme kanserine karşı antikansorejen özellik gösterir. Rat kolon kanserinde CAPE ile yapılan tedavilerde tümörü azalttığı görülmüştür (zgner 2007).

CAPE yapısında bulunan iki hidroksil grubu sayesinde antioksidan özellik gösterir (zbalcı 2007). Linoleik asit ve araşidonik asitin 5-lipooksijenaz tarafından oluşturulan lipid peroksidasyonunu engeller. Yaklaşık 10 $\mu\text{mol/L}$ konsantrasyonda nötrofiller yada ksantin/ksantin oksidaz tarafından oluşturulan reaktif oksijen türlerini tamamen yok eder (Uzar 2006, ağlı vd. 2005).

2.2 Pestisitler

Tarım bitkilerinin üretimi, işlenmesi, hazırlanması, tüketimi, depolanması ve taşınması esnasında bu bitkilere zarar veren ve "pest" olarak adlandırılan bitkisel ve hayvansal parazitlere karşı kullanılan kimyasal maddelere pestisit denir (Büyükben 2008, Keskin 2008).

Çok eski tarihlerden beri pestisit kullanımı vardır. M.. 1500'lerde bit, eşek arısı ve pirelere karşı insektisitlerin hazırlandığına dair kayıtlar bulunmuştur. 19. yüzyılda zararlılara karşı inorganik pestisitler kullanılmıştır. 1940'lı yıllardan sonra ise pestisit üretiminde organik kimyadan da yararlanılmıştır. 1937 yılında Gerhard Schrader kontrolünde bir grup Alman kimyager tarafından Bayer fabrikalarında organik fosfat esterleri sentezlenmiştir (zsoy 2010).

Pestisitlerin doğada uzun süreler kalabilmesi, seçiciliklerinin olmaması ve besin zincirinde birikme yeteneklerinden dolayı bazı bölgelerde yararlı türlerin yok olmasına, pestisitlere dirençli yeni ürünlerin oluşmasına ve ekosistemde dengenin bozulmasına neden olmaktadır (Büyükben 2008). Pestisitlerin ve türevlerinin tarım ürünlerinde bulunan miktarlarına *pestisit kalıntısı* denir. Pestisit kalıntılarının önemi ilk kez 1948 ve 1951 yıllarında insan vücudunda bazı pestisit türlerinin kalıntıları bulunduğunda anlaşılmıştır (Keskin 2008, Özsoy 2010).

Pestisitlerin bazıları kanserojen ve sinir sistemini etkileyici yönde zarar verebilir. Pestisit kalıntılarının en önemli kaynağı gıdalardır. Bundan dolayı 1960 yılında FAO (Food and Agriculture Organization, Gıda ve Tarım Örgütü) ve WHO (World Health Organization, Dünya Sağlık Örgütü) "Pestisit Kalıntıları Kodeks Komitesi" ni kurmuşlardır (Özsoy 2010).

FAO ve WHO' ya göre her zehirli madde pestisit olarak adlandırılmaz ve kullanılamaz. Zehirli özellik gösteren madde FAO ve WHO tarafından belirlenen esaslara göre pestisit olarak adlandırılır. Bir maddenin pestisit olarak adlandırılabilmesi için şu özellikleri taşıması gerekmektedir (Bakal 2010):

- Etkili olmalı,
- Kararlı olmalı,
- Güvenilir olmalı,
- Yabani hayatta zararlı olmamalı,
- Kullanıcılar, üçüncü şahıslar ve tüketiciler için güvenilir olmalı,
- Faydalı organizmalara zarar vermemeli,
- Besi hayvanları açısından güvenilir olmalı,
- Biyolojik olarak aktif olmalı,
- Çevre için kabul edilebilir olmalı,
- Ticarete sorun çıkarmamalı

2.2.1 Pestisitlerin Sınıflandırılması

Kimyasal açıdan büyük farklılıklar gösteren pestisitler değişik şekillerde sınıflandırılırlar. Bu sınıflandırmalar genellikle kimyasal formüllerine, kullanıldıkları zararlılara, zehirliliklerine, etki şekillerine, vücuda giriş ve atılma yollarına göre yapılabilir. En bilimsel sınıflandırma şekli ise zararlılara ve etkili kimyasal madde grubuna göre sınıflandırmadır (Keskin 2008, Özsoy 2010).

Etkiledikleri zararlı türlere ve kullanım alanlarına göre pestisitler şu şekilde sınıflandırılmaktadır (Özsoy 2010):

- İnsektisitler (böcek türlerini öldürücüler),
- Rodendisitler (fare, sıçan gibi kemiricileri öldürenler),
- Herbisitler (yabancı otları öldürenler),
- Fungusitler (küf ve mantarları öldürenler),
- Bakterisitler (bakterileri öldürenler),
- Mitisitler (keneleri öldürenler),
- Larvasitler (larvaları öldürenler),
- Nematositler (solucanları öldürenler),
- Akarisitler (keneleri, örümcekleri öldürenler),
- Mollusitler (salyangoz ve sümüklü böcek öldürenler)

2.2.2 İnsektisitler

İnsektisitler, tarım bitkilerine zarar veren böceklerin öldürülmesi için kullanılan pestisitlerin en büyük grubudur. İnsektisitler toksiktir. Bu etkilerini sinir sistemini etkileyerek yada reaktif oksijen türleri ile biyomolekülleri tahribata uğratarak oluştururlar. Böceklerin sinir sistemleri çok gelişmiş olup memelilerinkine benzediğinden, insektisitlerin toksik etkileri ve hedef aldıkları organlar bütün türlerde aynıdır. Önemli olan insektisit doz miktarı, alınma yolu, metabolizma olma hızı ve maruziyet hızıdır. Dünya'da her yıl 30000'den fazla insan pestisit zehirlenmesine bağlı ölmekte ve bunun çoğunluğu insektisitler tarafından olmaktadır (Genç Karanlık 2011).

2.2.2.1 İnektisitlerin Sınıflandırması

İnektisitler kimyasal yapılarına göre dört ana gruba ayrılırlar. Bunlar:

- Organofosfatlar,
- Organoklorlular,
- Karbamatlar,
- Pyretroidlerdir.

Organofosfatlar (OP); Ev yaşamında ve tarımda en sık kullanılan inektisit grubudur.

Organoklorlular (OCl); Solunum yolu ile yada dokunma ile böceklere etki eden bir inektisit grubudur. Ca-Mg ATPaz'larını inhibe eder. Organoklorlular fazla miktarda kalıntı bıraktıklarından ve bu kalıntıların uzun süreler kalmalarından dolayı kullanımları kontrol altına alınmıştır.

Karbamatlar; Sindirim, dokunma ve solunum yoluyla bulaşılırlar.

Pyretroidler; Ca-ATPaz'ı inhibe ederler. Zararlı canlılar dışındaki canlılara etkisi azdır. Bundan dolayı kullanımı fazladır (Büyükben 2008).

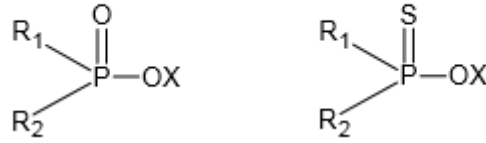
2.2.3 Organofosfatlar

Organofosfatlı inektisitler, en yaygın kullanılan inektisit grubudur. Bu pestisitler tarım sektöründe, ormancılık sektöründe ve evlerde de görülebilen pestleri yok etmek için kullanılır. İlk OP'lar, 1937'de Almanya'da Schrader tarafından bulunmuştur. Bu ürünlerin yüksek toksik etkili olduğu görülmüş ve II. Dünya Savaşı'nda Nazilerin kontrolünde tutulmuştur. Organofosfatların toksik etkisinin yanında inektisit olduğu da anlaşılmış ve organofosfatlı bir bileşik olan tetraetilpirofosfat (TEPP) sentezlenmiştir. Fakat TEPP'in sudaki yarılanma ömrü kısa olduğu ve böceklere karşı istenilen etkiyi gösterememesi nedeniyle farklı araştırmalar yapılmıştır. Daha sonra ise 1944'te Schrader dayanıklılığı daha fazla olan paration ve paraoksonu sentezlemiştir. 1940'lı yıllardan sonra organofosfatlı inektisitlerin üretimi artmıştır (Büyükben 2008, Özsoy 2010).

OP'lı inektisitler beyaz-sarı renklerde kristalize toz yada sarı-koyu kahverengi

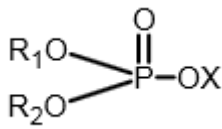
renklerde yağlı sıvı halinde bulunan ve sarımsağa benzer kokulu bileşiklerdir. Organofosfatlı bileşikler yağ ve organik çözücülerde iyi çözünürken, suda az çözünürler. Bu insektisitler çözelti halinde yada uygulandıkları yerlerde kendi kendilerine 2-4 hafta içinde hidrolize olurlar. Kalıcılıkları ortamın ısısı, pH'ı ve bileşimine bağlıdır. Kalıcı olan OP'lı insektisitler asidik ortamda daha dayanıklıdır, pH'ın 2'den düşük olduğu ortamlarda ise dayanıklı değildir. pH'ın 7'nin üzerine çıktığı zamanlarda ise her bir birimlik artış parçalanma hızını 10 kat artırır (Keskin 2008).

Organofosfatlı insektisitler, genel olarak fosforik asidin amid veya tiyol türevleridirler. Şekil 2.2'de görüldüğü gibi organofosfatlar bir fosfor atomu, buna doğrudan yada oksijen veya kükürt ile bağlanmış alkil grupları (R_1 ve R_2) ve süstitüe veya dallanmış alifatik, aromatik veya heterosiklik bir gruptan (X) oluşmaktadır (Maroni *et al.* 2000).

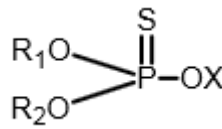


Şekil 2.2. Organofosfatların genel yapıları (Maroni *et al.* 2000)

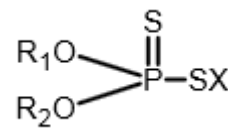
Organofosfatlar Şekil 2.3'te olduğu gibi fosfatlar, fosforotiyoatlar, fosforoditiyoatlar, fosfonatlar, fosforoamidatlar ve fosforofluoridatlar olarak 6 gruba ayrılırlar (Büyükben 2008).



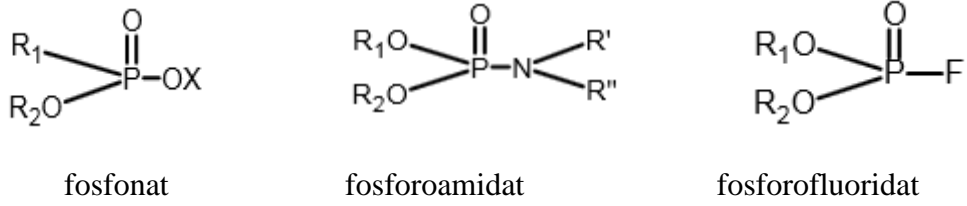
fosfat



fosforotiyoat



fosforoditiyoat

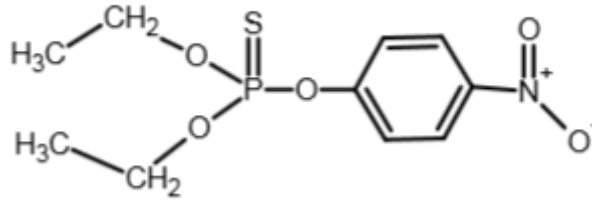


Şekil 2.3. Organofosfatların genel kimyasal yapıları

2.2.3.1 Organofosfatların Sınıflandırması

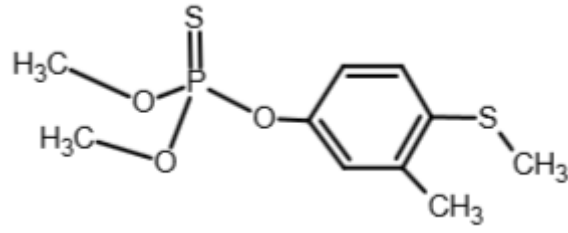
En iyi bilinen organofosfatlı insektisitler parathion, fenthion, diklorvos, diazinon ve malatyon'dur.

Parathion; Canlı organizmalar için yüksek toksisiteye sahip olan parathion, fosforotiyoat türünde bir organofosfattır (Şekil 2.4). Emilen parathion hızlı bir şekilde paraksona dönüşür. Parakson baş ağrısına, titreme ve kasılmalara, kusma ve diareye, görme bozukluğuna ve ölüme neden olabilir (Büyükben 2008).



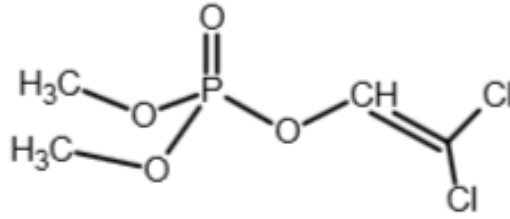
Şekil 2.4. Parathion

Fenthion; DMTP (O,O-dimethyl O-4-methylthio-m-tolyl phosphorothioate) olarak da bilinen fenthion, fosforotiyoat yapısındadır (Şekil 2.5). Fenthion diğer OP'lara göre daha az toksik olması ve daha az kalıntı bırakması nedeniyle günümüzde pek çok tarımsal faaliyette kullanılmaktadır (Büyükben 2008).



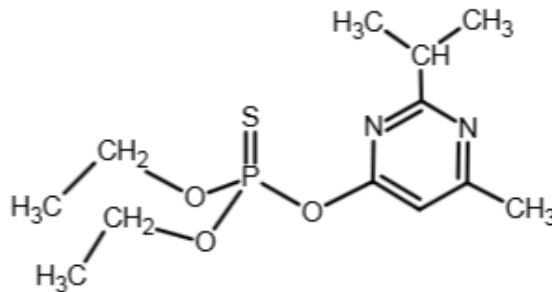
Şekil 2.5. Fenthion

Diklorvos; Güçlü bir toksisiteye sahip olan ve 1961 yılından beri üretilen bir insektisittir (Şekil 2.6). Solunum ve temas ile bulaşabilir. Renksiz-kehribar renkli, aromatik kokulu ve uçuculuğu fazla bir sıvıdır. Mide ve bağırsaklardan emilip hızlı bir şekilde parçalanır (Keskin 2008, Özsoy 2010).



Şekil 2.6. Diklorvos

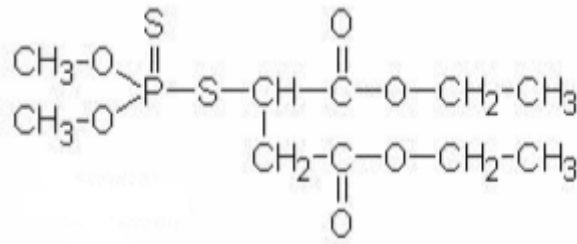
Diazinon; Tiyofosforik asidin esterlerinden biri olan diazinon, 1956 yılında bulunmuştur (Şekil 2.7). Kırmızı-kahverenginde bir sıvıdır. Hamam böcekleri ve karıncalara karşı mücadelede kullanılır (Keskin 2008).



Şekil 2.7. Diazinon

2.2.3.2 Malatyon

Malatyon [O,O-dimethyl-S-(1,2-dicarbethoxy-ethyl) phosphorodithioate], dünya genelinde böceklerden korunmak amacıyla kullanılan ve memelilerde toksisite etkisi düşük olan geniş spektrumlu bir organofosfat insektisittir (Şekil 2.8). Malatyon'un bilinen diğer isimleri Carbofos, Maldison ve Mercaptotion'dur (Bakal 2010, Uzun 2007, Koçak Memmi 2009).



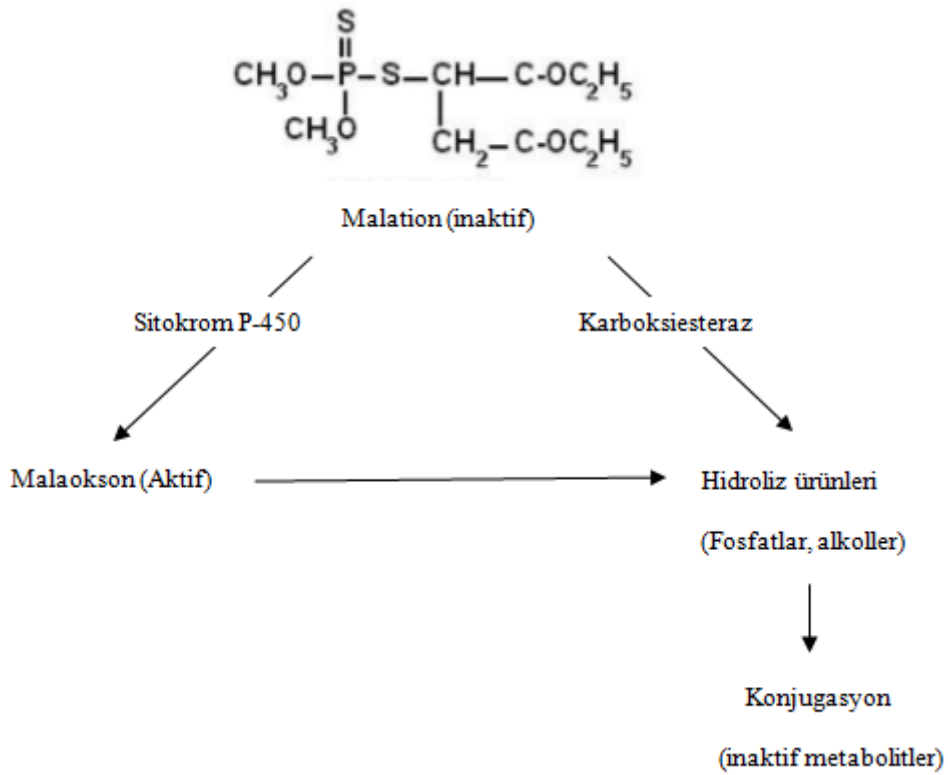
Şekil 2.8. Malatyon

Kimyasal yapı formülü $C_{10}H_{19}O_6PS_2$ dir. Moleküler ağırlığı 330.36 g, kaynama noktası 156-157°C (0.7 mm Hg), buhar basıncı 30°C'de 4.10-5 mm Hg, erime noktası 2.85°C, adsorpsiyon katsayısı 1800, sudaki çözünürlüğü 130 mg/L olup çoğu organik çözeltilerde kolaylıkla çözünebilir ve açık kehribar renkli bir sıvıdır. (Bakal 2010, Gürdegin 2006).

Malatyon çiftlik hayvanlarının etrafındaki ahırlarda, mandıralarda, kümeslerde spreyleme metodu ile parazit yayılmasını engellemek için, tarımda ve bahçecilikte, insanların başlarındaki bitleri tedavi etmek için şampuanlarda kullanılmaktadır. Bu kullanım yollarından dolayı birçok insan malatyonun etkilerine maruz kalmaktadırlar. Fakat sık kullanım nedeninin önemli sebebi ise, diğer insektisitlere göre akut toksisitesinin düşük olmasıdır (Uzun 2007, Koçak Memmi 2009, Gürdegin 2006).

Organizma vücudunda bulunan malatyon, karaciğerde sitokrom P450 enzimleri tarafından kendisinden 60 kat fazla toksik olan malaokson'a çevrilir (Şekil 2.9). Malaokson, memelilerde kırmızı kan hücreleri, kaslar, beyin ve diğer dokularda bulunan

asetilkolinesteraz enziminin inhibitörüdür. Malaokson, malatyona göre 900 kez daha zehirlidir ve insan karaciğerine önemli zararlar verebilir. Malatyon'un böceklerde toksik etki gösterdiği halde memelilerde bu etkinin az olmasının nedeni, iki türde de biyotransformasyona uğramamasıdır. Biyotransformasyon yolları aynı, hızları farklıdır. Karboksilesteraz enzimi memelilerde, böceklerde göre daha hızlı çalıştığından Malatyon ve malaokson daha hızlı parçalanır. Memelilerde aktivitesinin yüksek olmasından dolayı toksik etki az görülür. Böceklerde ise bu enzim yavaş çalıştığı için malaokson birikimi sonucu sinirsel kasılmalar ve ölüm meydana gelir (Bakal 2010).



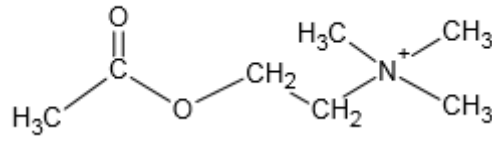
Şekil 2.9. Malatyonun memelilerde ve böceklerde biyotransformasyonu

2.2.3.3 Asetilkolinesteraz

Sinir sistemi nöron adı verilen sinir hücrelerinden meydana gelmektedir. İnsan vücudunda tek hat halinde sinirler olabileceği gibi sinaplarla bağlantılı ardışık sinirlerde mevcuttur. Bu tür sinirler tek parçalara göre çok daha fazladır.

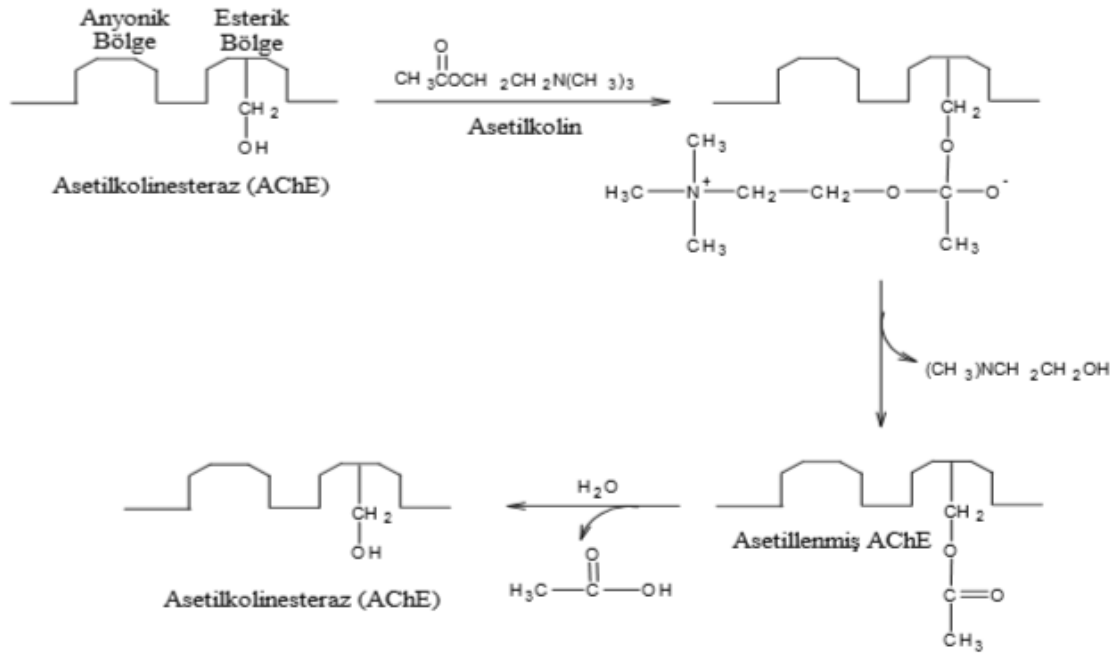
Nörotransmitterler nöronlar arasında veya bir nöron ile başka bir tür hücre arasında iletişimi sağlayan kimyasallardır. Sinir sistemi boyunca ileti bu kimyasallar ile taşınır (Kandel *et al.* 2000).

Nörotransmitterler yavaş etkili, hızlı etkili ve hem hızlı hem yavaş etkili transmitterler olmak üzere üç gruba ayrılırlar. İlk keşfedilen nörotransmitterlerden olan asetilkolin (ACh) hem hızlı hem de yavaş etki gösterebilme özelliğindedir (Büyükben 2008).



Şekil 2.10. Asetilkolin

Membrandaki ACh elektriksel iletiyi diğer nörona aktardıktan sonra deaktive edilmesi gerekir. Aksi takdirde sürekli kendi reseptörlerini stimüle edecek ve diğer nörona gereksiz ve aşırı elektriksel iletiler oluşturacaktır. Bunun için nöronal ve nöronal olmayan hücrelerden asetilkolinesteraz (AChE) salgınır. AChE enziminin ortamdaki ACh'ni inaktive etme görevi bulunur. ACh molekülünün anyonik kısmı önce AChE'in esterik kısmına bağlanarak hidroliz olur (Şekil 2.11) ve aktivitesi ortadan kalkar (Büyükben 2008).



