

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KLORPRİFOS UYGULANAN DİYABETLİ RATLARDA
LİKOPENİN ANTİOKSİDAN VE HİPOGLİSEMİK
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Ruhi TÜRKMEN

**FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Doç. Dr. Mehmet ÖZDEMİR

Bu Tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından 10.VF.17 proje numarası ile desteklenmiştir.

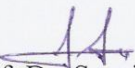
Tez No: 2013-004

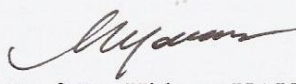
2013–AFYONKARAHİSAR

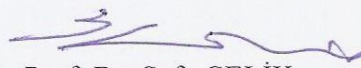
KABUL ve ONAY

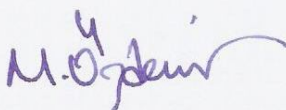
Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Doktora Programı
 çerçevesinde yürütülmüş bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.


Tez Savunma Tarihi: 01/02/2013


 Prof. Dr. Sezai KAYA
 Ankara Üniversitesi
 Jüri Başkanı

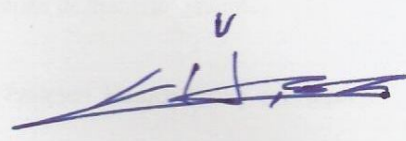

 Prof. Dr. Hidayet YAVUZ
 Afyon Kocatepe Üniversitesi
 Üye


 Prof. Dr. Sefa ÇELİK
 Afyon Kocatepe Üniversitesi
 Üye


 Doç. Dr. Mehmet ÖZDEMİR
 Afyon Kocatepe Üniversitesi
 Üye


 Doç. Dr. Yavuz Osman BİRDANE
 Afyon Kocatepe Üniversitesi
 Üye

Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Doktora Programı öğrencisi Ruhi TÜRKMEN'in "Klorprifos Uygulanan Diyabetli Ratlarda Likopenin Antioksidan ve Hipoglisemik Etkilerinin Araştırılması" başlıklı tezi 15/02/2013 günü saat 11.00'da Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.


 Prof. Dr. Kağan ÜÇOK
 Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Hayvancılık, tarım ve halk sağlığı gibi birçok alanda haşerelere ve portörlere karşı mücadele etmek amacıyla kullanılan başlıca araç olan pestisidler, çeşitli nedenlerle kalıntı şeklinde çevrede kalmaktadır. Organik fosforlu insektisidler sınıfından bir pestisid olan klorprifos etil, yaygın kullanım alanına sahip olmasından dolayı insanların ve hayvanların bu pestiside direkt veya dolaylı yoldan maruz kalması kaçınılmazdır. Klorprifos etil'in diğer organik fosforlu bileşikler gibi başlıca asetilkolin esteraz etkinliğini engelleme, hücre içi oksidatif strese sebep olma, yan etki olarak da hiperglisemiye yol açma gibi birçok etkisi olduğu bilinmektedir. Ancak diyabetli canlıların Klorprifos etil'e maruz kalması sonucunda vücutta oluşabilecek muhtemel oksidatif stres ve hiperglisemi durumu üzerine antioksidan bir madde olan likopenin koruyucu bir etkisinin olup olmadığı konusunda bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Diyabetin tedavisinde kullanılan sentetik antidiyabetik ilaçlar, karaciğer ve böbrekte bozukluklar ile hipoglisemik komayı içeren ciddi yan etkiler meydana getirebilir. Bu yüzden daha etkili ve güvenli antidiyabetik ilaçların araştırılması, günümüzde de araştırmaların önemli bir alanını oluşturur. Diyabetin tedavisinde bitkisel ilaçların kullanılmalarının yararı üzerine Dünya Sağlık Örgütü'nün tavsiyelerini takiben, bitkisel antidiyabetik ilaçların araştırılması daha önemli hale gelmiştir. Likopenin güçlü antioksidan etkisinin yanı sıra hipoglisemik etkilerinin de olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur. Bu nedenle, yapılan çalışma ile likopenin klorprifos etil'e maruz kalmış diyabetli canlılardaki oksidan-antioksidan denge ve hiperglisemi durumu üzerine muhtemel etkileri belirlenerek, diyabetli canlılara uygulanabilecek tedavi seçeneklerine yardımcı bir alternatif olabileceği düşünülmüştür.

Öncelikle doktora tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım sabrını ve zamanını benden esirgemeyen çok değerli danışman hocam ve Anabilim Dalı Başkanı Doç.Dr. Mehmet ÖZDEMİR'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Doktora ders aşamasında bilgi birikimlerini bana aktaran, tez çalışmalarım esnasında desteklerini gördüğüm Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalımızın saygıdeğer hocası ve aynı zamanda Doktora Tez İzleme Komitesi üyesi de olan Prof.Dr. Hidayet YAVUZ'a, ailemin birer fertleri gibi gördüğüm, doktora dönemimin her aşamasında yardımlarını benden esirgemeyen Anabilim Dalımızın değerli hocaları Doç.Dr. Yavuz Osman BİRDANE ve Yrd.Doç.Dr. Sinan İNCE'ye teşekkürü bir borç bilirim.

Doktora Tez İzleme Komitesi üyesi olan, doktora tez çalışmalarım esnasında değerli vakitlerini bana ayırıp yardımcı olan AKÜ Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi değerli hocam Prof.Dr. Sefa ÇELİK'e çok teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında her aşamada yardımlarını gördüğüm değerli arkadaşlarımlarım Arş.Grv.Dr. Hasan Hüseyin DEMİREL ve Veteriner Hekim Güliz ÇELİK'e, deneysel uygulamalar ve laboratuvar çalışmaları süresince büyük yardımları olan arkadaşlarımlarım Veteriner Hekim Mikail GÖKDEMİR ve Ömer Hattab KARATAŞ'a, laboratuvar imkanlarını kullanmama izin veren AKÜ Veteriner Biyokimya ve Veteriner Mikrobiyoloji öğretim üyelerine, her zaman desteklerini yanımda hissettiğim çalışma arkadaşlarıma en içten teşekkürlerimi sunarım.

Doktora tez çalışmamı destekleyen AKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna çok teşekkür ederim.

Benim bugünlere gelmemde büyük emekleri olan, maddi ve manevi anlamda en büyük destekçilerim sevgili aileme sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Kabul ve Onay	ii
Önsöz	iii
İçindekiler	iv
Simgeler ve Kısaltmalar	vi
Şekiller	viii
Tablolar	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. Diabetes Mellitus	3
1.1.1. İnsülin	4
1.1.2. Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres	6
1.1.3. Diyabetik Komplikasyonlar ve Patogenezi	7
1.1.3.1. Glikozun Otooksidasyonu ve Süperoksit Üretimi	9
1.1.3.2. Poliöl Yolunun Aktivasyonu	9
1.1.3.3. Protein Kinaz C Aktivasyonu	11
1.1.3.4. Heksozamin Yolunun Aktivasyonu	11
1.1.3.5. Proteinlerin Glikasyonu ve İlerlemiş Glikasyon Son Ürünleri (AGE) Oluşumu	12
1.2. Pestisidler	13
1.2.1. İnsektisidler	14
1.2.1.1. Organik Fosforlu (OF) İnsektisidler	14
1.3. Klorprifos Etil	17
1.3.1. Klorprifos Etil ve Oksidatif Stres	18
1.3.2. Klorprifos Etil ve Glikoz Homeostazisi	20
1.4. Serbest Oksijen Radikalleri ve Antioksidan Sistemler	21
1.4.1. Enzimatik Antioksidanlar	23
1.4.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	23
1.4.1.2. Katalaz (CAT)	24
1.4.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx)	25
1.4.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	26
1.4.2.1. Karotenoidler	26
1.5. Likopen ve Özellikleri	28
1.5.1. Likopenin Antioksidan Etkileri	30
1.5.2. Likopenin Hipoglisemik Etkileri	31
1.5.3. Likopenin Diğer Etkileri	31
2. GEREÇ VE YÖNTEM	33
2.1. Gereç	33
2.1.1. Deney Hayvanı	33
2.1.2. Analizlerde Kullanılan Cihaz ve Malzemeler	34
2.1.3. Analizlerde Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Kitler	34

2.1.4. Analizlerde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	35
2.1.4.1. Sitrat Tamponun Hazırlanması	35
2.1.4.2. Streptozotosin Hazırlanması	35
2.1.4.3. Lipid Peroksidasyonu Tayininde Kullanılan Çözeltiler	36
2.1.4.4. İndirgenmiş Glutasyon Tayininde Kullanılan Çözeltiler	36
2.2. Yöntem	37
2.2.1. Rat Yeminin Organik Fosforlu İnsektisid Yönünden Analizi	37
2.2.2. Tip 1 Diabetes Mellitus Modelinin Oluşturulması	37
2.2.3. Ön Çalışma: Çalışmada Kullanılacak Klorprifos Etil ve Likopen Dozunun Belirlenmesi	37
2.2.4. Deneysel Gruplar ve Çalışma Protokolü	38
2.2.5. Canlı Ağırlık ve Açlık Kan Şekeri Ölçümleri	39
2.2.6. Çalışmanın Sonlandırılması	39
2.2.7. Malondialdehid Düzeyi Ölçümü	40
2.2.8. İndirgenmiş Glutasyon Düzeyi Ölçümü	41
2.2.9. Süperoksid Dismutaz Aktivite Tayini	42
2.2.10. Katalaz Aktivite Tayini	43
2.2.11. Glutasyon Peroksidaz Aktivite Tayini	44
2.2.12. Total Antioksidan Kapasite Tayini	45
2.2.13. Nitrik Oksit Düzeyi Tayini	46
2.2.14. İnsülin ve Glikoz Düzeyleri Tayini	48
2.2.15. TNF- α Düzeyi Tayini	49
2.2.16. Asetilkolin Esteraz Düzeyi Tayini	50
2.2.17. AST ve ALT Düzeyleri Tayini	51
2.3. İstatistik Analiz	51
3. BULGULAR	52
3.1. Rat Yeminin Organik Fosforlu İnsektisid Yönünden Analizi	52
3.2. Canlı Ağırlık Düzeyleri	52
3.3. Açlık Kan Şekeri Düzeyleri	54
3.4. MDA Düzeyleri	56
3.5. GSH Düzeyleri	58
3.6. SOD Aktivite Düzeyleri	60
3.7. CAT Aktivite Düzeyleri	62
3.8. GPx Aktivite Düzeyleri	64
3.9. TAK Düzeyleri	66
3.10. NO Düzeyleri	68
3.11. İnsülin ve Glikoz Düzeyleri	70
3.12. TNF- α Düzeyleri	72
3.13. AKE Düzeyleri	74
3.14. AST ve ALT Düzeyleri	76
4. TARTIŞMA	78
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	94
ÖZET	98
SUMMARY	100
KAYNAKLAR	102
ÖZGEÇMİŞ	122

SİMGELER ve KISALTMALAR

AGE	İlerlemiş glikasyon son ürünleri
AKŞ	Açlık kan şekeri
Ak	Asetilkolin
AkE	Asetilkolinesteraz
ALT	Alanin transaminaz
AST	Aspartat aminotransferaz
ATP	Adenozin trifosfat
β	Beta
CAT	Katalaz
DAG	Diaçilgliserol
DEF	Dietil fosfat
DETF	Dietil tiyofosfat
dL	desilitre
DM	Diabetes mellitus
DSÖ	Dünya sağlık örgütü
EDTA	Etilen diamin tetraasetik asit
g	gram
G6PD	Glikoz-6-fosfat dehidrojenaz
GFAT	Glutamin fruktoz-6-fosfat amidotransferaz
GLUT-II	Glikoz taşıyıcısı-II
GPx	Glutatyon peroksidaz
GSH	Glutatyon
GSH-Rx	Glutatyon redüktaz
HCl	Hidroklorür
KAR	Karotenoid
Kcal	Kilokalori
Kg	Kilogram
L	Litre

LPO	Lipid peroksidasyon
mg	miligram
mL	mililitre
mM	milimol
M	mol
MSS	Merkezi sinir sistemi
NADPH	İndirgenmiş nikotinamid adenin dinüklotid fosfat
NADP ⁺	Yükseltgenmiş nikotinamid adenin dinüklotid fosfat
NFkB	Nükleer faktör kappa-B
nm	Nanometre
OF	Organik fosforlu
ÖD ₅₀	Öldürücü doz 50
PAI-1	Plazminojen aktivatör inhibitör-1
PKC	Protein kinaz C
RAGE	İlerlemiş glikasyon son ürünleri reseptörü
RNT	Reaktif nitrojen türleri
ROT	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksid dismutaz
SOR	Serbest oksijen radikalleri
STZ	Streptozotosin
TAK	Total antioksidan kapasite
TBA	Tiyobarbitürik asit
TCA	Tiyokloroasetik asit
TEPP	Tetraetil pirofosfat
TCP	3,5,6-trikloro-2-piridinol
TNF- α	Tümör nekrozis faktör-alfa
USEPA	Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı

ŞEKİLLER

	Sayfa
Şekil 1.1. Glikoz ile uyarılmış insülinin salgılanma mekanizması	6
Şekil 1.2. Poliöl ve diaçilgliserol yollarının birbirleriyle ilişkisi	10
Şekil 1.3. İlerlemiş glikasyon son ürünleri oluşumu	12
Şekil 1.4. Organik fosforlu insektisidlerin genel formülleri	15
Şekil 1.5. Klorprifos etil'in kimyasal yapısı	17
Şekil 1.6. Klorprifos etil'in metabolizması	18
Şekil 1.7. Serbest radikal	21
Şekil 1.8. Oksijenin suya dönüşümü	24
Şekil 1.9. Katalazın aktivite mekanizmaları	25
Şekil 1.10. Glutasyon redoks sistemi	25
Şekil 1.11. Besinlerde bulunan bazı karotenoidler	27
Şekil 1.12. Likopenin yapısı	29
Şekil 2.1. Malondialdehidin tiyobarbitürik asit ile reaksiyonu ve oluşan renkli MDA-TBA kompleksinin yapısı	40
Şekil 2.2. SOD standart ölçü eğrisi	42
Şekil 2.3. CAT standart ölçü eğrisi	43
Şekil 2.4. Sığır eritrosit GPx ölçü eğrisi	45
Şekil 2.5. Troloks standart ölçü eğrisi	46
Şekil 2.6. Griess reaksiyonu	47
Şekil 2.7. Nitrat standart ölçü eğrisi	47
Şekil 2.8. İnsülin standart ölçü eğrisi	48
Şekil 2.9. TNF- α standart ölçü eğrisi	50
Şekil 2.10. AkE standart ölçü eğrisi	51
Şekil 3.1. Haftalara göre canlı ağırlık değişimleri	53
Şekil 3.2. Haftalara göre açlık kan şekeri değişimleri	55
Şekil 3.3. MDA düzeyleri	56
Şekil 3.4. GSH düzeyleri	58
Şekil 3.5. SOD aktivite düzeyleri	60
Şekil 3.6. CAT aktivite düzeyleri	62
Şekil 3.7. GPx aktivite düzeyleri	64
Şekil 3.8. TAK aktivite düzeyleri	66
Şekil 3.9. NO düzeyleri	68
Şekil 3.10. İnsülin düzeyleri	70
Şekil 3.11. Glikoz düzeyleri	70
Şekil 3.12. TNF- α düzeyleri	72
Şekil 3.13. AkE düzeyleri	74
Şekil 3.14. AST düzeyleri	76
Şekil 3.15. ALT düzeyleri	76

TABLOLAR

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1.1. Diabetes mellitusun başlıca komplikasyonları	8
Tablo 1.2. Organik fosforlu insektisid zehirlenmelerini takiben oluşan hiperglisemi için önerilen mekanizmalar	20
Tablo 1.3. Biyolojik sistemlerdeki antioksidanların sınıflandırılması	23
Tablo 2.1. Tam kanda GSH analizinin yapılışı	41
Tablo 3.1. Haftalara göre canlı ağırlık değişimleri	53
Tablo 3.2. Haftalara göre açlık kan şekeri değişimleri	55
Tablo 3.3. MDA düzeyleri	56
Tablo 3.4. GSH düzeyleri	58
Tablo 3.5. SOD aktivite düzeyleri	60
Tablo 3.6. CAT aktivite düzeyleri	62
Tablo 3.7. GPx aktivite düzeyleri	64
Tablo 3.8. TAK düzeyleri	66
Tablo 3.9. NO düzeyleri	68
Tablo 3.10. İnsülin ve glikoz düzeyleri	70
Tablo 3.11. TNF- α düzeyleri	72
Tablo 3.12. AkE düzeyleri	74
Tablo 3.13. AST ve ALT düzeyleri	76

1. GİRİŞ

Serbest radikaller; negatif yüklü elektron sayısının çekirdekdeki pozitif yüklü proton sayısı ile eşit olmadığı moleküllerdir. Eksik elektronlu olan bu moleküller, bulabilecekleri herhangi bir molekül ile etkileşime girer ve bu molekülden ya bir elektron alır veya ona bir elektron verirler. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine girip onların yapısını bozan bu moleküllere “serbest radikaller”, “oksidan moleküller” veya en doğru adlandırma ile “reaktif oksijen türleri (ROT)” ya da “serbest oksijen radikalleri (SOR)” denilmektedir (Fang ve ark., 2002). Sağlıklı bir organizmada oksidan düzeyi ve antioksidanların bunları etkisizleştirme gücü bir denge içindedir. Oksidanlar belirli bir düzeyin üzerine çıkar veya antioksidanlar yetersiz olup denge bozulursa söz konusu oksidan moleküller organizmanın yapı elemanları olan protein, lipid, karbonhidrat, nükleik asitler ve yararlı enzimleri bozarak zararlı etkilere yol açarlar. Bu zararlı etkilerin bütünü “oksidatif stres” olarak adlandırılır (Valko ve ark., 2007).

Diabetes mellitus (DM); insülinin salgılanması ya da insülinin etkisindeki tam veya kısmi yetersizlikle ilişkili olarak ortaya çıkan kronik hiperglisemi; karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki bozukluklarla karakterize çeşitli komplikasyonları içeren bir sendromdur (Abou-Seif ve Youssef, 2004). İnsülinin tedaviye girmesinden bu yana yaklaşık 90 yıl geçmesine rağmen halen DM insan ve hayvan sağlığını tehdit etmeye devam etmektedir. Mağduriyetlerin ve ölümlerin çoğu, serbest radikallerin sebep olduğu diyabetin kronik komplikasyonları olarak adlandırılan retinopati, nefropati, nöropati ve çeşitli damar hastalıklarından ileri gelmektedir (Türkmen ve ark., 1990).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, SOR'nin fazla miktarda oluşumu ve lipid peroksidasyon (LPO)'unun, DM gibi birçok hastalığın patogenezinde rol aldığını göstermektedir (Yardım-Akaydın ve ark., 2006). Oksidatif stresin, SOR'nin fazla miktarda oluşumu ve zayıflayan antioksidan savunmalardan dolayı DM'un gelişimi ve ilerleyişi ile DM'un komplikasyonlarında anahtar bir rol oynadığı birçok kişi

tarafından kabul edilir (Ceriello, 2003). Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidan enzimlerin pankreas adacık hücrelerinde; karaciğer, böbrek, iskelet kası, adipoz doku gibi diğer dokularla kıyaslandığında en düşük düzeyde olduğu bilinmektedir (Tiedge ve ark., 1997). Oksidatif strese en duyarlı yapılardan biri olduğu da bilinen pankreastaki β hücrelerinde gözlenen hasarın, hipergliseminin toksik etkilerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Robertson ve ark., 2004).

Pestisidler; insan ve hayvan vücudu ile bitki ve cansız cisimlerin üzerinde ya da çevresinde bulunan veya yaşayan ve ayrıca besin maddelerinin üretimi, hazırlanması, depolanması ve tüketimi sırasında onların besin değerini azaltan veya hasara uğratan zararlıları (böcek, kemirici, yabancı ot, mantar, toprak kurdu vb.) öldürmek için kullanılan maddelerdir. Pestisidlerin çoğunluğu esas hedefleri olan haşerelere karşı seçkin etkinlik göstermediklerinden hedef olmayan insan ve hayvanlarda da zehirleyici olabilirler (Kaya, 2002).

Organik fosforlu (OF) insektisidler, bugün dünyada en çok kullanılan insektisidlerden birisidir. OF'lara maruziyet her yıl önemli sayıda ölümlere ve zehirlenmelere neden olur (Shadnia ve ark., 2005). OF'lar asetilkolin esterazı (Ake) inhibe ederek memelilerde çok fazla toksisite meydana getirir ve sinaptik kavşaklarda nörotransmitter asetilkolinin (Ak) birikimi sonucu kolinerjik toksisiteye yol açan postsinaptik hücrelerin aşırı uyarımına neden olur (Ecobichon, 2001). Bunun dışında insan ve hayvanlarda toksisiteye yol açan bir diğer mekanizma oksidatif strestir (Abdollahi ve ark., 2004a). Ake inhibisyonu ve kolinerjik etkilerden başka hem insanlarda hem de hayvanlarda OF insektisidler tarafından meydana gelen zehirlenmelerin yan etkilerinden birisi de hiperglisemidir (Seifert, 2001).

Klorprifos etil, OF insektisidlerin fosforotioat sınıfına aittir. Bu bileşik halk sağlığı ve çeşitli tarımsal alanlarda geniş olarak kullanılmaktadır (Richardson ve ark., 1993). Klorprifos etil, Ake inhibisyonu ile memeli hayvanlara ait zehirlenmeden sorumludur. Ratlarda klorprifos etil'e bütün vücudun kısa süreli maruziyetinin karaciğer, böbrek ve dalağı da içine alan farklı dokularda Ake aktivitesinin önemli

oranda inhibisyonuna neden olduğu gösterilmiştir. Bebe ve Panemangalore (2003) yaptıkları çalışmada, klorprifos etil uygulamalarının karaciğer, böbrek ve dalakta GPx, CAT ve SOD gibi süperoksit (O_2^-) radikalini temizleyen enzim düzeylerinde azalmayla birlikte bu olaylara eşlik eden tiyobarbitürik asid (TBA) düzeylerinde yükselmeye yol açmasını vücutta oksidatif stresin artışına bağlı olabileceğini belirtmişlerdir. Mevcut bilgilerde insektisidlerin antioksidan savunma mekanizmaları ile ilişkili enzim aktivitelerini değiştirdiğine dikkat çekilmiştir (Akhgari ve ark., 2003).

Canlı vücudu, serbest radikaller ile oluşturulan hasara karşı koymak için birkaç mekanizmaya sahiptir. Bu mekanizmalar enzimatik ve enzimatik olmayan savunma sistemi olarak iki ana başlık altında sınıflandırılabilir. Bunlardan birincisi canlı vücudunun temel ve en başta gelen savunma mekanizması olan hücre içi antioksidan enzimlerdir. Antioksidan maddeler elektron verip serbest radikalleri etkisizleştirerek kararlı yapıya sahip olur (Halliwell ve Gutteridge, 1990). ROT'ni nötralize etmede hücre içi antioksidan enzimler, ilk savunma hattı olarak fonksiyon gösterirler. Vitamin E, vitamin C, β -karoten gibi antioksidan vitaminler de ikinci savunma sistemini oluşturur ve vücudu oksidasyona karşı korur. Bu ilk savunma sistemi bütün serbest radikalleri kontrol altında tutmaya çalışır; fakat oksidatif stres bu savunma sisteminin kapasitesini aşacak olursa ikinci savunma sistemi (vitaminler) devreye girebilir (Sies ve Stan, 1998).

1.1. Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus (DM); yaşam boyu süren, sürekli izlem ve sağaltım gerektiren, akut ve kronik komplikasyonları nedeniyle hastanın yaşam kalitesini oldukça azaltan, hastalık ve ölüm oranı ile topluma ekonomik yükü yüksek, kronik metabolik bir hastalıktır (Türkmen ve Özdemir, 2011).

Diabetes mellitus tüm dünyada 290 milyondan fazla insanı etkilemektedir ve bu sayının 2030 yılında 366 milyona yükseleceği öngörülmektedir. Türkiye'de ise 6

milyondan fazla DM hastası bulunduğu tahmin edilmektedir. Ülkemizde DM'un boyutları gittikçe büyümekte ve tüm dünyada DM hızla artış göstermektedir. Bunun en önemli nedenleri hareketsiz yaşam, otomobil, televizyon ve bilgisayar başında geçirilen saatler, egzersizin azalması, stres ve beslenme tarzındaki olumsuzluklardır (Yılmaz, 2010).

Diabetes mellitus insanların yanı sıra hayvanları da etkileyen endokrin bir hastalıktır. Kedi ve köpeklerde daha sık, sığır, at, koyun ve domuzlarda da nadiren görülür (Çelik ve Bal, 2002). DM, 5-12 yaş arasındaki köpeklerde görülür (Marmor ve ark., 1982); yavru köpeklerde nadiren görülmektedir (Catchpole ve ark., 2005). Kedilerde ise 6 yaş ve üzeri yaşlarda özellikle de 9-13 yaşları arasında DM'un görülme sıklığı fazladır (Baral ve ark., 2003).

Nedenlerine göre birçok DM tipi olmakla birlikte DM başlıca Tip 1 ve Tip 2 DM olmak üzere iki kategoride incelenmektedir. Tip 1 DM, insülin üreten pankreastaki β hücrelerinin otoimmün veya otoimmün dışı mekanizmalarla yıkımlanması sonucu meydana gelirken, Tip 2 DM göreceli insülin yetersizliğine yol açan β hücrelerinin fonksiyon bozukluğu sendromudur. Bu duruma genellikle insülin direnci de eşlik eder (Robertson ve Harmon, 2006) Köpeklerde Tip 1 DM yaygın iken, kedilerde daha çok Tip 2 DM görülür (Rand ve ark., 2004).

Diabetes mellitus'un oluşumundaki temel neden insülin yetersizliği veya insülinin etkili olamamasıdır. Hastalığın ortaya çıkmasını kolaylaştıran diğer etmenler ise kalıtım, şişmanlık, gebelik ve sık doğum, uzun süre ilaç kullanımı (diüretik, kortikosteroid vs.), enfeksiyonlar, psikolojik ya da fiziksel travmalar ve bazı pankreas hastalıklarıdır (pankreatit, pankreas tümörü) (Aydın, 2008).

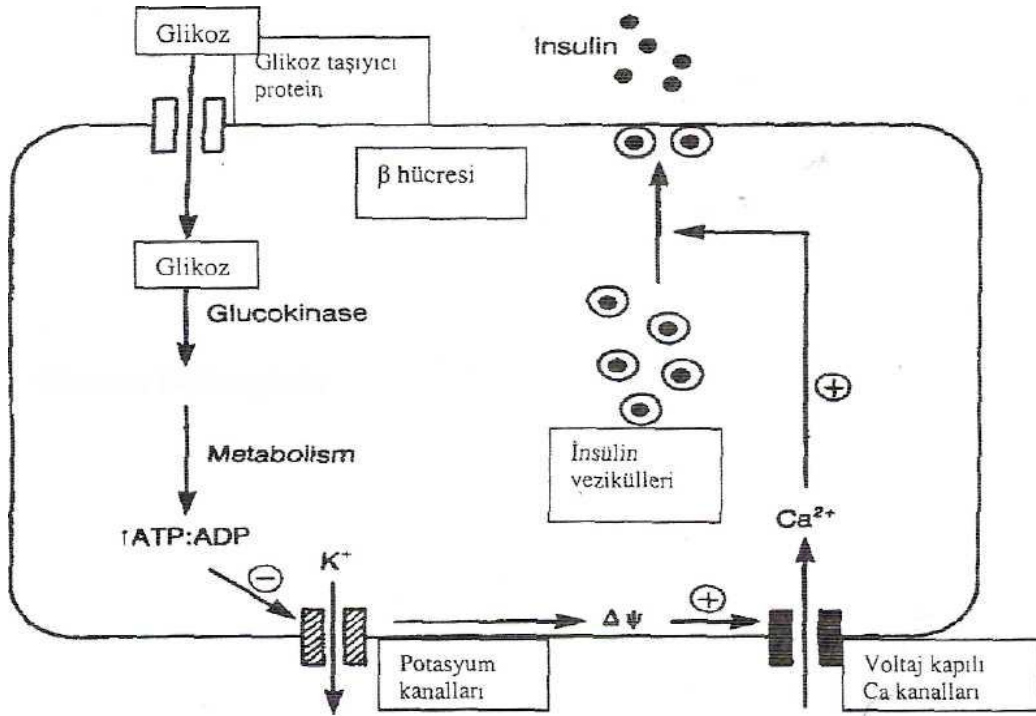
1.1.1. İnsülin

Pankreasın β hücreleri tarafından sentezlenen 6000 molekül ağırlığında polipeptid yapıda bir hormondur. İnsülin, 17 farklı aminoasit içerir ve toplam 51 aminoasitten

oluşur. Pankreastaki β hücrelerinin endoplazmik retikulumunda bulunan ribozomlar tarafından sentezlenir ve golgi cihazının veziküllerinde depolanır. Kan glikoz düzeyinin artması, β hücrelerinin uyarılmasıyla sonuçlanır. Buna bağlı olarak hücrede mRNA'ların sentezi artar ve proinsülin (insülin ön maddesi) sentezlenir. Proinsülin, ribozomlardan golgi aygıtına geçtikten sonra insüline dönüşür ve buradaki veziküllerde depolanır (Akar, 2007).

Pankreasın langerhans adacıklarındaki β hücrelerinin zarında glikoza duyarlı reseptörler bulunur. Yeteri kadar glikozun reseptörleri uyarması ile söz konusu hücrelerden insülin salgılanır. Granül içeren insülinin ekzositozuna neden olan bu durum, bir takım elektriksel olaylar serisi ile düzenlenir (MacDonald ve Wheeler, 2003).

Besin sindirimi sonucu, kanda glikoz düzeyi yükselmeye başlayınca, glikozun β hücresine giriş hızı artar. Glikoz hücre içine glikoz taşıyıcısı II (GLUT II) aracılığıyla kolaylaştırılmış difüzyonla alınır. Hücre içine giren glikoz, glukokinaz ile yıkılır ve glikoz-6-fosfata fosforile edilir (Matschinsky, 1996). Ardından glikozun metabolizması sonucu hücre içinde adenosin trifosfat (ATP) düzeyi yükselir. Bu durum ATP bağımlı potasyum (K^+) kanallarını kapatarak depolarizasyona neden olur (Rorsman, 1997). Depolarizasyon membrandaki voltaj bağımlı kalsiyum (Ca^{2+}) kanallarını açarak, dışarıdan içeriye giren Ca^{2+} aracılığıyla insülin salgılanmasını (ekzositoz) artırır (Lang, 1999). Şekil 1.1'de glikoz ile uyarılmış insülinin salgılanma mekanizması gösterilmiştir (Norman ve Litwack, 1997).



Şekil 1.1. Glikoz ile uyarılmış insülinin salgılanma mekanizması (Norman ve Litwack, 1997)

1.1.2. Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres

Birçok çalışmada DM'un SOR'nin fazla miktarda oluşumu ve zayıflayan antioksidan savunma sistemi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Venkateswaran ve Pari, 2003; Altan ve ark., 2006). Bu gibi hastalık durumlarında, hücrelerde SOR'nin oluşumu ve bunlara karşı oluşan antioksidan savunma sistemi arasındaki denge bozulur. Bu olay proteinler, lipidler ve nükleik asitler gibi hücre bileşenlerinin oksidatif stresine neden olur. Hem Tip 1 hem de Tip 2 DM'da oksidatif stresin fazla miktarda olduğu bir durum söz konusudur (Rahimi ve ark., 2005).

Diabetes mellitus ve komplikasyonlarının ROT ile olan ilişkisini gösteren çalışmalarda, farklı mekanizmalar sonucu oluşan doku hasarının serbest radikal üretimini artırdığı ve antioksidan savunma sistemini değiştirdiği vurgulanmaktadır (Baynes ve Thorpe, 1999). Normal şartlar altında kısa süre içinde oluşan serbest radikaller; SOD, CAT, GPx, GSH-Rx gibi vücudun doğal antioksidan enzimleri tarafından hızlı bir şekilde temizlenir. DM'lu hastaların dokularında ve eritrositlerin

hücre zarlarında, doğal antioksidan enzimlerinin ve hücre içi enzim olmayan doğal antioksidan indirgenmiş glutatyon (GSH) düzeyinin azaldığı belirtilmiştir (Abou-Seif ve Youssef, 2004). Klinik ve deneysel diyabet çalışmalarında LPO son ürünü olan malondialdehid (MDA) düzeyinin arttığı, bunun DM'un damar komplikasyonlarının patogeneğinde önemli olabileceği bulunulmuştur (Velazquez ve ark., 1991; Venkateswaran ve Pari, 2003).

Reaktif nitrojen türlerinin de (RNT) DM'daki nitrozatif stresten sorumlu olduğu belirtilmiştir. RNT'lerinden biri olan nitrik oksit (NO[•]) radikali, süperoksit ile reaksiyona girerek DM gibi birçok hastalık durumları ile ilişkili olan peroksinitritin (ONOO⁻) oluşumuna yol açabilir (Zou ve ark., 2002). Nitrik oksit, damar sisteminin homeostazında görev alan endotelyum kaynaklı güçlü bir vazodilatördür. Yapılan çalışmalarda DM komplikasyonlarında (NO[•]) ve (O₂^{•-}) radikal artışının ilişkili olabileceği gösterilmiştir (Moncado ve ark., 1991).