Şekil 2.11. AChE enziminin ACh'i hidrolizi

Kolinesteraz enziminin inhibisyonu, sinir sinapslarında ve nöromüsküler kavşaklarda asetilkolinin akümülyasyonuna ve asetilkolin reseptörlerinin aşırı uyarımına yol açar. Bu başlangıç aşırı uyarımını, santral sinir sisteminde (SSS), otonomik ganglionlarda, parasempatik ve bazı sempatik sinir sonlanımlarında (ter bezleri) ve somatik sinirlerde kolinerjik sinaptik transmisyon paralizisi izler. Sonuçta klinik olarak kolinerjik kriz belirtileri görülür. OP'lar vücuda girip emildikten sonra, SSS'de ve eritrositlerde bulunan AChE ve plazmada bulunan butirikolinesteraz enzimlerinin aktif bölgesinde fosfat radikallerine kovalent olarak bağlanarak bu enzimleri geri dönüşümsüz olarak inhibe ederler (Kahraman 2008).

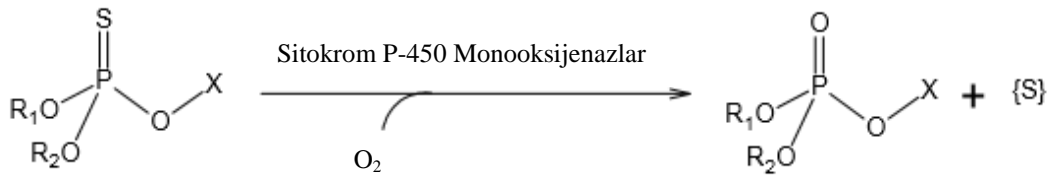
Bu enzimlerin inhibisyonu sonucunda hidrolize olmayan ve biriken asetilkolin, kolinerjik reseptörlerin aşırı uyarılmasıyla zehirlenme belirtilerini oluşturur (Kahraman 2008).

2.2.3.4 Organofosfatların Organizmaya Giriş Yolları ve Etki Mekanizmaları

OP'lı bileşikler deri, mukoza, göz, solunum ve gastrointestinal sistemden hızla absorbe

olurlar. Deri yoluyla gerçekleşen zehirlenmelerde emilim yavaştır. Solunum ile zehirlenen kişilerde ise belirtiler hızlı başlar. Organofosfat bileşikleri yağ dokusu, karaciğer ve böbreklerde birikir. Fosfotiotlar (P=S), fosfatlardan (P=O) daha lipofilik olduğundan yağ dokusunda daha fazla birikir (Genç Karanlık 2011).

OP'lı bileşiklerin toksik etkilerinden biri, AChE enziminin etkisini engellemesidir. Bundan dolayı antikolinesterazlar olarak da adlandırılırlar. Toksik etkileri biyotransformasyonları ile alakalıdır. "P=S" bağı içeren OP'lar aktif AChE inhibitörü değildirler. Aktivasyon için "P=S" nin "P=O" ya yani okson metabolitlerine okside olmaları gerekmektedir. Şekil 2.12'da gösterildiği gibi I. faz reaksiyonu ile sitokrom P-450 monooksijenazlarca katalizlenen oksidasyon karaciğer, akciğer ve beyinde gerçekleşir. Reaksiyonda oksijen "P=S" grubuna bağlanarak, molekülün rezonans şeklinde elektronları kendine çeker ve sonuçta kükürdün anorganik kükürt şeklinde ayrılmasına neden olur (Manahan 2003).



Şekil 2.12. I. faz reaksiyonu ile meydana gelen desülfürasyon

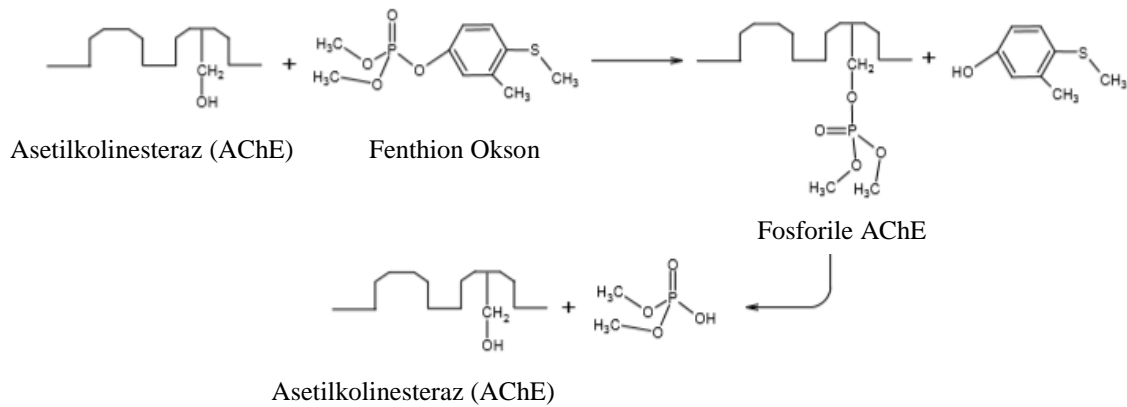
Aktivasyon sonucunda oluşan okson ara metabolitleri aril veya alifatik hidrolazlar tarafından hidroliz olurlar. Bu enzimler, memeli hücrelerinde olduğu halde böceklerin birçoğunda yoktur. Bu nedenle OP'lı insektisitlere böcekler daha duyarlıdır. OP'ların hidrolizi bitki ve memelilerin dokularında yaygın olarak bulunan birçok hidrolaz enzimi tarafından gerçekleştirilir. Enzimlerin aktivitesi, insektistteki süstitüente göre değişmektedir. Bu durum insektistin detoksifikasyon hızının da yapıya bağlı olduğunu gösterir. OP'ların etkisizleştirilmesinde en büyük rol oynayan enzim, organofosfat hidrolaz (OPH) olarak da bilinen fosfotriesterazdır. Bu enzimin mevcudiyeti memelilerde toleransı, böceklerde ise rezistansı sağlar (Büyükben 2008).

Organofosfatlı insektisitler sadece okson şeklindeyken inhibitör özelliği kazanırlar. OP'lı insektisitler direkt ve indirekt etkili olarak iki şekildedir.

1. Direkt Etkililer: Bu insektisitler hiçbir metabolik aktivasyona gerek duymadan direkt olarak asetilkolin estera (AChE) enziminin etkinliğini engellerler. Tetraetilpirofosfat (TEPP) ve diklorvos bunlara örnektir.

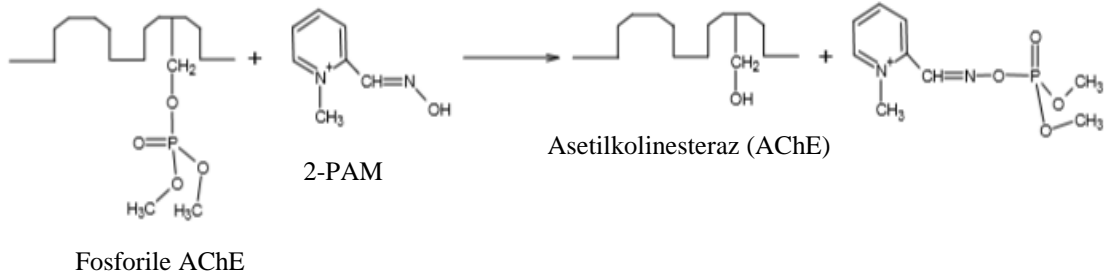
2. İndirekt Etkililer: Bu insektisitler P=S yapısındadır ve öncelikle P=O yani okson şekline dönüşerek aktive olurlar. Örneğin; Malatyon malaksona, parathion paraksona dönüşünce aktifleşir (Özsoy 2010).

Bir nörotransmitter olan ACh'nin sinaps boşluğunda birikmesi sonucu aşırı stimulyasyonlar oluşur ve ACh'ni AChE enzimi inhibe ederek bu stimulyasyonları durdurur. OP'lar ortamdaki AChE enzimine geri dönüşümsüz olarak bağlanarak işlevlerini yerine getirmesini engeller. Yani ACh'i taklit ederek onların yerine geçer ve AChE oranını düşürür. Toksik OP'lar tıpkı ACh gibi AChE'nin esterik ucundan enzime bağlanır ve fosforile AChE denilen kompleksi oluştururlar. Meydana gelen yapı dayanıklı ve geri dönüşümsüzdür (Şekil 2.13). Bu yüzden yeni kompleksin rejenerasyonu çok zordur ve uzun süre gerektirmektedir (Büyükben 2008).



Şekil 2.13. Fenthionun AChE enzimini inhibisyonu

Geri dönüşümsüz inhibisyonda, enzim rejenerasyonu çok yavaştır. Enzim rejenerasyonu, dışarıdan verilen enzim reaktivatörü ve antidotlar (2-PAM vb.) gibi başka kimyasallar yardımıyla hızlandırılabilir (Şekil 2.14). Bu işlemle AChE enzimine bağlı OP'lar daha kolay ve hızlı şekilde yapıdan uzaklaştırılır (Büyükben 2008).



Şekil 2.14. Rejenerasyonun 2-PAM ile hızlandırılması

OP'lı insektisitlerin AChE enzimini inhibe etmesi dışında diğer bir toksik etkisi de reaktif oksijen türleri (ROS) denilen yıkıcı molekülleri oluşturması veya bu moleküllerin lipidler, DNA-RNA veya proteinlere olan zararlı etkilerini kolaylaştırmasıdır (Büyükben 2008).

2.2.3.5 Organlarda Görülen Organofosfatlı Bileşiklerin Etkileri

Organofosfat zehirlenmesinden sonraki 96 saat içerisinde solunum yetmezliği komplikasyonu meydana gelir (Yao Tsao 1990).

Kaslarda, son-plak bölgesindeki kas liflerini etkiler ve nekrotizan miyopati meydana getirirler. Organofosfatlı bileşik ne olursa olsun liflerdeki dejenerasyon 24-48 saat içinde yüksek derecededir. Organofosfatlı bileşiklerden zehirlenildiğinde kaslarda ödem, inflamasyon ve orta derecede nekroz görülür (Adadioğlu 2010, Büyükokuroğlu 2008).

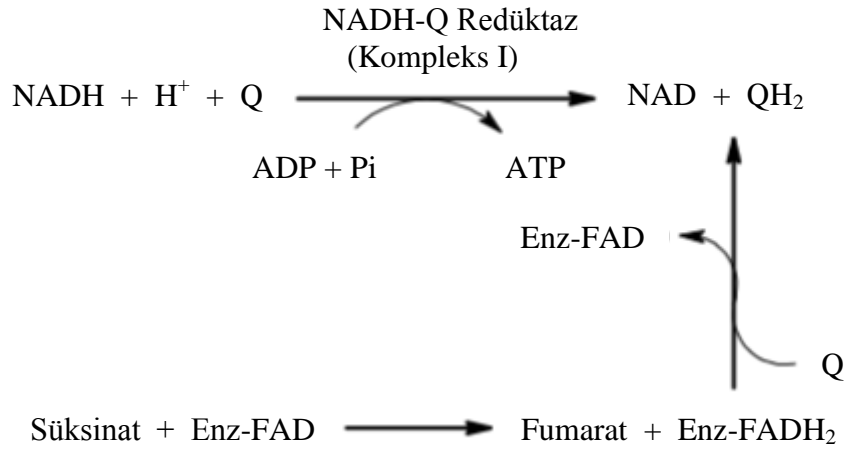
Kalpte, elektrokardiyografik değişiklikler ile organofosfatlı bileşiklerden zehirlenmenin şiddeti ilişkilidir (Adadioğlu 2010).

Pankreasta ise, organofosfat bileşiklerine maruz kalındığında hiperamilazemi, pankreatit ve karaciğer enziminin yükseldiği bildirilmiştir. OP alımı ile kan glikoz düzeyleri artar yani hiperglisemi oluşur. Pankreas hücre hasarı olduğunda bu hiperglisemi durumu hipoglisemiye sekonder olarak gelişir (Adadıoğlu 2010).

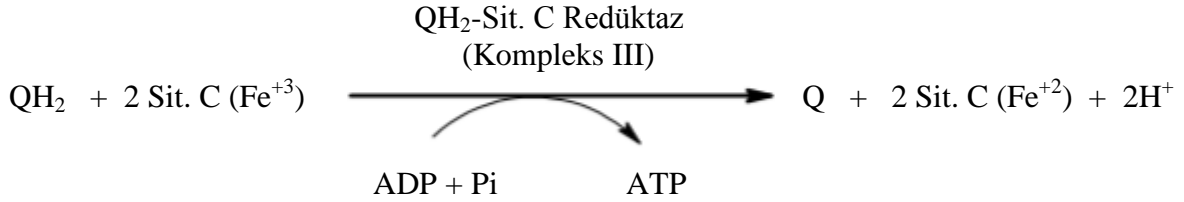
2.2.3.6 Organofosfatlı İnsektisitler ve Reaktif Oksijen Türleri

Organofosfatların hücrede en çok etkiledikleri organel mitokondrilerdir. Ökaryotik hücrelerde enerji üretiminden sorumlu olan mitokondride, yağ asitleri ve karbonhidratların parçalanmasından oluşan enerjiden oksidatif fosforilasyon sonucu ATP oluşmaktadır (Nelson and Cox 2005).

Metabolik enerjinin esas kaynağı yağ asitleri ve glikozun oksidatif yıkımıdır. Glikoz metabolizması sitozolde gerçekleşir ve glikoz molekülleri piruvata dönüşür. Piruvat, mitokondriye geçerek sitrik asit döngüsü ile okside olmaktadır. Karbonhidrat molekülleri içerisinde bulunan enerji NAD^+ ve FAD yapısına aktarılmaktadır. Meydana gelen indirgenmiş koenzimlerin yani $FADH_2$ ve $NADH$ yapısında bulunan elektronlar, mitokondri iç membranında yerleşik olarak bulunan Koenzim Q elektron taşıyıcılarına bağlanmaktadır (Şekil 2.15 ve Şekil 2.16). Elektron transferinden elde edilen ve membranlar arası bölgede olan proton gradientinde depolanan potansiyel enerjiden, mitokondri iç membranında ATP sentezlenmektedir (Nelson and Cox 2005).

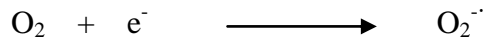


Şekil 2.15. ATP'nin ilk oluşum yeri

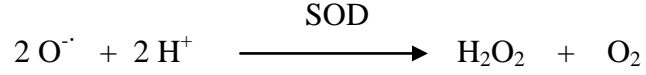


Şekil 2.16. ATP'nin ikinci oluşum yeri

Metabolizma açısından önemli görevi olan Koenzim Q (ubikinon), kompleks I ve kompleks III tepkimeleri sırasında Q[•] radikalik halini alabilir ve bu radikalde bulunan elektronunu oksijene aktarabilir. Oksijen elektronu bağlar ve süperoksit radikaline (O₂^{•-}) dönüşür.



Süperoksit radikalinin yıpratıcı özelliğinin giderilmesi, süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile olur. SOD, süperoksit radikalini daha az zararsız olan hidrojen peroksite (H₂O₂) dönüştürür (Dündar ve Aslan 2000).



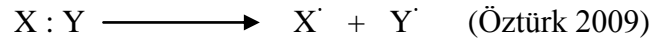
Çok zararlı olmasa da hidrojen peroksitte bir reaktif oksijen türevidir ve etkisinin giderilmesi gerekmektedir. Glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon (GSH), hidrojen peroksiti suya dönüştürür (Büyükben 2008).

2.3 Serbest Radikaller

Serbest radikaller, bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron içeren atom veya moleküller olup ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktiftirler ve yarı ömürleri kısadır. Oksijen metabolizması ara ürünleri olan oksijen türleri, Na^+ , K^+ gibi alkali metal atomları, halojen atomlar, bir orbitalinde tek elektron bulunduran NO, NO_2 gibi bileşikler radikaller olarak adlandırılmaktadır. Dış yörüngelerinde birer elektron bulunan geçiş metalleri (Fe, Cu, Mn...) ise serbest radikal olarak adlandırılmazlar (Yılmaz 2006, Sunucu Karafakıoğlu 2007). Serbest radikaller; pozitif yüklü (kation), negatif yüklü (anyon) ya da nötr olabilirler.

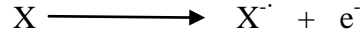
Serbest radikaller, radikal olmayan maddeler ile reaksiyona girerek yeni radikal oluşumuna yol açmakta ve böylece zincir reaksiyonunu başlatmaktadırlar. Bu radikaller üç yolla oluşmaktadırlar:

1. Kovalent bağlı bir molekülün her bir parçasında ortak elektronlardan birisinin kalarak homolitik bölünmesi (homolitik fizyon) ile serbest radikaller oluşabilmektedir (Yılmaz 2006).

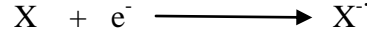


Kovalent bağın ayrılması için gerekli olan enerji, sıcaklık ve elektromanyetik radyasyon şeklinde olabilir (Aliyev 2005).

2. Molekül yapısındaki atomlardan birisinin elektron kaybı ile serbest radikaller oluşabilir (Büyükben 2008).



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile serbest radikaller oluşabilir (Öztürk 2009).



2.3.1 Reaktif Oksijen Türevleri

Aerobik organizmalarda serbest radikallerin en önemli kaynağı moleküler oksijendir. Biyolojik sistemlerde en önemli serbest radikaller oksijenden kaynaklanan radikallerdir. Serbest radikallere *oksidan moleküller*, *serbest oksijen radikalleri* yada *reaktif oksijen türevleri (ROS)* adı verilmektedir (Gülcü Bulmuş 2006, Tandon *et al.* 2005). Aerobik organizmalar yaşadıkları süre içerisinde moleküler oksijenden kaynaklanan ROS' ne maruz kalırlar (Büyükben 2008).

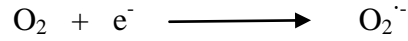
Serbest oksijen radikalleri, elektron eksiklikleri sebebiyle diğer moleküller ile kolayca elektron alışverişi yapabilenler (radikaller) ve elektron eksiklikleri olmamasına rağmen diğer moleküller ile radikallerden daha zayıf bir şekilde birleşenler (nonradikaller) olmak üzere Tablo 2.8 de olduğu gibi iki gruba ayrılabilirler (Gülcü Bulmuş 2006).

Tablo 2.8. Reaktif Oksijen Türevleri

Radikaller	Radikal olmayanlar
Süperoksit anyon radikali ($O_2^{\cdot-}$)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Hidroksil radikali (OH^{\cdot})	Singlet oksijen (1O_2)
Peroksil radikali (ROO^{\cdot})	Lipid hidroperoksit (LOOH)
Alkoksil radikali (RO^{\cdot})	Peroksinitrit (ONOO)
Organik radikaller (R^{\cdot})	Hipokloröz asit (HOCl)
Organik peroksit radikali ($RCOO^{\cdot}$)	Hipohalöz asit (HOX)
Nitrik oksit (NO^{\cdot})	Azot dioksit (NO_2)
Semikinon radikali (HQ)	Ozon (O_3)

2.3.1.1 Süperoksit Radikali (O₂^{·-})

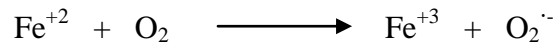
Serbest süperoksit radikali, tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alıp indirgenmesi ile oluşur. Süperoksit radikal anyonu, kimyasal ve enzimatik işlemler tarafından oluşturulan en yaygın reaktif oksijen türevidir (Yılmaz 2006, Tandon *et al.* 2005). Bu radikalın en önemli kaynağı mitokondri, kloroplast ve endoplazmik retikulum elektron transport zincirinden küçük elektron sızıntıdır.



Süperoksit radikali, biyolojik dokulara fazla zarar vermemesine rağmen hidrojen peroksit (H₂O₂) kaynağıdır ve geçiş metal iyonlarının indirgenmesine neden olmaktadır (Uzar 2006).

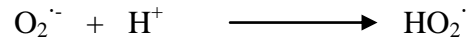
Süperoksit radikalının başlıca kaynakları (Gülcü Bulmuş 2006, Yılmaz 2010);

- Aktive fagositler,
- Ksantin ve hipoksantin'in ksantiz oksidaz tarafından oksidasyonu,
- Elektron transport zincirinden elektron sızıntıları,
- İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu



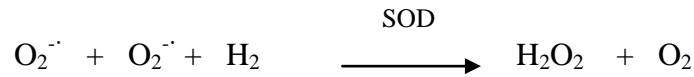
- Dopamin, epinefrin, norepinefrin gibi biyolojik aminlerin otooksidasyonu,
- Sitokrom P₄₅₀ tarafından O₂'nin bir elektron indirgenmesi,
- NADPH'ın NADPH oksidaz tarafından oksidasyonu,
- Oksidaz ve hidroksilaz enzimleri katalitik etkileri sırasında da süperoksit radikali oluşabilir.

Çeşitli durumlarda süperoksit yapımının artması ile çeşitli tepkimeler görülür. Süperoksit metal iyonlarını indirgeyerek bağlı oldukları proteinlerden salınmasına neden olur, kofaktörlerin oksidasyon düzeylerini bozar, metal iyonlarının katıldığı hidroksil radikali yapım tepkimelerini hızlandırır. Diğer radikallere göre daha az reaktif olsa da, süperoksit indirgenmiş nükleotidleri, bazı amino asitleri ve antioksidan bileşikleri oksitler. Zar fosfolipidleri nedeniyle hücre zarı yüzeyleri daha asidiktir ve süperoksit buradan daha kolayca bir proton alarak hidroperoksit radikalini ($\text{HO}_2\cdot$) oluşturur (Büyükben 2008).



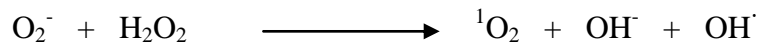
Bu radikal de çok reaktif olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonunu başlatabilir ve zarsal antioksidanları (tokoferol) oksitleyebilir.

Süperoksit miktarları arttığında süperoksit dismutaz (SOD) enzimi varlığında dismutasyona uğrayarak hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oksijene dönüşerek azalır (Büyükben 2008).



Süperoksit, ortamda SOD olmadan hafif asidik şartlarda kendiliğinden dismutasyona uğrayarak da hidrojen peroksit dönüşür.

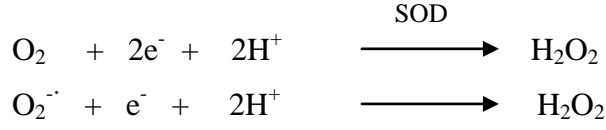
$\text{O}_2\cdot^-$, H_2O_2 ile tepkimeye girerek hidroksil radikali ($\text{OH}\cdot$) ve singlet oksijen ($^1\text{O}_2$) oluşumuna neden olur (Yılmaz 2010).



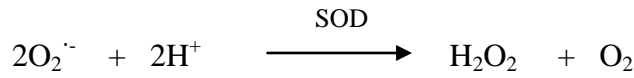
2.3.1.2 Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması yada süperoksit radikalinin ($\text{O}_2\cdot^-$) bir elektron alması sonucunda peroksit oluşur. Oluşan peroksit radikali

ise iki hidrojen atomuyla birleşerek hidrojen peroksiti (H₂O₂) oluşturur (Valko *et al.* 2004).



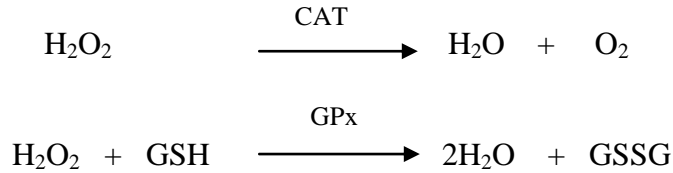
Fakat biyolojik sistemlerde hidrojen peroksit (H₂O₂) 'in en önemli üretimi süperoksit (O₂⁻) radikalinin dismutasyonu ile gerçekleşmektedir. Bu dismutasyon ya kendiliğinden yada süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile oluşmaktadır (Tür 2008).



Enzimatik dismutasyon geniş pH aralıklarında gerçekleşirken, enzimatik olmayan dismutasyon ise pH 4.8'de en hızlıdır (Özden 2006).

H₂O₂ serbest bir radikal olmamasına karşın serbest elektron içermesi, en zararlı ve reaktif olan serbest hidroksil radikali oluşturabilmesi ve hücrel membranlardan kolaylıkla girebilmesi nedeniyle önemlidir (Gülcü Bulmuş 2006).

Hidrojen peroksitin yıkıcı etkilerinden korunmak için metabolizmadan hızlı bir şekilde uzaklaştırılması gerekir. Bu olay antioksidan olan katalaz (CAT) enzimi yada glutatyon peroksidaz (GPx) enzimi ile gerçekleşmektedir. Toksik etkinin giderilmesi suya dönüşmesiyle olur (Büyükben 2008).

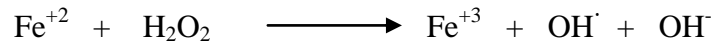


2.3.1.3 Hidroksil Radikali (OH[·])

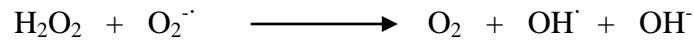
Hidroksil radikali, hemen hemen tüm moleküllerle reaksiyona girebilen reaktiflik

özelliği yüksek olan bir radikaldir. Serbest oksijen radikalleri arasında en toksik ve reaktif olan radikaldir (Uzar 2006, Yılmaz 2010). Biyolojik sistemlerde hidroksil radikali birkaç şekilde oluşabilir:

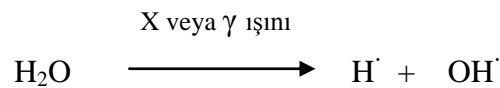
1. Fenton Reaksiyonu: Hidrojen peroksit, Fe^{+2} ve diğer geçiş metalleri (Cu, Zn, Mn, Cr, Co, Ni, Mo) varlığında indirgenir ve hidroksil radikali (OH^{\cdot}) oluşur (Gutteridge 1995).



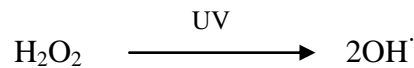
2. Haber-Weiss Reaksiyonu: Hidrojen peroksit, $O_2^{\cdot-}$ ile reaksiyona girerek hidroksil radikalini oluşturur. Bu reaksiyonda demir (Fe) ve bakır (Cu) atomu katalizör olarak kullanılır (Tür 2008).



3. Suyun yüksek enerjili iyonize radyasyona maruz kalmasıyla OH^{\cdot} oluşturulabilir. Bu olayda hücre suyu tarafından enerji emilir ve sudaki kovalent bağın parçalanmasına neden olur. Bunun sonucunda da hidrojen ve oksijenin dış orbitalinde tek elektron kalır ve radikaller oluşur (Gülcü Bulmuş 2006).



4. H_2O_2 ' nin UV ışığına maruz kalması ile iki tane hidroksil radikali oluşur.



Hidroksil radikali (OH^{\cdot})' nin en önemli hedefi elektronlar bakımından zengin bileşiklerdir. DNA' ya etkisi sonucunda baz modifikasyonları ve zincir kırılmaları görülebilir. Eğer bu hasar ileri derece olursa hücre ölümleri gerçekleşir. Proteinlere etkisi sonucunda proteolitik yıkımlar oluşur. Etki ettikleri en önemli yapı yağ asitleridir.

Lipit peroksidasyonu sonucunda zar yapısı bozulur ve hücre ölümleri gerçekleşir (Ömecen 2009).

2.3.1.4 Singlet Oksijen (1O_2)

Dış yörüngesinde eşleşmemiş bir elektronu bulunmadığından serbest radikal olarak adlandırılmaz. Fakat serbest radikal reaksiyonlarını başlattıklarından önemlidir ve serbest radikal sınıfına dahil edilmektedir (Üzümlüoğlu Coşkun 2008).

Sigma ($^1\Sigma^+ O_2$) ve delta ($^1\Delta_g O_2$) olmak üzere iki tipi mevcuttur. Sigma formu daha aktiftir ve hızla delta formuna dönüşür. Sigma formu, delta formuna göre daha stabildir ve sulu çözeltilerde yarı ömrü 10-11 saniyedir (Yılmaz 2010).

2.3.2 Serbest Oksijen Radikalleri Kaynakları

Serbest oksijen radikallerinin başlıca iki önemli kaynağı vardır;

1. Endojen Kaynaklar;

- İntoksikasyona bağlı meydana gelen oksidatif stres,
- Mitokondrial elektron transport sistemi,
- Ksantin oksidaz, adenozin deaminaz gibi pürin katabolizmasında görev yapan enzimler,
- İskemi ve travmaya bağlı oluşan oksidatif stres,
- Endoplazmik retikulum ve nükleus membranında bulunan elektron transport sistemleri,
- Lipid peroksidasyonu,
- Aktive olmuş fagositler,
- Küçük moleküllerin otooksidasyonu
- Yaşlanma (Altuntaş 2008, Uzar 2006).

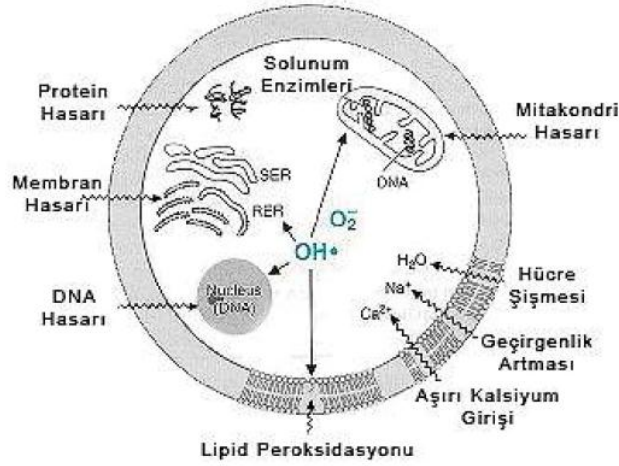
2. Eksojen Kaynaklar;

- Radyasyon,
- Hava kirliliği,
- Güneş ışınları,
- Elektromagnetik alan,
- Stres,
- Çevresel ajanlar,
- Aromatik hidrokarbonlar,
- Pestisitler (Malatyon, fenthion...),
- Hava kirliliği, alkol, sigara, bağımlılık yapan maddeler (Aygün 2010, Gülcü Bulmuş 2006, Uzar 2006).

2.3.3 Serbest Radikallerin Etkileri

Organizma fizyolojisinde birçok tepkimede görev alan serbest radikallerin yüksek oranda üretilmesi yada antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz olduğu durumlarda yani oksidan-antioksidan dengesinin oksidanlar lehine kayması sonucunda serbest radikaller metabolizmada çeşitli bozukluklara yol açar (Dündar ve Aslan 2000, Gülcü Bulmuş 2006).

Serbest radikallerin karbonhidrat, membran lipidleri, protein, DNA ve nükleik asitler gibi biyomoleküller ile etkileşme özelliği göstererek hücrede yapısal ve metabolik değişikliklere neden olurlar (Şekil 2.17) (Gutteridge 1995).



Şekil 2.17. Serbest radikallerin toksik etkileri

2.3.3.1 Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkisi

Karbonhidratlar üzerine serbest radikallerin önemli etkileri vardır. Monosakkaritlerin otooksidasyona uğraması sonucu peroksitler, hidrojen peroksit, okzoaldehitler ve süperoksit oluşur. Okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanır ve çapraz bağlar oluşturur. Bu olaylar sonucunda ise kanser ve yaşlanma görülür. Bunun yanında poliansature yağ asitleri (PUFA) ve karbonhidrat oksidasyonunun ürünü olan glyxal'in de hücre bölünmesini inhibe ettiği görülmüştür (Yılmaz 2007). Sinoviyal sıvı yapısındaki hyalüronik asit serbest radikaller ile parçalanır. Hyalüronik asit, gözün vitröz sıvısında bulunur ve serbest radikallerle etkileşmesi sonucunda katarakt oluşur (Kalaycıoğlu vd. 2010, Fidan 2007).

2.3.3.2 Serbest Radikallerin Proteinlere Etkisi

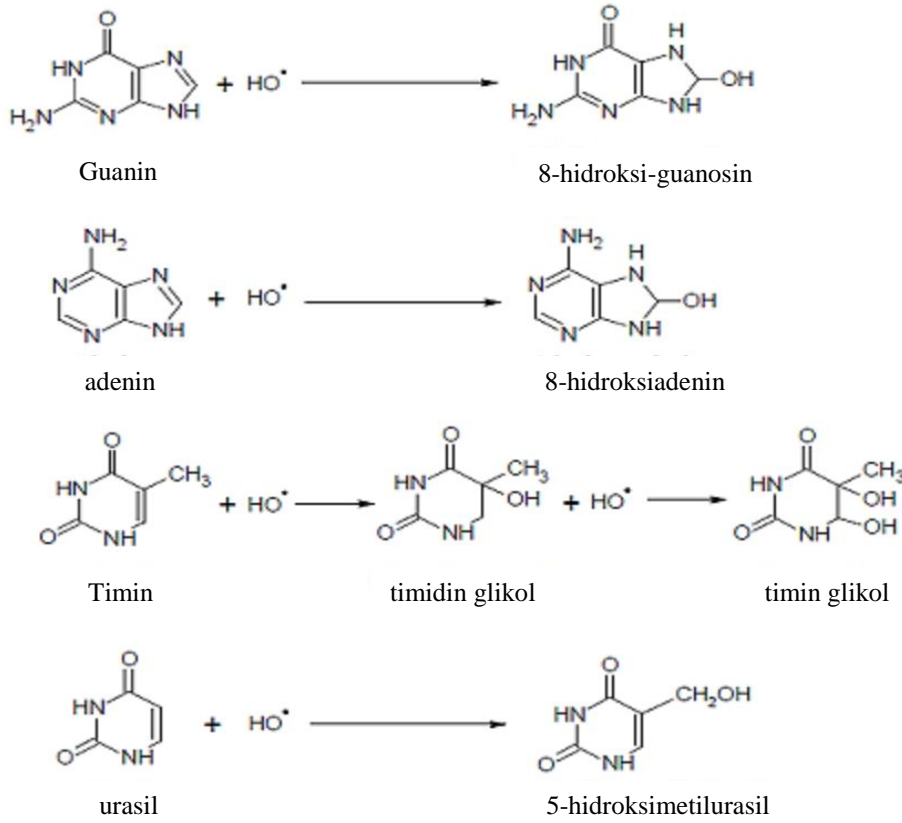
Glutasyon (GSH) gibi tiyollerin (R-SH) oksidasyonu tiyol ve oksijen radikallerinin oluşumuna neden olur. Tiyol radikalleri, hidroksil radikallerinden daha zayıf olsalar da bazı biyolojik sorunlara neden olmaktadır. Bunlar sülfür merkezli radikallerdir (RSH) ve proteinlerdeki homolitik fisyon (sülfürlerin karşılıklı bağlanması) reaksiyonları disülfid bağı oluşturur. Bu da proteinlerin konfigürasyonlarını bozarak vücuttaki

metabolik aktivitelerini engelleyerek proteinlerde ve protein içeren dokularda hasara neden olmaktadır. Bu hasar lipid peroksidasyonu sırasında oluşan radikallerin sülfidril gruplarının disülfid bağlanmalarında artışa neden olması sebebiyle daha da artar (Bhagavan 2002).

Proteinlerin serbest radikallerden etkilenme dereceleri, proteini oluşturan amino asitlere bağlıdır. Fenil alanin, sistein, tirozin, histidin ve metiyonin gibi doymamış bağ içeren aminoasitlerin bulunduğu proteinler serbest radikallerden kolay etkilenmekte ve yeni radikaller oluşmaktadır (Büyükben 2008).

2.3.3.3 Serbest Radikallerin DNA'ya Etkisi

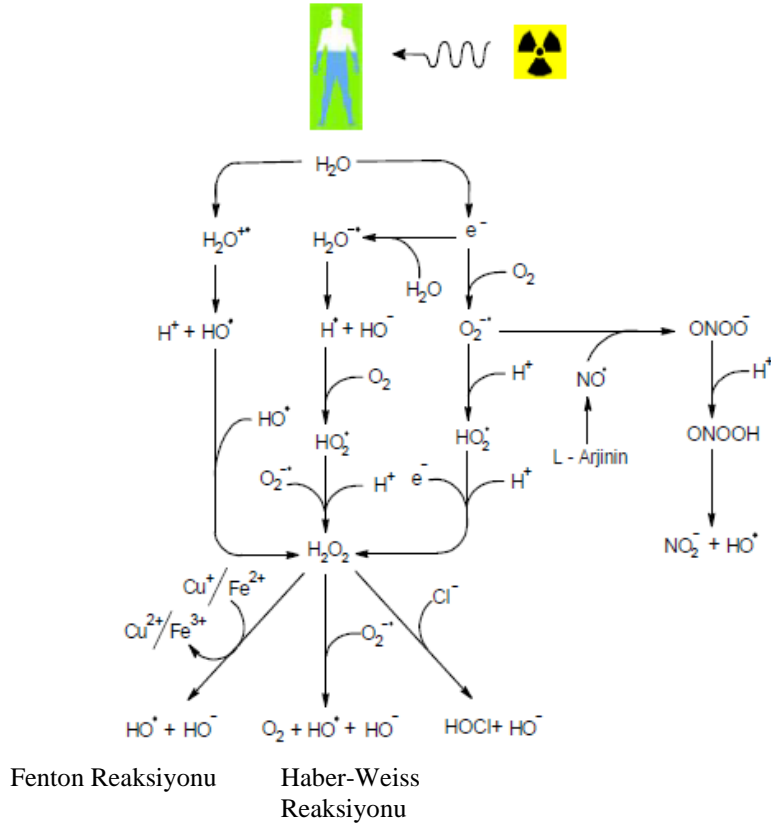
Serbest radikallerin DNA'ya etkisi sonucu, DNA'da tek ve çift dal kırıkları, baz modifikasyonları (baz katılımı, bazlarda yeniden düzenlenme), şeker hasarı meydana gelebilir bütün bu hasarlar hücrenin canlılığını tehdit eder. Ayrıca oksidatif hasara bağlı olarak DNA ile protein arasında çapraz bağlanma olabilir. Hidroksil radikali (OH[·]), deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girebilir ve değişikliklere yol açar (Şekil 2.18) (Aymelek 2009).



Şekil 2.18. Bazı nükleik asit bazlarına reaktif oksijen türlerinin etkileri

Hidroksil radikali DNA yakınında oluşursa pürin ve primidin bazlarına atak yapar ve mutasyonlara neden olabilir. Singlet oksijen nükleik asitlerle daha sınırlı reaksiyona girer. Süperoksit radikali güçlü bir oksitleyici olduğundan, guanin gibi yüksek elektron yoğunluklu bölgeler içeren moleküllerle daha kolay tepkimeye girer. Hidrojen peroksit ise membranlardan kolayca geçerek hücre çekirdeğine ulaşır ve DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir (Gutteridge 1995).

10^{-5} ile 10^2 nm arasında yayımlanan iyonize radyasyon, absorbe edilen moleküllerden elektron kopmalarına neden olur (Şekil 2.19). Bu durumdan en fazla hücrelerin %70-90'nını oluşturan organizmadaki su etkilenmektedir. Suyun radyolizi sonucu hidroksil radikali oluşur. Hidroksil radikali DNA'da bulunan bazları, deoksiribozu etkileyerek DNA zincirinde kırılmalara ve kopmalara yol açar. Radyasyonun meydana getirdiği hasar en fazla oksijen kullanan dokularda kendini gösterir (Hazman 2006).



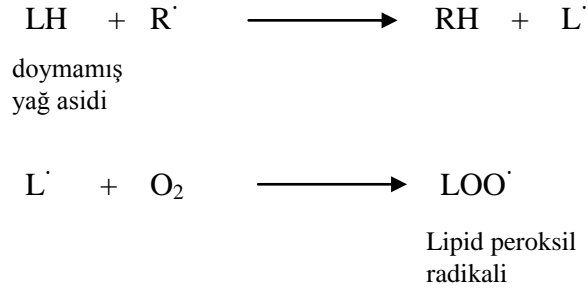
Şekil 2.19. Radyasyonun reaktif oksijen türlerini meydana getirmesi (Büyükben 2008)

2.3.3.4 Lipid Peroksidasyonu

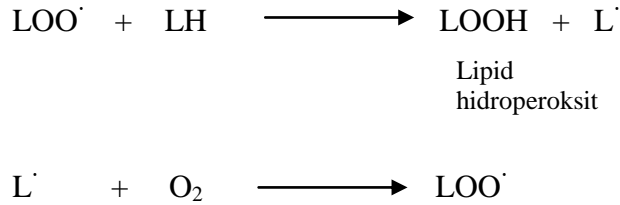
Lipid peroksidasyonu (LPO) membranda bulunan fosfolipid, glikolipid, gliserid ve sterol yapısındaki diğer poliansature yağ asitlerinin serbest oksijen radikalleri tarafından peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılmasına neden olan reaksiyonlar zinciridir (Ören 2009). LPO kendi kendini devam ettirme özelliği bulunan zincir reaksiyonu şeklinde ilerlediğinden ve geri dönüşümsüz olduğundan metabolizma için en zararlı reaksiyonlardandır (Gülcü Bulmuş 2006).

Lipid peroksidasyonu üç aşamada gerçekleşmektedir. Bu aşamalar başlangıç, yayılma ve sonlanma şeklindedir.

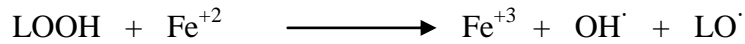
Başlangıç basamağı; Başta hidroksil radikali olmak üzere singlet oksijen ve nitrik oksit gibi serbest radikaller, doymamış yağ asidinin bir metilen karbonuna bağlı bir H⁺ atomunu koparır ve bunun sonucunda da lipid radikali (L[·]) oluşur. Oluşan lipid radikali konjuge diene dönüştükten sonra O₂ ile reaksiyona girerek peroksitleri meydana getirir (Büyükben 2008, Gülcü Bulmuş 2006).



Yayılma basamağı; Meydana gelen lipid peroksil radikali başka bir doymamış yağ asidiyle tepkimeye girer. Tepkime sonunda kendisi lipid hidroperoksite dönüşürken yağ asidi de lipid alkil radikaline dönüşür (Gülcü Bulmuş 2006). Lipid alkil radikali tekrar O₂ ile reaksiyona girerek lipid peroksil (LOO[·]) radikalini oluşturur.



Ortamda bulunan lipid hidroperoksitler demir, bakır gibi geçiş metal iyonlarının varlığında tekrar radikal hale dönüşürler ve lipid peroksidasyonunun dallanmasını artırır.



Sonlanma basamağı; Yayılma aşamasından sonra iki radikal birleşerek radikal olmayan yani inaktif bir ürün oluştururlar yada bir antioksidan tarafından ortadan kaldırılırlar (Gülcü Bulmuş 2006).

2.4 Antioksidanlar

Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbonhidrat ve DNA gibi maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar ve bu olaya antioksidan savunma denir. Antioksidanlar etkilerini başlıca iki şekilde göstermektedir (Gülcü Bulmuş 2006, Büyükben 2008);

1. Serbest radikal oluşumunun önlenmesi;

- Başlatıcı reaktif türevleri uzaklaştırıcı etki
- Oksijeni uzaklaştırıcı veya konsantrasyonunu azaltıcı etki
- Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırıcı etki

2. Oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi;

- Toplayıcı etki; Reaktif oksijen türevlerini etkileyerek bunları tutma yada daha az aktif olan başka bir moleküle çevirme.
- Bastırıcı etki; Reaktif oksijen türevleri ile reaksiyona girerek onlara bir proton ekler ve aktivitelerini azaltır yada inaktif hale dönüştürür.
- Onarıcı etki
- Zincir kırıcı etki; Reaktif oksijen türevlerini ve zincirleme reaksiyonlarını başlatacak diğer maddeleri kendilerine bağlar ve zincirlerini kırarak fonksiyonlarını önler.

Antioksidanlar, organizmada sentezlenen (endojen) veya dışarıdan alınan (eksojen) antioksidanlar olarak ikiye ayrılır, endojenler ise enzimatik veya nonenzimatik yapılar olarak sınıflandırılırlar (Tablo 2.9) (Aygün 2010).

Tablo 2.9. Antioksidanların Sınıflandırılması

Endojen Antioksidanlar		
<u>1. Enzimatik Antioksidanlar</u>	<u>2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar</u>	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Vitamin A	Seroplazmin
Katalaz (CAT)	Vitamin C	Transferin
Glutatyon peroksidaz (GSH-Px)	Vitamin E	Remitin
Glutatyon redüktaz (GR)	Glutatyon	Hemoglobin
Glutatyon-S-transferaz (GST)	Glukoz	Miyoglobin
Mitokondrial sitokrom oksidaz	Ürik asit	Lipoik asit
Hidroperoksidaz	Bilirubin	Albümin
	Ubiquinon	Melatonin
	Selenyum	

Eksojen Antioksidanlar	
Ksantin oksidaz inhibitörleri	Sitokinler
NADPH oksidaz inhibitörleri	Flavonoidler
Nötrofil adezyon inhibitörleri	Soya fasulyesi inhibitörleri
Endojen antioksidan aktiviteyi arttıran madde	Nonenzimatik serbest radikal toplayıcıları

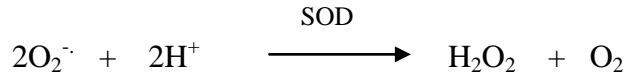
2.4.1 Enzimatik Antioksidanlar

Aerobik organizmalar oksijenin toksik etkisinden başlıca süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz yardımıyla korunur (Bhagavan 2002).

2.4.1.1 Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz (SOD), süperoksit radikalının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştürülmesini katalizleyerek organizmayı toksik reaktif oksijen türevlerine

karşı koruyan bir metalloenzimdir. Metalloenzim denilmesinin nedeni yapısında metal bulunmasıdır. İlk kez SOD enziminin antioksidan özelliği, 1968 yılında Mc Cord ve Fridovich'in yaptığı araştırmalar sonucu anlaşılmıştır (Büyükben 2008, Gülcü Bulmuş 2006).



Bu reaksiyon pH 4.8 de kendiliğinden gerçekleşir. Ancak fizyolojik şartlarda yani pH değeri 7.35- 7.45 arasında iken bu reaksiyon çok daha yavaştır. SOD enzimi varlığında ve pH en az 7.4 olduğu koşullarda süperoksitin dismutasyonu 4 kat daha hızlı meydana gelmektedir (Cherubini *et al.* 2005).

Memelilerde üç tip süperoksit dismutaz enzimi tanımlanmıştır. Bu enzimlerin sınıflandırılması prostetik metal iyonu ve hücrel lokalizasyonuna göre yapılmaktadır (Turna 2008). Bunlardan ikisi sitozolde bulunan dimerik, Cu ve Zn içeren izomer (Cu/Zn-SOD) ile mitokondride bulunan tetramerik, Mn içeren izomerdir (Mn-SOD). Üçüncü tip ise ekstraselüler SOD'dur. Genel olarak, hücrede en bol bulunan izomer, sitozolik Cu/Zn-SOD'dur (Aymelek 2009).

SOD'un fizyolojik fonksiyonu oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalının lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır. Ayrıca SOD, fagosite edilmiş bakterilerin intraselüler öldürülmesinde yani solunum patlamasında da rol oynar. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır. Cu/Zn SOD'un spesifik aktivitesi Down sendromlu hastaların eritrositlerinde yüksek, prematürelere ve yaşlıların eritrositlerinde ve psöriyazisli hastaların lökositlerinde düşük bulunmuştur (Büyükben 2008).

2.4.1.2 Katalaz

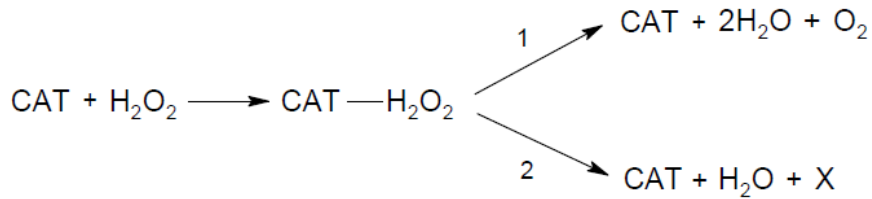
Katalaz (CAT), her biri prostetik grup olan ve yapısında Fe^{+3} bulunduran dört hem grubundan oluşan bir hemoproteindir. Bu enzimi 1937 yılında Sumer ve Dounce

kristalize halde elde etmiştir. CAT'ın molekül ağırlığı 240000 daltondur. Katalaz'ın görevi ortamdaki hidrojen peroksiti su ve oksijen molekülüne çevirmektir. Çok etkili olduğundan bu olayı çok hızlı bir şekilde gerçekleştirebilir (Özden 2008, Büyükben 2008).



Katalaz enziminin etkisi, ortamdaki hidrojen peroksit miktarı arttığında artar. Hidrojen peroksit miktarı düşük olduğunda ise glutatyon peroksidaz (GPx) devreye girer ve H_2O_2 'yi ortamdan uzaklaştırır. Ayrıca katalaz peroksizomlarda etkin iken, glutatyon peroksidaz sitozol ve mitokondride etkindir (Özden 2008).

Katalazın iki fonksiyonu vardır. Bunlar, peroksidatik ve katalitiktir (Şekil 2.21). Katalazın temel fonksiyonu H_2O_2 'in enzimatik parçalanmasının (katalitik aktivite) ve H_2O_2 konsantrasyonunda, metil veya etil hidroperoksitler, metanol, etanol, fenol gibi küçük moleküllü elektron vericilerini indirgeyebilme özellikleri (peroksidatik aktivite) dir. Fakat katalaz, lipit peroksitleri gibi büyük molekülleri indirgeyememektedir. Enzim bir molekül H_2O_2 'den elektron alarak onu oksitlerken kendisi indirgenir, bir diğer molekül H_2O_2 'e elektron vererek onu indirgerken kendisi yükseltgenerek başlangıçtaki durumuna dönmektedir (Karabulut 2001).