Hiperglisemi ile oksidatif stres arasında yakın ilişki olduğu görüşü in vivo çalışmalar ile de desteklenmiştir (Ceriello, 1997). Deneysel hayvan çalışmalarında DM oluşturmak için kullanılan alloksan ve streptozotosin (STZ), oksidan maddeler meydana getirerek Langerhans adacıklarını seçici bir şekilde tahrip ederler. Hücre tarafından yeterli miktarda tutulan alloksan, askorbat ve tiyollerle reaksiyona girerek onların antioksidan etkilerini engeller ve oksidanların üretimi ile β hücre hasarına neden olur. STZ'inin etki mekanizması ise daha az anlaşılmıştır. Ancak STZ'inin uygun olmayan NO cevapları meydana getirdiği, NO cevabının neden olduğu adacık hücre yıkımının artmasının DM'u başlattığı düşünülmektedir (Wolff, 1993).

1.1.3. Diyabetik Komplikasyonlar ve Patogenezi

Diyabetik komplikasyonlar akut ve kronik dönemlerde zamana bağlı olarak değişmekte ve ölüme sonuçlanabilecek olgulara neden olabilmektedir. Tablo 1.1'de DM'un yol açtığı komplikasyonlar özetlenmiştir (Karasu ve Arı, 2005).

Tablo 1.1. Diabetes mellitusun başlıca komplikasyonları (Karasu ve Arı, 2005)

Akut Komplikasyonlar	Hiperglisemi ve ketoasidoz <ul style="list-style-type: none"> ▪ dehidratasyon ▪ non-ketotik hiperozmolar koma Hipoglisemi koması Laktik asidoz ve koması
Subakut Komplikasyonlar	Eklem aktivitesinde kısıtlama Osteopeni Katarakt Büyüme Geriliği Dislipidemi
Kronik Komplikasyonlar	Mikrovasküler komplikasyonlar <ul style="list-style-type: none"> ▪ Retinopati ▪ Nöropati ▪ Nefropati Makrovasküler Komplikasyonlar <ul style="list-style-type: none"> ▪ Koroner arter hastalıkları ▪ Serebrovasküler hastalıklar ▪ Periferik vasküler hastalıklar Kardiyomiyopati Eretil Disfonksiyonlar

Diyabetik hastalarda mortalitenin en önemli sebeplerinden biri yaşam kalitesini düşüren kronik komplikasyonlardır. Hiperglisemi ise bu komplikasyonların gelişimi ve ilerlemesinden sorumlu en önemli risk faktörü olarak gösterilmektedir (Evcimen ve King, 2007). Hipergliseminin diyabetik komplikasyonlar üzerine etkisi birkaç ana mekanizmayla irdelenmektedir (Brownlee, 2001).

- Glikozun otooksidasyonu ve süperoksit üretimi
- Polioll yolunun aktivasyonu
- Protein Kinaz C (PKC) aktivasyonu
- Heksozamin yolunun aktivasyonu
- İleri glikasyon son ürün (AGE) oluşumunun artması

1.1.3.1. Glikozun Otooksidasyonu ve Süperoksit Üretimi

Glikoz, reaktif ketoaldehitlere ve süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) radikaline çevrilir. Reaksiyonlar zinciri, süperoksit radikalinin hidrojen peroksit (H_2O_2) üzerinden son derece reaktif olan hidroksil radikali (HO^{\cdot}) oluşturması ile sonuçlanır. Hücre içi glikozun oksidasyonu NADH'ın açığa çıkmasına yol açar. NADH solunum zincirinde oksidatif fosforilasyon yolu ile ATP üretimi için gerekli enerjiyi sağlamak üzere kullanılır. Glikoz düzeyinin yükseldiği durumlarda bu yolla süperoksit radikal üretimi artar. Mitokondri solunum zinciri başlıca hücre içi ROT üretim kaynağıdır. Normal solunum zinciri olayları sırasında sürekli olarak süperoksit radikali oluştuğu düşünülmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, DM'daki patolojilerin birçoğunun mitokondriyal ROT'nin üretiminin fazla miktarda oluşması ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Green ve ark., 2004).

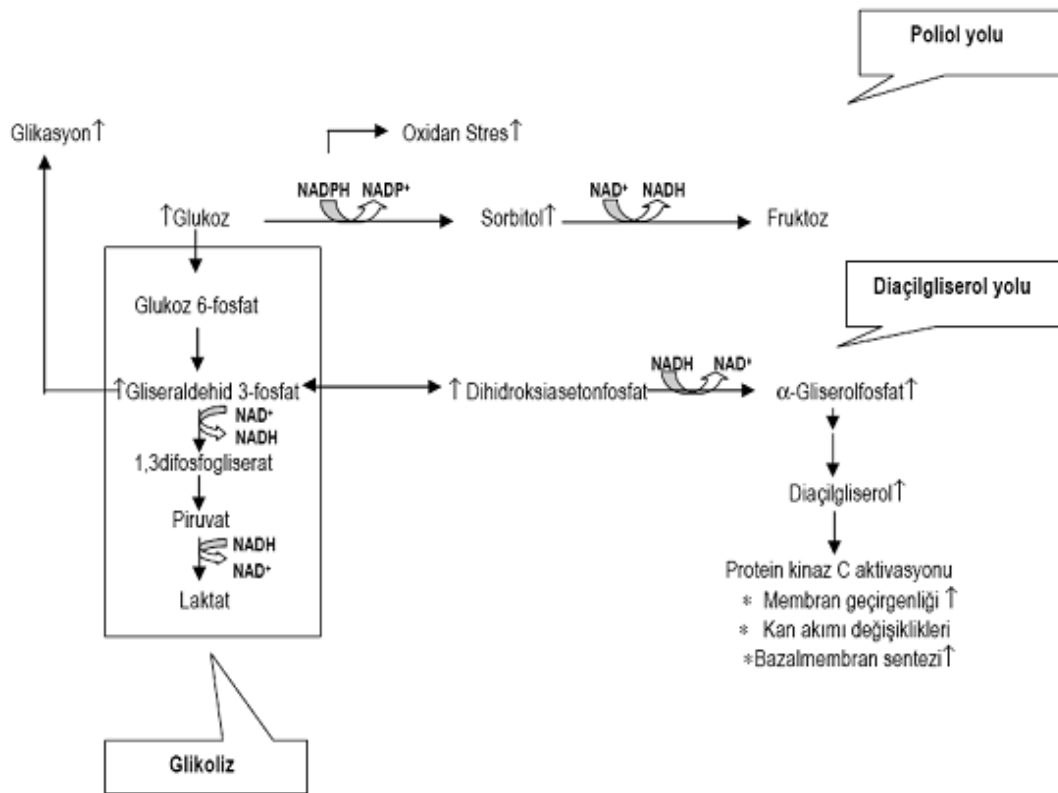
1.1.3.2. Poliöl Yolunun Aktivasyonu

Glikoz düzeyinin yükseldiği durumlarda, poliöl yolu ile sorbitol üretimi artar. Bu yoldaki aldoz redüktaz enzim aktivitesi için NADPH kullanıldığından hücre içi NADPH tüketilir. Okside glutatyonun indirgenmiş forma çevrilebilmesi ve nitrik oksit (NO) sentezi için NADPH gereklidir. Bu nedenle poliöl yolunun aktif olması ve sonuçta NADPH'ın yokluğu hücrenin antioksidan kapasitesinin sınırlanması anlamına gelmektedir (Maritim ve ark., 2003). İndirgenmiş glutatyonun ve vazodilatasyonda görev yapan NO sentezinin azalması DM'un vasküler komplikasyonlarının ortaya çıkışında rol oynar (Das ve Chainy, 2001). Vazodilatör mediyatörlerin kaybı endonöronal kan akımının azalmasına dolayısıyla endonöronal hipoksi veya iskemiye yol açmaktadır. Bu olayın sonucunda nöronal hücre, schwann hücrelerde hasar meydana gelmektedir (Cameron ve Cotter, 1997).

Glikozun poliöl yolu ile sorbitole ve fruktoza çevrilmesinin bir sonucu olarak hücrede miyoinozitol düzeylerinde azalma ve bunun sonucunda da Na/K ATPaz enzim aktivitesinde düşme olduğu gözlenmiştir ki bu enzim aktivitesi sinir iletim hızı

için önem taşımaktadır (Greene ve ark., 1990). Sorbitolün kendisi bir doku toksini gibi hareket eder. Bu nedenle retinopati, nöropati, katarakt, nefropati ve kalp hastalığı patogenezinde rolü olduğu düşünülmektedir (Bukan ve ark., 2004).

Anormal polioli yolu hipotezine göre glikoz girişi için insüline ihtiyaç duymayan ve aldoz redüktaz enzimi içeren lens, periferik sinirler, böbrek glomerulleri gibi dokularda hiperglisemi sonucu hücre içi glikoz ve dolayısıyla sorbitol konsantrasyonu artar. Aşırı su tutucu özellikte olan sorbitolün bu dokularda birikmesi hücre ödemi ve hasarına neden olur. Hiperglisemide polioli yolunun aktivasyonu ile $NADH/NAD^+$ oranı artmakta, bu da enzimatik olmayan glikasyonu ve diaçilgliserol (DAG) sentezini artırmaktadır. DAG'ün artışı da PKC aktivasyonuna yol açarak DM'daki damar patolojilerine neden olmaktadır (Sacks, 1999). Şekil 1.2'de polioli ve DAG yollarının birbirleriyle ilişkisi gösterilmiştir (Sekeroğlu ve ark., 2000).



Şekil 1.2. Polioli ve diaçilgliserol yollarının birbirleriyle ilişkisi (Sekeroğlu ve ark., 2000)

1.1.3.3. Protein Kinaz C Aktivasyonu

Yapılan çalışmalar ile hiperglisemi aracılığıyla PKC aktivasyonunda ve DAG seviyesinde aorta, retina, kalp, renal glomerül gibi çeşitli dokularda artma gözlemlendiği ve bunun vasküler komplikasyonlara eşlik ettiği anlaşılmıştır. DAG, PKC'nin aktivatörü olduğundan konsantrasyonunun artması enzimin aktivasyonuna yol açar. Hiperglisemi durumunda PKC'nin bazı izoformları aktive olmaktadır. DM'da, hipergliseminin bu mekanizmanın aşırı aktivasyonuna neden olması sonucunda mezengial matriks artışı, bazal membran kalınlaşması, kollajen sentezi artışı ve vasküler geçirgenlikte artış gerçekleşir. Birçok diyabetik komplikasyon PKC aktivasyonundaki artışla ilgilidir. PKC aktivasyonunun, özellikle nöropati ve retinopatinin gelişmesinde önemli rolü bulunmaktadır (Koya ve King, 1998).

1.1.3.4. Heksozamin Yolunun Aktivasyonu

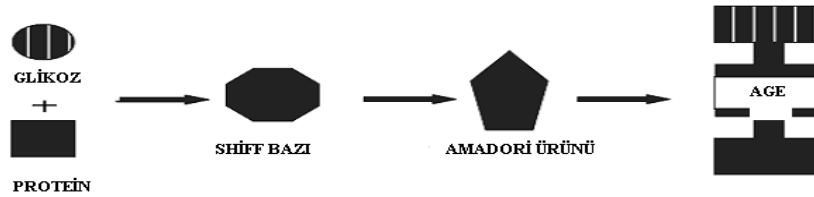
Hücre içinde aşırı glikoz artışı, heksozaminin normal yolunda sapmalara yol açarak DM'un birkaç komplikasyonlarının ortaya çıkmasına neden olabilir (Kolm-Litty ve ark., 1998). Bu yolda fruktoz-6-fosfat, glikoliz ile metabolize olmaz ve glikozamin 6-fosfata dönüşür. Bu dönüşüm glutamin:fruktoz-6-fosfat amidotransferaz (GFAT) tarafından katalize edilir. Belirteç proteini olarak da bilinen Sp1 protein, organizmanın erken gelişiminde rolü olan genlerin düzenlenmesinde görevli bir transkripsiyon faktörüdür. Bunun yanı sıra damar düz kas hücrelerinde hiperglisemi ile aktive olmuş plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1)'i düzenlemekle de görevlidir. Glikozamin 6-fosfattan oluşan N-asetil glikozamin, Sp1 proteinin kovalent modifikasyonuna yol açarak TGF- α , TGF- β 1 ve PAI-1'in transkripsiyonunu artırır (Brownlee, 2001). Bu yol aynı zamanda hiperglisemi ve yağ ile indüklenmiş insülin direncinde de önemli rol oynar (Hawkins ve ark., 1997).

Hiperglisemi aracılığıyla heksozamin yolunun aktivasyonu, diyabetik komplikasyonların patogenezinde birlikte katkıda bulunan gen ekspresyonu ve protein fonksiyonlarında değişikliklerle sonuçlanabilir (Brownlee, 2001).

1.1.3.5. Proteinlerin Glikasyonu ve İlerlemiş Glikasyon Son Ürünleri (AGE) Oluşumu

Proteinler yüksek glikoz konsantrasyonları ile karşılaştıklarında, glikoz bir enzimin aracılığına gereksinim duymadan proteine bağlanarak kontrolsüz glikasyon reaksiyonlarına neden olur. Glikasyona uğramış protein, moleküler oksijene bir elektron vererek serbest oksijen radikali oluşumuna neden olur (Gillery ve ark., 1988).

Glikoz ve proteinlerin amino grupları arasında kendiliğinden gelişen enzimatik olmayan glikasyon reaksiyonları yoluyla önce Schiff bazları, sonrasında daha stabil olan Amadori ürünleri oluşur. Amadori ürünlerinin oluşumundan sonra AGE meydana gelir (Şekil 1.3) (Zieman ve Kass, 2004).



Şekil 1.3. İlerlemiş glikasyon son ürünleri oluşumu (Zieman ve Kass, 2004)

AGE, endotelin-1 aracılığıyla vazokonstriksiyonu artırarak endotel hasarına yol açtığı gibi, kompleks biyokimyasal mekanizmalarla serbest radikal üretebilme kapasitesine de sahiptirler. Yine AGE toksik etkileri arasında; proteinlerin yapılarını ve fonksiyonlarını değiştirebilmeleri, kendi reseptörleri ile oksidatif stresi indükleyebilmeleri ve sonuçta nükleer faktör kappa B (NFkB) gibi redoks duyarlı transkripsiyon faktörlerini aktive etmeleri ve ilgili genlerin (prokoagülant doku faktörü endotelin-1, adezyon molekülü gibi) ekspresyonlarının artışı bulunmaktadır (Heidland ve ark., 2001).

Araştırmalar AGE'nin, reseptör aracılı mekanizma ile serbest radikal üretimini uyarmasının yanı sıra, serbest radikallerin fazla miktarda oluşumunun da hücre içi AGE oluşumunu artırdığını göstermektedir (Giardino ve ark., 1996).

Yapılan çalışmalarda AGE ve serbest radikallerin, PKC'yi aktive ettiği gösterilmiştir. Aktive olan PKC'nin, vasküler kan akımını, damar permeabilitesini, hücre dışı matriks bileşenlerini ve hücre büyümesini etkileyerek vasküler komplikasyonların patogeneğinde rol aldığı öne sürülmektedir (Way ve ark., 2001).

1.2. Pestisidler

Pest (haşere) adı verilen zararlı canlıları öldürmek için kullanılan maddelere pestisid denir. Genel bir ifade ile insan, hayvan, bitki ve cansız cisimlerin üzerinde ya da çevresinde bulunan veya yaşayan ve ayrıca besin maddelerinin üretimi, hazırlanması, depolanması ve tüketimi ve sırasında onların besin değerini azaltan veya hasara uğratan böcek, kemirici, yabancı ot, mantar, toprak kurdu gibi hastalık ve zararlı etmenlerini öldürmek için kullanılan maddelerdir (Kaya, 2002).

Pestisidlerin uygulama kurallarına uyulmaması ve sürekli kullanılmaları sonucu çevre ve besin kirlenmesine, çevrede biyolojik dengenin bozulmasına, dirençli pest türlerinin ortaya çıkmasına, insan ve hayvanlarda akut ve kronik zehirlenmelere ayrıca teratojenik, mutajenik ve karsinojenik etki tehlikesinin doğmasına yol açar (Kaya ve Bilgili, 1996).

Pestisidler, tüm akut zehirlenme etkenleri arasında ilaçlardan sonra ikinci sırada gelmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün 2004 yılı verilerine göre tüm dünyada yılda 3 milyona yakın pestisid zehirlenmesi meydana gelmekte, bunların 250 000'i ölümlle sonuçlanmaktadır (WHO, 2004). Bir tarım ülkesi olan Türkiye'de 2008 yılında Ulusal Zehir Danışma Merkezi'ne bildirilen 77988 zehirlenme vakasının 6503'ü (% 8,34) pestisid kaynaklıdır (Özcan ve İkincioğulları, 2009).

Pestisidler çeşitli özellikleri göz önüne alınarak sınıflandırılır. Bu sınıflandırmalar genellikle formülasyon şekillerine, kullanıldıkları zararlılara, metabolizmalarına, zehirliliklerine, etki şekillerine, vücuttan atılmalarına ve vücuda giriş yollarına, zararlının biyolojik dönemine göre yapılmasına karşın en bilimsel sınıflandırma kullanıldıkları zararlılara ve etkili kimyasal madde grubuna göre yapılandır (Pico ve ark., 2004).

1.2.1. İnsektisidler

İnsektisidler yapılarına, kaynaklarına ve etkileri veya etkidikleri paraziter gelişme dönemlerine göre sentetik organik insektisidler, inorganik insektisidler, bitki kaynaklı olanlar ve bazı sentetik türevleri, akarisitler, fumigantlar, sinerjistler, mikrobiyal insektisidler, böcek gelişme düzenleyicileri ve biyolojik maddeler olarak çok sayıda ana gruba ayrılır. En önemli insektisid sınıfları klorlu hidrokarbonlar (DDT ve türevleri, lindan, klordan vb.), OF insektisidler (klorprifos etil, malatyon, paratyon, ometoat, mevinfos vb.), karbamatlar (karbaril vb.), piretrin ve piretroidlerdir. OF insektisidler sentetik organik insektisidler grubunda yer alırlar (Kaya, 2002).

1.2.1.1. Organik Fosforlu (OF) İnsektisidler

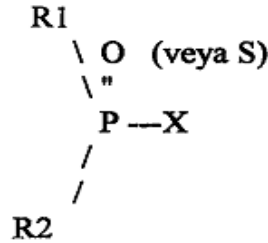
Organik fosforlu bileşikler ilk kez 1854'te Tetraetilpirofosfat (TEPP) olarak sentezlenmiştir. Bu bileşikler Almanya'da başlangıçta pestisid olarak daha sonra kimyasal silah olarak araştırılmıştır. Bu araştırmalar sırasında 1937 yılında sarin ve tabun üretilmiş, 1944'te somon bulunmuştur. OF bileşikler ilk kez 2. Dünya Savaşı'nda kimyasal silah olarak kullanılmıştır (Bajgar, 2005).

Son 50 yılda çok çeşitli OF bileşik geliştirilmiştir. OF bileşikler, gerek tarımsal mücadelede, gerekse veteriner hekimlikte antelmantik ve insektisid olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Bugün 100'den fazlası tarım alanlarında insektisid olarak

kullanılmakla birlikte az da olsa herbisid amaçlı kullanılan bileşiklerde mevcuttur (Maroni ve ark., 2000). En sık kullanılanlar malatyon, paratyon, diazinon, fentiyon, diklorvos, etiyon ve klorprifos etil'dir. Ayrıca ekotiyofat ve izofluofat göz tedavisinde, triklorfon ise hayvanlarda parazitlerle mücadelede kullanılır (Katz, 2012). Bu sık kullanımlarının sonucunda insan ve hayvanlarda akut veya kronik nitelikte zehirlenmelere sebep olabilmektedirler.

Organik fosforlu insektisidlerin birçoğu zehirli olmalarına rağmen genellikle çevrede kalıcı değildir; güneş ışığı, hava ve toprakla temas ettiklerinde hidroliz olarak parçalanırlar. Bu özellikleri sayesinde OF insektisidler DDT, aldrin ve dieldrin gibi kalıcı organik klorlu insektisidler (OKİ) yerine alternatif olarak kullanılmaya başlanmıştır. OF insektisidlerin popülaritesi OKİ'lerin 1970'lerde yasaklanmasından sonra artmıştır. Ne var ki, OF insektisidler organik klorlulara göre daha hızlı parçalansalar da, akut toksisiteyi daha yüksektir (Costa, 2006).

Organik fosforlu insektisidler fosforik asit veya kükürtlü analoglarının nötral esterleridir. Genel formülleri Şekil 1.4'te gösterilmiştir (Kaya, 2002; Anonim, 2012).



Şekil 1.4. Organik fosforlu insektisidlerin genel formülleri (Anonim, 2012)

Organik fosforlu insektisidler bir fosfor atomu, buna doğrudan veya oksijen veya kükürt ile bağlanmış alkil, alkoksi ve aril grupları (R_1 ve R_2) ve substitüe veya dallanmış alifatik, aromatik veya heterosiklik bir gruptan (X) oluşmaktadır (Maroni ve ark., 2000; Kaya, 2002).

Organik fosforlu insektisidler çoğunlukla noniyonize ve lipofiliktirler. Solunumla ve ağız yoluyla alımını takiben hızlı bir şekilde emilirler. Deri yolu ile emilim çok yavaş olmakla birlikte uzun süreli maruziyet sonucunda şiddetli zehirlenmeler ortaya çıkabilir. Emilimin derecesi; deri ile temas süresine, maddenin yağda çözünürlüğüne, emilimi kolaylaştıran formülasyondaki emülsiyonlaştırıcılar ve ksilen gibi çözücülerin varlığına bağlıdır (Vale, 1998).

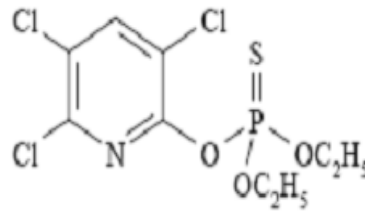
Emilimi takiben OF insektisidler yağ doku, karaciğer, böbrekler ve tükürük bezlerinde birikir. Diazinon, paratyon, bromofos gibi fosforotioatlar (P=S), diklorvos gibi fosfatlardan (P=O) daha lipofiliktir. Bu yüzden yağ dokuda birikme, bu tür OF insektisidlerden meydana gelen zehirlenmelerde gözlenen uzun süreli zehirlenme ve zehirlenmenin klinik olarak iyileşmeden sonra nüksetme durumunu açıklayabilir. OF insektisidler genel olarak yağda çözünürler ve bundan dolayı çoğu durumda kan beyin bariyerini geçer (Vale, 1998).

Birçok OF insektisidlerin yapısında fosfora çift bağlı sülfür atomu vardır. Zehirli hale gelmeleri için metabolik aktivasyon ile oksonlara dönüşmeleri, yani yapılarındaki P=S grubunun P=O grubuna dönüşmesi gerekir. Çünkü, yalnızca yapısında P=O grubu bulunan organik fosforlu bileşikler AkeE'ı baskılayabilir. Oksidatif desülfürasyon olarak adlandırılan ve karaciğerde mikrozomal sitokrom P450 enzimleri (Ecobichon, 2001), flavin içeren monooksijenaz enzimleri (Levi ve Hodgson, 1992), N-oksidasyon ve S-oksidasyon (Mileson ve ark., 1998) aracılığıyla katalizlenen bu biyotransformasyon reaksiyonu sonucunda OF insektisidlerin toksik metabolitleri meydana gelir. AkeE'ı engelleyen oksonlar, karboksilesterazlar (Maxwell, 1992) gibi hidrolazlar ve paraoksonaz gibi A-esterazlar tarafından deaktive olabilir (Luft, 2001).

Organik fosforlu insektisidlerin metabolitlerinin atılımı çoğunlukla idrarla olmakla birlikte daha az miktarlarda dışkı ve solunumla da gerçekleşir. Yağ dokuda depo edilmeyen diklorvos gibi bazı OF insektisidlerin atılımı saatler içerisinde gerçekleşirken, yağ dokuda yaygın şekilde depo edilmelerinden dolayı klorprifos etil veya demeton-S-metil okson metabolitleri günlerce vücutta kalabilir (Vale, 1998).

1.3. Klorprifos Etil

Klorprifos etil (O,O'-dietil-O-3,5,6-trikloro-2-piridil fosforotioat), en yaygın kullanım alanına sahip, OF bir insektisiddir (ATSDR, 1997). DSÖ tarafından orta derecede zehirli-sınıf II insektisid olarak sınıflandırılmıştır (WHO, 1997). Erkek ratlarda klorprifos etil'in oral ÖD₅₀ dozu ortalama 135 mg/kg'dır (Goel ve ark., 2007). Molekül ağırlığı 350,57, kimyasal formülü ise C₉H₁₁Cl₃NO₃PS'dir (Şekil 1.5). Klorprifos etil, Dow AgroSciences tarafından üretilmektedir ve Dursban®, Lorsban®, Empire 20®, Equity®, Whitmire PT270® gibi birkaç ticari markalar adı altında kullanılmaktadır. Teknik formu beyaz kristalize bir katı olup ergime noktası 41,5–42,5°C, kaynama noktası yaklaşık olarak 160°C'dir. Klorprifos etil, nötral ve asidik ortamlarda kararlıdır. Bununla birlikte pH'ın yükseldiği ortamlarda kararlılığı azalır. Pratik olarak suda çözünmez, fakat aseton, ksilen, metilen klorid gibi çoğu organik çözücülerde çözünür (Iyer ve Kaufman, 2008).

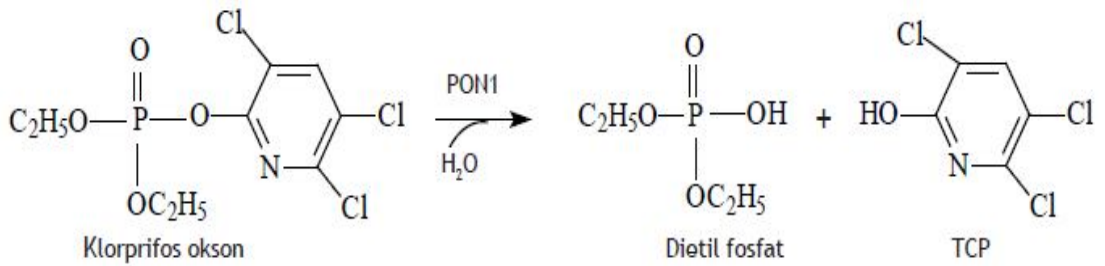


Şekil 1.5. Klorprifos etil'in kimyasal yapısı (Iyer ve Kaufman, 2008)

Klorprifos etil, insan sağlığı üzerindeki riskleri üzerine Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (USEPA) tarafından 2000 yılında evde kullanımı yasaklanmış olmasına rağmen günümüzde halen tarım, ev, bahçe ve çim alanlarındaki böcek ve eklem bacaklılarla mücadele amacıyla kullanılan geniş spektrumlu bir insektisiddir (Iyer ve Kaufman, 2008). İlk olarak 1965 yılında Amerika'da Dow kimyasal şirketi tarafından üretilmeye başlanmış ve satışa sunulmuştur (Cox, 1994). Hedef türler; ateş karıncaları, sivrisinekler, hamam böcekleri, ağaç kurtları ve yaprak bitleridir. Bu yararlı etkilerinin yanı sıra doğada kalıcılık da gösterebilen klorprifos etil'in yaygın kullanımı, hedef olmayan insan ve hayvanlarda akut veya kronik tipte zehirlenmeye yol açabilir (Kaya, 2002).

Klorprifos etil ile meydana gelen akut zehirlenmenin en iyi bilinen belirtileri; myosis, fazla miktarda idrar çıkarma, ishal, terleme, göz yaşı akıntısı ve tükürük salgısının artışıdır (Sharbidre ve ark., 2011). Ayrıca hepatik disfonksiyon, genotoksisite, embriyotoksisite, teratojenite, nörodavranış ve nörokimyasal değişiklikleri içeren çok sayıda diğer etkilerinde ortaya çıkmasına neden olur (Hunter ve ark., 1999).

Vücuda giren klorprifos etil, bağırsaklardan hızlı bir şekilde emilerek kana karışır ve tüm organlara dağılır. Klorprifos etil'in kendisinin AkE'ı engelleme yeteneği azdır ve karaciğerde sitokrom P450 enzimleri aracılığıyla oksidatif desülfürasyona maruz kalarak güçlü bir AkE inhibitörü olan aktif metaboliti klorprifos okson'a dönüşür. Klorprifos okson, AkE'nın yanı sıra butirilkolinesteraz, karboksilesteraz gibi diğer β -esterazları da engeller. Klorprifos okson, paraoksonaz 1 (PON1) gibi A-esterazlar tarafından enzimatik olarak hidrolize edilir ve detoksifikasyon metabolitleri olan dietilfosfat (DEF) ve 3,5,6-trikloro-2-piridinol'e (TCP) dönüşür (Şekil 1.6). Klorprifos okson tarafından β -esterazların engellenmesi de DEF ve TCP'ün oluşumu ile sonuçlanabilir. Klorprifos etil ana bileşiği de sitokrom P450 enzimleri aracılığıyla idrarla hızlı bir şekilde atılan dietiltiyofosfat (DETF) ve TCP metabolitlerine dönüşebilir (Vale, 1998).



Şekil 1.6. Klorprifos etil'in metabolizması (Demirdögen, 2010)

1.3.1. Klorprifos Etil ve Oksidatif Stres

Pestisidlerin indüklediği oksidatif stres, zehirliliğin muhtemel mekanizmalarından

biri olarak son yıllarda toksikolojik çalışmaların odağı haline gelmiştir. Bu durum, prooksidanlar ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin bozulmasıyla sonuçlanan çok basamaklı olayların tezahürüdür (Banerjee ve ark., 2001). Oksidatif stresin OF pestisidlerin zehirliliğinde önemli rol oynadığı yapılan çalışmalar ile ortaya konulmuştur (Yarsan ve Cakir, 2006; El-Shenawy ve ark., 2010).

Organik fosforlu insektisidler, dünyada kullanılan insektisidlerin yarısından fazlasını oluşturduğu için tüm pestisidler arasında en büyük risk durumundadır (Casida ve Quistad, 2004). OF insektisidlerin lipofilikliği, onların hücre zarları ile birleşmesini kolaylaştırır. Bu nedenle OFI'ler kırmızı kan hücreleri, karaciğer ve böbrek membran lipidlerinin yapı ve fizyolojik fonksiyonlarını bozarak zehirliliklerinin moleküler mekanizmalarından biri olan LPO yol açabilir (Banerjee ve ark., 1999; Videira ve ark., 2001; Akhgari ve ark., 2003).

Klorprifos etil'in zehirliliğinde başlıca mekanizma AkE'nin engellenmesidir. Buna rağmen son çalışmalarda klorprifos etil'in zehirliliğinde diğer mekanizmalarında rolü olabileceği vurgulanmıştır (Slotkin ve ark., 2006). Hem akut ve hem de kronik klorprifos etil zehirlenmesi ile ilişkili mekanizmalardan birisi de oksidatif strestir. Klorprifos etil ile indüklenmiş zehirlenmede oksidatif stresin rolü birkaç çalışmada gösterilmiştir (Gultekin ve ark., 2001; Ambali ve ark., 2011a; Kammon ve ark., 2011).

SOD, CAT, GPx gibi antioksidan enzimlerin klorprifos etil tarafından önemli derecede etkinlenmiş olabileceği ifade edilmiştir (Verma ve ark., 2007; Mansour ve Mossa; 2010). Klorprifos etil, hücre içi oksidatif stresi indükleme ve ROT'nin üretiminde artışı içeren hücreler üzerinde çeşitli etkilere sahiptir. Bu etkileri sonucunda da normal hücrel gelişim ve farklılaşmayı bozabileceği kanaatine varılmıştır (Bebe ve Panemangalore, 2003). Klorprifos etil'in ayrıca ROT, H₂O₂, nitrat (NO₃) ve nitrit (NO₂) düzeylerini yükselterek beyin ve karaciğerin farklı kısımlarında oksidatif stresi indüklediği de rapor edilmiştir (Mehta ve ark., 2009). Beyin ve diğer dokuların tüm bölgelerinde ROT'nin birikimi normal fizyolojik fonksiyonları bozabilir ve böylece klorprifos etil'in zehirlilik belirtileri daha da

ağırlaşır. Hidroksil, peroksil radikal ve H₂O₂ içeren bu ROT'nin hedefi biyolojik makromoleküllerdir ve sonucunda membran ve diğer dokularda hasara yol açabilir (Meister, 1998).

1.3.2. Klorprifos Etil ve Glikoz Homeostazisi

Karaciğer, kas ve beyin; glikojenez, glikojenoliz, glukoneojenez ve glikoliz de rol oynayan organlardır. Ayrıca pankreastan insülin ve glukagon salınarak glikoz homeostazisinin hormonal kontrolü sağlanır. OF insektisidler bu organlarda glikoz homeostazisinde rol oynayan yolları etkileyebilir. OF insektisidler tarafından bozulan glikoz homeostazisinde rol oynayan mekanizmalar Tablo 1.2'de özetlenmiştir (Rahimi ve Abdollahi, 2007).