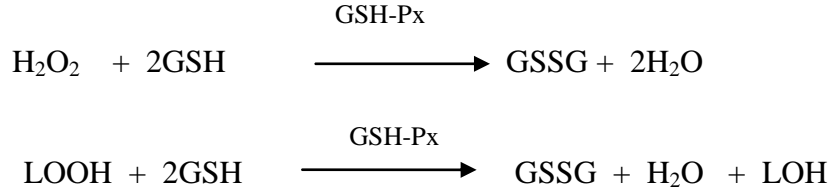


Şekil 2.21. Katalaz enziminin katalitik (1) ve peroksidatik (2) aktiviteleri

2.4.1.3 Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

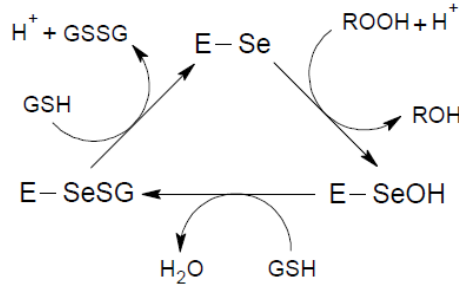
Glutatyon peroksidaz ilk kez Mills tarafından 1957'de bulunmuştur. Her biri aynı olan dört subünitten oluşur. Her subünit bir tane selenyum (Se) atomu içermektedir (Tür

2008). Glutatyon peroksidaz, hidrojen peroksitin ve lipid hidroperoksitlerin (LOOH) alkollere indirgenmesini sağlar ve hidroksil radikalinin (OH \cdot) oluşmasını engeller (Kızıllı 2007). CAT enzimi gibi H $_2$ O $_2$ 'yi suya, LOOH'ı ise alkole ve suya çevirir.



GSH-Px, eritrositler için en güçlü antioksidandır (Uysal 2009). Vücutta selenyum eksikliğinde, glutatyon peroksidaz aktivitesinin de azaldığı görülür. GSH-Px'in aktifliğini gösterebilmesi için selenyuma ihtiyaç vardır (Büyükben 2008).

Glutatyon peroksidazın iki substratı mevcuttur. Bunlardan ilkinde peroksit indirgenerek alkole çevrilirken, diğer substrat olan glutatyon (GSH) yükseltgenerek okside glutatyona (GSSG) dönüşür. Glutatyon tepkimede GSH-Px'in katalitik aktivitesinin geri kazanılmasında görev almaktadır. GSH-Px'in selenolat formu (E-Se-) peroksit substratını alkole indirger, kendisi ise okside selenik aside dönüşür (E-Se-OH). Glutatyon (GSH), bu evrede reaksiyona katılarak selenosulfiti (E-Se-S-G) oluşturur. İkinci bir GSH molekülünün selenosulfite bağlanması ile enzim, aktif formu olan selenolat formuna dönerken, glutatyon okside formuna (GSSG) dönüşmüş olur (Aymelek 2009).



Şekil 2.22. GSH-Px'in katalitik aktivasyonu

Okside glutasyon daha sonra glutasyon redüktaz (GSH-Rx) enzimi ile NADPH'ın indirgenmesiyle de redükte glutatyona dönüştürülür (Aygün 2010).



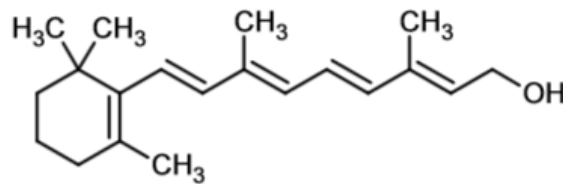
Şekil 2.23. Glutasyonun geri dönüşümü

2.4.2 Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

Vitamin A (β -karoten), vitamin E (α -tokoferol), vitamin C (Askorbik asit), glutasyon (GSH) ve melatonin gibi antioksidanlar enzimatik özelliğe sahip değildir. Melatonin ve GSH gibi bazı enzimatik olmayan antioksidanlar insan vücudunda üretilebilirken, vitamin E, C ve A dışarıdan temin edilmelidir (Büyükben 2008).

2.4.2.1 Vitamin A (β -karoten)

Yağda ve organik çözücülerde çözünen, suda çözünmeyen bir maddedir. A vitamini bir primer alkol grubu ve çok sayıda doymamış bağ içerir (Yüksek 2006). Vitamin A'nın besinler içerisinde alınan ve yağda çözünen bir madde olduğu 1913 yılında bulunmuştur (Kalaycıoğlu vd. 2010).



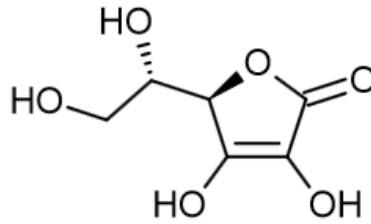
Şekil 2.24. Vitamin A yapısı

A vitamini üç forma sahiptir. Bunlar; alkol (retinol), aldehit (retinal) ve asit (retinoik asit) formlarıdır. Memelilerde retinol vitamin A etkisi göstermez iken, karotenoidler (α , β , γ -karotenler) bu etkiyi gösterir (Yüksek 2006). β -karoten UV ışınlarına ve oksijene karşı duyarlıdır. Buna karşın ısıdan fazla etkilenmez. β -karoten parçalandığında iki molekül vitamin A oluşurken, α -karoten ve γ -karoten oksidatif parçalanmaya uğradığında birer molekül vitamin A oluşur (Kalaycıoğlu vd. 2010).

Oksidatif nedenler ile oluşan hücre yıkımının tamirinde görev alan önemli bir vitamindir. β -karoten singlet oksijeni baskılayıp, süperoksit radikalini temizler. Bunun yanında peroksi radikalleri ile etkileşir ve antioksidan özellik gösterir. Düşük oksijen parsiyel basıncında β -karoten, daha yüksek oksijen konsantrasyonunda ise α -tokoferol peroksit radikallerinin yakalanmasından sorumludur (Uysal 2009, Gülcü Bulmuş 2006).

2.4.2.2 Vitamin C (Askorbik asit)

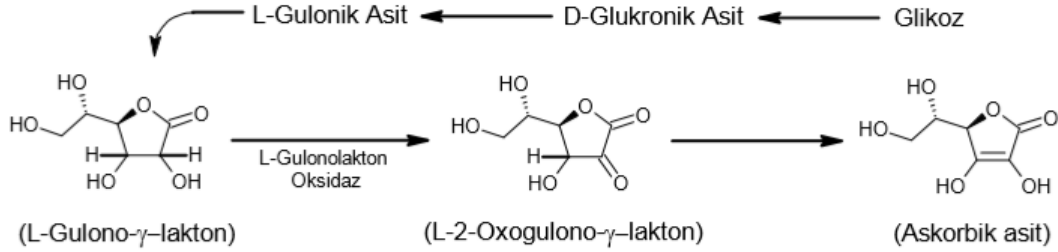
Vitamin C kollogen sentezi, demir Emilimi ve hücrelerin redoks durumunun devamlılığı için gerekli, suda çözünen, düşük molekül ağırlıklı, beyaz renkli kristalize bir antioksidandır. Kapalı formülü $C_6H_8O_6$ dır (Gülcü Bulmuş 2006, Özden 2006).



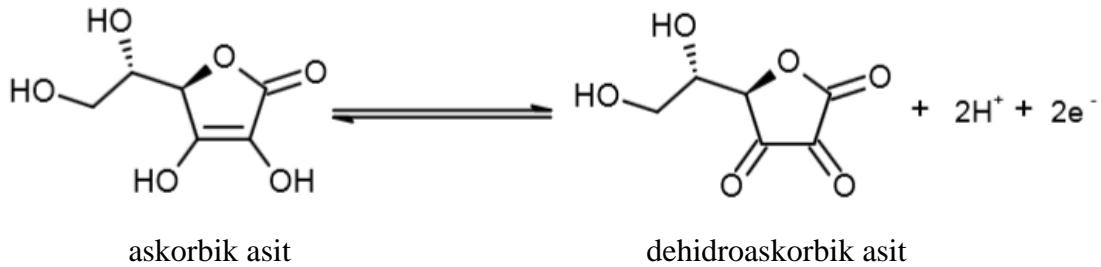
Şekil 2.25. C vitamini yapısı

C vitamini, 1790'lı yıllardan beri bilinmesine karşın, ilk kez 1933 yılında Glen King limondan izole etmiştir ve kimyasal yapısı açıklanmıştır. Yüksek yapılı bitkilerde ve hayvanlarda askorbik asit D-glikozdan sentezlenirken, insan, maymun, bazı kuşlar ve balıklarda sentezlenmez. Bunun nedeni L-glonolakton oksidaz (laktonaz) enziminin

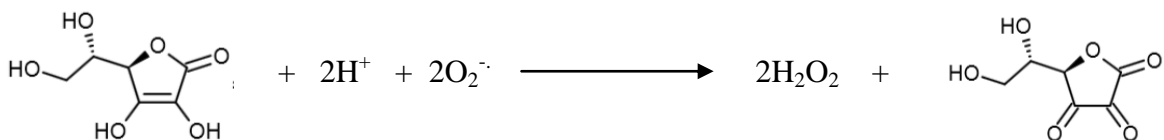
bulunmamasıdır. Kuş, kurbağa ve sürüngenlerde böbreklerde, memelilerde ise karaciğerde sentezlenir (Kalaycıoğlu vd. 2010).



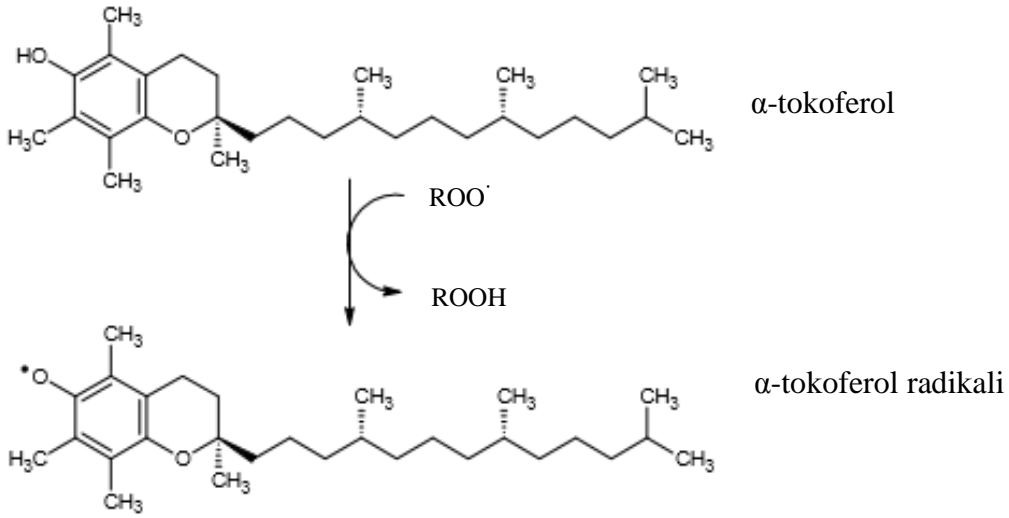
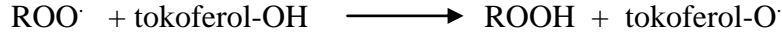
Askorbik asidin bağırsaklardan emilmesi olayı monosakkaritlere benzerdir. Hücre membranından dehidroaskorbik asit şeklinde geçer daha sonra tekrar askorbik asit haline indirgenir. Yağda çözünebilmesi için dehidroaskorbik asit şekline dönüşür (Büyükben 2008).



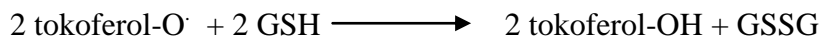
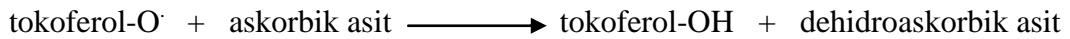
Askorbik asitin önemli özelliklerinden biri; p-otokollogen hidroksilaz için kofaktör olarak görev almasıdır. Bu enzim konnektif doku proteinlerinde bulunan peptidlerde hidroksilasyon olayını gerçekleştirir. Aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Süperoksit radikali, hidroksil radikali ve singlet oksijen ile kolayca reaksiyona girerek onları etkisizleştirir. Sulu fazda bulunmasına karşın lipid peroksidasyonunu başlatan radikalleri temizleyerek, fosfolipidleri ve membranı da oksidatif stres hasarına karşı korur (Kalaycıoğlu vd. 2010).



α -tokoferol süperoksit radikalini ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikalini (OH^{\cdot}), lipid peroksi radikallerini ve diğer radikalleri temizler (Kızıl 2007). α -tokoferol'ün OH grubundaki H atomu çok kolay uzaklaştırıldığından lipid peroksidasyonu esnasında oluşan peroksil radikalleri, komşu bir yağ asidi ile birleşmek yerine tercihen α -tokoferol ile birleşir.



Bu olayda zincir reaksiyonu sonlanır ve α -tokoferol zincir kırıcı antioksidan olarak etki gösterir ve membran lipidlerinin zarar görmesini engeller. Bu reaksiyon ile α -tokoferol'ün kendisinde yeni bir radikal olan tokoferol- O^{\cdot} (kromonoksil) radikaline dönüşür. Bu radikalın aktivitesi azdır. Bundan dolayı komşu yağ asidi zincirlerine saldıramaz ve zincir reaksiyonu durur. Kromonoksil radikali, membran yüzeyinde hücrenin sulu fazındaki askorbik asit ile reaksiyona girer ve α -tokoferole dönüşür. Ayrıca GSH da E vitamininin rejenerasyonunda rol oynar (Özden 2006).



α -tokoferol'ün selenyum ile de ilişkisi vardır. Selenyum, α tokoferol ve lipitlerin emilimi için gereklidir. α -tokoferol'ün lipoproteinler içinde tutulmasına yardımcı olur. α -tokoferol ise Se^{+2} 'un organizmadan kaybını önler ve onu aktif halde tutarak Se^{+2} ihtiyacını azaltır (Özden 2006, Kalaycıoğlu vd. 2010).

α -tokoferol'ün bu özellikleri sayesinde hücre membranlarının lipid peroksidasyonuna karşı korunmasında, membran akışkanlığının sağlanmasında ve membran enzimlerinin modülasyonunda önemli görevleri vardır (Özden 2006).

3. MATERİYAL ve METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Kimyasal materyal

Organofosfat toksikasyonunu oluşturmak amacıyla kullanılan malatyon, Bayer Crop Science'dan (East Hawthorn, Avustralya), tedavi gruplarına uygulanan Royal Jelly, doğal bal yapan üreticiden (Kahramanmaraş) doğrudan temin edildi. Oksidan ve antioksidan parametrelerin belirlenmesi için yapılan analizlerde kullanılan kimyasallar da, Merck marka olup analitik saflık düzeyine sahiplerdi.

3.1.2 Hayvan materyali

Araştırmaya başlamadan önce Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Etik Kuruluna başvurularak etik kurulu AKÜHADYEK-156-12 sayılı etik kurul onayı alındı. Çalışmada kullanılan 180-220 g ağırlığındaki 40 adet Wistar Albino cinsi rat, Afyon Kocatepe Üniversitesi Deneysel Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edildi. Ratların bakımı, Afyon Kocatepe Üniversitesi Deneysel Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinde, 12 saatlik ideal aydınlık ortamında, uygun sıcaklıkta, rat bakımı için tasarlanmış polipropilen 17x30x42 cm boyutlarındaki özel kafeslerde yapıldı. Ratların altlarına serilen kaba talaş her gün değiştirilerek, kafeslerde kuru bir ortam oluşması sağlandı. Ratlar musluk suyu ve Ankara Bilyem Fabrikasından temin edilen standart pellet rat yemi ile beslendi. Ratların buldukları ortama uyum sağlamaları ile deneysel aşamaya geçildi.

3.2 Metot

Ratlarda çalışma boyunca Afyon Kocatepe Üniversitesi Deneysel Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinde bir hafta standart laboratuvar yiyeceği ile beslenerek gözlem altında tutuldular. Rastgele örnekleme metodu ile her biri sekiz rattan oluşmak üzere toplam altı grup oluşturuldu.

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

Grup 2: Kontrol grubu olarak düzenlendi. Bu gruptaki ratlara çözücü olarak kullanılan DMSO enjeksiyon ile uygulandı. Grup düzenli bir şekilde beslendi. Çalışmanın 24. saatinde tüm ratlar sakrifiye edilerek, kan örnekleri alındı.

Grup 3: OP grubu olarak düzenlendi. Bu grupta bulunan tüm ratlara subkütan yoldan 0.8 g/kg dozunda malatyon enjeksiyonu yapıldı. Grup düzenli bir şekilde beslendi. Çalışmanın 24. saatinde tüm ratlar sakrifiye edilerek, kan örnekleri alındı.

Grup 4: Royal Jelly grubu olarak düzenlendi. Royal Jelly 100 mg/kg gavajla günlük olarak uygulandı. Grup düzenli bir şekilde beslendi. Çalışmanın 24. saatinde tüm ratlar sakrifiye edilerek, kan örnekleri alındı.

Grup 5: Royal Jelly + OP grubu olarak düzenlendi. Ratlara gavaj ile 100 mg/kg royal jelly verildi. 1 saat sonra subkütan yoldan 0.8 g/kg dozunda Malatyon enjekte edildi. Grup düzenli bir şekilde beslendi. Çalışmanın 24. saatinde tüm ratlar sakrifiye edilerek, kan örnekleri alındı.

Grup 6: OP + Royal Jelly grubu olarak düzenlendi. Bu grupta bulunan tüm ratlara subkütan yoldan 0.8 g/kg dozunda Malatyonun enjeksiyonu yapıldı. 1 saat sonra gavaj ile 100 mg/kg royal jelly verildi. Grup düzenli bir şekilde beslendi. Çalışmanın 24. saatinde tüm ratlar sakrifiye edilerek, kan örnekleri alındı.

3.2.1 Kan Örneklerinin Alınması

Ratların anestezisinde Ketamin ve Ksilazin birlikte kullanıldı. Ketamin HCl 50 mg/kg/im (Alfamin, Egevet, İstanbul, Türkiye) ve Ksilazin HCl 7 mg/kg/im (Rampun, Bayer AG, Germany) dozlarında uygulandı. İşlemin devamında anestezi ihtiyacı olan ratlara ek doz yapıldı. Batın ve toraks orta hattın açılarak kalpten enjektör ile kanları

alındı. Heparinli tüplere alınan kandan elde edilen plazma örnekleri kullanılarak MDA ve NO düzeyleri ölçüldü. Normal tüplere alınan kan örnekleri oda sıcaklığında bekletildikten sonra santrifüj edilerek tüpün üzerinde toplanan berrak serum numunesinde asetilkolinesteraz aktivitesi ölçüldü.

3.2.2 Eritrosit paketinin hazırlanması

Heparinli cam tüplere alınan kanlar bir saat +4°C'de bekletildikten sonra 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Oluşan plazma ortamdan uzaklaştırıldı. Altta kalan hacme eşit oranda serum fizyolojik (% 0.9 NaCl) eklenerek eritrositlerin yıkanması gerçekleştirildi. Serum fizyolojik eklenen tüpler 2000 rpm'de 8 dakika santrifüj edildiler. Eritrosit yıkama işlemi üç kez tekrarlandı. Elde edilen eritrosit paketleri kullanılarak GPx, CAT, GSH, SOD aktiviteleri ile hemoglobin miktarı ölçüldü.

3.2.3 Doku Homojenizasyonu

Karaciğer, böbrek ve beyin dokularının ağırlıkları yaş olarak 0.5 gr tartıldı. Doku üzerine %8 proteaz inhibitör kokteyl (Roche) içeren 5 ml PBS (fosfat tampon çözeltisi) eklendi ve homojenize edildi. Homojenize edilen karışım 15000 rpm'de en az 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatantlar kullanılarak MDA, GSH, CAT ve NO düzeyleri ölçüldü.

3.2.4 Biyokimyasal analizler

3.2.4.1 Hemoglobin tayini

Hemoglobin tayini için Ferrosiyanomethemoglobin metodu ile çalışıldı. Bu metotta deney tüpü içerisine konulan 5 ml Drabkin çözeltisi üzerine 20 µl hemolizat eritrosit eklenir. Bir süre beklendikten sonra Drabkin çözeltisi kör olarak kullanılarak 540 nm'de spektrofotometrede okunur (Fairbanks 1987).

3.2.4.2 Total protein tayini

Protein ölçümü ticari kitleler (Fluka 51254) ile ELİSA (BİOTEK ELx800) cihazında ölçüldü. Kit Bradford metoduna dayalıdır. Bu yöntemde boya olarak kullanılan

Coomassie brilliant blue G-250, negatif bir yüke sahiptir ve protein üzerindeki pozitif yüke bağlanır. Boyanın kırmızı ve mavi formu mevcuttur. Proteinin bağlanması, kırmızı formun mavi forma dönüşümünü sağlar. Oluşan kompleksin absorbanı 630 nm de ölçüldü (Bradford 1976). Elde edilen total protein sonuçları dokularda analizi yapılan parametrelerin düzeylerinin hesaplanmasında kullanıldı.

3.2.4.3 Asetilkolinesteraz Ölçümü

Serum asetilkolin esteraz enzim aktivitesi, rata özel ticari kit (CSB-E11304r, CUSABIO, Wuhan, China) ile ölçüldü. Asetilkolinesteraz ve avidin konjugatı üzerine horseradish peroksidaz enzimi eklenerek mikropate inkube edildi. Daha sonra TMB (3,3',5,5' tetramethyl-benzidine) eklendi. Asetilkolinesteraz, biyotin konjuge antibody ve enzim-konjuge avidin içeren wellerde renk oluşumu engellendi. Sülfürik asit ekleyerek enzim substrat oluşumu engellenerek renk değişimi 450 nm de ölçüldü. Standart eğri yardımıyla örnekler içerisindeki asetilkolin esteraz aktivitesi belirlendi.

3.2.4.4 Redükte glutatyon (GSH) tayini

Eritrosit ile karaciğer, böbrek ve beyin dokularının distile su ilavesi ile hazırlanan hemolizatın içindeki SH (sülfhidril) taşıyan bütün proteinler, presipitasyon (çöktürücü) çözeltisi ile çöktürülüp, süzülerek ayrıldı. GSH, elde edilen berrak sıvıda SH gruplarının DTNB (5,5'-2-dithiobis nitrobenzoik asit) ile tepkime sonucu oluşan sarı rengin 412 nm dalga boyunda absorbanı ile ölçüldü (Buetler *et al.* 1963).

3.2.4.5 Malondialdehit (MDA) tayini

İki molekül tiyobarbitürik asidin (TBA) bir molekül MDA ile asit ortamda reaksiyona girerek pembe renkli ürün oluşturması esasına dayanmaktadır. Oluşan bu bileşik 535 nm'de maksimum absorbanı vermektedir (Yoshoiko *et al.* 1979).

TBARS parametresinin analizinde uygulanan yöntem tablo 3.2 de anlatılmıştır.

Tablo 0.1. TBARS ölçümünde uygulanan işlem

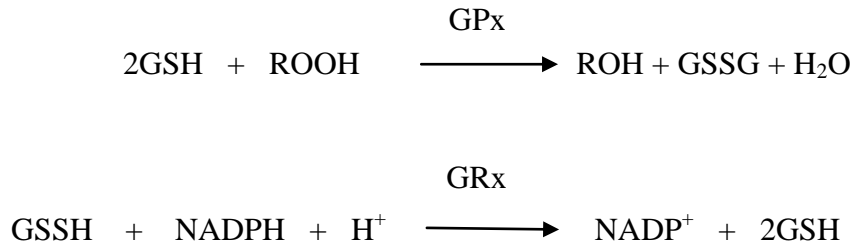
Kullanılan maddeler	Kör	Örnek	Standart
Plazma - Doku	-----	0,5 ml	
Tetraetoksipropan standartı	-----	-----	0,5 ml
TCAA çözeltisi	3,0 ml	2,5 ml	2,5 ml
TBA çözeltisi	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml
30 Dakika kaynar su banyosunda inkubasyon ve soğutma			
n-Butanol	4,0 ml	4,0 ml	4,0 ml

Son olarak tüpler 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek, tüplerin üst kısımlarında oluşan Butanol tabakaları alınarak 535 nm'de okunmuştur. Bu okuma sonucu elde edilen değerler aşağıda gösterilen formülasyona göre MDA değerleri hesaplanmıştır.

$$\mu\text{mol/ml} = \frac{\text{Testin Absorbansı} \times \text{Standartın Konsantrasyonu}}{\text{Standartın Absorbansı}}$$

3.2.4.6 Glutatyon peroksidaz (GPx) tayini

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



GPx enzim aktivitesi Radox-Ransel enzim kiti ile çalışıldı. GPx aktivitesi spektrofotometrik olarak 340 nm de 37°C'de ölçüldü. Değerler U/g Hb olarak belirtildi (Paglia *et al.* 1967).