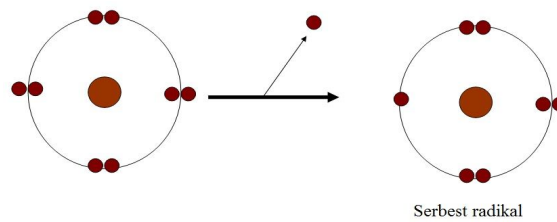
Tablo 1.2. Organik fosforlu insektisid zehirlenmelerini takiben oluşan hiperglisemi için önerilen mekanizmalar (Rahimi ve Abdollahi, 2007)

Mekanizma	Sonuçlar
Fizyolojik stres	Hipotalamus-hipofiz-adrenal eksenini ve sempatik otonomik sinir sisteminin uyarılması, glukokortikoidler, katekolaminler ve sitokinlerin salınımında artış
Oksidatif stres	Vücudun antioksidan aktivitesinin artması için glikoz 6-fosfat dehidrojenazın uyarılması yoluyla glikoz üretiminde artış
Paraoksonazın engellenmesi	Oksidatif stresin gelişimi
Nitrozatif stres	β -hücrelerin yıkımında rol oynayan nitrik oksitte artış
Pankreatitis	Pankreas hücrelerinde hasar ve insülin salınımında bozukluk
Kolinesterazın engellenmesi	Hiperestezi, intermitten spazm, kas tremor ve konvulziyonlarda artış ve bu aktiviteler için gerekli enerjinin karşılanabilmesi için glikojenolizin uyarılması yoluyla glikozun salınımında artış
Adrenal bezin uyarılması	Hepatositlerde ve iskelet kas hücrelerinde glikojenolizi destekleyen adrenalinin fazla miktarda salınımı, insülin direncinin meydana gelmesi ve lipolizin desteklenmesi
Karaciğer triptofan metabolizmasında bozukluk	Glikoz metabolizmasında değişikliğe neden olan ksanturenik asit oluşumunda artış. Buna ek olarak, ksanturenik asitin insülin ile kompleks oluşturması ve pankreasın β -hücrelerinde hasar oluşturması bildirilmiştir.

Deneysel çalışmalarda OF insektisidlere maruziyeti takiben hiperglisemi gözlenmiştir (Hagar ve ark., 2002; Pournourmohammadi ve ark., 2005; Romero-Navarro ve ark., 2006; Kamath ve Rajini, 2007). Benzer sonuçlara klorprifos etil ile yapılan deneysel ve epidemiyolojik çalışmalarda da rastlanılmıştır. Epidemiyolojik bir çalışmada, klorprifos etil kullanan tarım işçilerinde diyabet insidensinde bir artış gözlenmiştir (Montgomery ve ark., 2008). Ayrıca Ambali (2009) ve Ambali ve ark. (2011b) yaptıkları deneysel çalışmalarda klorprifos etil uygulanan ratlarda kan glikoz düzeyinin yükseldiğini belirtmişlerdir.

1.4. Serbest Oksijen Radikalleri ve Antioksidan Sistemler

Kimyasal bileşikler iki veya daha çok elementin aralarında kimyasal bağ oluşturması ile meydana gelirler. Bu bağlar negatif yüklü elektronlarla sarılmıştır ve bu elektronların düzeni bileşiğe kararlılık sağlar. Kararlı bileşiklerin elektronları çiftlenmiş halde bulunur. Şekil 1.7’de de gösterildiği gibi eğer elektron çiftlenmemiş ise molekül daha reaktif ve kararsız duruma geçer (Türkmen ve Özdemir, 2011). Bir ya da daha fazla sayıda çiftlenmemiş elektrona sahip element veya bileşiklere SOR ya da ROT denir (Gökımar ve ark., 2006).



Şekil 1.7. Serbest radikal (Türkmen ve Özdemir, 2011)

Çok kısa ömürlü olmalarına karşın, radikal olmayan maddeler ile reaksiyona girip onları da radikal yapmaları ve bir dizi zincir reaksiyonu başlatıp, birçok radikal oluşturmalarından dolayı oldukça tehlikelidirler. SOR, ortaklanmamış elektronunun

belirtilmesi amacıyla üst kısımlarına yazılan bir nokta (X') ile gösterilirler (Akkuş, 1995).

Serbest oksijen radikalleri, gerek normal metabolik faaliyetler gerekse eksojen kaynaklarla oluşmakta ve oksijenin hem süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil (HO^{\cdot}), hidroperoksil (HO_2^{\cdot}), peroksil (ROO^{\cdot}), alkoksil (RO^{\cdot}) gibi radikal türevlerini hem de tekli oksijen (1O_2), ozon (O_3), hidrojen peroksit (H_2O_2), hipoklorik asit ($HOCl$), nitrik oksit (NO), azot dioksit (NO_2), peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$) gibi radikal olmayan türevlerini kapsamaktadır (Gutteridge, 1995; Yazıcı ve Köse, 2004).

Serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonları önleyen, serbest radikalleri yakalama ve stabilize etme yeteneğine sahip maddelere antioksidan adı verilir (Elliot, 1999). Antioksidanlar başlıca dört yolla oksidanları etkisiz hale getirirler (Gökınar ve ark., 2006).

1. Temizleme etkisi (Scavenging): Oksidanları daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürerek etkisizleştirir. Antioksidan enzimler ve mikromoleküller bu yolla etki eder.
2. Söndürme etkisi (Quenching): Oksidanlara bir hidrojen aktararak inaktive etmesine denir. Vitaminler, flavonoidler, timetazidin ve mannitol bu şekilde etki eder.
3. Zincir reaksiyonlarını kırma etkisi (Chain Breaking): Hemoglobin, seruloplazmin ve ağır mineraller oksidanları kendilerine bağlar ve inaktive eder.
4. Onarma etkisi (Repair): Oksidatif hasar görmüş biyomolekülü onarırlar.

Antioksidanlar yapı ve işleyiş mekanizmalarına bakılarak, Tablo 1.3'te görüldüğü üzere enzimatik veya enzimatik olmayan antioksidanlar olarak iki grupta sınıflandırılabilindiği gibi (Halliwell ve ark., 1995), görev aldıkları yapılara göre de intrasellüler (SOD, CAT, GPx, sitokrom oksidaz), ekstrasellüler (albümin, askorbik asit, urat vb. gibi) ve membran (vitamin E, koenzim Q, β -karoten vb. gibi)

antioksidanları olarak da sınıflandırılmaktadırlar (Gutteridge, 1995).

Tablo 1.3. Biyolojik sistemlerdeki antioksidanların sınıflandırılması (Halliwell ve ark., 1995)

Enzimatik Antioksidanlar	Süperoksid dismutaz (SOD) Katalaz (CAT) Glutasyon peroksidaz (GPx) Fosfolipit hidroperoksid glutasyon Peroksidaz (PLGPx) Glutasyon-S-transferaz (GST) Glutasyon redüktaz (GSSG-R)	
Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	İndirgenmiş glutasyon (GSH) α -Tokoferol (Vit E) Askorbat (Vit C) β -Karoten (Vit A) Flavonoidler Ürat Biluribin	Melatonin Seruloplazmin Transferrin Ferritin Laktoferrin Albumin Lipoik asit

1.4.1. Enzimatik Antioksidanlar

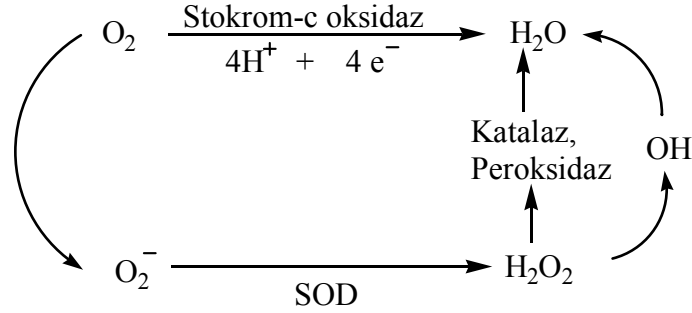
Aerobik organizmalar oksijen toksisitesinden başlıca üç enzim yardımıyla korunur. Bunlar; SOD, CAT ve GPx'dır (Bhagavan, 2002).

1.4.1.1. Süperoksid Dismutaz (SOD)

Hemen hemen bütün hücreler SOD'a sahiptir. İlk olarak 1969 yılında McCord ve Fridovich tarafından tanımlanan süperoksid radikallerinin katalitik olarak hidrojen peroksid ile moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen ve LPO engelleyen bir metalloenzimdir (McCord ve Fridovich, 1969). Bu reaksiyon kendiliğinden gerçekleşebildiği gibi, SOD katalizörlüğünde 4000 kat daha hızlı gerçekleşmektedir (Akkuş, 1995).

Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından fazla miktarda süperoksid radikali üretilmesine rağmen, intrasellüler süperoksid miktarı SOD sayesinde düşük tutulmaktadır. Şekil 1.8'de de ifade edildiği üzere aerobik hücrelerdeki oksijenin

çoğunluğu solunum zincirinde, oksijen radikallerinin toksisitesini engelleyen stokrom-c oksidaz, SOD, CAT ve peroksidaz enzimleri varlığında indirgenerek suyu oluşturmaktadır (Bhagavan, 2002).

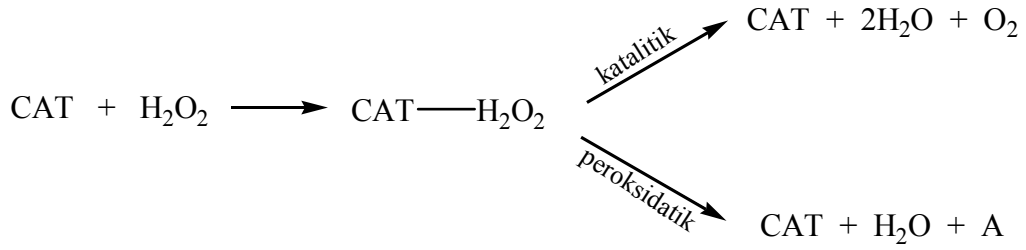


Şekil 1.8. Oksijenin suya dönüşümü (Bhagavan, 2002)

1.4.1.2. Katalaz (CAT)

Organizmaların, serbest radikallerin aşırı birikmesine karşı kendilerini korumada görev alan enzimlerden biri de CAT'dır. CAT, SOD'ın süperoksit radikallerinden oluşturduğu H_2O_2 ile metabolik yollardan oluşan H_2O_2 'i indirgeyerek suya dönüştürür (Delibaş ve Özçankaya, 1995).

CAT esas olarak peroksizomlarda lokalize olmakla birlikte endoplazmik retikulum ve sitozolde de yoğundur. Aktivitesi karaciğer, böbrek, miyokard, çizgili kaslar ve eritrositlerde yüksektir. Şekil 1.9'daki reaksiyonda ifade edildiği üzere CAT'ın peroksidatik ve katalitik olmak üzere iki fonksiyonu vardır. CAT'ın temel fonksiyonu olan H_2O_2 'in enzimatik parçalanmasının yanında (katalitik aktivite); az miktardaki H_2O_2 konsantrasyonunda, metil veya etil hidroperoksitler, metanol, etanol, fenol gibi küçük moleküllü elektron vericilerini indirgeyebilme özelliği de (peroksidatik aktivite) bilinmektedir. Fakat CAT, lipid peroksitleri gibi büyük molekülleri indirgeyememektedir. Enzim bir molekül H_2O_2 'den elektron alarak onu oksitlerken kendisi redüklenir; bir diğer molekül H_2O_2 'e elektron vererek onu indirgerken kendisi oksitlenerek başlangıçtaki durumuna döner (Karabulut, 2001).

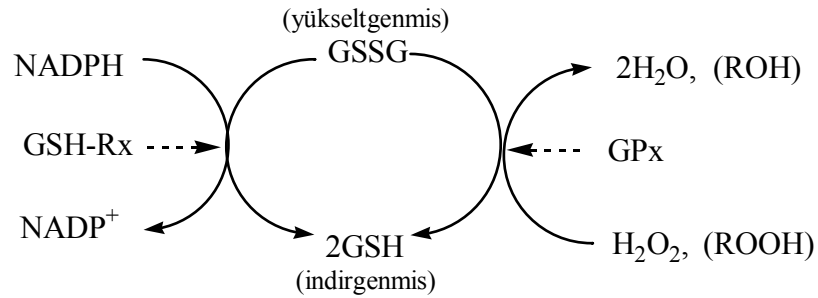


Şekil 1.9. Katalazın aktivite mekanizmaları (Karabulut, 2001)

Kanser, diyabet, katarakt, ateroskleroz, iskemik-reperfüzyon hasarı, artrit, nörodejeneratif hastalıklar, beslenme yetersizliği ve yaşlanmayı içine alan pek çok patolojik şartlarda ortaya çıkan oksidatif strese karşı savunmada antioksidan sistemin öncelikli enzimleri CAT ve GPx'dır (Yılmaz ve Ozan, 2003).

1.4.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx)

GPx selenyum içeren bir enzimdir ve H_2O_2 'in, fosfolipit H_2O_2 'lerin ve diğer serbest H_2O_2 'lerin yıkımlanmasını katalizler (Kalaycıoğlu ve ark., 2010). Bu görevi yerine getirirken GPx'in en önemli substratı indirgenmiş glutatyondur (GSH). GPx hidroperoksitlerin redükte olmasını sağlarken, GSH'un ise okside formuna (GSSG) dönüşmesini sağlamaktadır. GSH daha sonra Şekil 1.10'da da gösterildiği gibi NADPH'in indirgenmesinde kullanılan glutasyon redüktaz (GSH-Rx) tarafından yeniden oluşturulmaktadır (Berg ve ark., 2006; Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008).



Şekil 1.10. Glutasyon redoks sistemi (Berg ve ark., 2006)

H_2O_2 'in detoksifikasyonundan sorumlu glutasyon peroksidaz-glutasyon redüktaz sistemi NADP^+ - NADPH 'in kaynaklarından biri olmasından dolayı

fagositlerin aktivitesini, dolayısı ile hastalıklara karşı vücudun korunmasını da sağlamaktadırlar. Ayrıca GPx, H₂O₂'i suya dönüştürerek methemoglobin oluşumunu engellemektedir. (Bayşu Sözbilir ve Bayşu, 2008). Bu nedenlerle GPx antioksidan savunma sisteminin önemli üyelerinden biridir.

1.4.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

Organizmalarda enzimatik antioksidanların gibi vitaminler de serbest radikallerin zararlı etkilerinin ortadan kaldırılmasında önemli rol alır. Vitaminler non-enzimatik antioksidanlar kısmında yer alır. Bunlar içerisinde vitamin C, vitamin E ve karotenoidlerden köken alan vitamin A en başta gelen antioksidan vitaminlerdir (Memişoğulları, 2005).

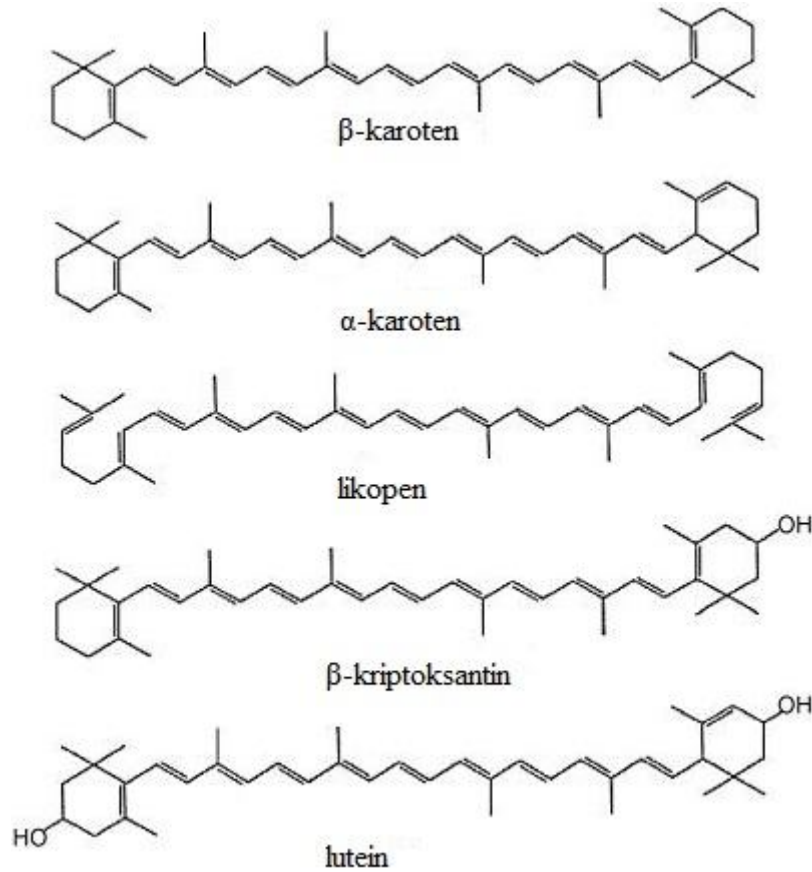
1.4.2.1. Karotenoidler

Karotenoidler; bitkiler, bakteri, alg ve mantarlar tarafından sentezlenen, hayvanlar ve insanlar tarafından sentez edilemeyip diyet aracılığıyla alınan, meyve ve sebzelere sarıdan kırmızıya kadar değişen renkleri veren pigmentli bileşiklerin bir ailesidir. (Tapiero ve ark., 2004; Rao and Rao, 2007).

Doğada 700'den daha fazla sayıda karotenoid bulunmasına rağmen bunların sadece 40'ı normal diyetimizde mevcuttur. Bunun ise genellikle 6'sı kan plazmasında belirlenir. Bunlar α - ve β -karoten, likopen, β -kriptoksantin, zeaksantin ve luteindir (Fernández-Garcia ve ark., 2012). Karotenoidler A vitamininin önemli besinsel kaynağıdır (Paiva ve Russell, 1999). Karotenler ve β -kriptoksantin, provitamin A karotenoidler olarak bilinir ve vücutta A vitaminine dönüşürler (Azqueta ve Collins, 2012).

Farklı karotenoidler, esas olarak onlara karakteristik renklerini ve antioksidan özelliklerini veren yapısına oksijenin eklenmesi ve uç gruplarının halkalanması ile

temel yapısında değişiklikler sonucunda türemiştir (Rao and Rao, 2007) (Şekil 1.11). Yapılarına göre sadece karbon ve hidrojen atomlarından oluşan “hidrokarbon karotenoidler” (karotenler) ve yapılarında en az bir oksijen atomu içeren “oksokarotenoidler” (ksantofiller) olarak iki sınıfa ayrılmaktadır (Tapiero ve ark., 2004). Apolar özellikteki hidrokarbon karotenoidlerin başlıcaları : α -karoten, β -karoten ve likopendir. Ksantofiller ise, daha polar özellikte olup yapısında metoksi, hidroksi, keto, karboksi ve epoksi formunda oksijen içermektedir. Ksantofillere örnek olarak β -kriptoksantin, zeaksantin ve lutein verilebilir. Karotenoidler ayrıca zincir uçlarında halka içerip içermemesine göre de siklik (halkalı) ve asiklik (halkasız) karotenoidler olarak da gruplandırılmaktadır. Likopen, fitoen, fitofluen ve ζ -karoten asiklik; α -karoten, β -karoten, δ -karoten ve γ -karoten siklik yapıdaki karotenoidlerdir (Duru, 2008).



Şekil 1.11. Besinlerde bulunan bazı karotenoidler (Rao and Rao, 2007)

Son yıllarda karotenoidlerin antioksidan özellikleri, araştırmacıların büyük

ilgisini çekmektedir. Karotenoidler (KAR) radikallerle genellikle üç ana yolla reaksiyona girerler. Bunlar sırasıyla elektron transferi, hidrojen iyonunu ayırma ve radikal ekleme olup, aşağıdaki denklemlerde gösterilmiştir (Denklem 1-3) (Edge ve Truscott, 1999).

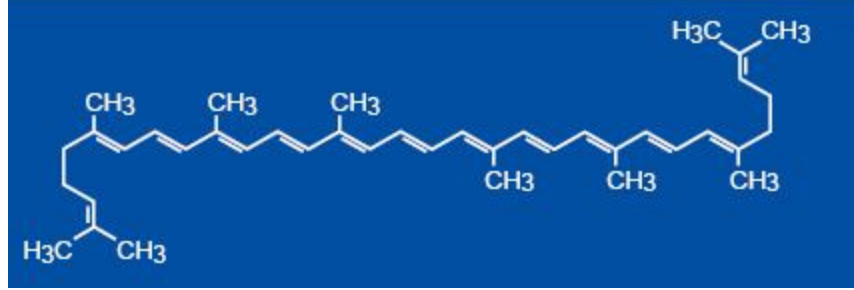


Karotenoidler, tekli oksijen ($^1\text{O}_2$) ve peroksil radikali (ROO^\bullet) temizlemede rol oynar. Aynı zamanda tekli oksijen ve radikal oluşumunda rolü olan elektronik olarak uyarılmış moleküllerin deaktivasyonunda etkilidir (Young ve Lowe, 2001). Karotenoidlerce zengin meyve ve sebze tüketimi insan lenfositlerini tekli oksijen hasarından koruyarak bağışıklıklık sistemini güçlendirir ve çeşitli kanser tipleri, kardiyovasküler veya göz hastalıklarını içeren birkaç dejeneratif hastalıkların görülme riskini azaltır. İnsan ve hayvanlarda özellikle β -karoten ve likopen olmak üzere, karotenoidler tekli oksijenin ve peroksil radikalının rol oynadığı fotooksidatif işlemlere karşı koruyucu etkiye sahiptir ve diğer antioksidanlarla sinerjistik etki göstermektedir (Tapiero ve ark., 2004). Ayrıca akciğer, kolon, meme ve prostat kanserlerinin önlenmesinde önemli diyet bileşenleri olduğu insanlarda (Van Pooppel ve Goldbohm, 1995; Giovannucci, 1999), hayvan modellerinde (Kim ve ark., 1998; Okajima ve ark., 1998) ve in vitro kanser hücrelerinde (Pastori ve ark., 1998; Amir ve ark., 1999) gösterilmiştir. Likopen, karotenoidler arasında en yüksek antioksidan aktiviteye sahip bileşiktir (Di Mascio ve ark., 1989). Bu tez çalışmasında likopen kullanıldığı için ayrı bir başlıkta geniş bir şekilde aşağıda ele alınmıştır.

1.5. Likopen ve Özellikleri

Likopen; çoğunlukla domates (*Lycopersicum esculentum*) ve işlenmiş domates ürünlerinde bulunan, A vitamini aktivitesine sahip olmayan, β -karotenin asiklik

izomeridir. Düz bir yapı halinde 11 adet çift ve 2 adet tekli bağ içeren, yüksek oranda doymamış hidrokarbon zincirinden oluşur (Şekil 1.12) (Rao ve ark., 2006).



Şekil 1.12. Likopenin yapısı (Painter, 2003)

Likopen öncelikle domates olmak üzere çeşitli meyve ve sebzelerin kırmızı renkli olmasından sorumludur. Diğer karotenoidlerden farklı olarak yapısında son uçta β -ionik halkası olmadığından provitamin A aktivitesi göstermez. Likopenin yapısında çift bağların bulunmasından dolayı hem cis- hem de trans- izomerik formlara sahiptir. Doğada likopenin öncelikle all-trans izomerik formları bulunur (Clinton, 1998). Bununla birlikte ışığa, termal enerjiye ve kimyasal reaksiyonlara maruz kalarak likopenin trans formundan mono veya cis izomerasyonuna dönüşümü gerçekleşir. Likopen genellikle all-trans ve 5-cis, 9-cis, 13-cis ve 15-cis izomeri yapısı ile tanınır (Rao and Rao, 2007).

Besin kaynaklarından likopenin emilimi; likopen içeren gıda matriksinin parçalanması, pişirme sıcaklığı, yağlar, yağda çözünebilir diğer karotenoid bileşiklerin bulunması gibi birkaç faktörden etkilenmektedir. Likopen şilomikron aracılı mekanizma ile mide-barsak kanalı boyunca emilir (Parker, 1996). Domates sosu, domates suyu, domates oleoresin kapsülleri gibi farklı likopen kaynakları aynı derecede etkin bir şekilde emilir (Rao ve Agarwal, 1998).

Emilen likopen dolaşım sistemiyle bütün vücuda dağıtılmaktadır. Likopen yaklaşık 2-3 günlük yarılanma süresiyle insan plazmasında en fazla bulunan karotenoiddir. Likopenin bitkilerdeki geometrik izomeri çoğunlukla all-trans olmasına karşın, insan plazmasındaki geometrik izomeri, toplam likopenin % 50'sini

oluşturan cis izomeridir (Rao and Agarwal, 1998). Hayvanlar çoğunlukla all-trans izomerik formu içeren likopenle beslendiklerinde, serum ve dokularında cis likopen formu bulunduğu gösterilmiştir (Jain ve ark., 1999). Benzer sonuçlar aynı zamanda insan serumlarında da gözlemlenmiştir. İnsanlarda likopenin en yüksek düzeylerine sahip dokuların adrenal bezler, prostat, testis ve karaciğer olduğu belirtilmiştir (Rao ve ark., 2006).

1.5.1. Likopenin Antioksidan Etkileri

Likopen en iyi bilinen antioksidandır. Elektronca zengin yapısından dolayı elektrofilik türlerin saldırılarına karşı aşırı derecede duyarlıdır. Bu yüzden likopen oksijen ve serbest radikallere karşı son derece reaktiftir (Krinsky, 1998).

Likopen; uzun zincir şeklindeki asiklik, aşırı hidrofobik yapısı ve içerdiği konjuge çift bağ nedeniyle antioksidan etkinlik göstermektedir. Likopenin oldukça yüksek antioksidan etkinliği ile serbest radikaller (R^{\bullet} ve ROO^{\bullet}) ile tekli oksijeni (1O_2) temizleme yeteneği birçok çalışmada rapor edilmiştir (Jonker ve ark., 2003; Michael McClain ve Bausch, 2003; Tapiero ve ark., 2004; Velmurugan ve ark., 2004).

Yapısında β -iyonik halkası içeren β -karoten ile kıyaslandığında, likopenin β -iyonik halkası içermemesi veya diğer bir deyişle β -iyonik halkasının açık olması nedeniyle, tekli oksijeni daha etkin olarak temizleyebilmektedir. Ayrıca, konjuge çift bağ sayısı arttıkça tekli oksijeni söndürme yeteneği de artmaktadır. Yapısında 11 konjuge çift bağ içeren likopen, 9 konjuge çift bağ içeren β -karotene göre tekli oksijeni çok daha etkin söndürebilmektedir. Likopenin bu tekli oksijeni söndürme yeteneği β -karotenin 2, α -tokoferolün ise 100 katıdır (Di Mascio ve ark., 1989). Hidroksil radikalleri (OH^{\bullet}) nötralize ederek hücre zarlarını LPO'undan korumada da önemli bir rol oynar; antioksidan etkisinin yanı sıra koruyucu bir görev olarak DNA'ya bağlanabilir. Bu etkilerine ilave olarak likopen, H_2O_2 ile uyarılmış LPO ve lipoprotein modifikasyonunu engellediği gibi (Tang ve ark., 2009) SOD, GPx ve GSH-Rx (Bose ve Agrawal, 2006) vb. antioksidan enzimleri uyarabilir.

1.5.2. Likopenin Hipoglisemik Etkileri

Likopenin hipoglisemik etkilerinin olduğu ortaya konmuştur (Mamdouh ve Fatma, 2009). Likopenin hipoglisemik etkileri; vücudun antioksidan yeteneğini artırmak, β - hücrelerin hasarını iyileştirmek, insülin salınımını uyarmak, insülinin etkisini geliştirmek gibi birkaç mekanizmaya bağlanabilir (El-Missiry ve El Gindy, 2000; Ali ve Agha, 2009). Ali ve Agha (2009), STZ ile DM oluşturulmuş ratlarda likopenin β - hücrelerin hasarını iyileştirerek kan glikoz düzeyini azaltmasının kullanılan dozuna bağlı olabileceğini doğrulamışlardır. Benzer bir çalışmada kan glikoz düzeyinin yükselmesine bağlı olarak ortaya çıkan sinir harabiyeti, öğrenme ve hafıza ile ilgili bozuklukların tedavisinde likopenin kullanılabileceği belirtilmiştir (Kuhad ve ark., 2008a). Bu çalışmalara paralel olarak Aydın (2008) yaptığı tez çalışmasında, diyabetin beyin dokusunda neden olduğu oksidatif hasar ile LPO'unun ve plazma insülin seviyesindeki azalmanın likopen tarafından büyük oranda düzeltildiğini ortaya koymuştur.

Gao ve ark. (2012) diyabetli ratlarda yaptıkları çalışmada, 8 haftalık likopen uygulamasının kan glikozunu düşürdüğünü göstermişlerdir. Duzguner ve ark. (2008) ise diyabetli ratlarda 3 haftalık likopen uygulamasının plazma glikoz seviyesini % 25 oranında azalttığını, serbest radikaller ile LPO'unun neden olduğu diyabetik komplikasyonları önleyebileceğini ve likopenin hipergliseminin tedavisinde kullanılabilecek değerli bir antioksidan olabileceği kanaatine varmışlardır.

1.5.3. Likopenin Diğer Etkileri

Likopen, antioksidan ve hipoglisemik etkilerinin yanı sıra antikarsinojenik ve antiaterojenik etkilere de sahiptir. Bu etkilerini oksidatif ve non oksidatif mekanizmalarla açıklamak mümkündür (Agarwal ve Rao, 2000). Bu etkilerine ilaveten güçlü nöroprotektif (Hsiao ve ark., 2004), antiproliferatif (Gunasekera ve ark., 2007), antiinflamatuvar ve antikoagulant (Yaping ve ark., 2003), kavrama kabiliyetini geliştirici (Akbaraly ve ark., 2007) ve aynı zamanda hipokolesterolemik

(Basuny ve ark., 2009) bir maddedir. Ayrıca siklooksijenaz sentez yolağını düzenler (Sengupta ve ark., 2006) ve Ames testinde mutajenezisi (Heber ve Lu, 2002) azaltır.

Deneysel olarak oluşturulan testiküler toksisite (Turk ve ark., 2007), spermiyotoksisite (Atessahin ve ark., 2006; Tas ve ark., 2010), kardiyotoksisite (Yilmaz ve ark., 2006) ve nefrotoksisiteye (Karahana ve ark., 2005) karşı likopenin koruyucu etkiye sahip olduğu belirtilmiştir. Ayrıca in vivo ve in vitro çalışmalarla deneysel olarak oluşturulan katarakta karşı likopenin tedavi veya koruyucu amaçla kullanılabileceği gösterilmiştir (Gupta ve ark., 2003). Bu etkilerinin yanısıra likopenin kadınlarda menopoz sonrası osteoporoz görülme riskini de azaltabileceği ifade edilmiştir (Rao ve ark., 2007).

Karotenoidlerin oksidatif stres üzerine etkisine dair pek çok araştırmalar yapılmıştır. Likopen, tekli oksijen ve serbest radikallerin etkilerini önleme kapasitesi ile yüksek derecede antioksidan etkisi yönünden son zamanlarda yapılan çalışmalarda dikkatleri üzerine çekmektedir. Likopen tarafından güçlü bir şekilde oluşturulan antioksidan aktivite; çeşitli oksidatif hasarlar, toksisite ve diğer hastalıkların önlenmesine yardımcı olur. Bundan dolayı, karotenoidler arasında likopen biyolojik etkin oksijen gruplarına karşı daha etkili bir antioksidandır ve hem in vivo hem de in vitro doku ve hücrelerin iyileşme ya da korunmasına katkıda bulunmaktadır (Matos ve ark., 2000). Son on yılda yapılmış çalışmalarda çeşitli antioksidanların Klorprifos etil ile indüklenen hasarı veya zehirliliği iyileştirici etkiye sahip olduğu ve vücuttaki antioksidan parametreleri koruduğu bulunmuştur (Verma ve ark., 2007; Aly ve ark., 2010; Ahmed ve ark., 2010; Uzun ve ark., 2011; Shittu ve ark., 2012). Ancak bugüne kadar kuvvetli bir antioksidan olan likopenin, klorprifos etil ile indüklenen oksidatif hasar üzerinde nasıl bir etkiye sahip olduğu konusunda bir çalışma yapılmamıştır.

Bu tez çalışması ile klorprifos etil'e maruz kalmış diyabetik canlılarda meydana gelebilecek oksidatif hasar ve hiperglisemik durum üzerine likopenin etkilerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Deney Hayvanı

Bu araştırmada kullanılan, 3 aylık (200 – 300 g) 64 adet Wistar cinsi erkek rat, Isparta Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Ratların 8'i klorprifos etil'in diyabetli ratlardaki dozunun belirlenmesi için yapılan ön çalışmada, 56'sı ise ana çalışmada kullanıldı. Ratların bakım ve beslemeleri çalışma boyunca $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$ çevre sıcaklığı, % 55–60 nem ve 12:12 saatlik aydınlık-karanlık döngüsü şartlarında gerçekleştirildi. Çalışma grubundaki ratlara standart rat yemi (kuru madde % 88; ham protein % 23; ham selüloz % 7; ham kül % 8 ve metabolik enerji 2600 Kcal/kg) ve temiz içme suyu *ad libitum* (serbestçe) verildi. Çalışma boyunca hayvanlara yapılacak tüm müdahaleler, AKÜ Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu tarafından bildirilen kurallar doğrultusunda, 13/10/2009 tarihli, 61 sayılı AKÜHADYEK-68-09 referans nolu araştırma kapsamında AKÜ Hayvancılık Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yapıldı.

2.1.2. Analizlerde Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

Çalışmamızda AKÜ Veteriner Fakültesi Farmakoloji-Toksikoloji, Biyokimya, Mikrobiyoloji Anabilim Dallarını; AKÜ Veteriner Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi ile Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsünde bulunan ve aşağıda özellikleri verilen cihazlar/laboratuvar malzemelerinden yararlanılmıştır:

- Spektrofotometre (Shimadzu, UV-1601)
- Kültür plağı okuyucusu (Multiscan, Thermo Labsystem)
- Otoanalizör (Roche, Cobas C111)
- LC-MS/MS (Zivak Gold Tandem)
- Distile su cihazı (GFL, 2202)

- Buzdolabı (Beko, D 8459 SM)
- Derin dondurucu (Uğur, UDD300BK)
- Soğutmalı santrifüj (Nüve, NF 1000R)
- Vorteks (IKA, MS2)
- Hassas terazi (Denver, TP-214)
- Su banyosu (Nüve. BM 402)
- Isıtıcılı manyetik karıştırıcı (Velp Scientifica)
- Dijital pH metre (Inolab, WTW)
- Kan şekeri ölçüm cihazı ve stripleri (Accu-Check Go, Roche)
- Değişik hacimlerde otomatik pipet (Eppendorf ve Socorex)
- Farklı boyutlarda deney tüpü, balon joje ve beher glas (Isolab)
- Eppendorf tüpü (1,5 mL'lik, Roth)
- Cerrahi eldiven (Dolphin)
- Polietilen enjektör (5 mL, Ayset)
- İnsülin enjektörü (1 mL, Ayset)
- Antikoagülanlı tüp
- Antikoagülanlı kuru tüp

2.1.3. Analizlerde Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Kitler

- Trikloroasetik asit (MP Biomedicals, kat no: 02152592)
- 2-Tiyobarbitürik asit (Merck, kat no: 1081800025)
- Sodyum hidroksit (Sigma-Aldrich, kat no: 06203)
- Meta-fosforik asit (Merck, kat no: 1005460500)
- Dipotasyum etilendiamin tetraasetik asit (Aldrich, kat no: 226009)
- Sodyum klorür (Sigma-Aldrich, kat no: 13423)
- Disodyum hidrojen fosfat (Merck, kat no: 1065660500)
- 5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) (Alfa Aesar, kat no: A14331)
- İndirgenmiş L-Glutatyon (Alfa Aesar, kat no: A18014)
- Sodyum sitrat(Sigma-Aldrich, kat no: 71406)

- Sitrik asit (Sigma-Aldrich, kat no: 27102)
- Streptozotosin (Sigma-Aldrich, kat no: S0130)
- Klorprifos etil (Dursban 4, Dow AgroSciences)
- Likopen (Redivivo, % 10 CWS/S-TG, DSM)
- Süperoksid dismutaz test kiti (Cayman, kat no: 706002)
- Katalaz test kiti (Cayman, kat no: 707002)
- Glutasyon peroksidaz test kiti (Cayman, kat no: 703102)
- Antioksidan test kiti (Cayman, kat no: 709001)
- Nitrat/Nitrit kolorimetrik test kiti (Cayman, kat no: 780001)
- Rat/Mouse insülin ELISA kiti (Millipore, kat no: #EZRMI-13K)
- Rat TNF- α Platinum ELISA kiti (eBioscience, BMS622)
- Rat Asetilkolinesteraz ELISA kiti (Cusabio, kat no: CSB-E11304r)
- Glikoz otoanalizör kiti (Roche, kat no: 04657527)
- Aspartat aminotransferaz otoanalizör kiti (Roche, kat no: 04657543)
- Alanin aminotransferaz otoanalizör kiti (Roche, kat no: 04718569)

2.1.4. Analizlerde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

2.1.4.1. Sitrat Tamponun Hazırlanması

Bir miktar saf suda 2,1 g sitrik asit monohidrat ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$) çözdürülüp üzerine 2,94 g trisodyum sitrat dihidrat ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$) eklenerek son hacim 100 mL'ye tamamlandıktan sonra Inolab WTW pH metre kullanılarak pH 4,5'e ayarlandı.

2.1.4.2. Streptozotosin Hazırlanması

Sitrat tampon içerisinde 50 mg/mL streptozotosin (STZ) olacak şekilde STZ tartılarak çözdürüldü. Tip 1 DM oluşturulacak ratlar tartıldıktan sonra, ratlara ağırlıklarına uygun olacak hacimlerde STZ 50 mg/kg dozunda periton içi (Pİ) yolla verildi.

2.1.4.3. Lipid Peroksidasyonu Tayininde Kullanılan Çözeltiler

- % 10'luk Trikloroasetik asit (TCA) çözeltisi: 10 g TCA tartılarak 100 mL'lik balon jøjeye alındı ve 100 mL distile su ile çözdürüldü.
- % 0,675'lik Tiyobarbitürik asit (TBA) çözeltisi: 0,675 g TBA tartılarak 100 mL'lik balon jøjeye konuldu ve 100 mL distile su içerisinde çözdürüldü.

2.1.4.4. İndirgenmiş Glutatyon Tayininde Kullanılan Çözeltiler

- Çöktürücü çözelti: 1,67 g metafosforik asit, 0,2 g dipotasyum etilendiamin tetraasetik asit ve 30 g NaCl tartılarak 100 mL'lik balon jöje içerisine aktarıldı. Bir miktar distile su ile iyice çözdürüldükten sonra hacim 100 mL'ye tamamlandı.
- Disodyum hidrojen fosfat çözeltisi: 42,59 g Na₂HPO₄ tartılarak 1 L'lik balon jøjeye konuldu. Üzerine bir miktar distile su eklenip çözdürüldükten sonra hacim 1 L'ye tamamlandı.
- Sodyum sitrat çözeltisi: 1 g sodyum sitrat 100 mL'lik balon jöje içerisine alınarak önce bir miktar distile su ile çözdürüldükten sonra hacim 100 mL'ye tamamlandı.
- Dinitro-5,5'-ditiyo-bis-dibenzoik asit (DTNB) çözeltisi: 40 mg DTNB tartılarak 100 mL'lik balon jøjeye konulur üzerine bir miktar sodyum sitrat çözeltisi eklenerek çözünmesi sağlandıktan sonra sodyum sitrat çözeltisi ile hacim 100 mL'ye tamamlandı.
- Standart indirgenmiş glutatyon (GSH) çözeltisi: 40 mg GSH 100 mL'lik balon jöje içerisine alınarak önce bir miktar distile su ile çözdürüldükten sonra hacim 100 mL'ye tamamlandı.

2.2. Yöntem

2.2.1. Rat Yeminin Organik Fosforlu İnektisid Yönünden Analizi

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

2.2.2. Tip 1 Diabetes Mellitus Modelinin Oluşturulması

Deneysel Tip 1 DM oluşturmak için STZ kullanılmıştır. Tip 1 DM oluşturulacak ratlar STZ enjeksiyonundan önce bir gece (12 saat) aç bırakıldı. Sodyum sitrat tamponunda (pH 4,5) taze hazırlanmış STZ çözeltisinden 50 mg/kg olacak şekilde tek doz halinde Pİ enjeksiyonla verilerek deneysel Tip 1 DM oluşturuldu. Enjeksiyondan 48 saat sonra ve çalışma boyunca 1.hafta, 2.hafta, 3.hafta, 4.hafta ölçümden bir gece önce aç bırakılan ratların açlık kan şekeri (AKŞ) değerleri ölçüldü (Accu-Check Go, Roche).

AKŞ ölçümünde 250 mg/dL ve üzeri kan şekere sahip olan ratlarda Tip 1 DM olduğu kabul edildi (Cetto ve ark., 2000). STZ'inin etki tarzı göz önünde tutularak hipoglisemiyi önlemek için STZ enjeksiyonu yapılmış ratların içme sularına 24 saat boyunca % 5'lik glikoz eklendi (Kakkar ve ark., 1997).

2.2.3. Ön Çalışma: Çalışmada Kullanılacak Klorprifos Etil ve Likopen Dozunun Belirlenmesi

Diabetik ratlarda pestisid ile oluşturulan oksidatif hasarı ortaya koyan daha önce yapılmış hiçbir çalışmaya rastlanmadığı için, oluşabilecek muhtemel aksaklıkları tespit etmek amacıyla tez çalışmasına başlamadan önce ön çalışma yapılmıştır. Ön çalışma için ayrılan 8 ratın öncelikle 4'ü kullanıldı. Tip 1 DM modeli protokolü uygulanarak bu ratlarda Tip 1 DM oluşması sağlandı.

Mansour ve Mossa (2010), 4 hafta boyunca mısır yağında çözdürülerek oral gavaj ile verilen klorprifos etil'in ÖD₅₀'sinin 1/20'si (6,75 mg/kg) olan dozunun diabetik olmayan normal ratlarda ölüme yol açmaksızın oksidatif hasara, biyokimyasal ve histopatolojik değişikliklere neden olduğunu gösteren bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Ön çalışmada bu doz referans alınarak diabetik ratlara aynı şekilde uygulandı. Ön çalışmanın 2. gününde diabetik 2 ratta ölüm diğer 2'sinde ise şiddetli zehirlenme belirtileri gözlemlendi.

Yapılan literatür taramalarında klorprifos etil'in median dozu olarak kabul edilen ÖD₅₀'sinin 1/50'si (2,7 mg/kg) olan dozunun ön çalışmada kullanılması gerektiği düşünülerek, ön çalışma için ayrılan diğer 4 rata bu doz uygulandı (Wang ve ark., 2009). On gün süren uygulama sonunda deney hayvanlarında hiçbir ölüm gözlenmemiş olduğu için ana çalışmamızda da bu doz kullanılmıştır.

Duzguner ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada, STZ ile Tip 1 DM modeli oluşturdukları ratlara oral gavaj ile 10 mg/kg dozunda verdikleri likopenin antioksidan ve hipoglisemik etkilerini ortaya koymuşlardır. Ana çalışmada bu doz referans alınarak 4 hafta boyunca deney gruplarına uygulandı.

2.2.4. Deneysel Gruplar ve Çalışma Protokolü

On günlük bir adaptasyondan sonra ratlar her grupta 7 adet olacak şekilde toplam 8 gruba rastgele dağıtıldı. 28 günlük deneme süresince deneysel gruplara oral gavaj ile aşağıda belirtilen çalışma protokolü uygulandı.

- Kontrol grubu (K): 0,5 mL mısır yağı
- Diyabet grubu (D): Diyabet
- Klorprifos etil grubu (KP): 2,7 mg/kg klorprifos etil
- Likopen grubu (L): 10 mg/kg likopen
- D+KP: Diyabet + 2,7 mg/kg klorprifos etil
- D+L: Diyabet + 10 mg/kg likopen

- L+KP: 10 mg/kg likopen + 2,7 mg/kg klorprifos etil
- D+L+KP: Diyabet + 10 mg/kg likopen + 2,7 mg/kg klorprifos etil

2.2.5. Canlı Ağırlık ve Açlık Kan Şekeri Ölçümleri

Deney hayvanlarında Tip 1 DM modeli oluşturulduktan sonra 4 haftalık deney süresince kontrol ve deney gruplarındaki tüm ratların haftada bir canlı ağırlıkları ve AKŞ ölçümleri yapıldı. Ölçümler öncesinde 12 saat boyunca aç bırakılan ratların canlı ağırlıkları elektronik terazi ile ölçüldü ve sonrasında kuyruk venasından alınan 1 damla kan ile şeker ölçümleri Accu Check Go cihazı yardımıyla yapıldı.

2.2.6. Çalışmanın Sonlandırılması

Dört haftalık KP ve L uygulaması sonunda, 12 saat boyunca aç bırakılan ratlar 13 mg/kg ksilazin ve 87 mg/kg ketamin HCl enjeksiyonu ile anestezi altına alındı (Kaya, 2006). Daha sonra tekniğine uygun olarak göğüs kafesleri açıldı. Çalışır durumda iken kalpten 5 mL'lik enjektörlerle EDTA'lı ve antikoagülansız kuru tüplere ortalama 6-9 mL kan alınarak tüpler soğuk zincir altında zaman kaybetmeden laboratuvara getirildi.

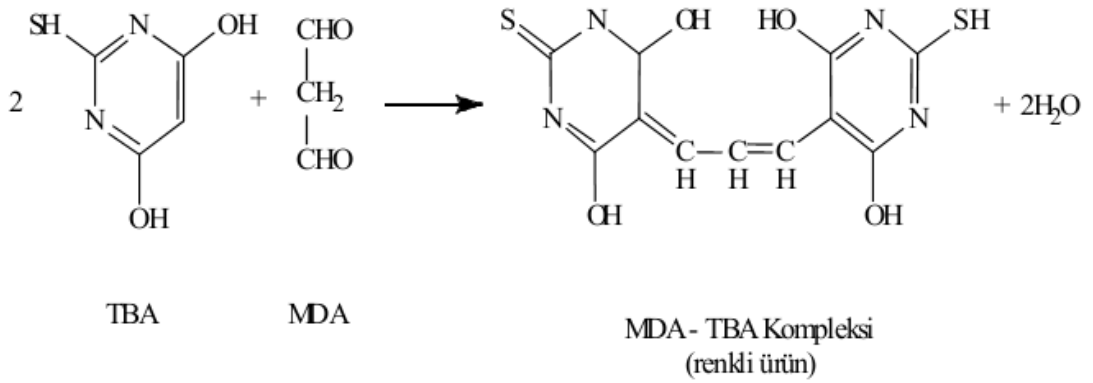
Antikoagülanlı tüplere alınan kan örneklerinin 1 mL'si MDA ve GSH düzeylerinin tayininde kullanılmak üzere hiçbir işleme tabi tutulmadan tam kan olarak ayrıldı ve aynı gün taze olarak çalışıldı. Geriye kalan kan örnekleri ise Nüve NF 1000 R model santrifüj cihazı ile 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Plazmalar 1,5 mL'lik ependorf tüplere alınarak analizler yapılmaya kadar -30°C'de saklandı. Antikoagülansız kuru tüplere alınan kan örnekleri de oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra santrifüj edilerek tüpün üstünde toplanan berrak serum numunesi ependorf tüplere aktarıldı ve analizler yapılmaya kadar -30°C'de 2 hafta saklandı.

Plazma örneklerinde SOD, CAT, GPx, insülin, AkE, NO analizleri yapıldı.

Serum örneklerinde ise AST, ALT, glikoz, TNF- α ve TAK analizleri gerçekleştirildi.

2.2.7. Malondialdehid Düzeyi Ölçümü

Deneyin prensibi: LPO ürünlerinden olan MDA düzeyi ölçümü, Draper ve Hadley'in (1990) çift kaynatmalı tiyobarbitürik asit reaktivitesi metodu esasına dayanır. MDA, aerobik şartlarda tiyobarbitürik asit (TBA) ile 95°C'de inkübasyonu sonucu pembe renkli kompleks oluşturur (Şekil 2.1). Bu kompleksin absorbansı spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda okunur.



Şekil 2.1 Malondialdehidin tiyobarbitürik asit ile reaksiyonu ve oluşan renkli MDA-TBA kompleksinin yapısı (Draper ve Hadley, 1990)

Deneyin yapılışı: Tam kan örneklerinden alınan 0,5 mL numune, 2,5 mL % 10'luk TCA ile temiz vida kapaklı deney tüpünde karıştırılarak 95°C'de 15 dakika kaynatıldı. Daha sonra hemen soğutulularak 4°C'de 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Oluşan süpernatanttan 1 mL alındı ve üzerine % 67'lik TBA'den 0,5 mL eklenerek 15 dakika kaynatılıp hemen soğutuldu. Soğutmayı takiben oda sıcaklığına gelmesinin ardından spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda distile suya karşı absorbans değeri okundu. MDA-TBA kompleksinin 532 nm'deki ekstinksiyon katsayısından ($n=1,56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$) yararlanılarak elde edilen değerler sulandırma katsayısı ile çarpıldı ve nanomol/mL biriminde MDA miktarı belirlendi.

2.2.8. İndirgenmiş Glutasyon Düzeyi Ölçümü

Deneyin prensibi: Tam kanda GSH tayini Beutler ve ark.'nın (1963) metoduna göre yapıldı. Sistein, glutamik asit ve glisinden oluşan bir tripeptit olan GSH nerdeyse tamamı kandaki eritrositler içinde bulunur. EDTA'lı kanın distile su ile hazırlanan hemolizinde, sülfidril (-SH) grupları taşımayan tüm proteinler çöktürücü (presipitasyon) çözelti ile çöktürülür. GSH, elde edilen berrak sıvıda -SH gruplarının DTNB (5,5'-2-ditiyo-bis-nitrobenzoik asit) ile oluşturduğu sarı renkli kompleks, 412 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçülür.

Deneyin yapılışı: Tam kandan 0,2 mL alınarak deney tüpüne konuldu ve üzerine 1,8 mL distile su ilave edilerek hemoliz olabilmesi için iyice karıştırıldı. Çöktürücü çözeltinin 3 mL'si hızlıca eklenip karıştırıldı. 5 dk oda ısısında bekletildikten sonra kalın dereceli filtre kağıtlarından süzüldü. Süzüntüden sonraki işlemler Tablo 2.1'de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Tam kanda GSH analizinin yapılışı

	Kör	Örnek	Standart
Filtrat	-	2 mL	-
Standart	-	-	2 mL
Çöktürme Çözeltisi	1,2 mL	-	-
Distile su	0,8 mL	-	-
Na ₂ HPO ₄	8 mL	8 mL	8 mL
DTNB	1 mL	1 mL	1 mL

Tablo 2.1'de gösterilen işlemler yapıldıktan sonra spektrofotometrede 412 nm'de köre karşı standart ve örnek numunelerin absorbanları okundu. Sonuçlar mg/dl tam kan olarak hesaplandı.

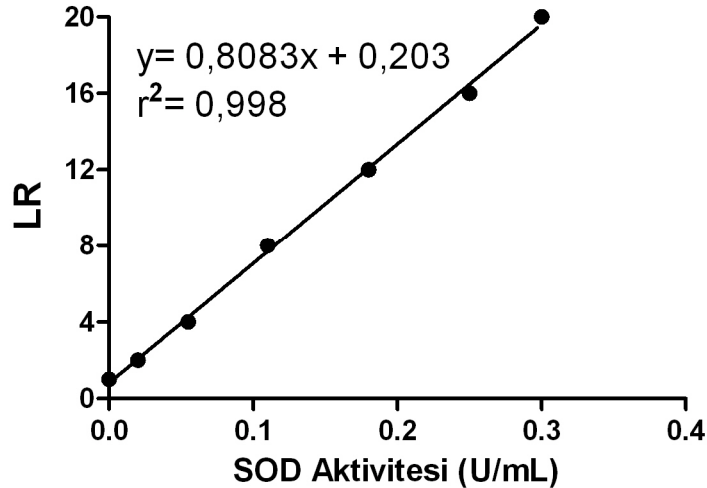
$$\text{GSH düzeyi mg/dl kan} = \text{Numune absorbanı} \times 40 \text{ mg/Standart absorbanı}$$

2.2.9. Süperoksid Dismutaz Aktivite Tayini

Antioksidan analizleri için hazırlanmış olan plazma örneklerinde SOD aktivitesinin belirlenmesi amacıyla Cayman Chemical SOD test kiti (Katalog No:706002, Cayman Chemical Comp., USA) kullanıldı.

Test prensibi: Cayman Chemical SOD kiti, ksantin oksidaz ve hipoksantin tarafından oluşturulan süperoksid radikallerinin izlenmesi için bir tetrazolyum tuzunu kullanır. Bir birim SOD, süperoksit radikalının % 50 dismutasyonunu engellemek için gerek duyulan enzim miktarı olarak tanımlanır.

Plazmada SOD aktivitesi tayini, standart olarak SOD kullanılarak hazırlanan ölçü eğrisi üzerinden hesaplandı. Standart ve örnek absorbanslarının birinci standardın absorbansına bölünmesi ile bulunan LR ve son SOD aktivitelerinden yararlanılarak çizilen SOD standart ölçü eğrisi Şekil 2.2’de verilmiştir. % 50 inhibisyona neden olan enzim miktarı 1 ünite kabul edilerek, örneklerin SOD aktiviteleri hesaplandı.



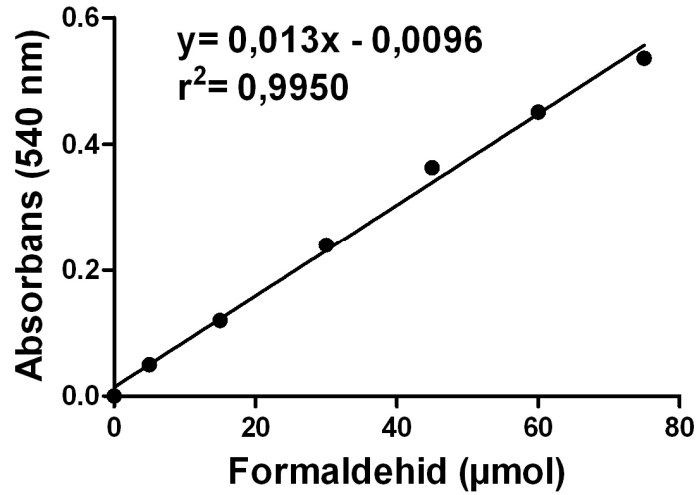
Şekil 2.2. SOD standart ölçü eğrisi

2.2.10. Katalaz Aktivite Tayini

Antioksidan analizleri için hazırlanmış olan plazma örneklerinde CAT aktivitesinin belirlenmesi amacıyla Cayman Chemical CAT test kiti (Katalog No:707002, Cayman Chemical Comp., USA) kullanıldı.

Test prensibi: Optimum konsantrasyondaki H_2O_2 'in varlığında metanol ile enzimin reaksiyonu sonucu formaldehid oluşur. Bu formaldehidin 4-amino-3-hidrazin-5-merkapt-1,2,4-triazol (Purpald) ile reaksiyonu sonucu oluşan rengin 540 nm dalga boyunda ölçülmesi prensibine dayanır.

Plazmada CAT aktivitesi tayini, standart olarak CAT kullanılarak hazırlanan ölçü eğrisi üzerinden hesaplandı. Formaldehid standartlarından yararlanılarak çizilen CAT standart ölçü eğrisi Şekil 2.3'de verilmiştir. Yirmi beş °C'de dakikada 1 nmol formaldehidin oluşumuna neden olan enzim miktarı 1 ünite kabul edilerek, örneklerin CAT aktivitelerinin değerleri hesaplandı.

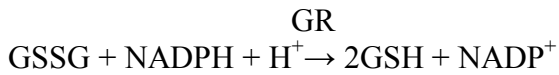
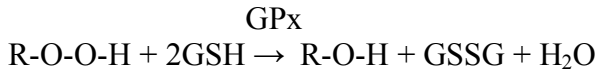


Şekil 2.3. CAT standart ölçü eğrisi

2.2.11. Glutasyon Peroksidaz Aktivite Tayini

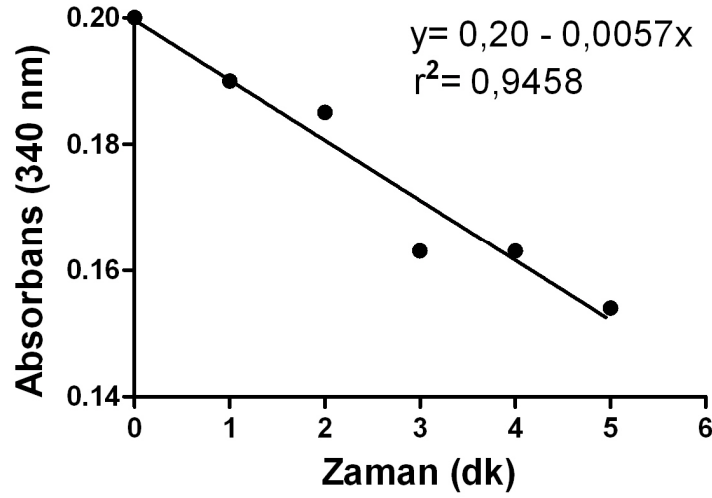
Antioksidan analizleri için hazırlanmış olan plazma örneklerinde GPx aktivitesinin belirlenmesi amacıyla Cayman Chemical GPx test kiti (Katalog No:703102, Cayman Chemical Comp., USA) kullanıldı.

Test prensibi: Cayman Chemical'ın GPx test kiti; glutasyon redüktaz (GR) ile birleştirilen bir reaksiyonla indirekt olarak GPx aktivitesini ölçer. GPx ile hidroperoksidin redüksiyonu üzerinde oluşturulan oksitlenmiş glutasyon (GSSG), GR ve NADPH ile kendi indirgenmiş haline döner.



NADPH'ın NADP⁺'ya oksidasyonu; 340 nm dalga boyundaki absorbansta bir azalmayla birlikte meydana gelir. GPx aktivitesinin hız sınırlayıcı olduğu şartlarda A₃₄₀'daki azalma hızı, örnekteki GPx aktivitesiyle direkt olarak doğru orantılıdır (Paglia ve Valentine, 1967).

Plazmada GPx aktivitesi tayini, sığır eritrosit GPx ölçü eğrisi üzerinden hesaplandı. Bu hesaplamada kullanılan sığır eritrosit GPx grafiği Şekil 2.4'de verilmiştir. Yirmi beş °C'de dakikada 1 nmol NADPH'ın NADP⁺'ye oksidasyonuna neden olan enzim miktarı 1 ünite kabul edilerek, örneklerin GPx aktivitelerinin değerleri hesaplandı.



Şekil 2.4. Sığır eritrosit GPx ölçü eğrisi

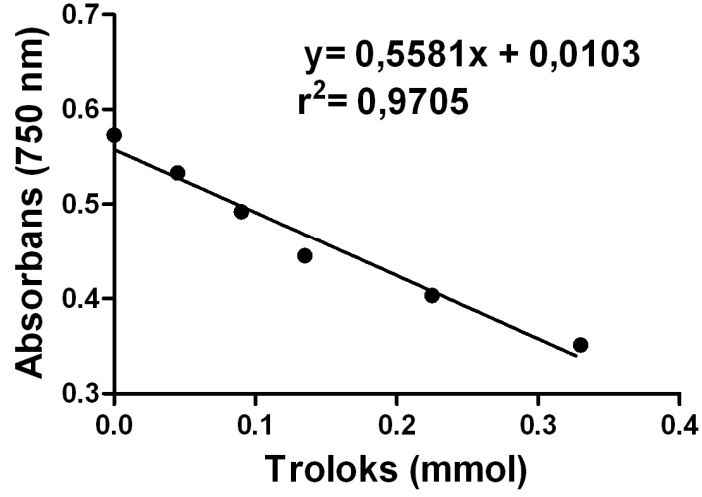
2.2.12. Total Antioksidan Kapasite Tayini

Antioksidan analizleri için hazırlanmış olan serum örneklerinde TAK düzeyinin belirlenmesi amacıyla Cayman Chemical Antioksidan test kiti (Katalog No:709001, Cayman Chemical Comp., USA) kullanıldı.

Test prensibi: Bu test, örnekteki antioksidanların metmyoglobulin aracılığıyla ABTS'nin (2,2'-Azino-di-[3-etil benztiazolin sülfonat]) ABTS⁺ya oksidasyonunu engelleyebilmeleri esasına dayanır. Oluşan ABTS⁺ miktarının absorbansı, 750 nm dalga boyunda okunur. Bu tepkime sonucunda örnekteki antioksidanlar, konsantrasyonları ile doğru orantılı bir şekilde 750 nm dalga boyundaki absorbansın bastırılmasına sebep olurlar (Miller ve ark., 1993). ABTS'nin oksidasyonunu önlemek için örnekteki antioksidanların kapasitesi; suda çözülebilir bir tokoferol analogu olan Troloksun kapasitesi ile karşılaştırılır ve mmol Troloks eşdeğeri olarak ifade edilir.

Serum örneklerinde TAK tayini, Trolox standart eğrisi kullanılarak hesaplandı. Troloks standartlarından yararlanılarak çizilen Troloks standart ölçü eğrisi Şekil

2.5'de verilmiştir.

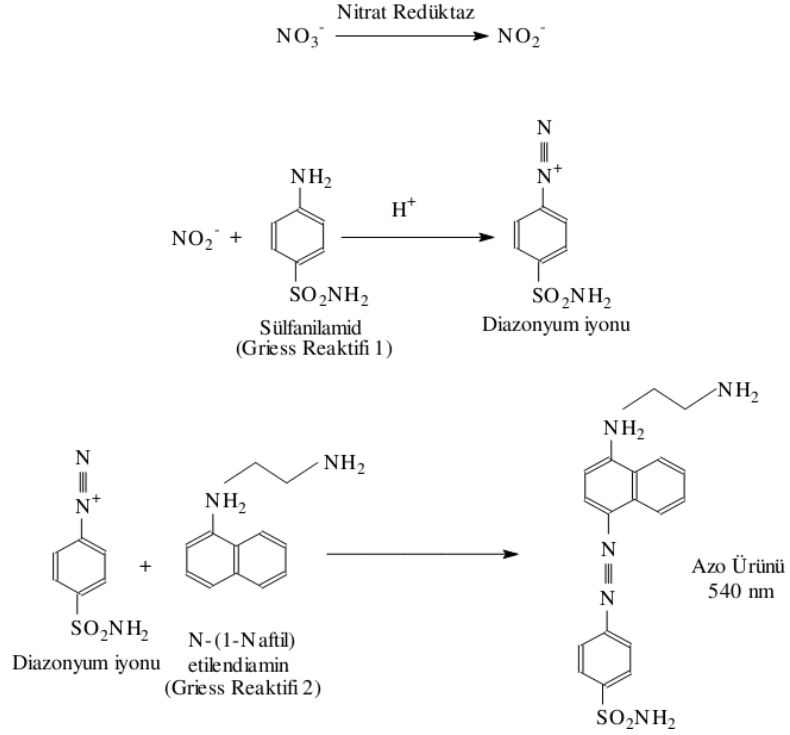


Şekil 2.5. Troloks standart ölçü eğrisi

2.2.13. Nitrik Oksit Düzeyi Tayini

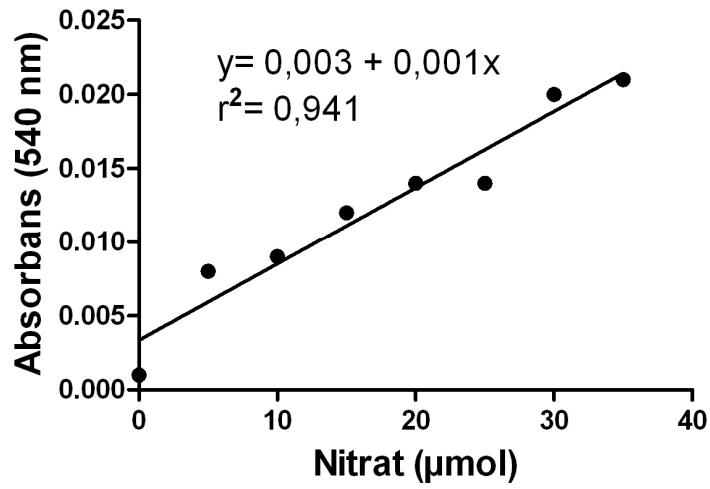
Plazma örneklerinde NO düzeyinin belirlenmesi amacıyla Cayman Chemical Nitrat/Nitrit kolorimetrik test kiti (Katalog No:780001, Cayman Chemical Comp., USA) kullanıldı.

Test prensibi: NO'nun yarı ömrü çok kısadır. Saniyeler içinde ortamdaki oksijen ile reaksiyona girerek, nitrat (NO_3^-) ve nitrit (NO_2^-) iyonlarına dönüşür. NO ölçümü, son ürünler olan nitrit ve nitrat konsantrasyonlarının iki basamakta ölçülmesi esasına dayanır. İlk basamakta nitrat redüktaz kullanılarak nitrat, nitrit formuna dönüştürülür. İkinci basamakta üretilen nitrit miktarının, Griess reaktifleri diazotizasyonu ile reaksiyonu sonucu oluşan koyu pembe renkli azo bileşiklerine dönüşümü sağlanır. Bu renk verici azo bileşiklerine bağlı absorbansın fotometrik ölçümü, tam olarak nitrit konsantrasyonunu belirler (Şekil 2.6) (Green ve ark., 1982).



Şekil 2.6. Griess reaksiyonu (Green ve ark., 1982)

Plazma örneklerinde NO düzeyi, nitrat standart eğrisi kullanılarak hesaplandı. Nitrat standartlarından yararlanılarak çizilen nitrat standart ölçü eğrisi Şekil 2.7’de verilmiştir.



Şekil 2.7. Nitrat standart ölçü eğrisi

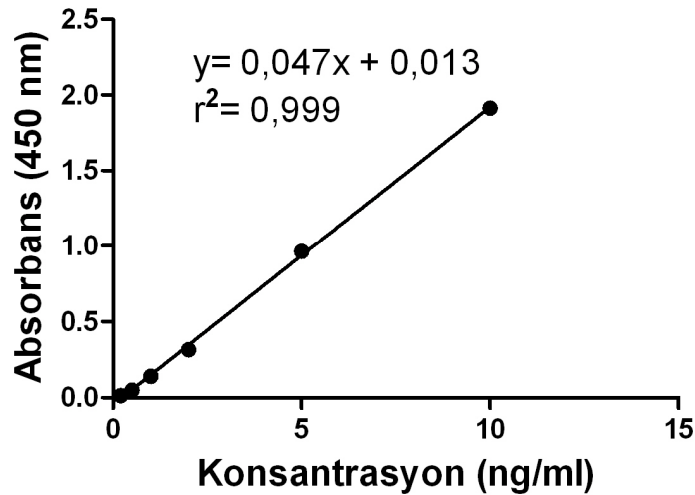
2.2.14. İnsülin ve Glikoz Düzeyleri Tayini

İnsülin düzeyleri ratların kan plazması örneklerinde ELISA yöntemiyle spesifik kitlerle (Millipore, USA, Kat. #EZRMI-13K) ölçüldü.