3.2.4.7 Süperoksit dismutaz (SOD) tayini

SOD düzeyleri Ransod Superoxidase dismutase ticari kiti ile çalışıldı. 505 nm'de süperoksit radikallerinin 2-iodophenyl-3-nitrophenol-5-phenyl tetrazolium chloride ile reaksiyonu ölçüldü (Macintyre *et al.* 2004).

3.2.4.8 Katalaz (CAT) tayini

CAT enzim aktivitesi eritrosit ve dokularda Aebi metoduna göre çalışıldı. H₂O₂ 240 nm'de maksimum absorbans verir. Deney ortamına ilave edilen H₂O₂ CAT tarafından su ve oksijene parçalanmakta, bu ise kendini ultraviyole spektrumda absorbans azalması şeklinde göstermektedir. Absorbanstaki bu azalma CAT enziminin aktivitesi ile doğru orantılıdır.



Fosfat tamponu (pH 7.50 mM), absorbansı 0.500 nm'ye tampon ile ayarlanmış olan H₂O₂ fosfat tamponu (H₂O₂ çözeltisi) kullanılır. Fosfat tamponuna göre 240 nm dalga boyunda sıfırlanan köre karşı H₂O₂ çözeltisinin absorbansı 0.500'e ayarlanır. Numune ilavesi ile absorbans azalması her 15 saniyede bir defa olmak üzere 5 dakika süre ile kaydedilerek, 1 dakikalık lineer absorbans azalmasının değerleri esas alınarak hesaplama yapıldı. Aktivite düzeyleri k/g protein olarak ifade edildi (Aebi 1974).

3.2.4.9 Nitrik oksit (NO) tayini

Plazma ve dokulardaki nitrik oksit miktarı Miranda ve ark.'nın "Vanadium-III-klorür-Griess Reaksiyonu" yöntemi ile belirlenmiştir. Bu yöntem Vanadium klorür'ün 37°C'lik ortamda nitrati nitrite dönüştürmesi ve Griess Reaksiyonu olarak tanımlanan, nitritin

asidik ortamda primer bir aromatik amin olan sülfanilamit ile diazotizasyonu ve N-(1-naphthyl) ethylenediamin (NEDD) ile renkli bir azo türevi oluşturması esasına dayanır (Miranda *et al.* 2001). Oluşan rengin absorbansı 535 nm'de spektrofotometrede okunarak ortamdaki NO konsantrasyonları hesaplanır.

4. BULGULAR

Bu araştırmada, organofosfat toksikasyonuna karşı royal jelly'nin koruyucu ve tedavi edici etkileri araştırıldı. Çalışma sonunda ratlardan alınan kan örneklerinde, karaciğerde, böbrekte ve beyinde malondialdehit, katalaz, glutatyon peroksidaz, nitrik oksit, süperoksit dismutaz, redükte glutatyon ve asetilkolin esteraz düzeyleri belirlendi. Bu değerler yardımıyla her grup için hesaplamalar yapılarak standart sapmaları bulundu.

4.1 MDA Değerleri

Çalışmada plazma, karaciğer, böbrek ve beyinde MDA konsantrasyonları ölçülmüştür.

Plazma MDA konsantrasyon değerleri Sham, Kontrol, Malatyon, RJ, RJ+Malatyon ve Malatyon+RJ gruplarının sırasıyla 30.59 ± 1.87 , 34.23 ± 4.53 , 39.43 ± 2.08 , 32.65 ± 4.55 , 37.10 ± 2.80 ve 37.43 ± 2.75 dir.

Tablo 4.1'e göre malatyon uygulanan gruptaki MDA konsantrasyonun sham ve kontrol grubuna göre anlamlı ($p < 0.05$) olarak farklı olduğu görülmüştür. Tedavici edici grup olarak belirlenen Malatyon+RJ grubunun ve koruyucu olarak belirlenen RJ+Malatyon grubunun MDA konsantrasyon değerlerinin sham grubunun değerlerine göre anlamlı ($p < 0.05$) olarak arttığı gözlenmiştir. Yalnız RJ verilen gruptaki MDA konsantrasyonunun Malatyon verilen gruba göre anlamlı ($p < 0.05$) olarak azaldığı belirlenmiştir.

Karaciğer MDA konsantrasyon değerleri Sham, Kontrol, Malatyon, RJ, RJ+Malatyon ve Malatyon+RJ gruplarının sırasıyla 56.40 ± 3.80 , 68.74 ± 2.64 , 72.71 ± 2.59 , 58.57 ± 1.49 , 68.31 ± 3.47 ve 67.15 ± 3.14 dür.

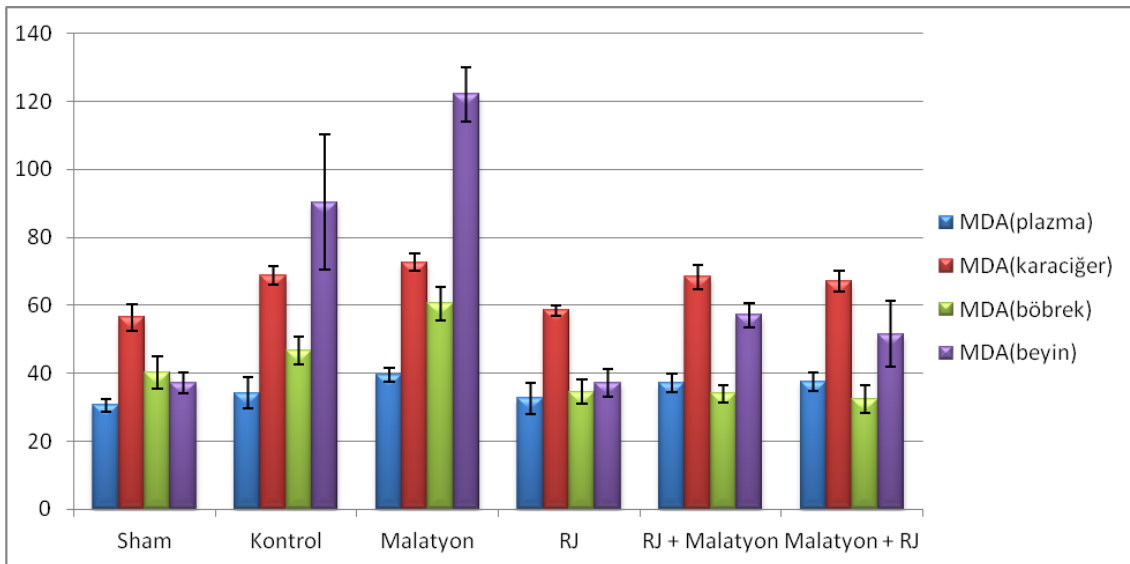
Tabloya göre malatyon uygulanan gruptaki MDA konsantrasyonun sham ve kontrol grubuna göre anlamlı ($p < 0.05$) olarak farklı olduğu görülmüştür. Sadece RJ verilen gruptaki MDA konsantrasyonunun Malatyon grubuna göre anlamlı ($p < 0.05$) azaldığı gözlenmiştir. Tedavi edici ve koruyucu (Malatyon+RJ ve RJ+Malatyon) olan grubun MDA konsantrasyon değerleri ile kontrol grubu değerlerinde fark gözlenmemiştir.

Tedavi edici ve koruyucu (Malatyon+RJ ve RJ+Malatyon) olan grubun MDA konsantrasyon değerlerinde Malatyon grubunun MDA konsantrasyon değerlerine göre anlamlı ($p<0.05$) olarak azalma olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.1. MDA Değerleri

Grup	MDA(plazma)	MDA(karaciğer)	MDA(böbrek)	MDA(beyin)
Sham	30.59±1.87 ^a	56.40±3.80 ^a	40.17±4.73 ^b	37.26±2.98 ^a
Kontrol	34.23±4.53 ^{abc}	68.74±2.64 ^b	46.70±4.14 ^c	90.38±19.78 ^c
Malatyon	39.43±2.08 ^d	72.71±2.59 ^c	60.50±5.06 ^d	122.10±7.89 ^d
RJ	32.65±4.55 ^{ab}	58.57±1.49 ^a	34.55±3.55 ^a	37.20±4.09 ^a
RJ + Malatyon	37.10±2.80 ^{bcd}	68.31±3.47 ^b	33.99±2.66 ^a	57.14±3.47 ^b
Malatyon + RJ	37.43±2.75 ^{cd}	67.15±3.14 ^b	32.35±4.18 ^a	51.57±9.71 ^b

^{a-d}; Aynı sütundaki farklı harfler, istatistiksel olarak ortalamalar arasındaki önemli farklılıkları göstermektedir ($P<0.05$).



Şekil 4.1. MDA Değerlerinin Grafiksel Gösterimi

Böbrek MDA konsantrasyon değerleri Sham, Kontrol, Malatyon, RJ, RJ+Malatyon ve Malatyon+RJ grupları için sırasıyla 40.17±4.73, 46.70±4.14, 60.50±5.06, 34.55±3.55, 33.99±2.66 ve 32.35±4.18 dir.

Bu değerlere bakıldığında (Tablo 4.1) malatyon uygulanan grubun MDA konsantrasyon değerlerinin, sham ve kontrol grubunun değerlerine göre anlamlı ($p<0.05$) olarak farklı olduğu görülmüştür. Sadece RJ verilen gruptaki MDA konsantrasyonunun Malatyon grubuna göre anlamlı bir şekilde ($p<0.05$) azaldığı belirlenmiştir. Aynı şekilde RJ+Malatyon ve Malatyon+RJ uygulanan gruplardaki MDA konsantrasyonunda Malatyon grubuna göre anlamlı olacak şekilde ($p<0.05$) azaldığı görülmüştür. Sadece RJ uygulanan grubun MDA konsantrasyonları ise tedavi edici ve koruyucu gruba göre bir değişim göstermemiştir.

Beyin MDA konsantrasyon değerleri Sham, Kontrol, Malatyon, RJ, RJ+Malatyon ve Malatyon+RJ grupları için sırasıyla 37.26±2.98, 90.38±19.78, 122.10±7.89, 37.20±4.09, 57.14±3.47 ve 51.57±9.71 dir.

Tablo 4.1'e bakıldığında malatyon uygulanan grubun MDA konsantrasyon değerlerinde sham ve kontrol grubu değerlerine göre oldukça anlamlı ($p<0.05$) farklılık ve artış olduğu gözlenmiştir. Koruyucu ve tedavi edici grup olan RJ+Malatyon ve Malatyon+RJ grubu MDA konsantrasyon değerlerinde değişme gözlenmemiştir. RJ uygulanan grubun MDA konsantrasyon değerlerinde malatyon uygulanan grubun değerlerine göre anlamlı ($p<0.05$) azalma görülmüştür. Koruyucu ve tedavi edici grupların MDA konsantrasyon değerleri, yalnız malatyon uygulanan grubun MDA konsantrasyon değerlerine göre anlamlı ($p<0.05$) olarak azalma göstermiştir. Koruyucu ve tedavi edici grupların MDA konsantrasyon değerlerinin yalnız RJ uygulanan grubun MDA konsantrasyon değerlerine göre anlamlı ($p<0.05$) artış gösterdiği anlaşılmıştır. RJ uygulanan grubun konsantrasyon değerleri kontrol grubu MDA konsantrasyon değerlerine göre anlamlı ($p<0.05$) azalış göstermiştir.

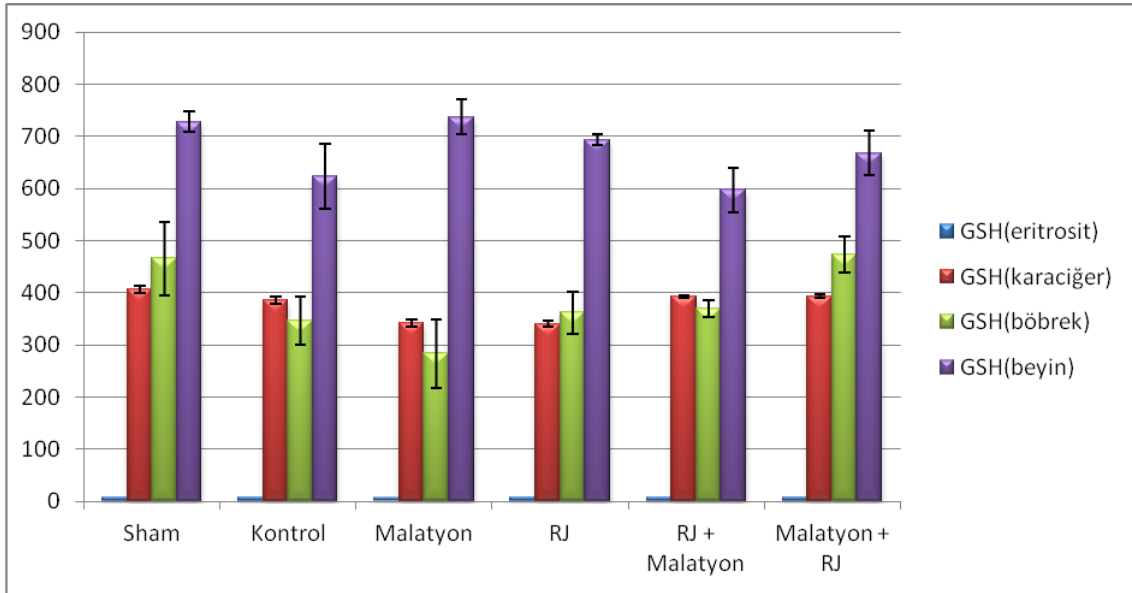
4.2 GSH Değerleri

Çalışmada eritrosit, karaciğer, böbrek ve beyinde MDA konsantrasyonları ölçülmüştür.

Çizelge 4.2. GSH Değerleri

Grup	GSH(eritrosit)	GSH(karaciğer)	GSH(böbrek)	GSH(beyin)
Sham	7.27±0.23 ^c	406.41±6.16 ^d	465.33±71.01 ^c	728.24±20.64 ^d
Kontrol	6.77±0.44 ^b	384.75±6.75 ^b	346.00±45.70 ^{ab}	623.70±62.35 ^{ab}
Malatyon	5.86±0.35 ^a	341.35±6.75 ^a	283.31±66.38 ^a	737.28±33.43 ^d
RJ	7.37±0.23 ^c	340.42±6.53 ^a	361.46±40.30 ^b	693.11±10.63 ^{cd}
RJ + Malatyon	7.16±0.23 ^c	392.87±2.99 ^c	370.00±16.47 ^b	597.38±42.62 ^a
Malatyon + RJ	6.55±0.25 ^b	392.75±3.25 ^c	474.10±34.60 ^c	668.30±43.16 ^{bc}

^{a-d}; Aynı sütundaki farklı harfler, istatistiksel olarak ortalamalar arasındaki önemli farklılıkları göstermektedir ($P<0.05$).



Şekil 4.2. GSH Değerlerinin Grafikselle Gösterimi

Eritrosit GSH konsantrasyon değerleri Sham, Kontrol, Malatyon, RJ, RJ+Malatyon ve

Malatyon+RJ gruplarının sırasıyla 7.27 ± 0.23 , 6.77 ± 0.44 , 5.86 ± 0.35 , 7.37 ± 0.23 , 7.16 ± 0.23 ve 6.55 ± 0.25 dir.

Tablo 4.2 de görüldüğü gibi malatyon uygulanan grubun eritrosit GSH konsantrasyon değerleri sham ve kontrol grubu değerlerine göre anlamlı ($p<0.05$) olarak azalma göstermiştir. Malatyon uygulanan grubun GSH konsantrasyon değerleri kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) olarak azalma göstermiştir. Sadece RJ uygulanan grubun GSH konsantrasyon değerleri kontrol grubu değerlerine göre anlamlı ($p<0.05$) artma göstermiştir. RJ+Malatyon verilen koruyucu grup GSH konsantrasyon değerlerinin Malatyon+RJ verilen tedavi edici grup değerlerinden anlamlı ($p<0.05$) olarak farklı olduğu gözlenmiştir. Sadece RJ verilen grubun GSH konsantrasyon değerleri ile RJ+Malatyon verilen koruyucu grubun konsantrasyon değerleri arasında farklılıklar gözlenmemiştir. Malatyon verilen grubun GSH konsantrasyon değerlerinde RJ verilen grubun değerlerine göre anlamlı ($p<0.05$) olarak azalma görülmüştür. Yalnız RJ verilen grubun GSH konsantrasyon değerlerinin tedavi edici grubun değerlerine göre anlamlı ($p<0.05$) olarak arttığı gözlenmiştir.

Karaciğer GSH konsantrasyon değerleri Sham, Kontrol, Malatyon, RJ, RJ+Malatyon ve Malatyon+RJ gruplarının sırasıyla 406.41 ± 6.16 , 384.75 ± 6.75 , 341.35 ± 6.75 , 340.42 ± 6.53 , 392.87 ± 2.99 ve 392.75 ± 3.25 dir.

Tablo 4.2'de görüldüğü gibi malatyon verilen grubun GSH konsantrasyon değerleri sham ve kontrol grubunun değerlerine göre anlamlı ($p<0.05$) olarak farklıdır. Yalnız RJ verilen grubun GSH konsantrasyon değerleri ise kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) olarak azalma göstermiştir. Malatyon verilen grubun GSH konsantrasyonunun kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) olarak azaldığı görülmüştür. Malatyon verilen grubun GSH konsantrasyonları ile RJ verilen grubun değerleri arasında farklılık gözlenmemiştir. Koruyucu olarak belirlenen grubun GSH konsantrasyon değerlerinde sadece RJ verilen grubun değerlerine göre anlamlı ($p<0.05$) bir artış olduğu gözlenmiştir. Koruyucu ve tedavi edici olarak belirlenen grupların GSH konsantrasyon değerlerinde önemli farklılıklar gözlenmemiştir. Tedavi edici grup olan Malatyon+RJ grubunun GSH konsantrasyonunun, RJ verilen grubun konsantrasyon değerine göre

anlamli ($p<0.05$) olarak arttiğı grlmŖtir. Malatyon+RJ grubunun GSH konsantrasyon değerinin sadece malatyon verilen gruba gre anlamli ($p<0.05$) olarak arttiğı grlmŖtir.

Bbrek GSH konsantrasyon değerleri Sham, Kontrol, Malatyon, RJ, RJ+Malatyon ve Malatyon+RJ gruplarının sırasıyla 465.33 ± 71.01 , 346.00 ± 45.70 , 283.31 ± 66.38 , 361.46 ± 40.30 , 370.00 ± 16.47 ve 474.10 ± 34.60 dır.

Değerlere bakıldığında (Tablo 4.2) RJ uygulanan grubun GSH konsantrasyonunun Malatyon uygulanan gruba gre anlamli ($p<0.05$) olarak arttiğı grlmŖtir. Tedavi edici olan Malatyon+RJ grubunun GSH konsantrasyon değerlerinin koruyucu olan RJ+Malatyon grubuna gre anlamli ($p<0.05$) olarak arttiğı grlmŖtir. Malatyon uygulanan grubun GSH konsantrasyonunun sham grubuna gre anlamli ($p<0.05$) olarak yksek oranda azaldığı grlmŖtir. RJ uygulanan grubun GSH konsantrasyon değerlerinin sham grubu değerlerine gre anlamli ($p<0.05$) olarak azaldığı grlmŖtir. Koruyucu olan RJ+Malatyon grubunun GSH konsantrasyonunun Malatyon verilen grubun konsantrasyonuna gre anlamli ($p<0.05$) olarak arttiğı grlmŖtir. Tedavi edici olan Malatyon+RJ grubu GSH konsantrasyon değerlerinin Malatyon grubuna gre anlamli ($p<0.05$) olarak artıŖ gsterdiği grlmŖtir.

Beyin GSH konsantrasyon değerleri Sham, Kontrol, Malatyon, RJ, RJ+Malatyon ve Malatyon+RJ gruplarının sırasıyla 728.24 ± 20.64 , 623.70 ± 62.35 , 737.28 ± 33.43 , 693.11 ± 10.63 , 597.38 ± 42.62 ve 668.30 ± 43.16 dır.

Tablo 4.2 de verilen değerlerde sham ve kontrol gruplarının GSH konsantrasyon değerlerinin anlamli ($p<0.05$) olarak farklı olduğu gzlenmiŖtir. Malatyon uygulanan grubun GSH konsantrasyon değerinde kontrol grubuna gre anlamli ($p<0.05$) artıŖ gzlenmiŖtir. Yalnız RJ uygulanan grubun GSH konsantrasyonunun kontrol grubuna gre anlamli ($p<0.05$) olarak arttiğı gzlenmiŖtir. Malatyon verilen grubun GSH konsantrasyon değerinin koruyucu olarak belirlenen grubun değerine gre anlamli ($p<0.05$) olarak arttiğı grlmŖtir. Sadece RJ verilen grubun GSH konsantrasyonunun, koruyucu olarak belirlenen RJ+Malatyon grubu değerlerine gre anlamli ($p<0.05$)

olarak arttığı görülmüştür. Tedavi edici olarak belirlenen Malatyon+RJ grubunun GSH konsantrasyonunun, koruyucu olarak belirlenen RJ+Malatyon grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) olarak farklı olduğu ve artış gösterdiği belirlenmiştir. Tedavi edici grup olan Malatyon+RJ grubunun GSH konsantrasyon değerinin Malatyon grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) olarak azaldığı görülmüştür.

4.3 CAT Değerleri

Çalışmada eritrosit, karaciğer, böbrek ve beyinde CAT konsantrasyonları ölçülmüştür.

Eritrosit CAT konsantrasyon değerleri Sham, Kontrol, Malatyon, RJ, RJ+Malatyon ve Malatyon+RJ gruplarının sırasıyla 3.36 ± 0.97 , 2.06 ± 0.29 , 1.88 ± 0.41 , 3.87 ± 0.55 , 2.92 ± 0.68 ve 2.74 ± 0.68 dir.

Tablo 4.3'e göre malatyon verilen grubun CAT konsantrasyonunun sham grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) olarak azaldığı görülmüştür. Yalnız RJ verilen grubun CAT konsantrasyon değerinin kontrol grubu değerlerine göre anlamlı ($p<0.05$) olarak arttığı görülmüştür. RJ uygulanan grubun CAT konsantrasyonunun malatyon uygulanan gruba göre anlamlı ($p<0.05$) olarak arttığı görülmüştür. Koruyucu olarak belirlenen grubun CAT konsantrasyonunun RJ uygulanan gruba göre anlamlı ($p<0.05$) olarak azaldığı görülmüştür. Tedavi edici olarak Malatyon+RJ verilen grubun CAT konsantrasyon değerlerinin RJ grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) olarak azaldığı görülmüştür. Koruyucu ve tedavi edici olarak belirlenen grupların CAT konsantrasyonları arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

Karaciğer CAT konsantrasyon değerleri Sham, Kontrol, Malatyon, RJ, RJ+Malatyon ve Malatyon+RJ gruplarının sırasıyla 26.75 ± 4.30 , 21.10 ± 1.56 , 16.90 ± 3.77 , 20.37 ± 3.57 , 17.05 ± 2.95 ve 19.27 ± 3.43 dür.

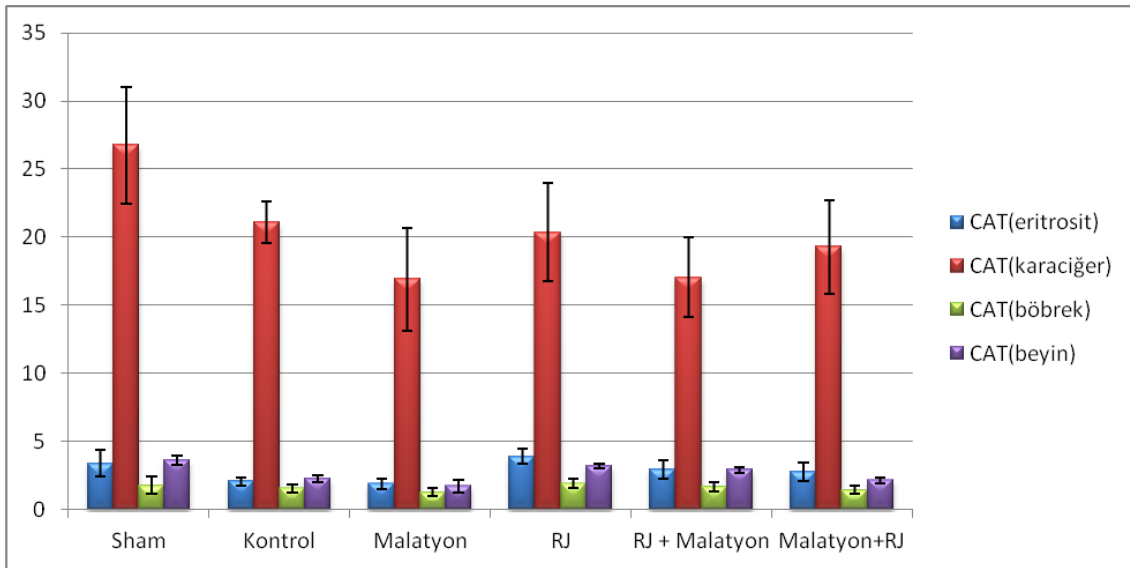
Tabloya göre Malatyon verilen grubun konsantrasyonunun sham grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) olarak azaldığı görülmüştür. Kontrol, Malatyon, RJ, koruyucu olarak belirlenen RJ+Malatyon ve tedavi edici olarak belirlenen Malatyon+RJ grubunun CAT konsantrasyon değerlerinde anlamlı ($p<0.05$) olarak farklılık görülmemiştir. Sadece RJ

uygulanan grubun CAT konsantrasyon değerlerinin sham grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) olarak azaldığı görülmüştür.