Test prensibi: Bu test, sandviç prensibine dayanan bir ELISA tekniğidir. Sırasıyla;

1. Monoklonal anti-rat insülin antikorları ile kaplı mikropleyt kuyucuklarına örnekteki insülin tutunur ve yakalanan insüline biyotinlenmiş poliklonal antikorlar bağlanır,
2. Bağlı olmayan materyal yıkanarak uzaklaştırılır,
3. Hareketsizleştirilmiş biyotinli antikorlara horseradish peroksidaz (HRP) bağlanır,
4. Serbest enzim konjugatları yıkanarak uzaklaştırılır,
5. 3,3',5,5'-tetrametilbenzidin substratı varlığında, HRP aktivitesi ile hareketsizleştirilmiş antikor-enzim konjugatının miktarı belirlenir.

Plazma örneklerinde insülin düzeyi, insülin standart eğrisi kullanılarak hesaplandı. İnsülin standartlarından yararlanılarak çizilen insülin standart ölçü eğrisi Şekil 2.8'de gösterilmiştir.



Şekil 2.8. İnsülin standart ölçü eğrisi

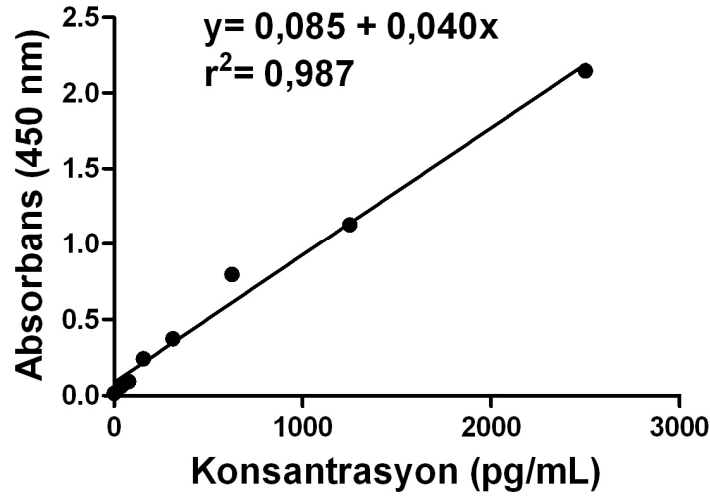
Glikoz düzeyi serum örneklerinde ticari kit (Katalog no: 04657527, Roche Diagnostic, Almanya) kullanılarak otoanalizörde (Roche Cobas C111, Almanya) ölçüldü. Serum örneklerindeki glikoz düzeyi ise mg/dL olarak belirlendi.

2.2.15. TNF- α Düzeyi Tayini

TNF- α düzeyleri ratların serum örneklerinde ELISA yöntemiyle spesifik kitlerle (BenderMedsystems, Avusturya, Rat TNF- α :BMS622) ölçüldü.

Test prensibi: ELISA pleyti üzerindeki kuyucuklara adsorbe edilmiş anti-rat TNF- α kaplı antikora örnek veya standartta bulunan rat TNF- α bağlanır. Daha sonra biyotinle konjuge edilmiş anti-rat TNF- α antikor eklenir. İlk antikor tarafından yakalanmış rat TNF- α 'yı bağlar. İnkübasyondan sonra, yıkama aşamasında bağlanamayan biyotinle konjuge edilmiş anti-rat TNF- α uzaklaştırılır. Streptavidin-HRP eklenerek, biyotinle konjuge edilmiş anti-rat TNF- α 'ya bağlanması sağlanır. İnkübasyonu takiben, bağlanamayan Streptavidin-HRP yıkama ile uzaklaştırılır ve HRP ile reaktif olan substrat solüsyonu kuyucuklara eklenir. Örnekteki veya standarttaki rat TNF- α miktarına ve oranına göre renkli bir ürün oluşur. Asit eklenerek reaksiyona son verilir ve 450 nm dalga boyunda pleyt okuyucusu kullanılarak absorbans değerleri ölçülür.

Serum örneklerinde TNF- α düzeyi, TNF- α standart eğrisi kullanılarak hesaplandı. TNF- α standartlarından yararlanılarak çizilen TNF- α standart ölçü eğrisi Şekil 2.9'da gösterilmiştir.



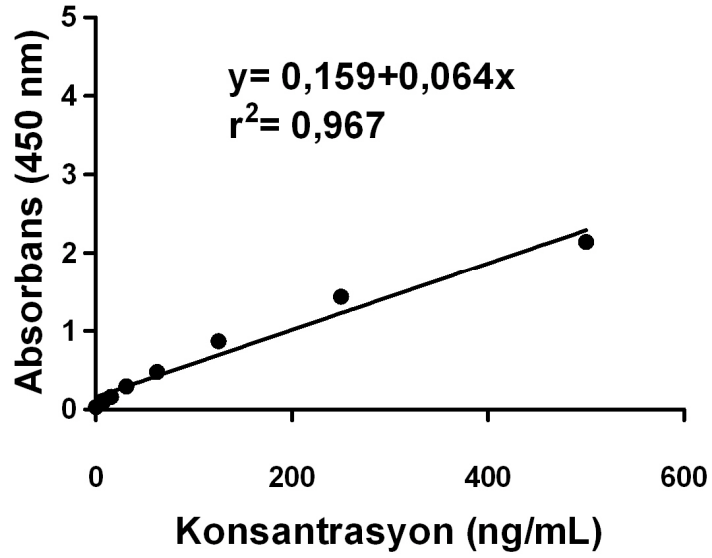
Şekil 2.9. TNF- α standart ölçü eğrisi

2.2.16. Asetilkolin Esteraz Düzeyi Tayini

AkE düzeyleri ratların plazma örneklerinde ELISA yöntemiyle spesifik kitlerle (Cusabio Biotech Co.,Ltd., Çin, Rat AkE, Kat no: CSB-E11304r) ölçüldü.

Test prensibi: Bu kit içerisinde bulunan pleyt, AkE'a spesifik bir antikor ile kaplıdır. ELISA pleyti üzerindeki kuyucuklara adsorbe edilmiş AkE'a spesifik antikorlar, örnek veya standartta bulunan AkE'a bağlanır. Bağlanamayan maddeler uzaklaştırıldıktan sonra biyotinle konjuge edilmiş AkE'a spesifik rat antikoruna eklenir. Yıkamadan sonra, avidinle konjuge edilmiş HRP kuyucuklarına eklenir. Yıkama ile bağlanamayan avidin-enzim reaktifi uzaklaştırılır ve daha sonra kuyucuklara substrat solüsyonu eklenir. İlk etapta bağlanan AkE miktarıyla doğru orantılı bir şekilde renk bir ürün oluşur. Sülfürik asit eklenerek reaksiyona son verilir. Absorbans değerleri 450 nm dalga boyunda pleyt okuyucusu kullanılarak ölçülür.

Plazma örneklerinde AkE düzeyi, AkE standart eğrisi kullanılarak hesaplandı. AkE standartlarından yararlanılarak çizilen AkE standart ölçü eğrisi Şekil 2.10'da verilmiştir.



Şekil 2.10. AkE standart ölçü eğrisi

2.2.17. AST ve ALT Düzeyleri Tayini

AST ve ALT düzeyleri serum örneklerinde ticari kitle (Katalog no: 04657543, AST otoanalizör kiti, Roche Diagnostic, Almanya; Katalog no: 04718569, ALT otoanalizör kiti, Roche Diagnostic, Almanya) kullanılarak otoanalizörde (Roche Cobas C111, Almanya) ölçüldü. Serum örneklerdeki AST ve ALT düzeyleri U/L olarak belirlendi.

2.3. İstatistik Analiz

Araştırmadan elde edilen sonuçlar, SPSS 11,5 (2002) istatistik paket programında tek yönlü ANOVA testi uygulanarak yapılmıştır. İstatistiki fark bulunan sonuçlara Duncan testi uygulanmış, veriler "ortalama \pm standart sapma" olarak ifade edilmiştir ($X \pm SD$). İstatistiki anlamlılık için $p < 0,05$ kabul edilmiştir.

3. BULGULAR

Deneysel Tip 1 DM modeli başarıyla oluşturulmuş, sonrasında deney gruplarına belirtilen çalışma protokolleri uygulanmıştır. Çalışmanın sonlandırılmasıyla deney hayvanlarından elde edilen tam kan, plazma ve serum örneklerinde laboratuvar analizleri yapılmış ve sonuçların istatistikî analizleri gerçekleştirilmiştir. Çalışmadan elde edilen bulgular aşağıda sunulmuştur.

3.1. Rat Yeminin Organik Fosforlu İnsektisid Yönünden Analizi

LC-MS/MS cihazı ile yapılan analizler neticesinde standart rat yeminde organik fosforlu insektisid kirliliği gözlenmedi.

3.2. Canlı Ağırlık Düzeyleri

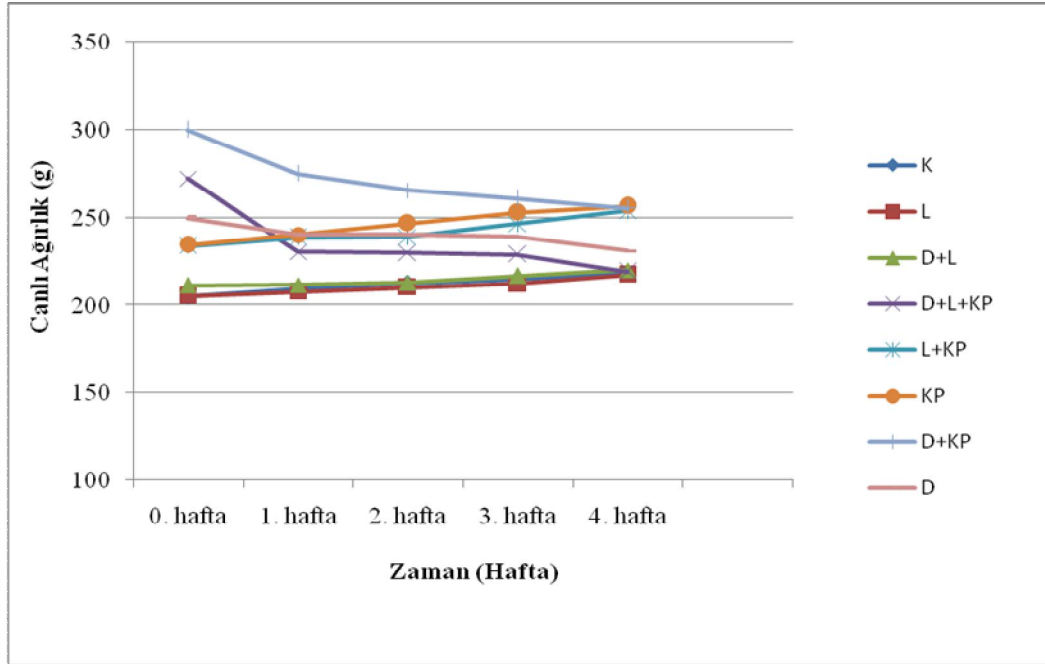
Deney hayvanlarında Tip 1 DM modeli oluşturulduktan sonra 4 haftalık deney süresince kontrol ve deney gruplarındaki tüm ratların haftada bir canlı ağırlıkları ölçülmüştür. Çalışma süresince ratlara ait ağırlık değişimleri ve istatistikî analizleri Tablo 3.1 ve Şekil 3.1'de gösterilmiştir.

Haftalara göre grup içi canlı ağırlık değişimleri incelendiğinde, D+KP ve D+L+KP gruplarının 1. haftadaki canlı ağırlık düzeylerinin çalışmanın başlangıcında ölçülen canlı ağırlık düzeylerine göre istatistikî anlamda ($p<0,05$) düştüğü, 1. haftadan çalışmanın sonuna kadar haftalık ölçülen canlı ağırlık düzeylerinde ise bir azalma olsa da, bu azalmanın istatistiksel anlamda bir önemi olmadığı gözlemlendi. Bu iki grup dışındaki diğer gruplarda ise haftalara göre canlı ağırlık değişimlerinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır.

Tablo 3.1. Haftalara göre canlı ağırlık değişimleri

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

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

**Şekil 3.1.** Haftalara göre canlı ağırlık değişimleri

3.3. Açlık Kan Şekeri Düzeyleri

Deney hayvanlarında Tip 1 DM modeli oluşturulduktan sonra 4 haftalık deney süresince kontrol ve deney gruplarındaki tüm ratların haftada bir AKŞ düzeyleri ölçülmüştür. Çalışma süresince ratlara ait AKŞ değişimleri ve istatistiki analizleri Tablo 3.2 ve Şekil 3.2’de gösterilmiştir.

D+KP ve KP gruplarının ortalama AKŞ düzeylerinin çalışmanın başlangıcından sonuna kadar olan 4 haftalık sürede kademeli olarak artış gösterdiği görülmektedir. D+KP grubunda çalışmanın başlangıcına göre 2. haftadan itibaren bu artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). KP grubunda ise 4. haftadaki artışın diğer haftalara göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) olduğu belirlenmiştir.

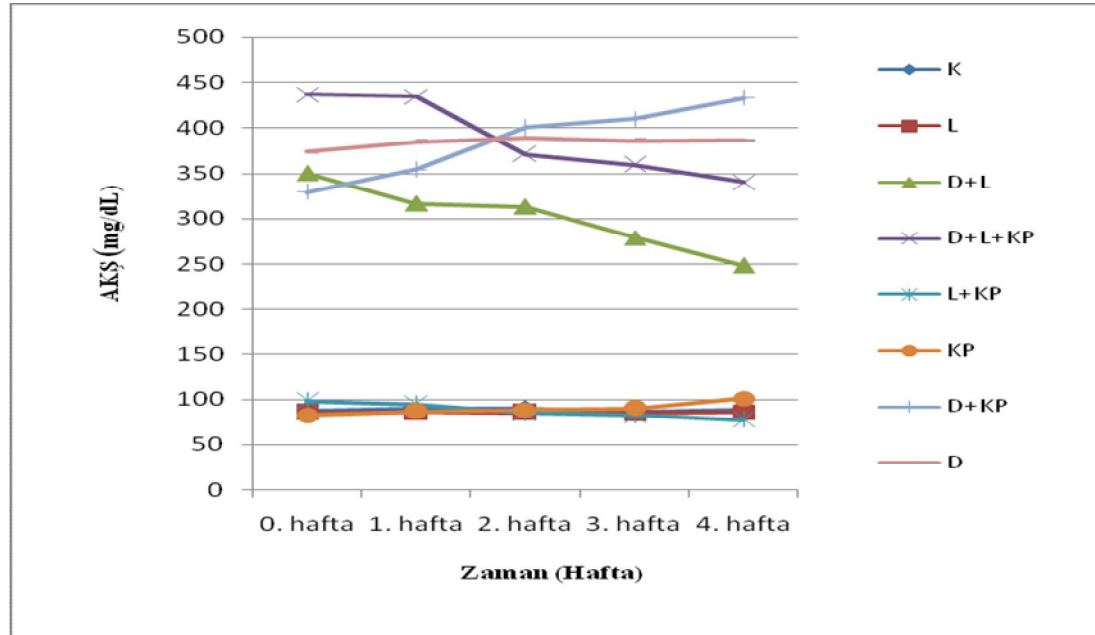
D, D+KP ve KP gruplarına likopen verilmesinin çalışmanın başlangıcında ölçülen ortalama AKŞ düzeylerini önemli ($p<0,05$) oranda düşürdüğü saptanmıştır. D+L grubunda çalışmanın başlangıcına göre 3. haftadan itibaren bu düşüşün istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) olduğu belirlenmiştir. D+L+KP ve L+KP gruplarında ise çalışmanın başlangıcına göre 2. haftadan itibaren bu düşüşün istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) olduğu tespit edilmiştir.

K, L ve D gruplarının ise ortalama AKŞ düzeylerinin çalışmanın başlangıcından sonuna kadar olan 4 haftalık sürede istatistikî anlamda değişmediği gözlenmiştir.

Tablo 3.2. Haftalara göre açlık kan şekeri değişimleri

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

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

**Şekil 3.2.** Haftalara göre açlık kan şekeri değişimleri

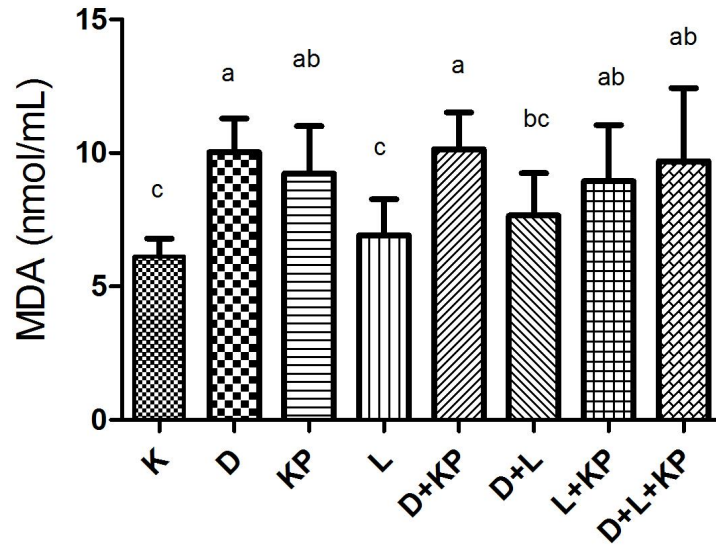
3.4. MDA Düzeyleri

Ratlardan elde edilen tam kanda MDA düzeylerine bakılmıştır. Elde edilen veriler Tablo 3.3 ve Şekil 3.3'te gösterilmiştir.

Tablo 3.3. MDA düzeyleri

Gruplar	n	MDA (nmol/mL)
K	7	6,12 ± 0,68 ^c
D	7	10,03 ± 1,26 ^a
KP	7	9,23 ± 1,78 ^{ab}
L	7	6,92 ± 1,35 ^c
D+KP	7	10,15 ± 1,37 ^a
D+L	7	7,65 ± 1,59 ^{bc}
L+KP	7	8,95 ± 2,09 ^{ab}
D+L+KP	7	9,70 ± 2,73 ^{ab}

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



Şekil 3.3. MDA düzeyleri

MDA düzeyleri bakımından gruplar karşılaştırıldığında D ve D+KP gruplarının en yüksek MDA düzeyine sahip oldukları, KP ve L+KP grupları haricinde diğer gruplarla aralarında istatistikî açıdan önemli ($p<0,05$) bir fark olduğu ancak kendi aralarında istatistikî açıdan herhangi bir fark oluşmadığı belirlenmiştir. K ve L gruplarının ise en düşük MDA düzeyine sahip oldukları, kendi aralarında istatistikî açıdan herhangi bir fark oluşmadığı gözlenmiştir. D grubuna likopen verilmesi (D+L), D grubunda yükselmiş olan MDA düzeyini anlamlı ($p<0,05$) şekilde azaltmış olup, K grubu düzeyine yaklaştırdığı gözlenmiştir. D+KP grubuna likopen verilmesi, D+KP grubuna kıyasla MDA düzeyini azaltsa da aralarında istatistikî açıdan bir önemlilik yoktur. KP grubuna likopen verilmesi, KP grubuna göre MDA düzeylerini azaltsa da aralarında istatistikî açıdan herhangi bir fark oluşmadığı belirlenmiştir. KP ve L+KP grupları ile K grubu arasındaki fark istatistikî açıdan anlamlı ($p<0,05$) bulunmuştur.

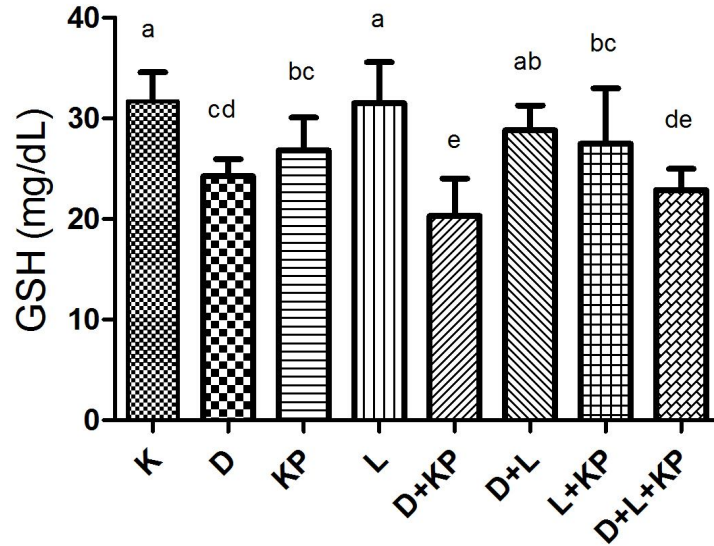
3.5. GSH Düzeyleri

Ratlardan elde edilen tam kanda GSH düzeylerine bakılmıştır. Elde edilen veriler Tablo 3.4 ve Şekil 3.4'te gösterilmiştir.

Tablo 3.4. GSH düzeyleri

Gruplar	n	GSH (mg/dl)
K	7	31,72 ± 2,87 ^a
D	7	24,24 ± 1,70 ^{cd}
KP	7	26,82 ± 3,26 ^{bc}
L	7	31,50 ± 4,07 ^a
D+KP	7	20,33 ± 3,68 ^e
D+L	7	28,82 ± 2,48 ^{ab}
L+KP	7	27,47 ± 5,52 ^{bc}
D+L+KP	7	22,90 ± 2,07 ^{de}

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



Şekil 3.4. GSH düzeyleri

GSH düzeyleri bakımından gruplar kıyaslandığında K ve L gruplarının en yüksek GSH düzeyine sahip oldukları, D+L grubu hariç diğer gruplarla aralarında istatistikî açıdan önemli ($p<0,05$) bir fark oluştuğu ancak kendi aralarında istatistikî açıdan herhangi bir fark oluşmadığı belirlenmiştir. D+KP grubu, en düşük GSH düzeyine sahip gruptur. Bu gruba likopen verilmesiyle GSH düzeyinin yükseldiği ancak D+KP ve D+L+KP grupları istatistikî açıdan herhangi bir fark oluşmadığı gözlenmiştir. Benzer şekilde likopen verilen KP grubunda (L+KP) KP grubuna kıyasla GSH düzeylerinde bir yükselme olduğu ancak bunun istatistiksel olarak bir anlam ifade etmediği belirlenmiştir. D grubuna likopen verilmesi (D+L) ise D grubuna göre GSH düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) şekilde yükseltmiş hatta K grubu GSH düzeylerine yaklaştırmıştır.

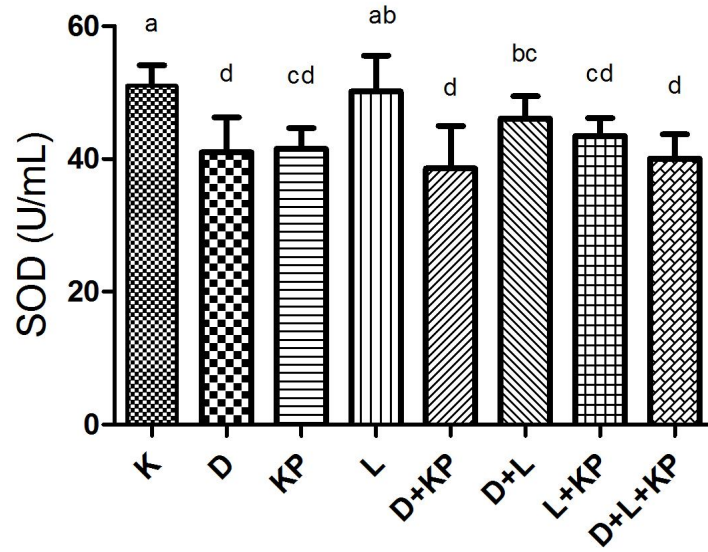
3.6. SOD Aktivite Düzeyleri

Ölçülen SOD aktiviteleri sonucu elde edilen veriler Tablo 3.5 ve Şekil 3.5’de gösterilmiştir.

Tablo 3.5. SOD aktivite düzeyleri

Gruplar	n	SOD (U/mL)
K	7	51,03 ± 3,11 ^a
D	7	41,00 ± 5,29 ^d
KP	7	41,52 ± 3,15 ^{cd}
L	7	50,18 ± 5,40 ^{ab}
D+KP	7	38,57 ± 6,40 ^d
D+L	7	46,06 ± 3,41 ^{bc}
L+KP	7	43,45 ± 2,70 ^{cd}
D+L+KP	7	40,06 ± 3,65 ^d

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



Şekil 3.5. SOD aktivite düzeyleri

SOD düzeyleri bakımından gruplar kıyaslandığında K ve L gruplarının en yüksek SOD düzeylerine sahip oldukları, bu grupların kendi aralarında ve aynı zamanda L ile D+L grupları arasında istatistiksel anlamda önemli bir fark olmadığı gözlenmiştir. D+KP grubunun ise en düşük SOD düzeyine sahip olduğu ve bu grup ile D+KP+L, D, KP ve L+KP grupları arasında ve bu grupların kendi aralarında istatistiksel anlamda önemli bir fark olmadığı belirlenmiştir. D, D+L, KP, L+KP, D+KP ve D+L+KP grupları ile K grupları arasında istatistiksel anlamda ($p<0,05$) bir fark bulunmuştur. Likopen verilen diyabetli ratlar (D+L) ile D grubu arasında SOD düzeylerini bakımından istatistiksel anlamda ($p<0,05$) fark oluşmuş, D+L grubunun SOD düzeyleri L grubu düzeylerine yaklaşmıştır. Likopen verilen KP grubunda (L+KP) ise KP grubuna kıyasla SOD düzeylerinde bir yükselme olduğu ancak bunun istatistiksel olarak bir anlam ifade etmediği belirlenmiştir.

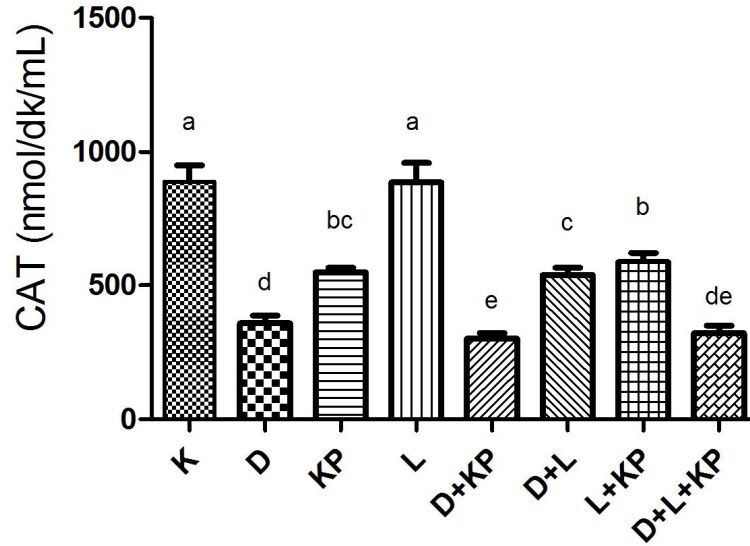
3.7. CAT Aktivite Düzeyleri

Ölçülen CAT aktiviteleri sonucu elde edilen veriler Tablo 3.6 ve Şekil 3.6'da gösterilmiştir.

Tablo 3.6. CAT aktivite düzeyleri

Gruplar	n	CAT (nmol/dk/mL)
K	7	889,46 ± 60,94 ^a
D	7	357,97 ± 28,84 ^d
KP	7	548,55 ± 17,08 ^{bc}
L	7	887,27 ± 71,70 ^a
D+KP	7	300,51 ± 21,35 ^e
D+L	7	537,93 ± 27,20 ^c
L+KP	7	589,82 ± 34,29 ^b
D+L+KP	7	320,37 ± 29,36 ^{de}

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



Şekil 3.6. CAT aktivite düzeyleri

CAT düzeyleri bakımından gruplar kıyaslandığında K ve L gruplarının en yüksek CAT düzeyine sahip oldukları, diğer gruplarla aralarında istatistiksel anlamda ($p<0,05$) bir fark oluştuğu ancak kendi aralarında istatistikî açıdan herhangi bir fark oluşmadığı belirlenmiştir. D+KP grubu, en düşük CAT düzeyine sahip gruptur. Likopen verilen D+KP grubunda, D+KP grubuna kıyasla CAT düzeylerinde bir yükselme olduğu ancak bunun istatistiksel olarak bir anlam ifade etmediği belirlenmiştir. Benzer şekilde likopen verilen KP grubunda (L+KP) KP grubuna kıyasla CAT düzeylerinde bir yükselme olduğu ancak bunun istatistiksel olarak bir anlam ifade etmediği belirlenmiştir. Likopen verilen D grubunda (D+L) D grubuna kıyasla CAT düzeylerinde bir yükselme olduğu ve aralarında istatistiksel anlamda ($p<0,05$) bir fark oluştuğu görülmüştür.

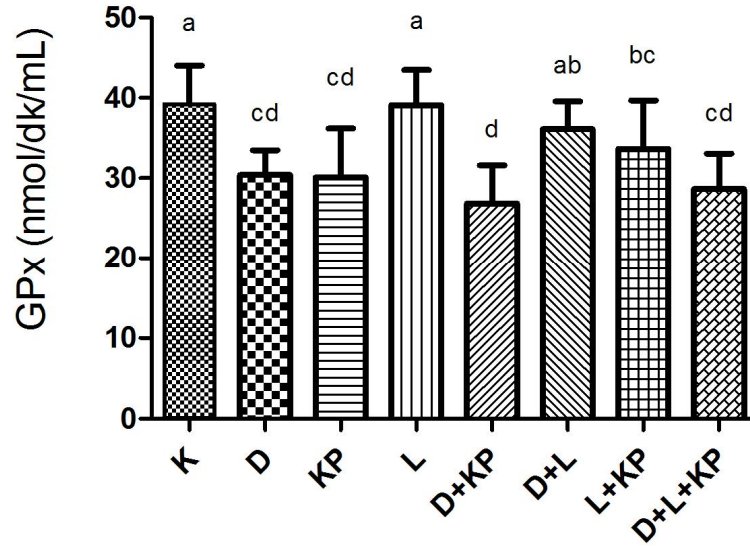
3.8. GPx Aktivite Düzeyleri

Ölçülen GPx aktiviteleri sonucu elde edilen veriler Tablo 3.7 ve Şekil 3.7’de gösterilmiştir.

Tablo 3.7. GPx aktivite düzeyleri

Gruplar	n	GPx (nmol/dk/mL)
K	7	39,23 ± 4,80 ^a
D	7	30,41 ± 3,05 ^{cd}
KP	7	30,12 ± 6,05 ^{cd}
L	7	39,10 ± 4,37 ^a
D+KP	7	26,85 ± 4,75 ^d
D+L	7	36,09 ± 3,46 ^{ab}
L+KP	7	33,65 ± 6,05 ^{bc}
D+L+KP	7	28,64 ± 4,41 ^{cd}

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



Şekil 3.7. GPx aktivite düzeyleri

GPx düzeyleri bakımından gruplar kıyaslandığında K ve L gruplarının en yüksek, D+KP grubunun ise en düşük GPx düzeyine sahip grup olduğu belirlenmiştir. K ve L gruplarının D+L grubu hariç diğer gruplarla aralarında istatistikî açıdan önemli ($p<0,05$) bir fark olduğu ancak K, L ve D+L grupları arasında istatistikî açıdan herhangi bir fark oluşmadığı belirlenmiştir. Aynı zamanda D+L+KP, D+KP, D ve KP gruplarının kendi aralarında da istatistikî anlamda bir fark olmadığı görülmüştür. Likopen verilen diyabetli ratlar (D+L) ile D grubu arasında GPx düzeylerini bakımından istatistiksel anlamda ($p<0,05$) fark oluşmuş, D+L grubunun GPx düzeyleri K ve L grubu düzeylerine kadar yükselmiştir. Likopen verilen KP grubunda (L+KP) ise KP grubuna kıyasla GPx düzeylerinde bir yükselme olduğu ancak bunun istatistiksel olarak bir anlam ifade etmediği belirlenmiştir.

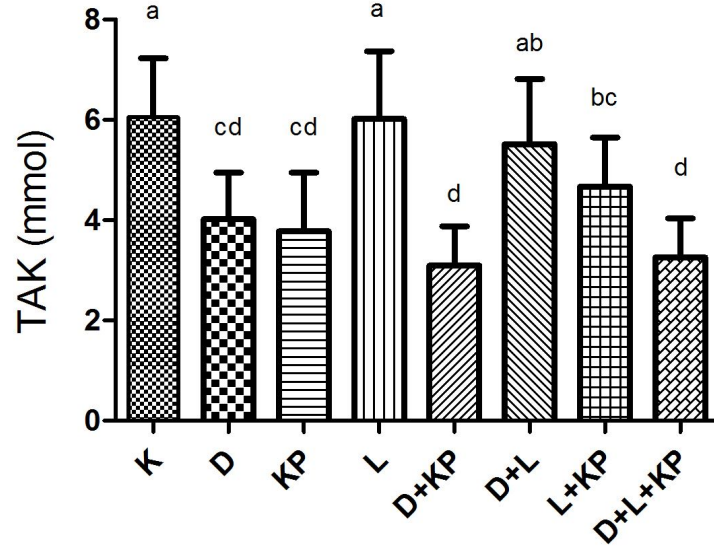
3.9. TAK Düzeyleri

Ölçülen TAK sonucu elde edilen veriler Tablo 3.8 ve Şekil 3.8’de gösterilmiştir.

Tablo 3.8. TAK düzeyleri

Gruplar	n	TAK (mM)
K	7	6,05 ± 1,18 ^a
D	7	4,02 ± 0,93 ^{cd}
KP	7	3,78 ± 1,17 ^{cd}
L	7	6,02 ± 1,35 ^a
D+KP	7	3,10 ± 0,78 ^d
D+L	7	5,52 ± 1,30 ^{ab}
L+KP	7	4,67 ± 0,98 ^{bc}
D+L+KP	7	3,26 ± 0,78 ^d

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



Şekil 3.8. TAK düzeyleri

TAK düzeyleri bakımından gruplar kıyaslandığında K ve L gruplarının yüksek TAK düzeylerine sahip gruplar olduğu, kendi aralarında ve bu gruplar ile D+L grubu arasında istatistikî açıdan herhangi bir fark oluşmadığı belirlenmiştir. K ve L grupları ile D+L hariç diğer gruplar arasında ise istatistiksel anlamda ($p<0,05$) bir fark olduğu tespit edilmiştir. D, KP, D+KP ve D+L+KP gruplarının ise TAK düzeylerinin düşük bulunduğu, bu grupların K grubu ile karşılaştırıldığında aralarında istatistikî açıdan önemli ($p<0,05$) bir fark oluştuğu ancak kendi aralarında istatistikî anlamda bir fark olmadığı görülmüştür. Likopen verilen diyabetli ratlar (D+L) ile D grubu arasında TAK düzeylerini bakımından istatistiksel anlamda ($p<0,05$) fark oluşmuş, D+L grubunun TAK düzeyleri K ve L grubu düzeylerine yaklaşmıştır. Likopen verilen KP grubunda (L+KP) ise KP grubuna kıyasla TAK düzeylerinde bir yükselme olduğu ancak bunun istatistiksel olarak bir anlam ifade etmediği belirlenmiştir.

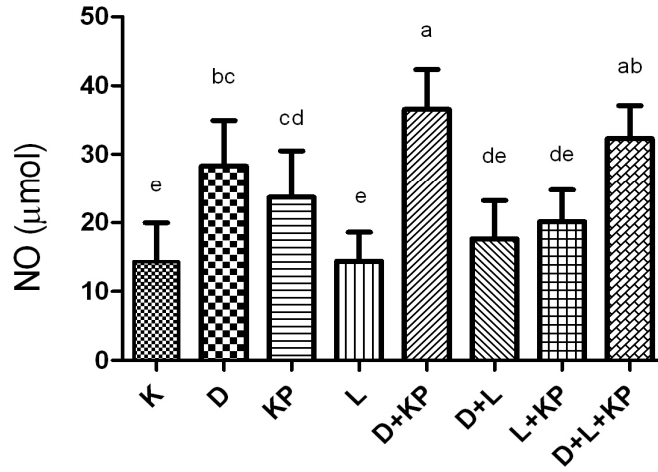
3.10. NO Düzeyleri

Ölçülen NO sonucu elde edilen veriler Tablo 3.9 ve Şekil 3.9’da gösterilmiştir.

Tablo 3.9. NO düzeyleri

Gruplar	n	NO (μmol)
K	7	14,31 \pm 5,66 ^e
D	7	28,30 \pm 6,65 ^{bc}
KP	7	23,69 \pm 6,82 ^{cd}
L	7	14,39 \pm 4,20 ^e
D+KP	7	36,56 \pm 5,78 ^a
D+L	7	17,63 \pm 5,60 ^{de}
L+KP	7	20,15 \pm 4,63 ^{de}
D+L+KP	7	32,30 \pm 4,82 ^{ab}

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



Şekil 3.9. NO düzeyleri

NO düzeyleri bakımından gruplar kıyaslandığında K ve L gruplarının en düşük NO düzeylerine sahip gruplar olduğu ve kendi aralarında istatistikî açıdan herhangi bir fark oluşmadığı belirlenmiştir. D+KP ise en yüksek NO düzeyine sahip gruptur ve K grubu ile karşılaştırıldığında aralarında istatistikî açıdan önemli ($p<0,05$) bir fark olduğu görülmüştür. Likopen verilen D+KP grubunda, D+KP grubuna kıyasla NO düzeylerinde bir azalma olduğu ancak bunun istatistiksel olarak bir anlam ifade etmediği görülmüştür. D ve KP gruplarında NO düzeylerinin K grubuna göre yükseldiği, bu yükselmenin istatistiksel anlamda ($p<0,05$) olduğu ancak D ve KP gruplarının kendi aralarında istatistiksel olarak önemli bir fark oluşmadığı tespit edilmiştir. Likopen verilen diyabetli ratlar (D+L) ile D grubu arasında NO düzeylerini bakımından istatistiksel anlamda ($p<0,05$) fark oluşmuş, D+L grubunun NO düzeyleri K ve L grubu düzeylerine kadar azalmıştır. D ve D+KP grupları aralarında istatistikî anlamda ($p<0,05$) fark oluşmuş, D+KP grubu NO düzeylerinin D grubuna kıyasla daha yüksek seviyede olduğu görülmüştür. Likopen verilen KP grubunda (L+KP) KP grubuna kıyasla NO düzeylerinde bir azalma olduğu ancak bunun istatistiksel olarak bir anlam ifade etmediği belirlenmiştir.

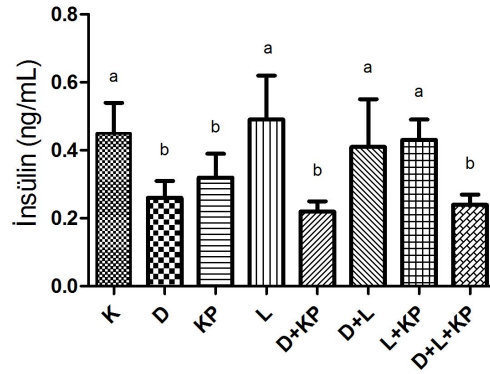
3.11. İnsülin ve Glikoz Düzeyleri

Ölçülen plazma insülin ve serum glikoz düzeyleri sonucu elde edilen veriler Tablo 3.10, Şekil 3.10 ve Şekil 3.11’de gösterilmiştir.

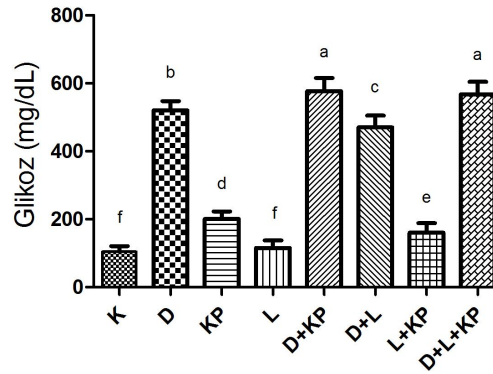
Tablo 3.10. İnsülin ve glikoz düzeyleri

Gruplar	n	İnsülin (ng/mL)	Glikoz (mg/dL)
K	7	0,45 ± 0,09 ^a	104,43 ± 16,90 ^f
D	7	0,26 ± 0,05 ^b	520,29 ± 27,15 ^b
KP	7	0,32 ± 0,07 ^b	200,67 ± 22,11 ^d
L	7	0,49 ± 0,13 ^a	115,43 ± 22,42 ^f
D+KP	7	0,22 ± 0,03 ^b	577,17 ± 38,43 ^a
D+L	7	0,41 ± 0,14 ^a	470,00 ± 34,98 ^c
L+KP	7	0,43 ± 0,06 ^a	160,29 ± 28,06 ^e
D+L+KP	7	0,24 ± 0,03 ^b	567,75 ± 36,37 ^a

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



Şekil 3.10. İnsülin düzeyleri



Şekil 3.11. Glikoz düzeyleri

Tablo 3.10'da da görüldüğü üzere gruplar arası insülin düzeyleri kıyaslandığında K, L, D+L ve L+KP grupları arasında ve D, KP, D+KP ve D+L+KP grupları arasında istatistikî bir fark oluşmadığı anlaşılmıştır. K grubu ile D, KP, D+KP ve D+L+KP grupları arasında istatistikî açıdan anlamlı ($p<0,05$) bir fark bulunmuştur. İnsülin düzeylerinin D+KP grubunda en az, L grubunda ise en yüksek olduğu görülmüştür. D grubu ile D+L grubu arasında, KP grubu ile de L+KP grubu arasında istatistikî anlamda ($p<0,05$) bir fark oluştuğu, likopenin plazma insülin düzeylerini K grubu seviyelerine kadar artırdığı belirlenmiştir.

Gruplar arasında glikoz düzeyleri kıyaslandığında K grubu ile L grubu ve D+KP ile D+L+KP grubu arasında istatistikî öneme sahip herhangi bir fark bulunmaz iken, L grubu dışındaki diğer gruplar ile K grupları arasında istatistikî anlamda ($p<0,05$) bir fark saptanmıştır. KP ve D gruplarındaki glikoz düzeylerinin K grubuna göre yüksek olduğu, kendi aralarında glikoz düzeyleri kıyaslandığında ise D grubundaki glikoz düzeyinin KP grubuna göre istatistikî anlamda ($p<0,05$) yüksek olduğu belirlenmiştir. Glikoz düzeylerinin K grubunda en düşük, D+KP grubunda ise en yüksek olduğu görülmüştür. KP grubu ile L+KP grubu arasında istatistikî anlamda ($p<0,05$) bir fark oluştuğu, likopenin serum glikoz düzeylerini KP grubuna göre düşürdüğü belirlenmiştir. Aynı zamanda D grubu ile D+L grubu arasında da istatistikî anlamda ($p<0,05$) bir fark oluştuğu, likopenin serum glikoz düzeylerini D grubuna göre düşürdüğü gözlenmiştir.

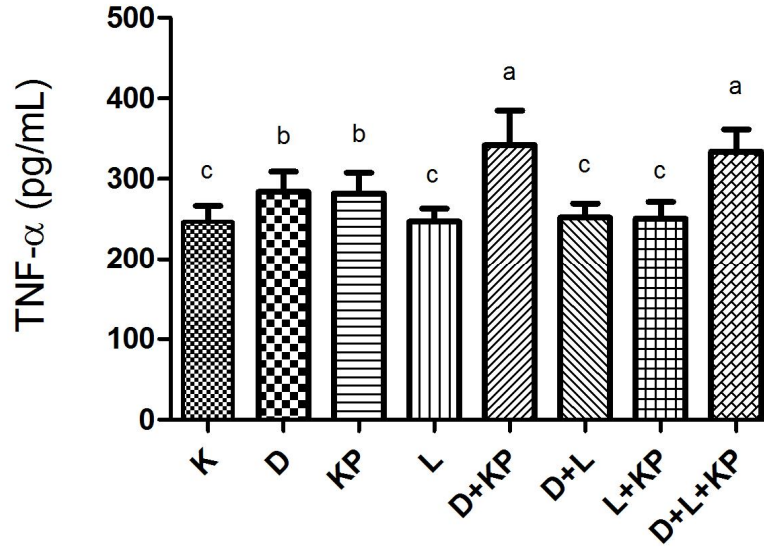
3.12. TNF- α Düzeyleri

Ölçülen TNF- α düzeyleri sonucu elde edilen veriler Tablo 3.11 ve Şekil 3.12’de gösterilmiştir.

Tablo 3.11. TNF- α düzeyleri

Gruplar	n	TNF- α (pg/mL)
K	7	246,51 \pm 19,77 ^c
D	7	283,79 \pm 25,03 ^b
KP	7	281,98 \pm 25,60 ^b
L	7	246,90 \pm 16,02 ^c
D+KP	7	341,67 \pm 43,03 ^a
D+L	7	251,83 \pm 17,48 ^c
L+KP	7	250,50 \pm 20,83 ^c
D+L+KP	7	334,13 \pm 27,26 ^a

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



Şekil 3.12. TNF- α düzeyleri

Tablo 3.11’de de görüldüğü üzere gruplar arası TNF- α düzeyleri kıyaslandığında K, L, D+L ve L+KP grupları arasında; D ve KP grupları arasında; aynı zamanda D+KP ve D+L+KP grupları arasında anlamlı bir istatistikî fark oluşmadığı anlaşılmıştır. K grubu ile D, KP, D+KP ve D+L+KP grupları arasında istatistikî açıdan anlamlı ($p<0,05$) bir fark bulunmuştur. TNF- α düzeylerinin D+KP grubunda en yüksek, K grubunda ise en düşük olduğu görülmüştür. D grubu ile D+L grubu arasında, KP grubu ile de L+KP grubu arasında istatistikî anlamda ($p<0,05$) bir fark oluştuğu, likopenin serum TNF- α düzeylerini K grubu seviyelerine kadar düşürdüğü belirlenmiştir.

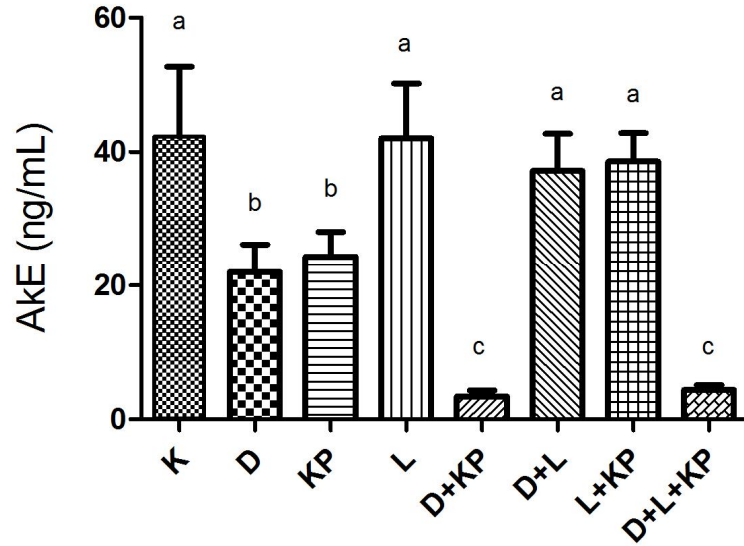
3.13. AkE Düzeyleri

Ölçülen AkE düzeyleri sonucu elde edilen veriler Tablo 3.12 ve Şekil 3.13’de gösterilmiştir.

Tablo 3.12. AkE düzeyleri

Gruplar	n	AkE (ng/mL)
K	7	42,25 ± 10,49 ^a
D	7	22,00 ± 4,19 ^b
KP	7	24,36 ± 3,69 ^b
L	7	42,02 ± 8,21 ^a
D+KP	7	3,44 ± 0,87 ^c
D+L	7	37,15 ± 5,55 ^a
L+KP	7	38,60 ± 4,24 ^a
D+L+KP	7	4,38 ± 0,72 ^c

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



Şekil 3.13. AkE düzeyleri

Tablo 3.12’de de görüldüğü üzere gruplar arası AkE düzeyleri kıyaslandığında K, L, D+L ve L+KP grupları arasında; D ve KP grupları arasında; aynı zamanda D+KP ve D+L+KP grupları arasında anlamlı bir istatistikî fark oluşmadığı anlaşılmıştır. K grubu ile D, KP, D+KP ve D+L+KP grupları arasında istatistikî açıdan anlamlı ($p<0,05$) bir fark bulunmuştur. AkE düzeylerinin K grubunda en yüksek, D+KP grubunda ise en düşük olduğu görülmüştür. D grubu ile D+L grubu arasında, KP grubu ile de L+KP grubu arasında istatistikî anlamda ($p<0,05$) bir fark olduğu, likopenin serum AkE düzeylerini K grubu seviyelerine kadar artırdığı belirlenmiştir.

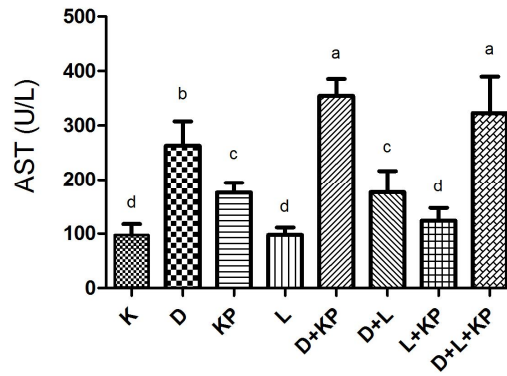
3.14. AST ve ALT Düzeyleri

Ratların serum AST ve ALT düzeyleri Tablo 3.13, Şekil 3.14 ve Şekil 3.15’de gösterilmiştir.

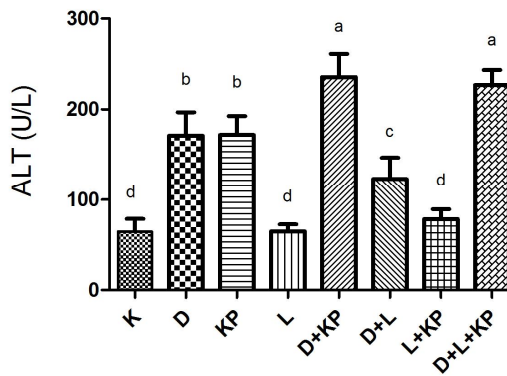
Tablo 3.13. AST ve ALT düzeyleri

Gruplar	n	AST (U/L)	ALT (U/L)
K	7	97,43 ± 20,26 ^d	64,71 ± 13,83 ^d
D	7	263,00 ± 44,63 ^b	171,00 ± 25,84 ^b
KP	7	176,00 ± 18,57 ^c	171,83 ± 20,87 ^b
L	7	97,57 ± 14,09 ^d	64,86 ± 7,88 ^d
D+KP	7	354,33 ± 31,32 ^a	235,50 ± 25,65 ^a
D+L	7	176,29 ± 40,29 ^c	123,14 ± 23,53 ^c
L+KP	7	123,86 ± 23,83 ^d	78,43 ± 11,04 ^d
D+L+KP	7	323,00 ± 66,96 ^a	226,88 ± 16,53 ^a

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



Şekil 3.14. AST düzeyleri



Şekil 3.15. ALT düzeyleri

Gruplar arasındaki AST düzeyleri kıyaslandığında K, L ve L+KP grupları arasında, D+L ile KP grupları arasında ve aynı zamanda D+KP grubu ile D+L+KP grubu arasında istatistikî öneme sahip herhangi bir fark saptanamamıştır. K grubu ile D+L, KP, D, D+KP ve D+L+KP grupları arasında istatistikî açıdan anlamlı ($p<0,05$) bir fark bulunmuştur. AST düzeylerinin K grubunda en düşük, D+KP grubunda ise en yüksek olduğu görülmüştür. D grubu ile D+L grubu arasında istatistikî anlamda ($p<0,05$) bir fark olduğu, likopenin serum AST düzeylerini D grubuna göre düşürdüğü belirlenmiştir. Aynı zamanda KP grubu ile L+KP grubu arasında da istatistikî anlamda ($p<0,05$) bir fark olduğu, likopenin serum AST düzeylerini K grubu seviyelerine kadar düşürdüğü tespit edilmiştir.

ALT düzeyleri karşılaştırıldığında ise K, L ve L+KP grupları arasında, D ile KP grupları arasında ve aynı zamanda D+KP ile D+L+KP grupları arasında istatistikî bir fark oluşmaz iken, K grubu ile D+L, KP, D, D+KP ve D+L+KP grupları arasında istatistikî açıdan oluşan farkın anlamlı ($p<0,05$) olduğu belirlenmiştir. ALT düzeylerinin K grubunda en düşük, D+KP grubunda ise en yüksek olduğu görülmüştür. KP grubu ile L+KP grubu arasında istatistikî anlamda ($p<0,05$) bir fark olduğu, likopenin serum ALT düzeylerini K grubu seviyelerine kadar düşürdüğü belirlenmiştir. Aynı zamanda D grubu ile D+L grubu arasında da istatistikî anlamda ($p<0,05$) bir fark olduğu, likopenin serum ALT düzeylerini D grubuna göre düşürdüğü gözlenmiştir.

4. TARTIŞMA

Canlı organizmanın aerobik yaşam ve enerji metabolizmasının bir sonucu olarak oksidatif hasara belirli bir derecede maruz kalması kaçınılmazdır. Bu oksidatif stresin şiddeti; serbest radikallerin, aktif oksijen ve nitrojen türlerinin oluşum oranına ve antioksidan savunma sistemine bağlıdır (Pérez ve ark., 2002).

Organizmada serbest radikal ve reaktif oksijen türleri oluşumunun ana kaynakları ksenobiyotikler ve ksenobiyotiklerin biyoaktivasyonu sonucu oluşan ürünlerdir. Birçok maddenin serbest radikal oluşturarak oksidatif hasara neden olduğu bilinmektedir. Örneğin parakuat ve dikuat hücrelerde süperoksid radikali ve hidrojen peroksid oluşumuna yol açmaktadır. Asetaminofenin biyoaktivasyon ürünü moleküler oksijeni süperoksid radikale indirger. Kinon yapısında maddelerin (adriyamin ve aflatoksin B₁) moleküler oksijene bir elektron taşıma kapasiteleri vardır ve süperoksid oluşumu ile sonlanır. Ksenobiyotikler içerisinde önemli bir grubu oluşturan pestisidlerin neden olduğu zehirli etkilerin ortaya çıkmasında da serbest radikal oluşumunun önemli rol oynadığı çeşitli araştırmaların sonucunda ortaya çıkarılmıştır (Yurumez ve ark., 2007; Buyukokuroglu ve ark., 2008; Karabacak ve ark., 2011).

Diyabet, komplikasyonları açısından ilerleyici ve hayatı tehdit eden bir hastalıktır. Diyabette gelişen komplikasyonların açıklanmasında öne sürülen birçok görüş mevcuttur. Son yıllarda, bu konularda bir adım öne çıkan serbest radikaller, oksidatif stres ve antioksidanlar diyabet ile ilgili gelişmelere ışık tutmuştur (Yazıcı ve ark., 2002).

Yapılan çalışmalarda, deneysel olarak DM oluşturulan ratlarda ve diyabetik hastalarda oksidatif stresin fazla miktarda oluşumunun, aşırı ROT üretimi ve antioksidan savunma mekanizmasının zayıflamasının bir sonucu olarak ortaya çıktığı bildirilmiştir (Koca ve ark., 2008).

Günümüzde çeşitli hastalıklara tanı konması, patogenezlerinin aydınlatılması, hastalıktan korunma ve tedavi olanaklarının incelenmesi için deneysel hayvan modellerinin kullanımı oldukça yaygındır (İrer ve Alper, 2004). Bu tez çalışmasında da deney hayvanları (rat) kullanılarak, deneysel Tip 1 DM oluşturulmuştur. Deney hayvanlarında deneysel DM kimyasal ilaçlarla veya virüsler yardımıyla yapılabilmektedir. Deney hayvanlarında bu amaçla STZ ve alloksan, kimyasal ilaç olarak kullanılmaktadır (Öntürk ve Özbek, 2007).

STZ geniş spektrumlu bir antibiyotik olup, insülin salgılayan pankreasın β hücrelerinde harabiyet yaparak deney hayvanlarında Tip 1 DM oluşturmaktadır (Altan ve ark., 2006, Lenzen, 2008). Sunulan çalışmada da diyabetojenik ilaç olarak STZ kullanılmıştır.

Bitki kaynaklı antioksidan maddeler etkileri yönünden çok yönlü olarak araştırılmaktadır ve uygun bir diyet ile düzenli olarak alınmaları vasıtasıyla eksiklikleri büyük oranda düzeltmektedirler (Tripathi ve ark., 2007). Bitkisel antioksidanların önemli bir sınıfı olan karotenoidlerin antioksidan özellikleri, ROT'lerini yakalama yeteneğine bağlıdır (Rao ve ark., 2006)

Karotenoidler arasında en güçlü antioksidan olarak likopen bulunur. Likopenin SOR'lerini etkilerini önleme açısından yüksek antioksidan özelliğe sahip olduğu, bu güçlü antioksidan aktivite ile hücre yapısının, lipidlerin, proteinlerin ve DNA'nın iç oksidasyonuna karşı koruyucu etkiye sahip olduğu ve bazı hastalıkların önlenmesine katkıda bulunduğu bildirilmektedir (Bramley, 2000). Yapılan bu tez çalışmasında da likopenin klorprifos etil ve diyabet ile oluşturulan oksidatif hasara karşı koruyuculuğu ve ortaya çıkan hiperglisemi durumu üzerine etkileri açıklanmaya çalışılmıştır.

Tip 1 DM modeli oluşturulduktan sonra 4 haftalık çalışma süresince ratların canlı ağırlık düzeyleri incelenmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda klorprifos etil'e maruz kalan ratların canlı ağırlıklarının arttığı vurgulanmıştır (Aldridge ve ark.,

2003; Icenogle ve ark., 2004; Lassiter ve Brimijoin, 2008; Lizardi ve ark., 2008; Ambali, 2009; Ambali ve ark., 2010). Bu çalışmaların aksine klorprifos etil maruziyetinin canlı ağırlığı azalttığına dair çalışmalarda mevcuttur (Yoshida ve ark., 1985; Barna-Lloyd ve ark., 1990; Karanth ve Pope, 2003; Tripathi ve Srivastav, 2010). Ortaya çıkan bu farklı sonuçların klorprifos etil'in beyin içindeki serotonin düzeylerini değiştirmesinden buna bağlı olarak da meydana gelen iştah bozukluklarından kaynaklanabileceği belirtilmiştir (Lowinson ve ark., 2005). Dyer (2011) yaptığı tez çalışmasında ise ratlara 7 hafta boyunca uygulanan düşük doz (1 mg/kg) ve yüksek doz (5 mg/kg) klorprifos etil'in canlı ağırlıklarda herhangi bir değişikliğe yol açmadığını ortaya koymuştur.

Ratlara likopen uygulanması ile canlı ağırlık arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalarda, değişik dozlarda kullanılan likopenin canlı ağırlık artışında etkili olmadığı belirlenmiştir (Mellert ve ark., 2002). DM'lu ratlara verilen likopenin canlı ağırlık üzerinde herhangi bir farklılığa yol açmadığı gözlenmiştir (Aydın, 2008). Ancak Duzguner ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada 10 mg/kg dozda uygulanan likopenin DM'lu ratlarda meydana gelen canlı ağırlıktaki azalmayı önlediğini belirtmişlerdir. Karaciğer ve kaslardaki glikojen depolarının tüketilmesi ve insülin yetersizliğine bağlı olarak glikoz oksidasyonunun bozulması, karbonhidrat olmayan kaynakların kullanımını zorunlu kılar. Böylece yağ ve protein yıkımı artar. Bu nedenle de kilo kaybı DM'ta en sık rastlanan bulgularındandır (Yılmaz, 1999). Diyabetik hayvanlarda genelde görülen ağırlık kaybı, bizim deney hayvanlarımızda da kısmen görülmüş fakat bu istatistikî anlamlılık değerlerine ulaşmamıştır.

Bu tez çalışmasında da haftalara göre grup içi canlı ağırlık değişimleri incelendiğinde; L, D+L, KP ve L+KP gruplarında ratlara uygulanan likopen ve klorprifos etil'in yapılan çalışmalara benzer şekilde canlı ağırlık değişimleri üzerinde bir etkisinin olmadığı, D+KP ve D+L+KP gruplarında ise çalışmanın başlangıcında ölçülen canlı ağırlık değerlerinin 1. haftada düştüğü belirlenmiştir. Bu gruplarda meydana gelen canlı ağırlıktaki azalmanın DM'ta hücrelerin ihtiyaç duyduğu glikozu lipoliz ve glukoneojenez yoluyla elde etmesinin bir sonucu olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca klorprifos etil'in toksik metaboliti olan klorprifos-oksonun,

stres hormonlarının düzenlenmesinde rol oynayan kolesterol ester hidrolazı engellediği gösterilmiştir (Civen ve ark., 1977). Daha önce yapılan çalışmalarda tekrarlanan dozlarda verilen klorprifos etil'in adrenal kortekse bulunan zona fasikülatada vaskuolizasyona neden olduğu belirtilmiştir (Yano ve ark., 2000). Adrenal korteksin bu bölgesi, strese aralıklı ve uzun süreli verilen cevaplar için gerekli hormonlar olan kortizol ve kortikosteronun üretilmesinden sorumludur. Bu nedenle D+KP grubunda meydana gelen canlı ağırlık kaybının, klorprifos etil'in oksidatif, toksik ve kolinerjik stres gibi birçok yan etkilerinin bir kombinasyonu sonucu olabileceği düşünülmektedir.

Tip 1 DM modeli oluşturulduktan sonra 4 haftalık çalışma süresince ratların AKŞ düzeyleri incelenmiştir. Farklı deneysel hayvan modellerinde OFİ'lerin tek ve tekrarlanan dozlarının kan glikoz düzeyini arttırdığı birçok çalışmada vurgulanmıştır. (Abdollahi ve ark., 2004b; Pournourmohammadi ve ark., 2005; Panahi ve ark., 2006; Kamath ve Rajini, 2007). Bu çalışmalara benzer şekilde Ambali (2009) yaptığı çalışmada en çok kullanılan OF insektisidlerden birisi olan klorprifos etil'in hiperglisemiye neden olduğunu belirtmiştir. Domateste doğal olarak bulunan bir karotenoid olan likopen, güçlü antioksidan ve antihiperglisemik özellikleri nedeniyle araştırmacıların son yıllarda ilgisini çekmektedir. Duzguner ve ark. (2008) likopenin, STZ ile diyabet oluşturulan ratlarda plazma glikoz düzeyi artışını yaklaşık % 25 oranında azalttığını belirtmişlerdir. Yine Aydın (2008) yaptığı tez çalışmasında diyabetik ratlarda AKŞ düzeyi artışını likopenin önemli oranda düşürdüğünü vurgulamıştır. Bu sonuçlara benzer şekilde Uchiyama ve Yamaguchi (2005) bir karotenoid olan β -kriptoksantin, STZ ile diyabet oluşturulmuş ratlarda plazma glikoz düzeyini azalttığını tespit etmişlerdir.

Bu tez çalışmasında da yapılan çalışmalara paralel şekilde D+KP ve KP gruplarının ortalama AKŞ düzeylerinin artış gösterdiği, D+L, D+L+KP ve L+KP gruplarının ise azaldığı görülmüştür. OF insektisidlerin insülin aktivitesini engelleyerek ve glukagon aktivitesini uyararak glikojenoliz ve glukoneojenezi artırabileceği bu nedenle de hiperglisemiye neden olabilecekleri düşünülmektedir. Likopen verilen gruplarda AKŞ düzeyinin azalması, STZ'inin pankreasın β

hücrelerinde oluşturduğu sitotoksik hasar ve serbest radikal artışına bağlı hasarın bir sonucu olarak diyabetli gruplarda hipergliseminin meydana gelebileceği, likopenin bu oksidatif hasarı önlemiş ya da azaltmış olabileceği ve artmış olan glikojenoliz ile glukoneojenezi tersine çevirebileceği şeklinde yorumlanabilir.

MDA, çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunun başlıca oksidasyon ürünlerinden birisidir ve MDA düzeyi artışı LPO'nun en önemli göstergesidir (Durak ve ark., 2010). Pestisid ile indüklenmiş toksisitede rol oynayan en önemli moleküler mekanizmalardan birisinin de LPO olduğu önerilmiştir (Kehrer, 1993). Daha önce yapılmış birçok çalışmada klorprifos etil uygulanan rat ve farelerde MDA düzeylerinin arttığı, kullanılan çeşitli antioksidanların MDA düzeyi artışını düşürdüğü belirlenmiştir (Mansour ve Mossa, 2009; Aly ve ark., 2010; Demir ve ark., 2011; Saxena ve ark., 2011). Ancak bugüne kadar klorprifos etil ile oluşturulan oksidatif hasara karşı likopenin nasıl bir etkisinin olabileceğine dair bir çalışmaya yapılan literatür taramaları sonucu rastlanılmamıştır. Tez çalışması bu yönüyle çalışmaya orjinallik katmaktadır.

Klinik ve deneysel DM'ta LPO ürünlerindeki artış, oksijen türevli serbest radikallerin önemli bir sonucudur. Bu ürünler DM'un vasküler komplikasyonlarının patogenezinde önemli bir rol oynayabilir (Velazquez ve ark., 1991). Diyabetik ratlarda MDA düzeyi artışını likopenin düşürdüğünü gösteren çalışmalar mevcuttur (Aydın, 2008; Duzguner ve ark., 2008; Ali ve Agha, 2009; Zhu ve ark., 2011). Çalışmada ise hem klorprifos etil uygulanarak hem de STZ ile DM oluşturularak ratlarda meydana getirilen oksidatif stres üzerine likopenin etkileri incelenmiş olup, bu yönüyle yapılan diğer çalışmalardan farklılık göstermektedir.