Çizelge 4.3. CAT Değerleri

Grup	CAT(eritrosit)	CAT(karaciğer)	CAT(böbrek)	CAT(beyin)
Sham	3.36±0.97 ^{cd}	26.75±4.30 ^b	1.76±0.62	3.64±0.35 ^d
Kontrol	2.06±0.29 ^{ab}	21.10±1.56 ^a	1.53±0.30	2.27±0.27 ^b
Malatyon	1.88±0.41 ^a	16.90±3.77 ^a	1.27±0.32	1.70±0.45 ^a
RJ	3.87±0.55 ^d	20.37±3.57 ^a	1.89±0.35	3.20±0.17 ^c
RJ + Malatyon	2.92±0.68 ^{bc}	17.05±2.95 ^a	1.67±0.32	2.89±0.21 ^c
Malatyon + RJ	2.74±0.68 ^{abc}	19.27±3.43 ^a	1.42±0.28	2.13±0.20 ^b

^{a-d}; Aynı sütundaki farklı harfler, istatistiksel olarak ortalamalar arasındaki önemli farklılıkları göstermektedir ($P<0.05$).



Şekil 4.3. CAT Değerlerinin Grafiksel Gösterimi

Böbrek CAT konsantrasyon değerleri Sham, Kontrol, Malatyon, RJ, RJ+Malatyon ve Malatyon+RJ gruplarının sırasıyla 1.76±0.62, 1.53±0.30, 1.27±0.32, 1.89±0.35,

1.67±0.32 ve 1.42±0.28 dir.

Tablo 4.3'e bakıldığında gruplar arasında CAT konsantrasyon değerleri arasında anlamlı (p<0.05) farklılık gözlenmemiştir.

Beyin CAT konsantrasyon değerleri Sham, Kontrol, Malatyon, RJ, RJ+Malatyon ve Malatyon+RJ gruplarının sırasıyla 3.64±0.35, 2.27±0.27, 1.70±0.45, 3.20±0.17, 2.89±0.21 ve 2.13±0.20 dir.

CAT konsantrasyon değerlerine bakıldığında (Tablo 4.3) sham grubunun CAT konsantrasyon değeri kontrol grubuna göre anlamlı (p<0.05) olarak farklı olduğu görülmüştür. Malatyon uygulanan grubun CAT konsantrasyon değerleri, kontrol grubu değerine göre anlamlı (p<0.05) olarak azalış göstermiştir. RJ verilen grubun CAT konsantrasyonunun koruyucu gruba göre anlamlı (p<0.05) olarak farklılık göstermediği görülmüştür. Yalnız RJ verilen grubun CAT konsantrasyon değeri, tedavi edici olarak belirlenen Malatyon+RJ verilen gruba göre anlamlı (p<0.05) olarak artma gözlenmiştir. Malatyon verilen grubun CAT konsantrasyonunun RJ verilen gruba göre anlamlı (p<0.05) olarak azalma gösterdiği belirlenmiştir. Koruyucu tedavi uygulanan RJ+Malatyon grubunun CAT konsantrasyonunun, malatyon uygulanan gruba göre anlamlı (p<0.05) olarak arttığı görülmüştür. Tedavi edici olarak belirlenen grubun CAT konsantrasyonunun koruyucu olarak belirlenen gruba göre anlamlı (p<0.05) olacak şekilde azalma gösterdiği anlaşılmıştır. RJ+Malatyon verilen koruyucu grubun CAT konsantrasyon değerinin kontrol grubuna göre anlamlı (p<0.05) olarak arttığı görülmüştür.

4.4 NO Değerleri

Çalışmada plazma, karaciğer, böbrek ve beyinde CAT konsantrasyonları ölçülmüştür.

Plazma NO konsantrasyon değerleri Sham, Kontrol, Malatyon, RJ, RJ+Malatyon ve Malatyon+RJ gruplarının sırasıyla 102.87±6.48, 114.52±12.05, 126.56±13.22, 115.86±11.59, 110.92±8.29 ve 108.55±11.53 dür.

Tablo 4.4'e bakıldığında kontrol grubunun NO konsantrasyon değeri ile RJ verilen grubun değeri arasında anlamlı ($p<0.05$) farklılık gözlenmemiştir. Malatyon verilen grubun NO konsantrasyon değeri, sham grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) olarak artma göstermiştir. Koruyucu grup olarak belirlenen RJ+Malatyon grubunun NO konsantrasyonu, Malatyon grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) olarak azalma göstermiştir. Koruyucu grup ile tedavi edici grubun NO konsantrasyonları arasında anlamlı ($p<0.05$) farklılık gözlenmemiştir. Tedavi edici grup olarak belirlenen Malatyon+RJ grubunun NO konsantrasyon değerleri Malatyon grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) olarak azalma göstermiştir.

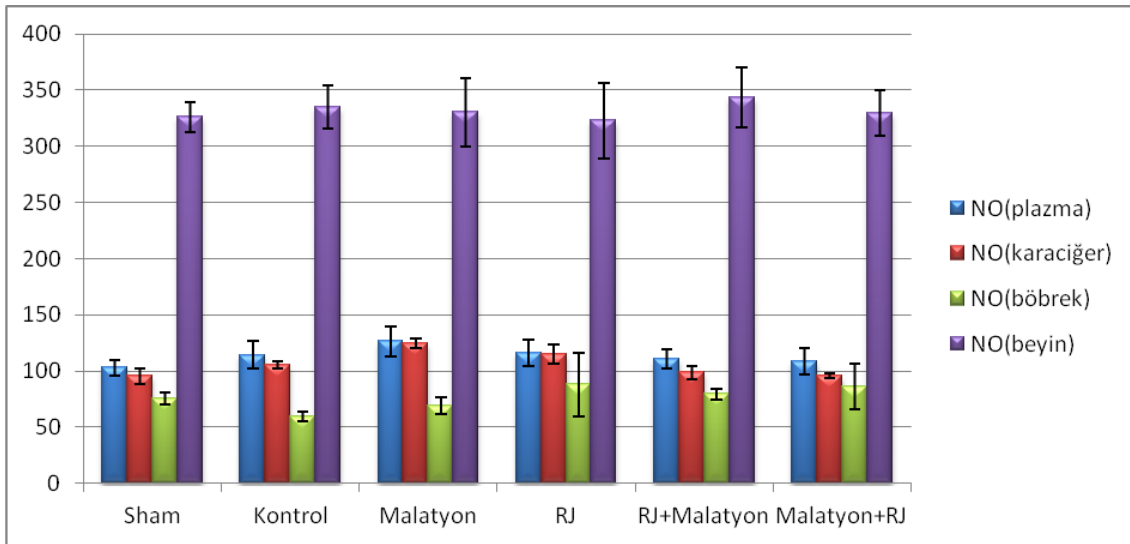
Karaciğer NO konsantrasyon değerleri Sham, Kontrol, Malatyon, RJ, RJ+Malatyon ve Malatyon+RJ gruplarının sırasıyla 95.43 ± 7.31 , 105.44 ± 2.88 , 124.58 ± 4.45 , 115.28 ± 8.59 , 98.67 ± 5.91 ve 95.53 ± 2.12 dir.

Değerlere bakıldığında (Tablo 4.4) kontrol ve sham grubu NO konsantrasyon değerleri arasında anlamlı ($p<0.05$) olarak farklı olduğu görülmüştür. Malatyon verilen grup NO konsantrasyonunun kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) olarak arttığı görülmüştür. Koruyucu olarak belirlenen grubun NO konsantrasyonu, malatyon verilen gruba göre anlamlı ($p<0.05$) olarak azalma göstermiştir. RJ verilen grubun NO konsantrasyonu kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) artış göstermiştir. Sadece RJ verilen grubun NO konsantrasyonu, malatyon verilen gruba göre anlamlı ($p<0.05$) olarak azalma göstermiştir. Koruyucu olarak belirlenen grubun NO konsantrasyonu RJ verilen gruba göre anlamlı ($p<0.05$) olarak azalma göstermiştir. Tedavi edici olarak belirlenen grubun NO konsantrasyonu yalnız RJ verilen gruba göre anlamlı ($p<0.05$) olarak azalma göstermiştir. Tedavi edici olarak belirlenen grubun NO konsantrasyon değeri kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) olarak azalma göstermiştir.

Çizelge 4.4. NO Değerleri

Grup	NO(plazma)	NO(karaciğer)	NO(böbrek)	NO(beyin)
Sham	102.87±6.48 ^a	95.43±7.31 ^a	75.54±5.68 ^{ab}	326.17±13.50
Kontrol	114.52±12.05 ^{ab}	105.44±2.88 ^b	59.18±4.22 ^a	335.19±19.33
Malatyon	126.56±13.22 ^b	124.58±4.45 ^d	68.96±7.76 ^{ab}	330.30±30.80
RJ	115.86±11.59 ^{ab}	115.28±8.59 ^c	87.90±28.60 ^b	322.74±33.67
RJ + Malatyon	110.92±8.29 ^a	98.67±5.91 ^{ab}	79.73±4.70 ^{ab}	343.18±26.55
Malatyon + RJ	108.55±11.53 ^a	95.53±2.12 ^a	86.39±20.23 ^b	330.03±20.13

^{a-d}; Aynı sütundaki farklı harfler, istatistiksel olarak ortalamalar arasındaki önemli farklılıkları göstermektedir ($P<0.05$).



Şekil 4.4. NO Değerlerinin Grafiksel Gösterimi

Böbrek NO konsantrasyon değerleri Sham, Kontrol, Malatyon, RJ, RJ+Malatyon ve Malatyon+RJ gruplarının sırasıyla 75.54±5.68, 59.18±4.22, 68.96±7.76, 87.90±28.60, 79.73±4.70 ve 86.39±20.23 dür.

Tablo 4.4'e bakıldığında Malatyon ve sham grubunun NO konsantrasyon değerleri arasında anlamlı ($p<0.05$) farklılık görülmemiştir. Sadece RJ verilen grubun NO

konsantrasyonu kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) olarak artma göstermiştir. Koruyucu olarak belirlenen grubun NO konsantrasyonu malatyon verilen gruba göre anlamlı ($p<0.05$) farklılık göstermemiştir. Tedavi edici olarak belirlenen Malatyon+RJ grubunun NO konsantrasyonu kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) olarak artış göstermiştir. Tedavi edici grubun NO konsantrasyonu ile RJ grubunun konsantrasyonu arasında anlamlı ($p<0.05$) bir farklılık gözlenmemiştir.

Beyin NO konsantrasyon değerleri Sham, Kontrol, Malatyon, RJ, RJ+Malatyon ve Malatyon+RJ gruplarının sırasıyla 326.17 ± 13.50 , 335.19 ± 19.33 , 300.30 ± 30.80 , 322.74 ± 33.67 , 343.18 ± 26.55 ve 330.03 ± 20.13 dür.

Tablo 4.4'e bakıldığında gruplar arasında NO konsantrasyon değerleri arasında anlamlı ($p<0.05$) bir farklılık gözlenmemiştir.

4.5 SOD Değerleri

Çalışmada eritrosit SOD konsantrasyonları ölçülmüştür.

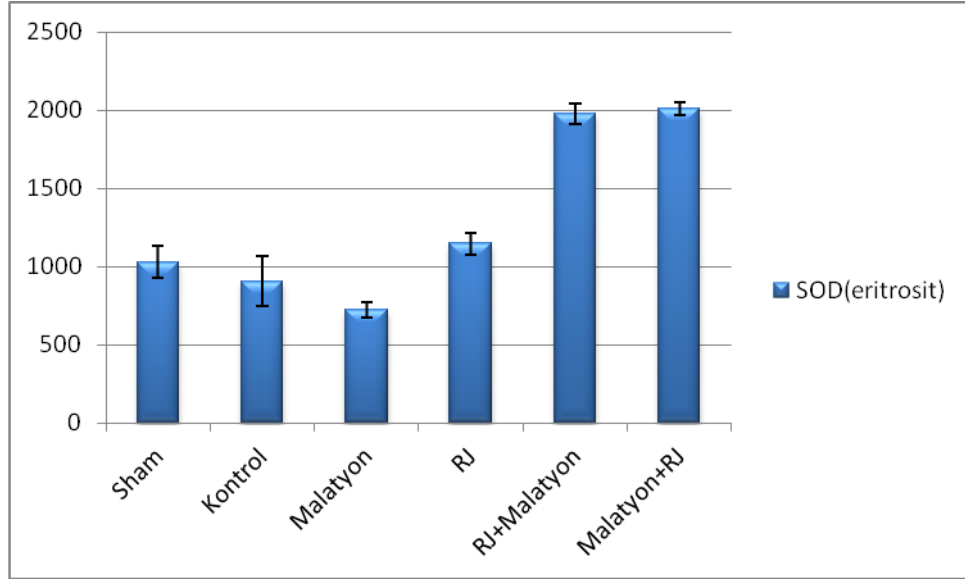
Eritrosit SOD konsantrasyon değerleri Sham, Kontrol, Malatyon, RJ, RJ+Malatyon ve Malatyon+RJ gruplarının sırasıyla 1029.17 ± 106.48 , 904.82 ± 159.66 , 722.03 ± 51.24 , 1144.44 ± 70.15 , 1974.74 ± 67.98 ve 2010.83 ± 42.87 dir.

Çizelge 4.5. SOD Değerleri

Grup	SOD(eritrosit)
Sham	1029.17 ± 106.48^c
Kontrol	904.82 ± 159.66^b
Malatyon	722.03 ± 51.24^a
RJ	1144.44 ± 70.15^c
RJ + Malatyon	1974.74 ± 67.98^d
Malatyon + RJ	2010.83 ± 42.87^d

^{a-d}; Aynı sütundaki farklı harfler, istatistiksel olarak ortalamalar arasındaki önemli farklılıkları

göstermektedir ($P<0.05$).



Şekil 4.5. SOD Değerlerinin Grafiksel Gösterimi

Tablo 4.5'e göre malatyon verilen grubun SOD konsantrasyonu kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) olarak azaldığı görülmüştür. Sadece RJ verilen grubun SOD konsantrasyonu Malatyon grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) olarak artma göstermiştir. Koruyucu olarak belirlenen RJ+Malatyon grubunun SOD konsantrasyonları RJ verilen gruba göre anlamlı ($p<0.05$) olarak arttığını göstermiştir. Tedavi edici ve koruyucu grupların SOD konsantrasyonları anlamlı ($p<0.05$) olarak farklılık göstermemektedir. Tedavi edici grup olarak belirlenen Malatyon+RJ grubunun SOD konsantrasyonu RJ verilen gruba göre anlamlı ($p<0.05$) olarak artma göstermiştir. Koruyucu olarak belirlenen RJ+Malatyon grubunun SOD konsantrasyonu kontrol grubuna göre oldukça anlamlı ($p<0.05$) bir artma göstermiştir. Koruyucu olarak belirlenen RJ+Malatyon grubunun SOD konsantrasyonu malatyon verilen gruba göre oldukça anlamlı ($p<0.05$) bir artma göstermiştir. RJ verilen grubun SOD konsantrasyonu kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) artma göstermiştir.

4.6 GPx Değerleri

Çalışmada eritrosit GPx konsantrasyonları ölçülmüştür.

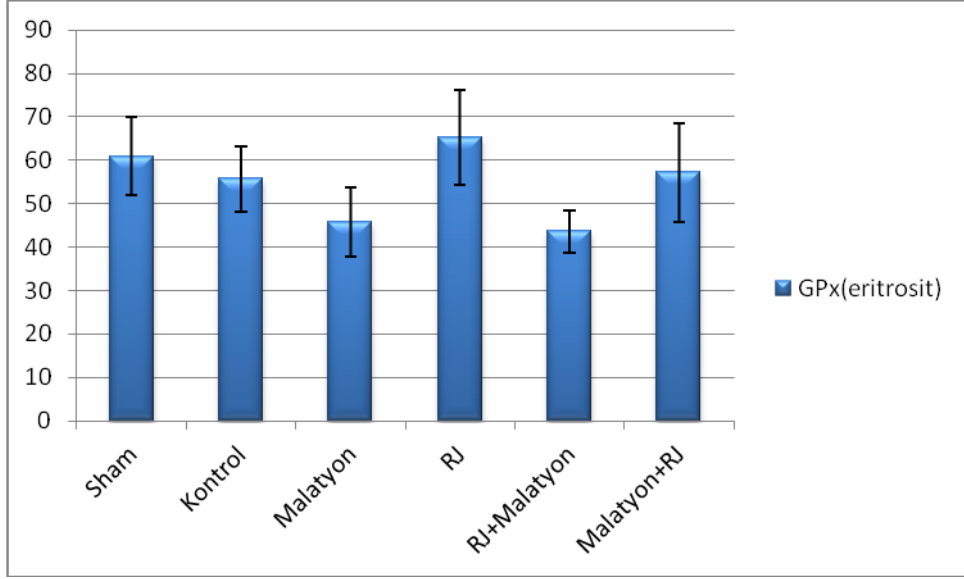
Eritrosit GPx konsantrasyon değerleri Sham, Kontrol, Malatyon, RJ, RJ+Malatyon ve Malatyon+RJ gruplarının sırasıyla 60.96 ± 8.86 , 55.67 ± 7.51 , 45.77 ± 8.01 , 65.30 ± 10.95 , 43.60 ± 4.78 ve 57.15 ± 11.46 dır.

Tablo 4.6'ya göre malatyon verilen grubun GPx konsantrasyonu sham grubuna göre anlamlı ($p < 0.05$) olarak azalma göstermiştir. Sadece RJ verilen grubun GPx konsantrasyonu Malatyon grubuna göre anlamlı ($p < 0.05$) olarak artmıştır. Tedavi edici olarak belirlenen Malatyon+RJ grubunun GPx konsantrasyon değeri koruyucu olarak belirlenen gruba göre anlamlı ($p < 0.05$) bir şekilde artmıştır. RJ verilen grubun GPx konsantrasyonunun sham grubuna göre anlamlı ($p < 0.05$) olarak arttığı görülmüştür. Koruyucu olarak belirlenen RJ+Malatyon grubunun GPx konsantrasyon değerinde sadece RJ verilen gruba göre anlamlı ($p < 0.05$) olarak azalma görülmüştür. Koruyucu olarak belirlenen RJ+Malatyon grubunun GPx konsantrasyon değerinde sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) düzeyde azalma görülmüştür.

Çizelge 4.6. GPx Değerleri

Grup	GPx(eritrosit)
Sham	60.96 ± 8.86^c
Kontrol	55.67 ± 7.51^{abc}
Malatyon	45.77 ± 8.01^{ab}
RJ	65.30 ± 10.95^c
RJ + Malatyon	43.60 ± 4.78^a
Malatyon + RJ	57.15 ± 11.46^{bc}

^{a-c}; Aynı sütundaki farklı harfler, istatistiksel olarak ortalamalar arasındaki önemli farklılıkları göstermektedir ($P < 0.05$).



Şekil 4.6. GPx Değerlerinin Grafiksəl Gösterimi

4.7 Asetilkolinesteraz Değerleri

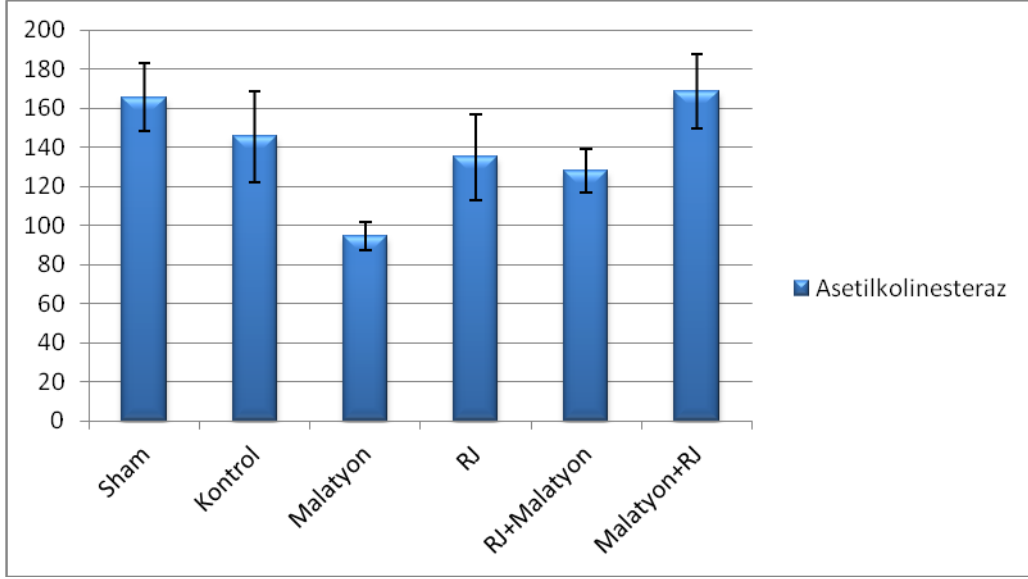
Çalışmada asetilkolinesteraz konsantrasyonları ölçülmüştür.

Asetilkolinesteraz konsantrasyon değerleri Sham, Kontrol, Malatyon, RJ, RJ+Malatyon ve Malatyon+RJ gruplarının sırasıyla 165.59 ± 17.31 , 145.48 ± 23.44 , 94.54 ± 7.38 , 135.01 ± 21.90 , 127.72 ± 11.14 ve 168.76 ± 19.00 dır.

Çizelge 4.7. Asetilkolinesteraz Değerleri

Grup	Asetilkolinesteraz
Sham	165.59 ± 17.31^c
Kontrol	145.48 ± 23.44^{bc}
Malatyon	94.54 ± 7.38^a
RJ	135.01 ± 21.90^b
RJ + Malatyon	127.72 ± 11.14^b
Malatyon + RJ	168.76 ± 19.00^c

^{a-c}; Aynı sütundaki farklı harfler, istatistiksel olarak ortalamalar arasındaki önemli farklılıkları göstermektedir ($P < 0.05$).



Şekil 4.7. Asetilkolinesteraz Değerlerinin Grafikselle Gösterimi

Tablo 4.7'de malatyon verilen grubun asetilkolinesteraz konsantrasyonu kontrol grubuna göre anlamlı ($p < 0.05$) olarak azalma göstermiştir. Malatyon verilen grubun asetilkolinesteraz konsantrasyonu, sham grubuna göre oldukça anlamlı ($p < 0.05$) bir azalma göstermiştir. Sadece RJ verilen grubun asetilkolinesteraz konsantrasyonunda malatyon verilen gruba göre anlamlı ($p < 0.05$) olarak artma görülmüştür. Tedavi edici grup olarak belirlenen Malatyon+RJ grubunun asetilkolinesteraz konsantrasyonu, koruyucu olarak belirlenen RJ+Malatyon grubuna göre anlamlı ($p < 0.05$) olarak artma göstermiştir. RJ verilen grubun asetilkolinesteraz konsantrasyonu sham grubuna göre anlamlı ($p < 0.05$) olarak azalma göstermiştir. Koruyucu grubun asetilkolinesteraz konsantrasyonu, malatyon verilen gruba göre anlamlı ($p < 0.05$) olarak artma göstermiştir. Koruyucu grubun asetilkolinesteraz konsantrasyonu, RJ verilen gruba göre anlamlı ($p < 0.05$) olarak azalma göstermiştir. Tedavi edici grup olarak belirlenen grubun asetilkolinesteraz konsantrasyonu RJ verilen gruba göre anlamlı ($p < 0.05$) olarak artma göstermiştir. Tedavi edici grup olarak belirlenen grubun asetilkolinesteraz konsantrasyonu malatyon verilen gruba göre anlamlı ($p < 0.05$) olarak oldukça artma göstermiştir.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Tarım sektöründe, ormancılık sektöründe ve evlerde de görülebilen pestleri yok etmek için kullanılan OP'ların kontrolsüz kullanımı, sağladığı yararların yanı sıra ortamdaki diğer gelişmiş canlıları ve mikroorganizmaları olumsuz yönde etkiler (Güney vd. 2007, Büyükben 2008). Uygulandığı yerlerde uzun süre kalabildiğinden, OP kalıntılarının bulunması önemli bir tehlikedir. Bu tehlike özellikle kendini kansorejen yada sinir sistemini etkileyici yönde gösterir.

Dünya'da kullanılan OP bileşiklerinin yaygın kullanımı ve kolay elde edilebilirliği, insanlarda ciddi zehirlenmelere yol açmaktadır. Organofosfatlara maruz kalınmasıyla sonuçlanan toksikasyonların sebebi çoğunlukla intihara teşebbüs nedeniyle meydana gelirken, daha az şiddetli olan toksikasyonlar ise dikkatsiz kullanım ve OP kalıntısı içeren gıdaların tüketimi ile gerçekleşir (Büyükben 2008, Yürümez vd. 2007).

Yağ ve organik çözücülerde iyi çözünen organofosfatlı bileşikler, suda az çözünürler. Bu özelliklerinden dolayı deri, mukoza, göz, solunum ve sindirim sistemlerinden hızla ve kolaylıkla absorbe olabilirler. (Genç Karanlık 2011, Keskin 2008).

OP bileşikleri insanlarda ve hayvanlarda toksik etkilerini asetilkolinesteraz enzimini inhibe ederek gösterirler. OP'ın toksik etki göstermesi için "P=O" ya yani okson metabolitlerine okside olmaları gerekmektedir. Yapısında kükürt atomu varsa (P=S) inhibe özelliği göstermez. Aktivasyon sonucunda oluşan okson arametabolitleri enzimler tarafından hidroliz olurlar. Bu enzimler, memeli hücrelerinde olduğu halde böceklerin birçoğunda yoktur. Bu nedenle OP'lı insektisitlere böcekler daha duyarlıdır (Büyükben 2008). OP zehirlenmelerinde muskarinik reseptörlerin stimülasyonu, karın bölgesinde ağrılar, diare, terleme ve bronşal sekresyonda artış gözlenen semptomlardandır. İskelet kası nöromusküler kavşaklarındaki nikotinik reseptörlerin stimülasyonu kaslarda istemsiz kasılmalara, güçsüzleşmeye ve felce neden olur (Büyükokuroğlu vd. 2008).

OP'lı insektisitlerin diğer bir toksik etkisi de reaktif oksijen türleri (ROS) ni oluşturması

ve bu canlılar için önemli olan biyomoleküllere olan zararlı etkilerini kolaylaştırmasıdır.

OP'lı bileşikler fenthion, parathion, diklorvos, diazinon ve Malatyon olmak üzere 5'e ayrılmaktadır. Diğer insektisitlere göre akut toksisitesinin düşük olmasından dolayı deneylerde en fazla kullanılan organofosfatlı bileşik Malatyon'dur. Malatyon, karaciğerde enzimler tarafından kendisinden 60 kat fazla toksik olan malaokson'a çevrilir. Malaokson, Malatyona göre çok daha fazla zehirlidir ve insan karaciğerine önemli zararlar verebilir (Bakal 2010, Koçak Memmi 2009).

Pestisitler memelilerde ve diğer canlı dokularında histopatolojik ve sitopatolojik değişikliklere neden olmaktadır. Pestisitlerin en fazla zarar verdiği dokuların başında karaciğer ve böbrek gelmektedir. Çünkü pestisitlerin biyotransformasyona uğradığı yer karaciğer, genel olarak atılım yeri ise böbreklerdir. Bu nedenle bu iki dokunun diğer dokulara nazaran daha fazla zarar gördüğünü söylemek mümkündür (Uzun 2007).

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

Reaktif oksijen türlerinin tahrip ettiği biyomolekül gruplarından biride lipiddir. Lipid peroksidasyonu kendi kendini devam ettirme özelliği bulunan zincir reaksiyonu şeklinde ilerlediğinden ve geri dönüşümsüz olduğundan metabolizma için en zararlı reaksiyonlardandır (Gülcü Bulmuş 2006). Lipid peroksidasyonunun son basamağında oluşan en önemli ürün malondialdehittir (Şekil 2.20). Direkt olarak membran yapısına ve indirekt olarak reaktif aldehytler üreterek diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Bu reaksiyonlar hücrel membranların oksidatif yıkımı ve ciddi doku hasarı ile sonuçlanır (Büyükben 2008, Gülcü Bulmuş 2006). MDA oksidan hasarı değerlendirmede sıklıkla kullanılmaktadır. Doymamış yağ asitleri ile serbest radikaller arası reaksiyondan açığa çıkan ve hücrel membranlarda lipid peroksidasyonu (LPO) ana ürünü olan hücrel MDA içeriği LPO'un derecesinin bir göstergesi olarak değerlendirilebilir. (Yılmaz 2010). Malatyon etkisinde MDA miktarının yüksek bulunması lipid peroksidasyonuna

işaret etmektedir. Lipit peroksidasyonu meydana gelmemesi veya düşük düzeylerde olması oksidatif enzimlerin koruyucu etkilerinin göstergesidir (Öztürk 2009). Oksidatif stres parametreleri ile antioksidan sistem ve aralarındaki korelasyon son yıllarda giderek ilgi odağı olmuş, oksidatif stresin göstergesi MDA düzeyleri ve antioksidanlar biyokimyasal markır olarak bir çok hastalıkta araştırılmıştır (Aymelek 2009).

Glutasyon (GSH), glutamat, sistein ve glisinden meydana gelen bir tripeptiddir ve karaciğerde sentezlenir. Özellikle karaciğer olmak üzere pek çok dokuda yüksek düzeyde bulunur. GSH hücre içindeki önemli antioksidan moleküllerden biridir. Serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreyi oksidan hasara karşı korur. GSH, disülfid'e (GSSG) okside olarak bir antioksidan gibi davranır ve GSH/GSSG oranı dokuda oksidatif stresi tanımlamak için kullanılır. Hücresel GSH konsantrasyonu antioksidan sistem üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. Oksidatif şartlar altında GSH konsantrasyonu, oksidatif stresten etkilenen hücrelerden GSSG ve glutasyon konjugatlarının salınımı ile önemli oranda azalabilmektedir. GSH, süperoksit ve hidroksil radikalleri ile reaksiyona girebilir ve böylece direkt olarak serbest radikal süpürücü fonksiyonu gösterir. GPx ve GST gibi enzimlerin fonksiyonu için gereklidir. Hücrenin protein yapısındaki sülfidril (-SH) gruplarını indirgenmiş halde tutarak pek çok proteinin ve enzimin inaktivasyonunu engeller (Aymelek 2009). GSH miktarının ve diğer antioksidan savunmanın düşük olması ve yüksek poliansatüre yağ asiti içeriği nedeniyle beyin dokusu lipit peroksidasyonuna oldukça açık bir sistemdir (Öztürk 2009). Glutasyon redoks döngüsündeki değişimlerin oksidatif stresi oluşturması nedeniyle GSH enzimleri kirliliğin boyutunu gösteren bir parametre olarak kullanılır. GSH miktarının azalması, kan yoluyla beyne iletilmesi gereken GSH veya yapıtaşlarının karaciğerde henüz yeterli düzeyde sentezlenmemiş olduğunu düşündürmektedir (Ören 2009).

Katalaz (CAT), hidrojen peroksiti su ve oksijen molekülüne çeviren bir hemoproteindir. Etkisi yüksek olduğundan bu olayı çok hızlı bir şekilde gerçekleştirebilir. Katalaz enziminin etkisi, ortamdaki hidrojen peroksit miktarı arttığında artar. Hidrojen peroksit miktarı düşük olduğunda ise glutasyon peroksidaz (GPx) devreye girer ve H₂O₂'i ortamdan uzaklaştırır. Katalaz, lipit peroksitler gibi büyük molekülleri

indirgeyememektedir (Özden 2008, Büyükben 2008).

Süperoksit dismutaz (SOD), süperoksit radikalının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştürülmesini katalizleyerek organizmayı toksik reaktif oksijen türevlerine karşı koruyan bir metalloenzimdir. SOD'un fizyolojik fonksiyonu oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalının lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır (Büyükben 2008).

Organofosfatlı insektisit kirliliğinin belirlenmesinde asetilkolinesteraz aktivitesi biyobelirteç olarak kullanılır. Organofosfatlı pestisitlerle yapılan çalışmalarda AChE inhibisyonunun doz ve süreye bağlı olarak değiştiği, inhibisyon oranının ise tür ve dokuya bağlı farklılıklar gösterdiği bilinmektedir. Asetilkolinesteraz aktivitesinde %20 oranında inhibisyon meydana gelmesi organofosforlu pestisitlerin etkisinde kalmanın göstergesidir. %50 ya da daha yüksek düzeyde inhibisyon meydana gelirse yaşamı tehdit eden bir durum meydana gelir (Ören 2009).

OP kaynaklı oksidatif strese karşı literatürde farklı bazı tedavi amaçlı çalışmalar yapılmıştır. Kalender ve arkadaşlarının (2007) yaptığı çalışmada, ratlarda metil parathion ile nefrotoksisite oluşturulmuş ve antioksidan vitaminlerden olan vitamin E ve vitamin C'nin koruyucu etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonunda vitamin C ve vitamin E'nin, oksidatif stres ve LPO'nun en önemli göstergesi olan MDA konsantrasyonunu azalttığı görülmüştür.

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

Büyükben (2008) in yaptığı bir çalışmada sıklıkla kullanılan bir OP olan fenthion ile toksikasyon oluşturulmuş ve meydana gelen oksidatif stres ile LPO'nun şiddeti MDA konsantrasyonun ölçülmesiyle tespit edilmiştir. Sadece fenthion uygulanan gruba ait MDA konsantrasyonun gruplar içerisinde en yüksek olduğu belirlenmiş, bu durum da OP'ların lipid peroksidasyonuna neden olduğu ve oksidatif streste rol oynadığını

göstermiştir. Vitamin E, selenyum ve vitamin E - selenyumun organofosfatlı bileşiklerin neden olduğu oksidatif strese karşı savunma oluşturmada etkili olabileceği görülmüştür.

John ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ratlar düşük dozda dimethoate ve/veya malatyon (0.01% LD50) muamelesinden önce oral olarak vitamin E (250 mg/kg vücut ağırlığı, 6 hafta boyunca haftada 2 kez) ile muamele edilmişlerdir. Sonuçlar bu insektisitler ile muamele eritrositlerde lipid peroksidasyonunun (LPO) arttığını göstermiştir, bununla birlikte vitamin E'nin insektisitlerden önce muamelesi eritrositlerdeki lipid peroksidasyonunu azaltmıştır. Dimethoate ve/veya Malatyonla muamele edilen ratların eritrositlerinde superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) ve total-SH aktivitelerindeki artış, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında artan oksidatif strese yanıt olarak görülmüştür. Organofosfatlı insektisitlerden önce vitamin E ile muamele edilen hayvanlarda bu parametrelerin direk insektisitle muamele edilen gruplara kıyasla daha düşük olduğu görülmüştür yani vitamin E organofosfatların uyardığı oksidatif strese karşı koruyucu olmuştur.

Pournourmohammadi ve ark., in vitro ve in vivo olarak malatyonun rat pankreas adacıklarından insülin salgılanması üzerine etkisini araştırmışlardır. Malatyonun langerhans adalarında meydana getirdiği mitokondriyal fonksiyon bozukluğu aracılığıyla plazmadaki glukoz ve insülin konsantrasyonlarını arttırdığını, eritrositlerdeki asetilkolinesteraz aktivitesini ise düşürdüğünü tespit etmişlerdir.

Hazarika ve ark., ratlarda Malatyonun karışık fonksiyonlu oksidazları inhibe ederek, anilofosun toksisitesini değiştirip değiştirmediği, kan, beyin ve karaciğerde biyokimyasal verilere bakılarak araştırmışlardır. Malatyon anilofosun kanda, beyinde ve karaciğerde antiasetilkolinesteraz faaliyetini değiştirmemiştir. Eritrositlerde, beyinde ve karaciğerde lipid peroksidasyonu anilofos ya da malatyon ve bunların kombinasyonlarının uygulandığı gruplarda artmıştır. Malatyon karaciğer ve kanda bulunan glutatyon (GSH) miktarında düşüşe sebep olmuştur. Glutatyon-S- transferaz aktivitesi malatyon ve anilofosla, Malatyonun uygulandığı ratların karaciğerinde azalmıştır.

Blasiak ve ark., Malatyonun metabolitleri olan malaokson ve izomalatyonun DNA hasarına yol açtığını böylece genotoksik olduğunu göstermişlerdir. Malatyonun olası genotoksitesinin biyotransformasyonu sonucu başlıca metaboliti olan malaxson veya izomeri olan isomalatyona dönüşmesiyle oluştuğunu belirtmişlerdir .

Rezg ve ark., yaptıkları bir çalışmada Malatyonun ratlarda subkronik maruziyetinin metabolik parametreler üzerine etkisini araştırmışlardır. Plazmada AChE aktivitesinde azalma, hemoglobin konsantrasyonunda artma görülürken, hemotokrit içeriğinde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Malatyon zehirlenmesi önemli oranda karaciğer proteinlerini ve karaciğer glukoneogenezi ile ilgili olan lipid içeriğini azaltmıştır.

Silva ve ark., Malatyon maruziyetinin farelerde anne sütü aracılığıyla asetilkolinesteraz aktivitesi üzerine etkisini ve oksidatif stresle ilişkili parametreleri nasıl etkilediğini araştırmışlardır. Düşük dozda (20 mg/kg) maruziyetin bile emzirilme dönemindeki yavruların asetilkolinesteraz enzimlerinde inhibisyona neden olduğunu, annede ise daha yüksek dozda (200 mg/kg) Malatyonun AChE inhibisyonuna neden olduğunu göstermişlerdir. Oksidatif stresle ilişkili parametrelerde ise bir değişiklik gözlenmemiştir. Bu sonuçlar Malatyonun anne sütü aracılığıyla yeni doğan canlıda AChE inhibisyonuna neden olduğunu göstermiştir.

Akhgari ve ark., yaptıkları bir çalışmada Malatyonun erkek wistar ratlarda subkronik maruziyetini değerlendirmişler ve oksidatif stres oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Yaptıkları çalışmada Malatyon 4 hafta boyunca uygulanmış ve karaciğer CAT, SOD aktiviteleri ile kandaki MDA'nın arttığını gözlemlemişlerdir. Bununla birlikte, asetilkolinesteraz (AChE) ve kolinesteraz (ChE) aktivitelerinin azaldığını gözlemlemişlerdir.

Timur ve ark., yaptıkları bir çalışmada yeni doğan sıçanların farklı organlarındaki protein seviyesi, GST ve AChE aktiviteleri üzerine organofosforlu bir pestisit olan Malatyonun in vivo etkilerini değerlendirmişlerdir. Malatyonla muamele edilen yetişkin dişi sıçanlarda karaciğer GST aktivitesi yaklaşık 2 kat artarken, AChE aktivitesi kontrole göre % 20'den daha fazla azalmıştır. Benzer şekilde, yeni doğan sıçanlarda

karaciğer ve kalp GST aktiviteleri yaklaşık 2 kat artmıştır, fakat beyin GST aktivitesinde bir azalma gözlenmiştir. Karaciğer, beyin, böbrek ve akciğer AChE aktivitelerinde de kontrolle karşılaştırıldığında önemli derecede azalma gözlenmiştir.

Öztürk (2009) ün yaptığı bir çalışmada organofosfatlı insektisit olan Malatyonun *Cyprinus carpio*'da kortizol, estradiol ve testosteron salınımları, lipit peroksidasyonu ve glutatyon miktarlarına etkileri incelenmiştir. Asetilkolinesteraz aktivitesi denenen tüm deneme sürelerinde derişime bağılı olarak azalmıştır. Glutatyon miktarı düşük Malatyon derişimlerinde artarken Malatyonun yüksek derişimlerinin etkisinde azalmıştır. Malondialdehit ve estradiol miktarlarında dalgalanmalar meydana gelirken 15 gün pestisit bulunmayan ortamda bekletildikten sonra malondialdehit ve estradiol miktarları artmıştır.

Salvelinus fontinalis, *Oncorhynchus mykiss* ve *Oncorhynchus kisutch* bireyleri, Malatyonun %55'lik EC formülasyonuna 7-10 gün arası, 40 ppb ile 3000 ppb'lik konsantrasyonlarına maruz bırakıldıktan sonra, bağımlılık akım tünel testlerine alınmıştır. *Oncorhynchus kisutch* bireylerinde AchE seviyesinin %75 azaldığı gözlenmiş ve en hassas tür olarak belirlenmiştir (Bakal 2010).

Holland ve Lowe, *Leistomus xanthurus* bireyleri üzerine Malatyonun kronik etkilerini test ettikleri çalışmada; bireyler, 10 ppb'lik Malatyon konsantrasyonuna 26 hafta boyunca maruz bırakılmışlardır. Sonuçta, beyin AchE seviyelerinde %30 oranında bir azalma gözlenmiştir. Bununla beraber başka belirgin bir etki gözlenmemiştir. Malatyona maruz bırakılan bu bireylerin, normal ortama alınmalarının ilk haftası sonunda ise, AchE seviyelerinin normale döndüğü gözlenmiştir. Ancak yüksek konsantrasyonlarda Malatyona maruz kalan balıkların daha hassas olduğu ve normal durumlarına dönmedikleri saptanmıştır (Bakal 2010).

Coppage ve arkadaşları yaptıkları çalışmada; bir balık türü olan *Lagodon rhomboides* bireylerini vahşi olarak yakalamış ve laboratuvar ortamına 3 haftada adapte olmalarını sağlamışlardır. Bu bireyler, asetonda çözülmüş 50ppb'lik Malatyona 72 saat maruz bırakılmışlardır. Malatyona maruz kalan bu balıkların yaklaşık %70'inden fazlasında

AchE engellenmesi gözlenmiş ve bu balıkların ölüm tehditi altında olduğu belirtilmiştir. Çalışma sonucunda bireylerde, ölümün yaklaşık 58 ppb'de gerçekleştiği ve 25 ppb'de ise AchE engellenmesinin gözlemlendiği bildirilmiştir (Bakal 2010).

Sunulan çalışmada, bir organofosfat olan malatyon ile toksikasyon oluşturulmuş ve meydana gelen oksidatif stresin kan ve dokulardaki LPO'nun göstergesi olan MDA ve NO konsantrasyonları, antioksidan düzeyleri (GSH, GPx, CAT, SOD) ve asetilkolinesteraz seviyeleri tespit edilmiştir. Tablo 4.1 de görüldüğü gibi sadece malatyon verilen gruba ait MDA konsantrasyonlarının gruplar içerisinde en yüksek olduğu belirlenmiş, bu durum OP'ların lipid peroksidasyonuna neden olduğu ve oksidatif strese rol oynadığını göstermiştir. Tablo 4.2'de ise, sadece malatyon verilen gruptaki eritrosit, karaciğer, böbrek ve beyin GSH düzeyinde sham ve kontrol grubuna oranla istatistiksel bir fark görülmüştür ($p < 0.05$). Eritrosit, karaciğer ve böbrek GSH düzeylerinde malatyon verilen grubun değerleri, kontrol ve sham grubuna göre düşmüştür. Beyin GSH düzeyleri incelendiğinde ise, malatyon verilen grubun değeri sham grubuna göre istatistiksel bir farklılık göstermezken, kontrol grubuna göre artış göstermiştir. Sonuç olarak malatyon verilen grubun eritrosit, karaciğer ve böbreğinde toksikasyonun geliştiği ve fazla GSH kullanıldığı görülmüştür. Eritrosit CAT konsantrasyonu, malatyon verilen grupta sham grubuna göre düşüş gösterirken, kontrol grubuna göre istatistiksel bir farklılık göstermemiştir. Karaciğer CAT konsantrasyonları kontrol, malatyon gruplarında istatistiksel olarak bir farklılık göstermemiştir. Böbrek CAT konsantrasyon değerleri arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir. Beyin CAT konsantrasyonu malatyon verilen grupta sham ve kontrol grubuna göre düşüş göstermiştir. Bu da malatyonun beyinde oksidatif stres oluşturduğunu gösterebilir (Tablo 4.3). Tablo 4.4'de belirtildiği gibi plazma NO konsantrasyonları malatyon grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel farklılık göstermezken, sham grubuna göre artış göstermiştir. Bu da plazmada malatyonun oksidatif hasara yol açtığını göstermiştir. Karaciğer NO konsantrasyonu malatyon grubunda kontrol ve sham grubuna göre artış göstermiştir. Bu sonuç karaciğerde malatyonun oksidatif strese yol açtığını göstermiştir. Böbrek ve beyin NO konsantrasyonları incelendiğinde sham, kontrol ve malatyon grupları arasında istatistiksel bir farklılık gözlenmemiştir. Eritrosit SOD konsantrasyonları incelendiğinde malatyon grubu SOD değerleri sham ve kontrol grubuna göre düşüş

göstermiştir. Bu sonuç eritrositlerde malatyona oksidatif stres oluşturduğu ve buna bağlı olarak konsantrasyonun düştüğünü göstermektedir (Tablo 4.5). Tablo 4.6 da görüleceği üzere malatyona verildiği gruptaki eritrosit GPx aktivitesinde sham grubuna oranla bir azalma belirlenmiştir. Bu azalma, eritrositlerde oksidatif stresin meydana geldiği ve antioksidan miktarının bundan dolayı düştüğü sonucunu gösterebilir. Malatyon verilen grubun asetilkolinesteraz konsantrasyonunda kontrol ve sham grubuna göre düşüş gözlenmiştir. Bu sonuç, malatyon'un asetilkolinesterazı inhibe ederek toksik etki gösterdiğini göstermektedir (Tablo 4.7).

Arı sütü (Royal Jelly), 5 ile 15 günlük işçi arıların alt çene ve yavru besini bezi olarak da adlandırılan boğaz bezlerinden ergin ana arı ve genç larvaları beslemek için salgılanan bir üründür (Şahinler 2000, Korkmaz ve Öztürk 2010).

Arı sütünün bir çok etkisi vardır. Bunlar arasında antioksidan etki, nörotropik etki, insülin benzeri etki, kan düzenleyici etki, antitümör etki, antibiyotik, antialerjik, anti-inflammatuar aktivite ve yara iyileştirici etki sayılabilmektedir.

Larva transferinden sonra 24 saat içinde toplanan arı sütünün güçlü antioksidan etkisi vardır. Antioksidan özelliği laboratuvar hayvanlarında denenmiş ve lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği kanıtlanmıştır. Arı sütü oksidatif hasarın DNA'yı etkilemesini engellemiştir (Pavel *et al.* 2011).

El-Nekeety ve arkadaşlarının çalışmasında arı sütünün bir mukotoksin olan fumosin ile sıçanlarda oluşturulan oksidatif stresi azalttığı gösterilmiştir. Tedavi ve kontrol gruplarındaki sıçanlara 3 hafta süreyle 100 mg/kg veya 150 mg/kg arı sütü oral olarak verildikten sonra arı sütü gruplarında MDA düzeylerinde anlamlı düzelme göstermişlerdir (Kaynar 2010).

Kanbur ve arkadaşlarının 2 farklı çalışmasında farklı ajanların neden olduğu oksidatif stress üzerine arı sütünün etkisi çalışılmıştır. Çalışmalardan birinde sodyum florid diğeri ise parasetamol ile oksidatif stres oluşturulmuştur. Bu 3 çalışmada da arı sütü ilave edilen gruplarda MDA değeri oksidatif stres oluşturan ajan grubuna göre anlamlı

derecede daha düşük bulunmuştur (Kaynar 2010).

Arı sütünün hem normal fizyolojik koşullarda hem de oksidatif stres altında antioksidatif enzim aktivitelerini artırdığını desteklemektedir. Enzim aktivitelerindeki yükselme arı sütü dozu arttıkça daha belirgin hale gelmektedir (Kaynar 2010).

Literatürde arı sütünün yararlı rolü bazı çalışmalarda görülse de OP toksikasyonundaki koruyucu etkisine dair herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Yapılan bu çalışmada ise malatyonun toksik etkisine karşı arı sütünün koruyucu ve tedavi edici etkisi araştırılmıştır.