Tez çalışmasında D, KP ve D+KP grubundaki MDA düzeyi kontrole göre yükselmiştir. Daha önce yapılan çalışmalara benzer şekilde likopenin diyabetik ratlarda MDA düzeyini önemli oranda düşürdüğü görülmüştür. Diyabetik ratların tam kanında ölçülen MDA düzeylerinin, K ve L verilen gruplardaki MDA düzeylerine göre artmış olması hiperglisemi kaynaklı glikoz otooksidasyonunu ve glikolize proteinlerin LPO'nu artırdığını göstermektedir. Likopenin kan glikoz

düzyini düşürerek hiperglisemi kaynaklı glikoz otooksidasyonunu ve glikolize proteinlerin oluşumunu önleyerek LPO düzeyini düşürdüğü kanısına varılmıştır. KP ve D+KP grubunda tam kan MDA düzeylerinin artışının ise bu gruplara likopen verilmesi ile anlamlı bir şekilde düşmediği gözlenmiştir. Bunun nedeninin ise hem DM hem de klorprifos etil sonucu kan glikoz düzeyinin aşırı yükselmesinden buna bağılı olarak ortaya çıkan serbest radikal üretimindeki artıştan ve antioksidan savunma mekanizmasının yetersiz kalmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

GSH, nonenzimatik antioksidan olarak vücudun antioksidan savunma sisteminde önemli görevler üstlenir. GPx'ın ko-substratı olduğu gibi direkt olarak serbest radikalleri temizlemede de rol oynar. Aynı zamanda hücre içi redoks tampon sisteminin ana bileşenidir (Johansen ve ark., 2005). Pestisidler gibi ksenobiyotikler ile reaksiyona girerek kompleks formlar oluştururlar. GSH, bu şekilde hücreleri ksenobiyotiklerin toksik etkilerinden korur (Chhabra ve ark., 1993). Oksidatif stres durumlarında artmış LPO bağılı olarak meydana gelen peroksitlerin detoksifikasyonunda görev alan enzimler tarafından GSH tüketilir (Cathcart, 1985). Birçok çalışmada klorprifos etil'e maruz kalan hayvanlarda (Goel ve ark., 2005; Verma ve ark., 2007; Yu ve ark., 2008) ve STZ ile DM oluşturulan hayvanlarda (Aksoy ve ark., 2005; Düzgüner, 2005; Kağa, 2006; Aydın, 2008) GSH'un tüketildiği, çeşitli antioksidanlar kullanılarak GSH düzeylerinin artırılabilceği ortaya konulmuştur.

Bu tez çalışmasında da D, KP ve D+KP grubundaki GSH düzeyi kontrole göre azalmıştır. Bu durum GSH'un DM ve klorprifos etil uygulanması sonucu ortaya çıkan serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek düzeyinin azalabileceği şeklinde yorumlanmaktadır. Likopenin, diyabetik ratlarda azalmış olan GSH düzeyini önemli oranda artırabileceği, klorprifos etil uygulanan grupta ise önemli bir değişikliğe yol açmadığı görülmüştür. Likopenin güçlü antioksidan etkisiyle serbest radikalleri ve peroksitleri temizleyerek diyabetik ratlarda GSH düzeyini yükselttiği düşünülmektedir. Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD), heksos monofosfat yolağının önemli bir enzimidir. Bu enzim hücrelerde NADPH üretiminde görev alır. NADPH, okside glutasyonun (GSSG) redükte forma (GSH) dönüşümü için

gereklidir. Bu dönüşüm hücre bütünlüğünün sağlanması için önemlidir. Klorprifos etil'in G6PD aktivitesini engelleyerek GSH düzeylerini azalttığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Singh ve ark., 2006; Verma ve ark., 2007). Bizim çalışmamızda likopenin klorprifos etil'in engelleyici etkisinden G6PD enzimini koruyamadığı düşünülmektedir.

Normal fizyolojik şartlarda SOD, CAT, GPx gibi hücre içi antioksidan enzimler ROT'ni ortadan kaldırarak hücrelerin antioksidan savunma sisteminde bütünlüyci bir rol oynarlar (Bukowska, 2004). SOD, süperoksit radikalleri H_2O_2 'e dönüşümünü katalize ederken, CAT H_2O_2 'i suya dönüştürür. Bu antioksidan enzimler bu yüzden ROT'nin toksik etkilerini azaltabilir (Mansour ve Mossa, 2009). GPx'in en önemli görevi, GSH'un substratı olarak kullanılmasıdır. Bu şekilde kullanılarak eriyebilir H_2O_2 'i ve alkil peroksitleri azaltır (Bebe ve Panemangalore, 2003). GPx aynı zamanda H_2O_2 'i suya ayırıştırır (Tian ve ark., 1998). GPx aktivitesindeki azalma GSH'un tüketilmesiyle ilişkilidir. Bunun sonucunda da oksidatif stres meydana gelebilir. Demir ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada klorprifos etil verilen grupta eritrosit SOD, CAT ve GPx aktivitelerinde azalma olduğunu, kateşin ve kuersetin gibi flavonoid antioksidanların klorprifos etil tarafından oluşturulan oksidatif stresi önlediğini saptamışlardır. Benzer şekilde Mansour ve Mossa (2009) yaptıkları çalışmada klorprifos etil verilen grupta eritrosit SOD ve CAT aktivitelerinde azalma olduğunu, çinkonun klorprifos etil tarafından oluşturulan oksidatif stresi önlediğini öne sürmüşlerdir. DM'un SOD, CAT, GPx gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerine etkisi konusunda çelişkili ifadeler bulunmaktadır. Can (2003) yaptığı tez çalışmasında eritrosit GPx ve CAT aktivitelerinde diyabetik grupta kontrol grubuna göre değişiklik saptamazken, eritrosit SOD enzim aktivitesinde anlamlı bir azalma gözlemlediklerini bildirmiştir. Aydın (2008) ise plazma SOD ve CAT aktivitelerinin D ve D+L gruplarında arttığını, GPx aktivitesinin ise D grubunda azaldığını, D+L grubunda ise arttığını tespit etmiştir. Duzguner ve ark., (2008) çalışmada K, D ve D+L olmak üzere 3 grubu plazma SOD aktiviteleri bakımından karşılaştırmış, gruplar arasında bir farklılık olmadığını belirtmişlerdir.

Bu tez çalışmasında SOD, CAT ve GPx aktiviteleri bakımından gruplar karşılaştırıldığında D, KP ve D+KP gruplarının antioksidan enzim aktivitelerinin K grubuna göre önemli oranda azaldığı görülmüştür. Bu durum, DM ve klorprifos etil toksisitesi sonucu vücutta artan süperoksit radikallerin suya dönüşümü esnasında SOD enziminin, serbest radikallerin ve H₂O₂'in parçalanması işlemleri esnasında ise CAT ve GPx enzimlerinin doygunluğa ulaştığı ve zamanla aktivitelerinde azalma olduğu şeklinde yorumlanabilir. Likopen verilen D grubunda (D+L), D grubuna göre SOD, CAT ve GPx aktiviteleri yükselmiştir. Bu durum likopenin güçlü süperoksit radikali temizleyicisi olmasına bağlanabilir. Likopen verilen KP (L+KP) grubunda KP grubuna göre, likopen verilen D+KP (D+L+KP) grubunda ise D+KP grubuna göre bir yükselme olduğu ancak bunun önemli olmadığı gösterilmiştir. Bu sonuçla, likopenin klorprifos etil tarafından bozulan antioksidan savunma sistemini iyileştirmede yetersiz kaldığı düşünülmektedir.

DM ve oksidatif stres ilişkisi araştırılan çalışmalarda, bazı antioksidan düzeylerinde artıştan bahsedilirken, başka çalışmalarda aynı antioksidan türlerinin seviyeleri ölçümünde farklı sonuçların elde edilebildiği görülmektedir. Sankaranarayanan ve Pari (2011) DM'ta CAT, SOD, GPx, Vitamin C ve GSH seviyelerinin düştüğünü; TBARS ve plazma hidroperoksit gibi oksidan madde düzeylerinin arttığını belirtmekte iken, Seghrouchni ve arkadaşları (2002) ise GPx, SOD ve GSH seviyelerinin arttığını ifade etmektedirler. Oksidan ve antioksidan seviyelerinin ölçümlerinde ortaya çıkan bu çelişkileri minimuma indirmek için daha pratik, zamandan ve araştırma maliyetlerinde tasarruf sağlayan yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemler plazma, serum veya doku örneklerinde oksidatif stres düzeyini ölçmek amacıyla total oksidan ve antioksidan düzeylerini, aktivitelerini veya kapasitelerini belirlemeye yöneliktir (Koracevic ve ark., 2001; Aycicek ve ark., 2006).

Bununla birlikte plazmada antioksidanlar etkileşim içindedir. Bu etkileşimden dolayı bileşenlerin tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla bir etki oluşmaktadır. Bu etkileşime örnek olarak; glutatyonun askorbatı, askorbatın da tokoferolü yeniden aktifleştirmesi verilebilir. TAK ölçümü, antioksidanların tek tek

ölçümünden daha değerli bilgiler verebilir. Plazma ve vücut sıvılarında bulunan bütün antioksidanların toplam etkisini antioksidan aktivite yansıtır. Bu yüzden kanın antioksidan durumunu saptamada bireysel antioksidanlar yerine bunların toplam antioksidan değerini veren antioksidan aktivite ölçümü yaygınlaşmaktadır (Ching ve ark., 2002; Tekkes, 2006; Tello ve Halifeoğlu, 2008). TAK, serumda bulunan antioksidan özellikli maddelerin toplam aktivitesini yansıttığı için daha doğru bir yaklaşım sağlamaktadır. Nitekim pulmoner tüberkülozlu hastalarda antioksidan kapasite ölçümü ile ilgili yapılan bir çalışmada SOD, GPx, GR artarken, antioksidan özellikli vitaminler azalmakta; TAK ise net etkiyi belirleyebilmektedir (Güler ve ark., 2004).

Geliştirilen bu metotlarla yapılan çalışmalarda, Tip 1 ve Tip 2 DM hastalarında veya deney hayvanlarıyla oluşturulan diyabet modellerinde, plazma ve serumda TAK'nin düşüş gösterdiği, oksidan durumun ise yükseldiği ifade edilmektedir (Seghrouchni ve ark., 2002; Bonnefont-Rousselot ve ark., 2003; Aslan ve ark., 2007). Birçok çalışmada diyabete bağlı olarak hidroperoksit, MDA, ilerlemiş glikasyon son ürünleri (AGE), NO gibi oksidan molekül düzeylerinin arttığı (Maritim ve ark., 2003; Robertson ve ark., 2004), çoğu antioksidan seviyelerinin ise düştüğü rapor edilmektedir. Bu nedenle bu tez çalışmasında antioksidan dengeyle ilgili TAK ölçümü gerçekleştirilmiştir.

STZ ile deneysel DM oluşturulmuş hayvanlarda ve diyabetli kişilerde bireysel antioksidanların yıkımı ve TAK düzeyinin azalması, DM ile oksidatif stres arasındaki ilişkiyi doğrulamaktadır (Laight ve ark., 2000). Mamdouh ve Fatma (2009) yaptıkları çalışmada D grubunda TAK düzeyinin K grubuna göre % 75 oranında azaldığını, 10, 30, 60 ve 90 mg/kg dozunda 30 gün boyunca uygulanan likopenin TAK düzeyini D grubuna göre sırasıyla % 19, % 37,5 % 81 ve % 160 oranlarında artırdığını göstermişlerdir. El-Banna ve ark. (2009) ise ratların dekapitasyonundan 24 saat önce oral yolla tek doz uygulanan klorpifos etil'in düşük doz (5,4 mg/kg) ve yüksek doz (13,5 mg/kg) gruplarında TAK düzeyinin K grubuna göre önemli oranda azaldığını, bu gruplara 15 gün boyunca verilen sarımsağın ise KP gruplarına göre TAK düzeylerini normal haline getirdiğini belirtmişlerdir.

Tez çalışmasında da D, KP, D+KP ve D+L+KP gruplarının TAK düzeylerinin K gruplarına göre önemli oranda azaldığı, likopen verilen D (D+L) grubunun ise TAK düzeylerinin K grubu seviyelerine kadar yükseldiği belirlenmiştir. Likopen verilen KP (L+KP) grubunda KP grubuna göre; likopen verilen D+KP (D+L+KP) grubunda ise D+KP grubuna göre TAK düzeylerinde bir artma olsa da bunun istatistiksel bir önemi yoktur. Bu duruma göre, likopenin tekli oksijen ve serbest radikalleri temizlemede güçlü antioksidan etkisine bağlı olarak DM tarafından oluşturulan oksidatif stresi azaltabileceği, klorprifos etil ve her iki stres durumlarında ise uygulanan bu dozun etkili olamadığı düşünülmektedir.

Nitrat ve nitrit, endojen olarak üretilen NO'nin markırlarıdır. Hem antioksidan hem de prooksidan özelliklere sahiptir (Taysi ve ark., 2003). NO bazı durumlarda bir antioksidan gibi davranarak hücreyi LPO'ndan korur. Bununla birlikte süperoksid düzeylerinin arttığı durumlarda süperoksidle reaksiyona girer ve bir prooksidan olan peroksinitrit oluşturur (Praticò, 2005).

Zhou ve ark. (2002), akut OF insektisid zehirlenmesi görülen hastalarda plazma NO düzeylerinin arttığını göstermişlerdir. Benzer şekilde Gupta ve ark. (2001), OF insektisid ve karbamat pestisidlerin sitrulin düzeylerinin artışı ile ilgili olarak rat beyin NO düzeylerinde önemli bir artışa neden olduğunu rapor etmişlerdir. Yakın zamanda yapılan bir diğer çalışmada da klorprifos etil uygulanan ratların karaciğer NO düzeylerinin önemli oranda arttığı gösterilmiştir (Elleaimy ve ark., 2012). Bu çalışmalarını destekleyen bir diğer çalışmada ise 3 ve 14 gün 2, 5, 5 ve 25 mg/kg dozda ratlara oral yolla uygulanan klorprifos etil'in plazma NO düzeylerini önemli derecede arttığı bildirilmiştir (Alvarez ve ark., 2008).

Diyabette görülen endotel fonksiyon bozukluklarından endoteldeki NO üretiminin azalması sorumlu tutulmaktadır (Xia ve ark., 2006; Fidan, 2007). Ancak diyabette NO'nin artmış olduğunu rapor eden araştırmacılar da vardır (Anwar ve Meki, 2003; Abou-Seif ve Youssef, 2004; Astaneie ve ark., 2005). Aydın (2008) tez çalışmasında D grubunda artan plazma NO düzeylerinin, likopen verilen diyabetli rat (D+L) grubunda azaldığını hatta K grubu değerlerine ulaştığını belirtmişlerdir.

Duzguner ve ark. (2008)'nin yaptıkları kısa süreli diyabet çalışmasında da artan NO düzeyinin likopen verilen diyabetli rat (D+L) grubunda K grubu değerlerine yaklaştığı belirlenmiştir.

Bu tez çalışmasında da yapılan çalışmalara benzer şekilde D, KP, D+KP ve D+L+KP gruplarında NO düzeylerinin K grubuna göre önemli oranda arttığı, likopen verilen diyabetli rat (D+L) grubunda NO düzeyinin azalarak K grubu değerlerine yaklaştığı görülmüştür. Likopen verilen KP (L+KP) ise KP grubuna göre; likopen verilen D+KP (D+L+KP) grubunda da D+KP grubuna göre NO düzeylerinde bir azalma olsa da bunun bir önemi yoktur. DM ve beraberinde ortaya çıkan hiperglisemi durumunda, artmış olan serbest radikaller ve NO'in reaksiyona girerek β hücrelerinin yıkılmasında rol oynayan peroksinitritlerin oluşabileceği, likopenin ise hiperglisemi durumunu normal düzeylerine getirerek serbest radikaller ve NO düzeyini azaltabileceği düşünülmektedir.

Pankreatik β hücrelerinin antioksidan yeterliliği diğer dokulara nazaran daha düşük olduğu için STZ'inin pankreatik β hücreleri hasara uğratması imkan dahilindedir. Bu yüzden pankreatik β hücreleri oksidatif strese genel olarak duyarlıdır (Tiedge ve ark., 1997). Bunun sonucunda da insülin gen transkripsiyonu ve glikoz ile uyarılmış insülin salınımının baskılanması ve hatta apoptoz meydana gelir (Kaneto ve ark., 2001). Bu olaylar dizisi, insülin salınım oranı ve plazma insülin konsantrasyonunda önemli oranda azalma ile sonuçlanır ki hiperglisemi olarak bilinen klinik durum meydana gelir. Bu tez çalışmasında da STZ ile DM oluşturulmuş D grubunda plazma insülin düzeylerinde azalma ve serum glikoz düzeylerinde artış gözlemlendi. Likopen verilen diyabetli rat (D+L) grubunda D grubuna göre karşılaştırıldığında meydana gelen insülin düzeylerinde artış ve glikoz düzeylerinde azalma, likopenin β hücrelerinde mevcut insülin salınımı üzerine muhtemel olumlu bir etkisinin olabileceğini bize düşündürmüştür. Nitekim yapılan bir çalışmada da gittikçe artan dozlarda verilen likopenin dozuna bağımlı olarak pankreas dokusundaki insülin düzeyinde de bir artış olduğu ortaya konmuştur (Mamdouh ve Fatma, 2009). Bunlara ilaveten Aydın (2008) yaptığı tez çalışmasında DM grubu insülin düzeylerinin K grubuna göre anlamlı düzeyde düşük tespit etmiş,

likopen verilen diyabetik ratlarda ise plazma insülin düzeylerinin K değerlere ulaşmamış olsa da anlamlı şekilde yükseldiğini belirtmiştir.

Son yıllarda OF insektisidlerin insülin salınımını engellediğine dair birçok araştırmalar yapılmıştır. Yapılan bir çalışmada diazinonun, izole edilmiş rat pankreas adacıklarında glikoz ile uyarılmış insülin salınımını engellediği bulunmuştur (Pourkhalili ve ark., 2009). Bir diğer çalışmada Abdollahi ve ark. (2004b) elle toplanmış pankreas adacıklarına 4 hafta boyunca 200 ve 400 ppm miktarında uygulanan malatyonun glikoz ile uyarılmış insülin salınımını % 69,6'ya kadar varan oranda azalttığını göstermişlerdir. *In vitro* yapılan bir diğer çalışmada da klorprifos etil'in pankreas adacıklarında apoptoz ve nekroza yol açarak pankreatik insülin içeriğinde önemli oranda azalmaya bunun sonucunda da hiperglisemiye neden olduğu vurgulanmıştır (Yan, 2010). Bu tez çalışmasında da KP grubunda plazma insülin düzeyinin düştüğü ve serum glikoz düzeyinin yükseldiği görüldü. Likopen verilen KP (L+KP) grubunun plazma insülin düzeyinin KP grubuna göre arttığı, serum glikoz düzeyinin ise düştüğü belirlendi. Bu sonuçlara göre klorprifos etil'in pankreasta proinsülini insüline dönüştüren enzimlere zararlı etkileri olabileceği (Yan, 2010), likopenin ortaya çıkan bu zararlı etkileri tersine çevirebileceği düşünülmektedir.

Bu tez çalışmasında da yapılan çalışmaları destekler nitelikte D, KP, D+KP ve D+L+KP gruplarındaki plazma insülin düzeyinin K grubuna göre düşük ve serum glikoz düzeyinin ise K grubuna göre yüksek olduğu bulundu. Likopen verilen D+KP (D+L+KP) grubundaki plazma insülin ve serum glikoz düzeylerinin D+KP grubuna göre önemli oranda değişmediği görülmüş olup, bu sonuca göre likopenin hem STZ hem de klorprifos etil tarafından meydana getirilen pankreas hasarını kullanılan dozuna bağlı olarak düzeltmediği fikrine varılmıştır.

TNF- α gibi yangısal sitokinlerin oksidatif ve nitrozatif stresin yanı sıra hiperglisemi durumunda da düzeylerinin arttığı belirtilmiştir (Fukuhara ve ark., 2007; Kowluru ve Kanwar, 2007). TNF- α , Tip 1 DM'un patogenezinde önemli bir rol oynayabileceği gibi insülin direncinin gelişiminde de katkısı bulunabilir

(Alexandraki ve ark., 2008). Tip 1 DM'lu inflamatuvar aktivitenin artmasına bağlı olarak TNF- α gibi sitokinlerin serum düzeylerinin yükseldiği bunun da hiperglisemi ve AGE oluşumuna bağlı olabileceği birçok çalışmada rapor edilmiştir (Dandona ve ark., 2004; Wasmuth ve ark., 2004; Azza ve ark., 2010).

Kronik hiperglisemi durumunda endojen TNF- α üretimi mikrovasküler ve nöronal dokularda hızlanır. Bu da mikrovasküler geçirgenlik ile pıhtılaşmada anormal derecede artışa ve sinir hasarına neden olabilir. Bu olayların sonucunda da mikroanjiopati, polinöropati, ensefalopati gibi diyabetin karakteristik lezyonları meydana gelebilir (Satoh ve ark.,2003; Brands ve ark., 2004). Diyabetli hastalarda AGE'lerine bağlanan makrofaj AGE reseptörlerinin (RAGE) sentezinin arttığı belirtilmiştir (Yokoi ve ark., 2005). RAGE'de TNF- α gibi yangısal sitokinleri sinyalize eder. Bu sitokinde damar duvarındaki yangısal olayların başlamasını ve sürdürülmesini sağlayan akut faz proteinlerinin sentezine aracı olur (Balasubramanyam ve ark., 2002). Sharma ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada kontrol altına alınamamış diyabette TNF- α düzeylerinde önemli bir artış rapor etmişlerdir. Likopenin TNF- α düzeylerini azalttığı birçok çalışmada gösterilmiştir (Riso ve ark., 2006; Li ve ark., 2007; Kuhad ve ark., 2008b). Kuhad ve ark., (2008a) STZ ile diyabet oluşturulmuş ratlarda serum TNF- α düzeylerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 8 katı artış gösterdiğini, likopenin serum TNF- α düzeyini önemli oranda azalttığını ve likopenin tek başına serum TNF- α düzeylerini etkilemediğini belirtmişlerdir. Bu tez çalışmasında da yapılan çalışmalara benzer şekilde D grubunda serum TNF- α düzeylerinin K grubuna göre önemli bir artış gösterdiği, likopen verilen diyabet grubunda serum TNF- α düzeylerinin kontrol grubu seviyelerine kadar azaldığı görüldü. Bu durum likopenin hiperglisemi durumunu düzelterek yangısal cevapları azaltabileceği şeklinde yorumlanabilir.

Klorprifos etil (Gordon ve Rowsey, 1999; Rowsey ve Gordon, 1999) gibi OF insektisidlerin şiddetli bir şekilde sitokin sentezini uyardığı rapor edilmiştir. Ayrıca klorprifos etil'e bağlı pankreatitisin bir sonucu olarak pankreas içerisinde monosit ve lökosit infiltrasyon düzeylerinin yükselmesi, TNF- α gibi yangısal mediyatörlerin artışı bildirilmiştir (Yan, 2010). Bu tez çalışmasında da klorprifos etil uygulanan

grubun serum TNF- α düzeyinin kontrol grubuna göre önemli bir artış gösterdiği, likopen uygulanan klorprifos etil grubunda ise serum TNF- α düzeyinin kontrol grubu seviyelerine kadar azaldığı belirlendi. Bu sonuçla likopenin, klorprifos etil tarafından oluşturulan yangısal doku hasarını azaltabileceği düşünülmektedir. Bunlara ek olarak D+KP grubunda K grubuna göre önemli oranda yükselmiş olan serum TNF- α düzeyi üzerine likopenin kullanılan bu dozunun etkili olamadığı düşünülmektedir.

Asetilkolin esterazların engellenmesi ile OF insektisidler tarafından oluşturulan zehirlilik belirtileri arasında doğrudan bir ilişki vardır. Diğer OF insektisidler gibi klorprifos etil de AkE enzimini dönüşümsüz engeller. Yapılan birçok çalışmada (Ahmed ve Zaki, 2009; El-Banna ve ark., 2009; Mansour ve Mossa, 2009; Mansour ve Mossa, 2010), klorprifos etil verilen ratların ölçülen kan örneklerinde AkE düzeylerinin kontrol grubuna göre önemli oranda azaldığı, bu çalışmalarda kullanılan çeşitli antioksidanların ise AkE düzeylerini yükselttiği belirlenmiştir. Tez çalışmasında da yapılan çalışmalara benzer şekilde klorprifos etil verilen grupta plazma AkE düzeyinin kontrol grubu ile kıyaslandığında önemli oranda azaldığı, likopen verilen klorprifos etil grubunda ise likopenin azalmış AkE düzeyini kontrol grubu düzeyine kadar yükselttiği görüldü. Bu sonuçla likopenin, hücrelerin antioksidan yeteneğini arttırmasının bir sonucu olarak serbest radikalleri temizlemede direkt rolü olabileceği ve böylece klorprifos etil'in nörotoksik etkilerini azaltabileceği, ayrıca fosforilasyonda kullanılmayan AkE enzimini oluşturmada bir etkisinin olabileceği düşünülmektedir.

Kuhad ve ark. (2008a) yaptıkları çalışmada, diyabetik rat beyin kabuğu AkE aktivite düzeyinde kontrol grubuna göre 1,8 katı oranında bir artış olduğunu, hipokampüste ise AkE aktivite düzeylerinde bir değişiklik meydana gelmediğini rapor etmişlerdir. Bu çalışmada kullanılan 1, 2 ve 4 mg/kg dozundaki likopenin ise doza bağımlı bir şekilde diyabetik rat beyin kabuğu AkE aktivite düzeylerini azalttığı, tek başına kullanılan likopenin ise AkE aktivite düzeyleri üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı belirtilmiştir. Vitamin E (Tuzcu ve Baydas, 2006), kurkumin (Kuhad ve Chopra, 2007), susam yağı (Kuhad ve Chopra, 2008) ve resveratrol (Schmatz ve ark., 2009) gibi diğer antioksidanlarla yapılan diyabetik rat

çalışmalarında da benzer sonuçlar görülmüştür. Bu sonuçlara karşın AkE aktivite düzeyinin diyabetik beyin dokusunda azaldığını belirten birçok araştırmacı da vardır (Ashokkumar ve ark., 2006; Ghareeb ve Hussen, 2008; Kamboj ve ark., 2008).

Bu tez çalışmasında da diyabetli ratlarda plazma AkE düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azaldığı, likopen verilen diyabet grubunda ise likopenin azalmış AkE düzeyini kontrol grubu düzeyine kadar yükselttiği görüldü. Bu durum, enzim molekülü üzerinde serbest radikallerin direkt etkileri veya lipid-protein etkileşimi yoluyla enzim aktivitelerini değiştirebilen lipid peroksidasyon artışına bağlı olarak zar yapısındaki değişikliklerin bir yansıması şeklinde yorumlanabilir (Ashokkumar ve ark., 2006). Diyabette ortaya çıkan oksidatif stres sonucu artan hidroksil radikallerin AkE molekülü aktif bölgesine zararlı etkileri olabileceği, bunun sonucunda da AkE aktivite düzeyinde bir azalma meydana gelebileceğini belirtilen çalışmalarda vardır (Tsakiris 2001; Ashokkumar ve ark., 2006). D+KP grubunda K grubuna göre önemli oranda azalmış olan plazma AkE düzeyi üzerine ise likopenin bu dozunun etkili olamadığı düşünülmektedir.

Aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) enzim aktiviteleri doku hasarının bir belirteci olarak kullanılır. STZ ile oluşturulan deneysel DM çalışmalarında plazma veya serumdaki AST ve ALT miktarındaki artışın, STZ'inin toksik metabolitlerinin dokularda oluşturabileceği hasardan kaynaklanabileceği ifade edilmiştir (Zwang ve Swann, 1999). Toksik metabolit serbest radikaller sitokrom p450 aracılığıyla üretilir. Bu radikaller daha sonra oksijen ile reaksiyona girerek triklorometil peroksil ($CCl_3O_2^*$) radikalleri meydana getirir. Oluşan triklorometil peroksil radikalleri, makromoleküllere kovalent bağ ile bağlanarak karaciğer ve böbrek dokusunun lipid membranlarının peroksidatif yıkımına neden olur (Hussein ve Abu-Zinadah, 2010).

Karaciğer organizma için gerekli olan birçok maddenin sentez ve metabolize edildiği yaşamsal organdır. Karaciğerdeki morfolojik değişimler organizmadaki metabolik olayları etkilemektedir. Hücre zarının geçirgenliğinin değişmesi veya hücrenin parçalanması sonucu bazı karaciğer enzimlerinin kana salınması nedeni ile

transaminazlar (AST, ALT), alkalen fosfataz, laktat dehidrojenaz gibi hücresel enzimlerin serumdaki aktiviteleri artmaktadır (Çömelekoğlu ve Mazmancı, 2000).

AST ve ALT gibi hücre içi enzimlerin diyabette meydana gelen karaciğer hasarında serum düzeylerinin arttığı belirtilmiştir (Rajasekaran ve ark., 2006; Sancheti ve ark., 2013). Tez çalışmamızda da benzer bulgular elde edilmiş olup, diyabet grubu serum AST ve ALT düzeylerinin kontrol grubuna göre önemli oranda arttığı; diyabet grubunda artmış olan serum AST ve ALT düzeylerinin likopen verilen diyabet grubunda önemli derecede azaldığı görülmüştür. Bu sonuçlara göre likopenin diyabet ile oluşmuş karaciğer hasarı üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olabileceği düşünülmektedir.

Klorprifos etil tarafından oluşturulan karaciğer hasarında serum AST ve ALT düzeylerinin arttığı birkaç çalışmada gösterilmiştir (El-Banna ve ark., 2009; Mansour ve Mossa, 2010; Khalifa ve ark., 2011). Tez çalışmasında da benzer bulgular elde edilmiş olup, klorprifos etil grubu serum AST ve ALT düzeylerinin kontrol grubuna göre önemli oranda arttığı; klorprifos etil grubunda artmış olan serum AST ve ALT düzeylerinin likopen verilen klorprifos etil grubunda önemli derecede azaldığı görüldü. Bu sonuçlara göre likopenin, klorprifos etil ile oluşmuş karaciğer hasarı üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olabileceği düşünülmektedir. D+KP grubunda K grubuna göre önemli oranda artmış olan serum AST ve ALT düzeylerinin üzerine ise likopenin bu dozunun etkili olamadığı düşünülmektedir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

Tez çalışması; diyabetli ratlara klorprifos etil verilerek vücutta oluşan oksidatif stresin araştırılması yönüyle orjinal bir çalışma konumundadır.

Daha önceki subkronik (28 gün) çalışmalarda (Mansour ve Mossa, 2009; Mansour ve Mossa, 2010) klorprifos etil'in ortalama 135 mg/kg olan $ÖD_{50}$ 'sinin 1/20'si (6,75 mg/kg) olan dozunun diyabetli olmayan ratlara verilerek vücutta oksidatif stres oluşturulmuş ve hayvanlarda çalışma süresince hiçbir ölüm gözlenmeden çalışma sonlandırılmıştır. Bu tez çalışmasında klorprifos etil'in ortalama 135 mg/kg olan $ÖD_{50}$ 'sinin 1/20'si olan dozunun diyabetli hayvanlarda şiddetli zehirlenme belirtilerine ve ölüme yol açtığı gözlemlendi. Bu nedenle tez çalışmasının 28 gün boyunca sürdürülebilmesi için, deney hayvanlarına klorprifos etil'in ortalama 135 mg/kg olan $ÖD_{50}$ 'sinin 1/50'si (2,7 mg/kg) olan dozu verilerek hayvanlarda zehirlenme ve ölüm belirtileri gözlenmeden çalışmanın tamamlanması sağlandı. Diyabetli hayvanlarda yapılacak pestisid çalışmalarında bu bilgilerin gözönüne alınması gerekmektedir.

Diyabet (D) grubunda MDA düzeylerinin K grubuna göre arttığı; SOD, CAT, GPx, GSH, TAK gibi vücudun enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sisteminin ise azaldığı görülmüştür. Likopenin D grubunda azalmış olan antioksidan savunma sistemini düzeltebileceği sonucuna varıldı.

Klorprifos etil (KP) grubunda MDA düzeylerinin K grubuna göre arttığı; SOD, CAT, GPx, GSH, TAK gibi vücudun enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sisteminin ise azaldığı görülmüştür. Likopenin kullanılan bu dozunun KP grubunda azalmış olan antioksidan savunma sistemini düzeltse de bunun istatistikî bir öneme sahip olmadığı sonucuna varıldı.

Klorprifos etil uygulanan diyabet (D+KP) grubunda MDA düzeylerinin K grubuna göre arttığı; SOD, CAT, GPx, GSH, TAK gibi vücudun enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sisteminin ise azaldığı görülmüştür. Diyabetli ratlarda KP toksisitesinin önemli derecede arttığı, likopenin kullanılan bu dozunun D+KP grubunda önemli oranda azalmış olan antioksidan savunma sistemini düzeltemediği sonucuna varıldı.

Diyabet (D) ve klorprifos etil (KP) grubunda TNF- α düzeylerinin K grubuna göre arttığı; likopenin D ve KP grubu TNF- α düzeylerini K grubu seviyelerine kadar azalttığı; likopenin hiperglisemi durumunu düzelterek yangısal cevapları azaltabileceği sonucuna varıldı.

Klorprifos etil uygulanan diyabet (D+KP) grubunda TNF- α düzeylerinin K grubuna göre arttığı; likopenin kullanılan dozda D+KP grubunda artmış olan yangısal cevaplar üzerinde etkili olamadığı sonucuna varıldı.

Diyabet (D) ve klorprifos etil (KP) grubunda NO düzeylerinin K grubuna göre arttığı; likopenin D grubu NO düzeyini K grubu seviyelerine kadar azalttığı; KP grubu NO düzeyi üzerinde ise likopenin kullanılan bu dozunun etkili olamadığı sonucuna varıldı.

Klorprifos etil uygulanan diyabet (D+KP) grubunda NO düzeylerinin K grubuna göre arttığı; likopenin kullanılan dozda D+KP grubunda artmış olan oksidatif ve nitrozatif stres üzerinde etkili olamadığı sonucuna varıldı.

Diyabet (D) ve klorprifos etil (KP) grubunda AkE düzeylerinin K grubuna göre azaldığı; likopenin D ve KP grubundaki AkE düzeylerini K grubu seviyelerine kadar yükselttiği; likopenin oksidatif stresi ve klorprifos etil'in nörotoksik etkilerini azaltabileceği sonucuna varıldı.