Sunulan çalışmada, tüm dokularda yalnız malatyon verilen gruba göre diğer gruplarda MDA değerlerinde düşüş görünürken, yalnız royal jelly verilen gruplarda en düşük MDA değeri elde edilmiştir. Royal jelly'nin serbest radikallerin oluşturduğu hasarı azaltacak şekilde görev aldığı görülmektedir. Koruyucu ya da tedavi edici olarak kullanıldığında MDA değerini düşürerek oksidatif strese karşı iyi bir sonuç vermiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.2'de görüldüğü gibi RJ grubunun eritrosit GSH düzeyi diğer gruplara göre en yüksektir. RJ+Malatyon grubunun GSH konsantrasyonunda sham grubuna göre istatistiksel bir farklılık olmamasına rağmen, kontrol grubu ve malatyon grubuna göre bir artış görülmüştür. Bu da RJ'nin eritrositlerde malatyona karşı koruyucu etkisinin olabileceğini göstermiştir. Malatyon+RJ grubunun eritrosit GSH düzeylerinde kontrol grubuna göre istatistiksel bir farklılık görülmemesine rağmen, malatyon grubuna göre artış, RJ grubuna göre azalma görülmüştür. Bu da RJ'nin tedavi edici etkisinin olabileceğini göstermiştir. Karaciğer RJ+Malatyon ve Malatyon+RJ GSH konsantrasyonları kontrol grubu ve malatyon grubu değerlerine göre artış göstermiştir. Bu sonuç karaciğerde RJ'nin malatyona karşı koruyucu ve tedavi edici etkisinin olabileceğini gösterir. Böbrek RJ+Malatyon grubunun GSH düzeylerinde kontrol grubuna göre istatistiksel bir fark gözlenmemesine rağmen, malatyon grubuna göre bir artış gözlenmiştir. Bu sonuç böbrekte RJ'nin koruyucu etkisinin olabileceğini göstermektedir. Malatyon+RJ grubu GSH konsantrasyonu kontrol grubu ve malatyon

grubuna göre artış göstermiştir. Bu sonuç böbrekte RJ'nin tedavi edici etkisinin olabileceğini göstermektedir. Beyin RJ+Malatyon ve Malatyon+RJ gruplarının GSH konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre istatistiksel bir fark gözlenmemesine rağmen, malatyon ve sham grubuna göre düşüş gözlenmiştir.

RJ verilen grubun CAT konsantrasyonu sham grubuna göre istatistiksel bir fark göstermezken, diğer grup konsantrasyonlarına göre artış göstermiştir. Malatyon+RJ grubunun eritrosit CAT düzeyi malatyon ve RJ+Malatyon gruplarına göre istatistiksel bir farklılık göstermezken, RJ+Malatyon grubunun konsantrasyonu malatyon grubuna göre artış göstermiştir. Bu da RJ'nin koruyucu etkisinin olabileceğini göstermektedir. Karaciğer CAT konsantrasyonları kontrol, malatyon, RJ, RJ+Malatyon ve Malatyon+RJ gruplarında istatistiksel olarak bir farklılık göstermemesine rağmen, sham grubuna göre düşüş göstermiştir. Böbrek CAT konsantrasyon değerleri arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir. Beyinde sadece RJ verilen grubun CAT düzeyleri sham grubuna göre düşüş göstermesine rağmen, malatyon ve kontrol grubuna göre artış göstermiştir. Malatyon+RJ grubunun CAT konsantrasyon değeri RJ grubuna göre düşme gösterirken, malatyon grubuna göre artış göstermiştir. Bu sonuç da RJ'nin tedavi edici etkisinin olabileceğini göstermektedir (Tablo 4.3).

Tablo 4.4'de görüldüğü gibi karaciğer RJ+Malatyon ve Malatyon+RJ gruplarının NO konsantrasyonları arasında istatistiksel bir farklılık gözlenmemesine rağmen, Malatyon grubuna göre düşüş göstermişlerdir. Bu da RJ'nin karaciğerde koruyucu ve tedavi edici etkisinin olabileceğini göstermiştir. Böbrek ve beyin NO konsantrasyonlarında sham, kontrol, Malatyon, RJ, RJ+Malatyon ve Malatyon+RJ gruplarında dokular arasında istatistiksel bir farklılık gözlenmemiştir.

Sadece RJ verilen grubun eritrosit SOD konsantrasyonları sham grubuna göre istatistiksel bir fark göstermezken, kontrol ve Malatyon grubuna göre artış göstermiştir. RJ+Malatyon ve Malatyon+RJ gruplarının SOD konsantrasyonları istatistiksel bir farklılık göstermezken Malatyon grubuna göre artış göstermiştir. Bu da RJ'nin eritrositlerde hem koruyucu hem de tedavi edici etkisinin olabileceğini göstermiştir (Tablo 4.5).

Tablo 4.6 da görüleceği üzere RJ+Malatyon, Malatyon+RJ ve kontrol grupları ile yalnız malatyonun verildiği grup arasında GPx konsantrasyonlarında istatistiksel bir farklılık gözlenmemiştir. RJ verilen grubun konsantrasyon değeri sham, kontrol ve Malatyon+RJ grubuna göre istatistiksel bir farklılık göstermemesine rağmen, Malatyon ve RJ+Malatyon grubuna göre artış göstermiştir.

RJ+Malatyon ve Malatyon+RJ gruplarının asetilkolinesteraz düzeylerinde sham ve kontrol grubuna göre istatistiksel bir farklılık gözlenmemesine karşın malatyon grubuna göre artış görölmüştür. Bu da malatyonun asetilkolinesterazı inhibe ettiğini gösterir. Ayrıca RJ+malatyon ve malatyon+RJ gruplarının asetilkolinesteraz enzim aktivitesini arttırıcı etkilerinin olduğu söylenebilir (Tablo 4.7).

Sonuç olarak, arı sütünün organofosfatlı bileşiklerden olan malatyonun neden olduğu oksidatif strese karşı koruyucu ve tedavi edici yönde etkili olabileceği görölmüştür. Özellikle oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunun en önemli göstergesi olan MDA düzeyinin tüm koruyucu ve tedavi gruplarında önemli şekilde azalmış olması, oksidatif hasara karşı arı sütünün etkili olabileceğini ortaya koymuştur. Antioksidan etki gösteren RJ'nin, oksidatif strese neden olan OP'lı insektisitler içerisinde bulunan malatyonun tedavisinde destekleyici olabileceği düşünölmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Adadioğlu, İ. (2010). Metamizol, Diklofenak Sodyum ve Parasetamol'un Ratlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Organofosfat Zehirlenmesi Üzerine Etkileri. Tıpta Uzmanlık Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Afyonkarahisar.
- Aebi, H. (1974). Catalase in Methods of Enzymatic Analysis, Bergmeyer U, Ed. New York and London: *Academic Press*, 673-677.
- Albayrak, S. and Albayrak, S. (2008). Propolis: Doğal Antimikrobiyal Madde. *Ankara Ecz. Fak. Derg.*, **37 (3)**: 201 - 215.
- Aliyev, E. (2005). Atrisorb Uygulanmış ve Radikal Süpürücü Enzimler (Superoxide Dismutase (SOD) VE Catalase (CAT)) Verilmiş Köpeklerin Dişeti Dokularında Radikal Süpürücü Enzimlerin (SOD, CAT VE Glutathione Peroxidase) Aktivitelerinin Zamana Göre Değişimi. Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Altuntaş, A. (2008). Sıçanlarda Deneysel Amfoterisin B Nefrotoksisitesinde Oksidatif Stresin Rolünün ve Olası Oksidatif Stres Üzerine Kafeik Asit Fenetil Ester'in Etkisinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Isparta.
- Aygün, F.Ö. (2010). Sıçanlarda Deneysel Gentamisin Nefrotoksisitesinde Oksidatif Stresin Rolünün ve Olası Oksidatif Stres Üzerine Kafeik Asit Fenetil Ester'in Etkisinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Isparta.
- Aymelek, F. (2009). In Vivo Karaciğer Toksikasyonunda Royal Jelly'nin Koruyucu Etkisi ve Sialik Asit. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.
- Bakal, N.H. (2010). Malatyon İnektisitinin *Poecilia Reticulata* (PETERS, 1859) Üzerindeki Akut Toksik Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Bhagavan, N.V. (2002). *Medical biochemistry*. Harcourt Academic Press, Kanada.

- Bogdanov, S. (2009). Beeswax: Production, Properties Composition and Control. *Bee Product Science*, 1-17
- Bogdanov, S. (2011). Royal Jelly, Bee Brood: Composition, Health, Medicine. *Bee Product Science*, 1-33
- Bogdanov, S. (2012). Bee Venom: Composition, Health, Medicine. *Bee Product Science*, 1-17
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, **7**;72:248-54.
- Buetler, E., Dubon, O. and Kelly, B.M. (1963). Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med.* **61**: 882-888.
- Büyükbın, A. (2008). Deneysel Olarak Oluşturulan Organofosfat Toksikasyonunda Vitamin E, Selenyum ve Vitamin E-Selenyum'un Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.
- Büyükkuroğlu, M.E., Cemek, M., Tosun, M., Yürümez, Y., Baş, O., Yavuz, Y. (2008). Dantrolene may prevent organophosphate-induced oxidative stress and muscle injury. *Pestic Biochem Physiol*, **92**: 156-163.
- Ceyhan, N. (2000). Muğla Ballarının Mikrobiyolojik Özellikleri ve Apiterapideki Yeri. Yüksek Lisans Tezi, Muğla Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Muğla.
- Cherubini, A., Ruggiero, C., Polidori, M.C., Mecocci, C. (2005). Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Radical Biology & Medicine*, **39**: 841-852.
- Çağlı, K., Bağcı, C., Güleç, M., Cengiz, B., Akyol, Ö., Sarı, İ., Çavdar, S., Pençe, S. and Dinçkan, H. (2005). In Vivo Effects of Caffeic Acid Phenethyl Ester on Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury and Apoptotic Changes in Rats. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, **35** (4): 440-448.
- Çankaya, N. ve Korkmaz, A. (2008). Polen. *T.C. SAMSUN VALİLİĞİ İl Tarım Müdürlüğü*.
- Dündar, Y., Aslan, R. (2000). Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar. Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayınları, Afyon.

- Emecen, Ö. (2009). Astımlı Hastalarda Serum Total Oksidan / Antioksidan Status ve ECP Düzeylerinin Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul.
- Erdoğan, A. (2010). Anadolu Arısı Ege Ekotipi (*Apis mellifera anatoliaca*) ve İtalyan (*Apis mellifera ligustica*) X Ege Melezi Bal Arılarının ve Farklı Yüksük Sayılarının Arı Sütü Verimleri Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Erdoğan, Y. and Dodoloğlu, A. (2005). Bal Arısı (*Apis mellifera* L.) Kolonilerinin Yaşamında Polenin Önemi. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, **5**: 79-84.
- Erem, C. (2005). Otoimmün Tiroid Hastalıklarında Arı Sütü (Royal Jelly) 'nün Otoimmünite Üzerindeki Etkinliğinin Araştırılması. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Fairbanks, VF. and Klee, GG. (1987). Biochemical aspect of hematology. *Fundamentals of Clinical Chemistry*, Ed., NW Tietz, WB Saunders Company, Philadelphia. p.803-804.
- Fidan, F. A. (2007). Deneysel Diyabet Oluşturulmuş Ratlarda Diyete Katılan Farklı Yapılardaki Saponin İçerikli Bitkilerin DNA Hasarı, Protein Oksidasyonu ve Lipid Peroksidasyonu ile Bazı Biyokimyasal Parametrelere Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.
- Genç Karanlık, M. (2011). Akut Pestisit Zehirlenmelerinde Zehirlenmenin Şiddeti, Akut İnflamatuvar Belirteçler ve Eritrosit Kolinesteraz Düzeyi Arasındaki İlişki. Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adana.
- Gutteridge, J. M.C. (1995). Lipid Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue Damage. *Clinical Chemistry*, **41 (12)**: 1819-1828.
- Gülcü Bulmuş, F. (2006). Kronik Hiperhomosisteinemi Oluşturulan Ratlarda Alfa-Lipoik Asidin Plazma ve Çeşitli Dokularda Oksidan Antioksidan Sistem Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- Güney, M., Oral, B., Demirin, H., Özgüner, M., Take, G., Mungan, T., Altuntaş, İ.

- (2007). Evaluation of caspase-dependent apoptosis during methyl parathion-induced endometrial damage in rats: Ameliorating effect of Vitamins E and C. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **23**: 221-227.
- Gürdegin, B. (2006). Malatyon'un Çöpçü Balığındaki (*Orthrias angorae*, Steindachner 1897) Mikronükleus Oranına Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars.
- Gürsul, C. (2006). Kafeik Asit Fenetil Esterin Sıçanlarda Hepatik Ensefalopatide Nöroprotektif Etkinliği. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
- Hazman, Ö. (2006). Sabit ve Artan Dozlarda Eroin Verilerek Bağımlılık Oluşturulan Ratlarda, Nalokson ile Meydana Getirilen Akut Yoksunluk Durumundaki Oksidatif Stresin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.
- Jain, S.K., McVie, R., Duett J. and Herbst, J.J. (1989). Erythrocyte membrane lipid peroxidase and glycolylated hemoglobin in diabete. *Diabetes* **38**: 1539-1543.
- Kahraman, N. (2008). Organofosfat ve Karbamat İçeren İnsektisit Maruziyeti ile Acil Servise Başvuran Hastaların Serum Asetilkolinesteraz Düzeyleri ile Klinik Seyir ve Mortalitepleri Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, İzmir.
- Kalaycıoğlu, L., Serpek, B., Nizamlıoğlu, M., Başpınar, N., Tiftik, A.M. (2010). Biyokimya. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.
- Kandel, E.R., Schwartz, J.H. and Jessell, M.T. (2000). Principles of neuronal science. McGraw Hill, New York, USA.
- Karabağ, K., Dinç, H. ve Selçuk, M. (2010). Arı Sütünün İnsan Sağlığı İçin Önemi. *Ulusal Meslek Yüksekokulları Öğrenci Sempozyumu*.
- Karabulut, A.B. (2001). Hepatit B'li hastalarda eritrosit ve lenfosit antioksidan, nitrik oksit düzeyleri ve plazma stokinleri. Doktora tezi, İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Malatya.
- Karacaoğlu, M., Kösoğlu, M. and Koç, U.A. (2004). Farklı Yöntemlerin Ege Ekotipi

- (A. m. anatolica) ve Kafkas (A. m. aucasica) x Ege Melezi Bal Arılarının Arı Sütü Verimleri Üzerine Etkileri. *ADÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, **1(1)**: 29-33.
- Kaynar, L. (2010). Sıçanlarda Metotreksatın Yol Açtığı Mukozit Tablosu ve Oksidatif Stres Üzerine Arı Sütünün Etkisi. Uzmanlık Tezi, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kayseri.
- Kelle, İ. (2007). Apiterapi. *Dicle Tıp Dergisi*, **34**: 311-315.
- Keskin, İ. F. (2008). Türkiye’de Çiğ Sütlerde Bazı Organik Fosforlu İnsektisit Kalıntılarının İncelenmesi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Kızıllı, M. (2007). Benzo(a)piren Verilen Ratlarda E Vitamini ve Selenyumun Kan ve Dokularda Lipit Peroksidasyonu ve Bazı Antioksidan Enzimler Üzerine Etkileri. Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- Koçak Memmi, B. (2009). Türkiye’deki Bazı Drosophila Melanogaster Doğal Populasyonlarının Malatyona Karşı Direnç Düzeylerinin, Esteraz Enzim Aktivitelerinin ve Allozimlerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
- Korkmaz, A. and Öztürk, C. (2010). Arı Sütü. *T.C. Samsun Valiliği İl Tarım Müdürlüğü*.
- Kutluca, S., Genç, F. ve Korkmaz, A. (2008). Propolis. *T.C. Samsun Valiliği İl Tarım Müdürlüğü*.
- Macintyre, G., Klaus, S., Gutfreund, WR. (2004). Value Of An Enzymatic Assay For The Determination Of Serum Ceruloplasmin. *J Lab Clin Med*, **6**:294- 301.
- Manahan, S.E. (2003). Toxicological Chemistry and Biochemistry, 3rd Edition, Lewis Publishers, USA.
- Mandal, D. M. and Mandal, S. (2011). Honey: its medicinal property and antibacterial activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, **154-160**
- Maroni, M., Colosio, C., Ferioli, A., Fait, A. (2000). Organophosphorous pesticides, *Toxicology*, **143**: 9-37.

- Miranda, K.M., Espey, M.G. and Wink, A.D. (2001). A Rapid, Simple Spectrophotometric Method for Simultaneous Detection of Nitrate and Nitrite. *Nitric Oxide*, **5(1)**: 62-71
- Mutlu, N. (2009). Farede (*Mus musculus*) Kurşun Toksisitesine Karşı Kafeik Asit Fenetil Esterin (CAPE) Koruyucu Etkisinin Histopatolojik Olarak Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars.
- Nelson D.L. and Cox M.M., (2005). Lehninger Biyokimyanın İlkeleri. Palme Yayıncılık, Ankara.
- Oğuzhanoglu, E. (2009). Ratlarda Diazinon Zehirlenmesinin Oluşturduğu Pankreatitte Kafeik Asit Fenetil Esterin Olası Etkileri. Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Isparta.
- Ören, P. (2009). Malatyon'un *Oreochromis niloticus*'ta Oksidatif Stres Kaynaklı Endokrin Bozucu Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Özbalcı, D. (2007). Sıçanlarda Etanol ile Uyarılan Gastritin Önlenmesinde Kafeik Asit Fenetil Esterin Etkinliğinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Isparta.
- Özcan, A. (2009). Sıçanlarda Kronik Egzersiz Sonrası Leptin, Ghrelin, Resistin Düzeyleri ve Bu Düzeylere Fluvastatin ve Kafeik Asit Fenetil Esterin (CAPE) Etkisi. Uzmanlık Tezi, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Konya.
- Özden, S. (2006). Bazı Pestisidlerin Oksidatif Stres Oluşturma Potansiyellerinin ve Antioksidan Sistemler Üzerine Etkilerinin Sıçanlarda Araştırılması. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Özden, A. (2008). Ratlarda Deneysel Olarak Oluşturulan İyonik Kontrast Madde Kaynaklı Böbrek Hasarında Oksidatif Stresin Fonksiyonu ve Olası Oksidatif Stres Üzerine Kafeik Asit Fenetil Esterin Etkisinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Isparta.
- Özgüner, G. (2007). Gebelik Esnasında Methidathion'a (MD) Maruz Kalan Gebe Ratların Yenidoğan Yavrularının Akciğer Dokusunda Oluşan Hasar ve Bu Hasara

Kafeik Asit Fenil Ester (CAPE)'in Etkisinin Histopatolojik Olarak Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Isparta.

Özsoy, F. (2010). Dichlorvos, Malatyon ve Cypermethrinin Karaciğer Dokusunda LC-MS-MS ile Tayini. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü, İstanbul.

Öztürk, D. (2009). Cyprinus carpio'da Malatyon Etkisinde Lipit Peroksidasyonu ve Serum Steroid Hormon Düzeylerindeki Değişimler. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.

Paglia, D.E. and Valentine, W.N. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* **70**: 158-169.

Pavel, C. I., Mărghitaş, L. A., Bobiş, O., Dezmirean, D. S., Şapcaliu, A., Radoi, I. and Mădaş, M. N. (2011). Biological Activities of Royal Jelly. *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies*, **44 (2)**: 108-118.

Ramírez, B. O., Lazarini, L. A., Neyoy, S. M., García, H. S., Fazenda, F. S., Popoca, E., Robledo, J., Román, R., Vázquez, P., Santoyo, A. and Treviño S. (2008). Evidence that the Anticarcinogenic Effect of Caffeic Acid Phenethyl Ester in the Resistant Hepatocyte Model Involves Modifications of Cytochrome P450. *Toxicological Sciences*, **104(1)**: 100–106.

Sabatini, A.G., Marcazzan, G.L., Caboni, M.F., Bogdanov, S. and Muradian, L.B.A. (2009). Quality and standardisation of Royal Jelly. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, **1(1)**: 1-6.

Schmidt, J.O. (1997). Bee Product: Properties, Applications and Apitherapy. *International Conference*, **P:15**.

Seven, İ., Aksu, T. and Tatlı S.P. (2007). Propolis ve Hayvan Beslemede Kullanımı. *YYÜ VET. FAK. DERG.*, **18(2)**:79-84.

Son, S., Lobkowsk, EB. and Lewis, BA. (2001). Caffeic acid phenethyl ester (CAPE): synthesis and X- ray crystallographic analysis. *Chem Pharm Bull*, **49(2)**: 236-238.

- Sönmez, B. (2004). Balın İnsan Sağlığındaki Yeri ve Önemi. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 127-130.
- Sunucu Karafakıoğlu, Y. (2007). Nonilfenol Toksikasyonuna Maruz Bırakılan Ratlarda Taurinin Malondialdehit, Glutasyon, Süperoksit Dismutaz ve Nitrik Oksit Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.
- Suver, M. (2008). Arıcılık ve Organik Bal Üretimi. Marmara Grubu Stratejik ve Sosyal Araştırmalar Vakfı, İstanbul.
- Şahinler, N. (2000). Arı Ürünleri ve İnsan Sağlığı Açısından Önemi. *MKÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 5 (1-2): 139-148.
- Şerefioğlu, H. (2009). Arı Sütü Üretimi ve Önemi. *Arıcılık Araştırma Dergisi*, 16-19.
- Tandon, V., Gupta M.B. and Tandon, R. (2005). Free Radicals/Reactive Oxygen Species. *JK-PRACTITIONER*, 12(3):143-148.
- Turna, G. (2008). Ehrlich Asit Solid Tümör Modeli Oluşturulmuş Farelerde Thymus Sipyleus ve Taurinin Karaciğer MDA, Glutasyon, AOPP Düzeylerine ve SOD Aktivitesine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Tür, L. (2008). Karbon tetraklorür ile Karaciğer Hasarı Oluşturulan Ratlarda *Matricaria Chamomilla L.*'nin Karaciğer Üzerine Koruyucu Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyon.
- Ulusoy, E. (2012). Bal ve Apiterapi. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 12: 89-97.
- Uysal, E. (2009). Ratlarda Siklofosamid ile İndüklene Hemorajik Sistitte Kafeik Asit Fenetil Ester'in Koruyucu Etkilerinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Isparta.
- Uzar, E. (2006). Metotreksat Uygulanan Ratlarda Siyatik Sinir ve Medulla Spinalisinde Oksidan / Antioksidanların Durumu: Kafeik Asit Fenetil Ester'in Antioksidan Koruyucu Etkisi. Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Isparta.
- Uzun, F. G. (2007). Malatyon'un Ratlarda Nefrotoksik Etkisi ve Vitamin C ve E'nin

Koruyucu Rolü. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Üzümlüoğlu Coşkun, M. (2008). Şizofreni Etyopatogenezinde Oksidatif Stresin Rolü. Uzmanlık Tezi, Bakırköy Prof. Dr. Mazhar Osman Ruh Sağlığı ve Sinir Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul.

Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C.J. and Telser, J. (2004). "Role of oxygen radical in DNA damage and cancer incidence", *Molecular and Cellular Biochemistry*. **266**: 37-56.

Yao Tsao, T.C., Chang Juang, Y., Shee Lan, R., Bin Shieh, W. and Huei Lee, C. (1990). Respiratory Failure of Acute Organophosphate and Carbamate Poisoning. *56th Annual Scientific Assembly Toronto, Ontario, Canada*, 631-636.

Yoshoiko, T., Kawada, K., Shimada, T. (1979). Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **135**: 372-376

Yılmaz, E. (2007). Etil Alkol ile Oluşturulan Akut Mide Mukoza Hasarı Üzerine *Matricaria Chamomilla L.*'nin Anti-ülser ve Antioksidatif Etkilerinin Rat Modelinde Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.

Yılmaz, G. (2006). Koroner Arter Hastalarında Ox-LDL, TOTAL Antioksidan Aktivite, Nitrik Oksit ve eNOS Gen Polimorfizminin Araştırılması. Uzmanlık Tezi, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Konya.

Yılmaz, M. (2010). Bazı Pestisitlerin Sıçan Dokularındaki Asetilkolinesteraz ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri ile Malondialdehit Düzeyine Etkileri. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.

Yılmaz, S. ve Bahçecioğlu, H. İ. (2000). Karbontetraklorür ile Siroz Oluşturulmuş Ratlarda Lipid Peroksidasyonu, Antioksidant Enzim ve Pirüvat Kinaz Aktiviteleri. *Turk J Vet Anim Sci*, **24**: 25-28.

Yüksek, E. (2006). 2-aminoimidazolin'in Ratların (Wistar) Bazı Kan Parametrelerine (A, E, C Vitaminleri ve MDA) Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.

6.1 İnternet Kaynakları

- 1.** <http://www.apider.org/index.html> (23.01.2013)
- 2.** <http://www.etabal.com.tr/apiterapi> (23.01.2013)
- 3.** <http://www.fao.org/docrep/w0076e/w0076e16.htm> (16.02.2013)
- 4.** http://allnutritionals.com/bee_products/bee_products-01.php (17.02.2013)
- 5.** <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01.pdf> (02.03.2013)

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Yasemin ALPER
Doğum Yeri ve Tarihi : Eskişehir 27.11.1989
Yabancı Dili : İngilizce
İletişim (Telefon/e-posta) :05056548081 / ysmnalper@hotmail.com

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl) :
Lise : Eskişehir Atatürk Lisesi (2003-2006)
Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi (2007-2011)

Yayınları (SCI ve diğer) :

Laçine Aksoy, Hakan Tütüncü, Yasemin Alper, Ahmet Büyükben (2012). Bioelement status with oral administration of fish oil methyl ester and diesel fuel in male rats, *Biological Trace Element Research*, 149 (1), 78-85.

EKLER