Klorprifos etil uygulanan diyabet (D+KP) grubunda AkE düzeylerinin K

grubuna göre azaldığı; likopenin kullanılan dozda D+KP grubundaki oksidatif stres ve klorprifos etil'in nörotoksik etkileri üzerinde etkili olamadığı sonucuna varıldı.

Diyabet (D) ve KP grubunda AST ve ALT düzeylerinin K grubuna göre arttığı; likopenin D ve KP grubu AST ve ALT düzeylerini önemli derecede azalttığı; likopenin diyabet ve klorprifos etil tarafından oluşturulan karaciğer hasarına karşı etkili olabileceği sonucuna varıldı.

Klorprifos etil uygulanan diyabet (D+KP) grubunda AST ve ALT düzeylerinin K grubuna göre arttığı; likopenin kullanılan dozda D+KP grubu karaciğer hasarı üzerinde etkili olamadığı sonucuna varıldı.

Diyabet (D) grubunda AKŞ ve serum glikoz düzeylerinin K grubuna göre arttığı; plazma insülin düzeylerinin ise azaldığı görülmüştür. Likopenin D grubunda azalan plazma insülin düzeylerini artırarak AKŞ ve serum glikoz düzeylerini normal seviyelerine kadar azaltabileceği sonucuna varıldı.

Klorprifos etil (KP) grubunda AKŞ ve serum glikoz düzeylerinin K grubuna göre arttığı; plazma insülin düzeylerinin ise azaldığı görülmüştür. Likopenin KP grubunda azalan plazma insülin düzeylerini artırarak AKŞ ve serum glikoz düzeylerini normal seviyelerine kadar azaltabileceği sonucuna varıldı.

Klorprifos etil uygulanan diyabet (D+KP) grubunda AKŞ ve serum glikoz düzeylerinin K grubuna göre arttığı; plazma insülin düzeylerinin ise azaldığı görülmüştür. Likopenin kullanılan dozda D+KP grubu plazma insülin ve serum glikoz düzeyleri üzerinde ise önemli bir etkisinin olmadığı sonucuna varıldı.

Bu bilgilerin ışığında, likopenin diyabet ile klorprifos etil tarafından oluşturulan hiperglisemi ve buna bağlı olarak ortaya çıkabilecek komplikasyonların tedavisine yardımcı, güvenli ve etkili bir alternatif olabileceği sonucuna varılmıştır.

Daha sonra yapılacak çalışmalarda, diyabetli canlılarda oluşabilecek pestisid toksikasyonunda likopenin farklı dozlarda veya diğer antioksidan maddelerle kombine kullanımının araştırılması önerilmektedir.

ÖZET

Klorprifos Uygulanan Diyabetli Ratlarda Likopenin Antioksidan ve Hipoglisemik Etkilerinin Araştırılması

Son yıllarda yapılan çalışmalar, artmış serbest radikallerin ve lipid peroksidasyonun, diyabet gibi birçok hastalığın patogenezinde ve pestisidlerin toksisitesinde rol aldığını göstermektedir. İnsan ve hayvanların organik fosforlu bileşiklere maruziyetinin yan etkilerinden birisinin de hiperglisemi olduğu bilinmektedir. Bu nedenle çalışmada, organik fosforlu bileşiklerden Klorprifos etil'in, normal ve STZ ile diyabet oluşturulmuş ratlarda oluşturduğu oksidatif stres ve hiperglisemi üzerine likopenin olası antioksidan ve hipoglisemik etkisini araştırma amaçlandı.

Bu amaçla 56 yetişkin Wistar albino rat kullanıldı. Ratlar her grupta 7 adet olacak şekilde rastgele 8 gruba ayrıldı ve gruplar K (0,5 ml mısır yağı), D, KP (2,7 mg/kg klorprifos etil), L (10 mg/kg likopen), D+KP (2,7 mg/kg klorprifos etil), D+L (10 mg/kg likopen), L (10 mg/kg likopen) + KP (2,7 mg/kg klorprifos etil), D+L (10 mg/kg likopen) + KP (2,7 mg/kg klorprifos etil) olarak isimlendirildi. D grubuna tek doz 50 mg/kg STZ periton içi yolla uygulandı. Mısır yağı, KP ve L ratlara oral gavaj ile 28 gün boyunca verildi. Çalışma süresince (4 hafta), her hafta rat ağırlık artışları ve açlık kan şekeri düzeyleri ölçüldü. Çalışma sonunda tam kanda MDA ve GSH düzeyleri, plazmada; SOD, CAT, GPx, insülin, AkE, NO düzeyleri ve AST, ALT, glikoz, TNF- α ve TAK düzeyleri de serumda belirlendi.

Bu çalışmada kontrol grubu ile karşılaştırıldığında STZ ve klorprifos etil uygulamalarının açlık kan şekeri, serum glikoz düzeylerini yükselttiği, plazma insülin düzeylerini ise azalttığı görüldü. Ayrıca STZ ve klorprifos etil uygulamalarının MDA düzeylerini önemli oranda artırdığı, antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, CAT, GPx) ile birlikte GSH ve TAK düzeylerini ise önemli oranda azalttığı ortaya konuldu.

Likopen uygulamalarının D ve KP gruplarındaki glikoz düzeylerinde bir azalma, insülin düzeylerinde bir artışa neden olduğu, D+KP gruplarındaki glikoz ve insülin düzeylerine ise bir etkisinin olmadığı görüldü. Ayrıca likopenin D grubundaki ratların MDA düzeylerini azalttığı, antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, CAT, GPx) ile birlikte GSH ve TAK düzeylerini artırdığı tespit edildi. Bu çalışmada kullanılan likopen dozunun ise KP ve D+KP gruplarında meydana gelen oksidatif stres üzerine olumlu bir etkisinin olmadığı belirlendi.

Sonuç olarak likopenin diyabet ve klorprifos etil tarafından oluşturulan hiperglisemi ve buna bağlı olarak ortaya çıkabilecek komplikasyonların tedavisine

yardımcı, güvenli ve etkili bir alternatif olabileceği önerilebilir. Ayrıca diyabetli insan ve hayvanlarda oluşabilecek pestisid toksikasyonunda likopenin daha yüksek dozlarda veya diğer antioksidanlarla kombine kullanımının bundan sonraki çalışmalarda araştırılması gerektiği kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, hiperglisemi, klorprifos etil, likopen, oksidatif stres

SUMMARY

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

Recent studies indicate that increased free radicals and lipid peroxidation play a major role in the toxicity of pesticides and pathogenesis of many diseases like diabetes. It has been known that one of the adverse effects in human and animals exposed to organophosphorus compounds is hyperglycemia. For this reason, we aimed to investigate the possible antioxidant and hypoglycaemic effect of lycopene on chlorpyrifos-induced oxidative stress and hyperglycemia in normal (non-diabetic) rats and STZ-induced diabetic rats.

In this study, 56 adult Wistar albino rats were used. Rats were randomly divided into eight groups, n=7: These groups were named as K (0,5 ml corn oil), D, KP (2,7 mg/kg chlorpyrifos ethyl), L (10 mg/kg lycopene), D+KP (2,7 mg/kg chlorpyrifos), D+L (10 mg/kg lycopene), L (10 mg/kg lycopene) + KP (2,7 mg/kg chlorpyrifos ethyl), D+L (10 mg/kg lycopene) + KP (2,7 mg/kg chlorpyrifos ethyl). D group rats received a single dose of STZ (50 mg/kg) intraperitoneally. K, KP and L groups rats were given corn oil, chlorpyrifos and lycopene by oral gavage for 28 consecutive days. Rat weight gains and fasting blood glucose were measured every week for 4 weeks. At the end of the study MDA and GSH were assessed in whole blood. SOD, CAT, GPx, insulin, AKE and NO were determined in plasma. AST, ALT, glucose, TNF- α and TAK were assessed in serum.

In this study, the treatment of rats with a single dose of STZ (50 mg/kg body weight) and chlorpyrifos was shown that decreased in plasma insulin level while fasting blood glucose and serum glucose increased compared to the control group. Moreover the treatment of rats with a single dose of STZ (50 mg/kg body weight) and chlorpyrifos was revealed significant increased in MDA while TAK and GSH levels were decreased with a consistently significant decreased in the activity of antioxidative enzymes (SOD, CAT, GPx).

Administration of lycopene to rats in D and KP groups was shown that caused a decreased in glucose level, an increased of insulin concentration but had no effect on D+KP group. Moreover administration of lycopene to rat in D group was found that decreased in MDA while TAK and GSH levels were increased with a consistently increased in the activity of antioxidative enzymes (SOD, CAT, GPx). Also, lycopene dose that used present study had not a positive effect on KP and D+KP induced oxidative stress.

This study suggests that lycopene acts as an safe and efficient choice in helper to treatment of diabetes and chlorpyrifos induced hyperglycemia and their complications. Furthermore it concluded that need for further research on utilization of lycopene at higher doses or in combination with other antioxidants in pesticide toxication with diabetic human and animals.

Key Words: Diabetes mellitus, hyperglycemia, chlorpyrifos ethyl, lycopene, oxidative stress

KAYNAKLAR

- ABDOLLAHI, M., RANJBAR, A., SHADNIA, S., NIKFAR, S., REZAI, A., (2004a) Pesticides and oxidative stress: a review. *Med Sci Monit*, **10(6)**: RA141-147.
- ABDOLLAHI, M., DONYAVI, M., POURNOURMOHAMMADI, S., SAADAT, M., (2004b) Hyperglycemia associated with increased hepatic glycogen phosphorylase and phosphoenolpyruvate carboxykinase in rats following subchronic exposure to malathion. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, **137(4)**: 343-7.
- ABOU-SEIF, M.A., YOUSSEF, A.A., (2004) Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients. *Clin Chim Acta*, **346(1)**: 161-170.
- AGARWAL, S., RAO, A.V., (2000) Tomato lycopene and its role in human health and chronic disease. *CMAJ*, **163(6)**: 739-44.
- AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR), (1997) Toxicological profile for chlorpyrifos, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, GA, pp.1-130.
- AHMED, M.M., ZAKI, N.I., (2009) Assessment the ameliorative effect of pomegranate and rutin on chlorpyrifos-ethyl-induced oxidative stress in rats. *Nat Sci*, **7(10)**: 49-61.
- AHMED, N.S., MOHAMED, A.S., ABDEL-WAHHAB, M.A., (2010) Chlorpyrifos-induced oxidative stress and histological changes in retinas and kidney in rats: Protective role of ascorbic acid and alpha tocopherol. *Pestic. Biochem. Physiol.*, **98(1)**: 33-38.
- AKAR, F., (2007) İnsülin, Kan Şekerini Düşüren İlaçlar ve Glukagon. *Veteriner Farmakoloji (Cilt 2, 4.Baskı)*, KAYA, S. (Editör), Medisan Yayınları, Ankara, sy. 101-106.
- AKBARALY, N.T., FAURE, H., GOURLET, V., FAVIER, A., BERR, C., (2007) Plasma carotenoid levels and cognitive performance in an elderly population: results of the EVA study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, **62**: 308-316.
- AKHGARI, M., ABDOLLAHI, M., KEBRYAEEZADEH, A., HOSSEINI, R., SABZEVARI, O., (2003) Biochemical evidence for free radical-induced lipid peroxidation as a mechanism for subchronic toxicity of malathion in blood and liver of rats. *Hum Exp Toxicol*, **22**: 205-211.
- AKKUŞ, İ., (1995) Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Mimoza Yayınları, Konya.
- AKSOY, N., VURAL, H., SABUNCU, T., ARSLAN, O., AKSOY, S. (2005) Beneficial effects of vitamins C and E against oxidative stress in diabetic rats. *Nutr Res*, **25(6)**: 625-630.
- ALDRIDGE, J.E., SEIDLER, F.J., MEYER, A., THILLAI, I., SLOTKIN, T.A. (2003) Serotonergic systems targeted by developmental exposure to chlorpyrifos: effects during different critical

- periods. *Environ Health Perspect*, **111(14)**: 1736-1743.
- ALEXANDRAKI, K.I., PIPERI, C., ZIAKAS, P.D., APOSTOLOPOULOS, N.V., MAKRILAKIS, K., SYRIOU, V., DIAMANTI-KANDARAKIS, E., KALTSAS, G., KALOFOUTIS, A., (2008) Cytokine secretion in long-standing diabetes mellitus type 1 and 2: associations with low-grade systemic inflammation. *J Clin Immunol*, **28(4)**: 314-21.
- ALI, M.M., AGHA, F.G., (2009) Amelioration of streptozotocin-induced diabetes mellitus, oxidative stress and dyslipidemia in rats by tomato extract lycopene. *Scand J Clin Lab Invest*, **69**: 371–379.
- ALTAN, N., DİNÇEL, A.S., KOCA, C., (2006) Diabetes mellitus and oxidative Stres. *Turk J Bioch*, **31(2)**: 51–56.
- ALVAREZ, A.A., RAMÍREZ-SAN JUAN, E., CANIZALES-ROMÁN, A., (2008) Chlorpyrifos induces oxidative stress in rats. *Toxicol Environ Chem*, **90(5)**: 1019-1025.
- ALY, N., EL-GENDY, K., MAHMOUD, F., EL-SEBAE, A.K., (2010) Protective effect of vitamin C against chlorpyrifos oxidative stress in male mice. *Pestic Biochem Physiol*, **97(1)**: 7-12.
- AMBALI, S.F., (2009) Ameliorative effect of Antioxidant Vitamins C and E on Neurotoxicological, Haematological and Biochemical Changes Induced by Chronic Chlorpyrifos Exposure in Wistar Rats, *PhD Dissertation*, Ahmadu Bello University, Zaria, Nigeria.
- AMBALI S.F., AYO, J.O., OJO, S.A., ESIEVO, K.A., (2010) Vitamin E protects rats from chlorpyrifos-induced increased erythrocyte osmotic fragility in Wistar rats. *Food Chem. Toxicol*, **48(12)**: 3477-3480.
- AMBALI, SF., AKANBI, DO., OLADIPO, OO., YAQUB, LS., KAWU, MU., (2011a) Subchronic chlorpyrifos-induced clinical, hematological and biochemical changes in Swiss albino mice: Protective effect of vitamin E. *Int J Biol Med Res*, **2(2)**: 497-503.
- AMBALI, S.F., SHUAIB, K., EDEH, R., ORIEJI, B.C., SHITTU, M., AKANDE, M., (2011b) Hyperglycemia induced by subchronic co-administration of chlorpyrifos and lead in Wistar rats: Role of pancreatic lipoperoxidation and alleviating effect of vitamin C. *Biology and Medicine*, **3(1)**: 6-14.
- AMIR, H., KARAS, M., GIAT, J., DANILENKO, M., LEVY, R., YERMIAHU, T., LEVY, J., SHARONI, Y., (1999) Lycopene and 1,25-dihydroxyvitamin D3 cooperate in the inhibition of cell cycle progression and induction of differentiation in HL-60 leukemic cells. *Nutr Cancer*, **33**: 105–12.
- ANONİM, (2012) Organophosphorus pesticides, Erişim: [<http://www.inchem.org/documents/pims/chemical/pimg001.htm>]. Erişim Tarihi: 25.06.2012.
- ANWAR, M.M., MEKI, A.R., (2003) Oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats: effects of garlic oil and melatonin, *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, **135(4)**: 539-47.
- ASHOKKUMAR, N., PARI, L., RAMKUMAR, K.M., (2006) N-Benzoyl-D-phenylalanine attenuates brain acetylcholinesterase in neonatal streptozotocin-diabetic rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, **99**: 246–250.

- ASLAN, M., SABUNCU, T., KOÇYIGIT, A., ÇELİK, H., SELEK, S., (2007) Relationship between total oxidant status and severity of diabetic nephropathy in type 2 diabetic patients. *Nutr Metabol Cardiovasc Dis*, **17**: 734-740.
- ASTANEI, F., AFSHARI, M., MOJTAHEDI, A., MOSTAFALOU, S., ZAMANI, M.J., LARIJANI, B., ABDOLLAHI, M., (2005) Total antioxidant capacity and levels of epidermal growth factor and nitric oxide in blood and saliva of insulin-dependent diabetic patients, *Arch Med Res*, **36(4)**: 376-81.
- ATESSAHIN, A., KARAHAN, I., TURK, G., GUR, S., YILMAZ, S., CERIBAS, A.O., (2006) Protective role of lycopene on cisplatin induced changes in sperm characteristics, testicular damage and oxidative stress in rats. *Reprod Toxicol*, **21**: 42-7.
- AYCICEK, A., ISCAN, A., EREL, O., AKCALI, M., SELEK, S., (2006) Total antioxidant/oxidant status in meningism and meningitis. *Pediatr Neurol*, **35(6)**: 382-386.
- AYDIN, M., (2008) Ratlarda diyabetik nöropatide rol oynayan oksidatif hasarın önlenmesinde likopenin etkinliği. Yüksek lisans tezi, Mustafa Kemal Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Hatay.
- AZQUETA, A., COLLINS, A.R., (2012) Carotenoids and DNA damage. *Mutat Res*, **733**: 4-13.
- AZZA, A.A., MOHGA, S.A., WAFAA, G.H.S.H., KARAM, A.M., ENAS, R.A., TAREK A.S.H., SALWA, M.E., (2010) Evaluation of some inflammatory cytokines in children with type 1 diabetes mellitus. *J Am Sci*, **6(11)**: 1060-1067.
- BAJGAR, J., (2005) Laboratory diagnosis of organophosphates/nerve agent poisoning. *Klin Biochem Metab*, **13**: 40-7.
- BALASUBRAMANYAM, M., REMA, M., PREMANAND, C., (2002) Biochemical and molecular mechanisms of diabetic retinopathy. *Curr Sci*, **83(12)**: 1506-1514.
- BANERJEE, BD., SETH, V., AHMED, RS., (2001) Pesticide-induced oxidative stress: perspectives and trends. *Rev Environ Health*, **16(1)**: 1-40.
- BANERJEE, B.D., SETH, V., BHATTACHARYA, A., PASHA, S.T., CHAKRABORTY, A.K., (1999) Biochemical effects of some pesticides on lipid peroxidation and free-radical scavengers. *Toxicol Lett*, **107**: 33-47.
- BARAL, R., RAND, J., CATT, M., FARROW, H., (2003) Prevalence of feline diabetes mellitus in a feline private practice. *J Vet Int Med*, **17**: 433-444.
- BARNA-LLOYD, T., SZABO, J.R., DAVIS, N.L., (1990) Chlorpyrifos-methyl (Reldan R) rat subchronic dietary toxicity and recovery study. Unpublished Report TXT: K-046193-026 from Dow Chemical, Texas, USA, submitted to WHO by Dow Elanco, Indianapolis, USA, 1990.
- BASUNY, A.M., GAAFAR, A.M., ARAFAT, S.M., (2009) Tomato lycopene is a natural antioxidant and can alleviate hypercholesterolemia, *Afr J Biotechnol*, **8(23)**: 6627-6633.
- BAYNES, J.W., THORPE, S.R. (1999) Role of oxidative stress in diabetic complications: A new perspective on an old paradigm. *Diabetes*, **48(1)**: 1-9.

- BAYŞU SÖZBİLİR, N., BAYŞU N., (2008) Biyokimya. Güneş Tıp Kitapevleri, Ankara.
- BEBE, F.N., PANEMANGALORE, M., (2003) Exposure to low doses of endosulfan and chlorpyrifos modifies endogenous antioxidants in tissues of rats. *J Environ Sci Health B*, **38(3)**: 349-363.
- BERG, J.M., TYMOCZKO, J.L., STRYER, L., (2006) Biochemistry (6th Ed.). W.H. Freeman and Company, New York.
- BEUTLER, E., DURON, O., KELLY, B.M., (1963) Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med*, **61**: 882-8.
- BHAGAVAN, N.V., (2002) Medical Biochemistry (4th Ed.). Harcourt/Acedemic Press, Kanada.
- BONNEFONT-ROUSSELOT, D., RAJI, B., WALRAND, S., GARDÈS-ALBERT, M., JORE, D., LEGRAND, A., PEYNET, J., VASSON, M.P., (2003) An intracellular modulation of free radical production could contribute to the beneficial effects of metformin. *Metabolism*, **52(5)**: 586-9.
- BOSE, K.S., AGRAWAL, B.K., (2006) Effect of long term supplementation of tomatoes (cooked) on levels of antioxidant enzymes, lipid per oxidation rate, lipid profile and glycated haemoglobin in Type 2 diabetes mellitus. *West Indian Med J*, **55**: 274-278.
- BRAMLEY, P.M., (2000) Is lycopene beneficial to human health. *Phy Rev*, **54(3)**: 233-236.
- BRANDS, A.M., KESSELS, R.P., DEHAAN, E.H., KAPPELLE, L.J., BIESSELS, G.J., (2004) Cerebral dysfunction in type 1 diabetes: effects of insulin,vascular risk factors and blood-glucose levels. *Eur J Pharmacol*, **490**: 159-168.
- BROWNLEE, M., (2001) Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, **414**: 813-820.
- BUKAN, N., SANCAK, B., BILGIHAN, A., KOSOVA, F., BUGDAYCI, G., ALTAN, N., (2004) The effects of the sulfonylurea glyburide on glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase activities in the heart tissue of streptozotocin-induced diabetic rat. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, **26(7)**: 519-522.
- BUKOWSKA, B., (2004) 2,4,5-T and 2,4,5-TCP induce oxidative damage in human erythrocytes: the role of glutathione. *Cell Biol Int*, **28(7)**: 557-63.
- BUYUKOKUROGLU, M.E., CEMEK, M., YURUMUZ, Y., YAVUZ, Y., ASLAN, A., (2008) Antioxidative role of melatonin in organophosphate toxicity in rats. *Cell Biol Toxicol*, **24(2)**: 151-8.
- CAMERON, N.E., COTTER, M.A., (1997) Metabolic and vascular factors in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Diabetes*, **46 (Suppl 2)**: 31-37.
- CAN, M., (2003) Diabetik Ratlarda Pufa Alımınının Hipokampus NMDA Reseptör Subünit Konsantrasyonları ve Lipid Peroksidasyonu Üzerine Etkisi. Tıpta uzmanlık tezi. Süleyman Demirel Üniv. Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Isparta.

- CASIDA, J.E., QUISTAD, G.B., (2004) Organophosphate toxicity: Safety aspects of non-acetylcholinesterase secondary targets. *Chem Res Tox*, **17**: 983-998.
- CATCHPOLE, B., RISTIC, J.M., FLEEMAN, L.M., DAVISON, L.J., (2005) Canine diabetes mellitus: can old dogs teach us new tricks?. *Diabetologia*, **48**: 1948–1956.
- CATHCART, R.F., (1985) Vitamin C: the nontoxic, nonrate-limited, antioxidant free radical scavenger. *Medical Hypotheses*, **18**: 61-77.
- CERIELLO, A., (1997) Acute hyperglycaemia and oxidative stress generation. *Diabet Med*, **14**: S45–S49.
- CERIELLO, A., (2003) New insights on oxidative stress and diabetic complications may lead to a “causal” antioxidant therapy. *Diabetes Care*, **26(5)**: 1589–1596.
- CETTO, A.A., WIEDENFELD, H., REVILLA, M.C., SERGIO, I.A., (2000) Hypoglycemic effect of *Equisetum myriochaetum* aerial parts on streptozotocin diabetic rats. *J Ethnopharmacol*, **72(1-2)**: 129-33.
- CHHABRA, S.K., HASHIM, S., RAO, A.R., (1993) Modulation of hepatic glutathione system of enzymes in suckling mouse pups exposed transplacentally to malathion. *J Appl Toxicol*, **13**: 411–416.
- CHING, S., INGRAM, D., HAHNEL, R., BEILBY, J., ROSSI, E., (2002). Serum levels of micronutrients, antioxidants and total antioxidant status predict risk of breast cancer in a case control study. *J Nutr*, **132**: 303–306.
- CIVEN, M., BROWN, C.B., MORIN R.J., (1977) Effects of organophosphate insecticides on adrenal cholesteryl ester and steroid metabolism. *Biochem Pharmacol*, **26(20)**: 1901-1907.
- CLINTON, S.K., (1998) Lycopene: Chemistry, biology, and implications for human health and disease. *Nutr Rev*, **56(2)**: 35–51.
- COSTA, L.G., (2006) Current issues in organophosphate toxicology. *Clin Chim Acta*, **366(1-2)**: 1-13.
- COX, C., (1994) Chlorpyrifos, Part 1 (Toxicology). *J Pest Ref*, **14(4)**: 15-20.
- ÇELİK, S., BAL, R., (2002) Kedi ve köpeklerde diabetes mellitus: böbrek fonksiyon bozuklukları ve idrar taşı oluşumu ile ilişkisi. *Uludağ Univ J Fac Vet Med*, **21**: 43-48.
- ÇÖMELEKOĞLU, Ü., MAZMANCI, B., (2000) Pestisidlerin kronik etkisine maruz kalan tarım işçilerinde karaciğer fonksiyonlarının incelenmesi. *Turk J Biol*, **24**: 461–466.
- DANDONA, P., ALJADA, A., BANDYOPADHYAY, A., (2004) Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol*, **25(1)**: 4-7.
- DAS, K., CHAINY, G.B.N., (2001) Modulation of rat liver mitochondrial antioxidant defense system by thyroid hormone. *Biochim Biophys Acta*, **1537(1)**: 1-13.

- DELİBAŞ, N., ÖZCANKAYA, R., (1995) Serbest radikaller. *SDÜ Tıp Fak Derg*, **2(3)**: 11-17.
- DEMİR, F, UZUN, F.G., DURAK, D., KALENDER, Y. (2011) Subacute chlorpyrifos-induced oxidative stress in rat erythrocytes and the protective effects of catechin and quercetin. *Pestic Biochem Physiol*, **99**: 77-81.
- DEMİRDÖĞEN, B.C. (2010) Organofosfatlı pestisit zehirlenmeleri ve serum paraoksonaz 1 (PON1) enziminin organofosfat metabolizmasındaki rolü. *Türk Hij Den Biyol Derg*, **67(2)**: 97-112.
- DI MASCIO, P., KAISER, S., SIES, H., (1989) Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Arch Biochem Biophys*, **274(2)**: 532-538.
- DRAPER, H.H., HADLEY, M., (1990) Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol*, **186**: 421-31.
- DURAK, D., KALENDER, S., UZUN, F.G., DEMİR, F., KALENDER, Y., (2010) Mercury chloride-induced oxidative stress and the protective effect of vitamins C and E in human erythrocytes in vitro. *Afr J Biotechnol*, **9**: 488-495.
- DURU, N., (2008) Kuşburnu nektarındaki karotenoidlerin depolama stabilitesi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- DUZGUNER, V., KUCUKGUL, A., ERDOGAN, S., CELİK, S., SAHİN, K., (2008) Effect of lycopene administration on plasma glucose, oxidative stress and body weight in streptozotocin diabetic rats. *J Appl Anim Res*, **33**: 17-20.
- DÜZGÜNER, V., (2005) Deneysel Olarak Diyabet Oluşturulan Tavşanlarda Çinkonun Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Sistem Üzerine Etkisi. Yüksek lisans tezi. Mustafa Kemal Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Hatay.
- DYER, AM., (2011) Effects of an organophosphate pesticide (chlorpyrifos) on sprague-Dawley body weight in correlation to high fat diet and forced exercise. Department of Environmental Science Allegheny College, Meadville, Pennsylvania.
- ECOBICHON, D.J., (2001) Toxic Effects of Pesticides. *Casarett & Doull's Toxicology The Basic Science of Poisons* (6th Ed.). (KLAASSEN, CD., Ed.), McGraw-Hill, New York. pp. 763-810.
- EDGE, R., TRUSCOTT, T.G., (1999) The Photochemistry of Carotenoids (Frank, HA., Young, AJ., Britton, G., Cogdell, RJ., Eds.), Kluwer Academic, Dordrecht, The Netherlands, pp. 223-234.
- EL-BANNA, S.G., ATTIA, A.M., HAFEZ, A.M., EL-KAZAZ, S.M., (2009) Effect of garlic consumption on blood lipid and oxidant/antioxidant parameters in rat males exposed to chlorpyrifos. *Slovak J Anim Sci*, **42(3)**: 111-117.
- ELELAIMY, I.A., IBRAHIM, H.M., GHAFAR, F.R.A., ALAWTHAN, Y.S., (2012) Evaluation of sub-chronic chlorpyrifos poisoning on immunological and biochemical changes in rats and protective effect of eugenol. *JAPS*, **02(06)**: 51-61.
- ELLIOT, J.G., (1999) Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. *Food Tech*, **53(2)**:

46-48.

- EL-MISSIRY, M.A., EL GINDY, A.M., (2000) Amelioration of alloxan induced diabetes mellitus and oxidative stress in rats by oil of *Eruca sativa* seeds. *Ann Nutr Metab*, **44**: 97–100.
- EL-SHENAWY, N.S., EL-SHALMY, F., AL-EISA, RA., EL-AHMARY, B., (2010) Amelioratory effect of vitamin E on organophosphorus insecticide diazinon-induced oxidative stress in mice liver. *Pestic Biochem Physiol*, **96(2)**: 101-107.
- EVCIMEN, N.D., KING, G.L., (2007). The role of protein kinase C activation and the vascular complications of diabetes. *Pharmacol Res*, **55**: 498–510.
- FANG, Y.Z., YANG, S., W.U, G., (2002) Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, **18(10)**: 872-879.
- FERNÁNDEZ-GARCIA, E., CARVAJAL-LÉRIDA, I., JARÉN-GALÁN, M., GARRIDO-FERNÁNDEZ, J., PÉREZ-GÁLVEZ, A., HORNERO-MÉNDEZ, D., (2012) Carotenoids bioavailability from foods: From plant pigments to efficient biological activities. *Food Res Int*, **46**: 438–450.
- FİDAN, AF., (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, Afyon Kocatepe Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.
- FUKUHARA, M., MATSUMURA, K., WAKISAKA, M., TAKATA, Y., SONOKI, K., FUJISAWA, K., ANSAI, T., AKIFUSA, S., FUJII, K., LIDA, M., TAKEHARA, T., (2007) Hyperglycemia promotes microinflammation as evaluated by C reactive protein in the very elderly. *Intern Med*, **46(5)**: 207–212.
- GAO, J.X., LI, Y., ZHANG, H.Y., H.E, X.L., BAI, A.S., (2012) Lycopene ameliorates erectile dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmazie*, **67(3)**: 256-9.
- GHAREEB, D.A., HUSSEN, H.M., (2008) Vanadium improves brain acetylcholinesterase activity on early stage alloxan-diabetic rats. *Neurosci Lett*, **436**: 44–47.
- GIARDINO, I., EDELSTEIN, D., BROWNLEE, M., (1996) Bcl-2 expression or antioxidants prevent hyperglycemia-induced formation of intracellular advanced glycation end products in bovine endothelial cells. *J Clin Invest*, **97(6)**: 1422-1428.
- GILLERY, P., MONBOISSE, J.C., MAQUART, F.X., BOREL, J.P., (1988) Glycation of proteins as a source of superoxide. *Diabetes*, **14(1)**: 25-30.
- GIOVANNUCCI, E., (1999) Tomatoes, tomato-based products, lycopene and cancer: review of the epidemiologic literature. *J Natl Cancer Inst*, **91(4)**: 317–31.
- GOEL, A., DANI, V., DHAWAN, D.K., (2005) Protective effects of zinc on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and hepatic histoarchitecture in chlorpyrifos-induced toxicity. *Chem Biol Interact*, **156(2–3)**: 131–140.

- GOEL, A., DANI, V., DHAWAN, D.K., (2007) Zinc mediates normalization of hepatic drug metabolizing enzymes in chlorpyrifos-induced toxicity. *Toxicol Lett*, **169**: 26–33.
- GORDON, C.J., ROWSEY, P.J. (1999). Are circulating cytokines interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha involved in chlorpyrifos-induced fever?. *Toxicology*, **134**: 9-17.
- GÖKPINAR, Ş., KORAY, T., AKÇİÇEK, E., GÖKSAN, T., DURMAZ, Y., (2006) Algal antioksidanlar. *Ege JFAS*, **23(1/1)**: 85-89.
- GREEN, K., BRAND, M.D., MURPHY, M.P., (2004) Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. *Diabetes*, **53 (Suppl 1)**: 110-118.
- GREEN, L.C., WAGNER, D.A., GLOGOWSKI, J., SKIPPER, P.L., WISHNOK, J.S., TANNENBAUM, S.R., (1982) Analysis of nitrate, nitrite, and [15N] nitrate in biological fluids. *Anal Biochem*, **126**: 131-138.
- GREENE, DA., SIMA, AAF., ALBERTS, JW., PFEIFER, MA., (1990) Diabetic Neuropathy. In: *Diabetes Mellitus Theory and Practice* (4th Ed), Rifkin, H., Porte, D. (Eds.), Elsevier, New York, 710-755.
- GULTEKIN, F., DELIBAS, N., YASAR, S., KILINC, I., (2001) In vivo changes in antioxidant systems and protective role of melatonin and a combination of vitamin C and vitamin E on oxidative damage in erythrocytes induced by chlorpyrifos-ethyl in rats. *Arch Tox*, **75(2)**: 88-96.
- GUNASEKERA, R.S., SEWGOBIND, K., DESAI, S., DUNN, L., BLACK, H.S., MCKEEHAN, W.L., PATIL, B., (2007) Lycopene and lutein inhibit proliferation in rat prostate carcinoma cells. *Nutr Cancer*, **58(2)**: 171–177.
- GUPTA, R.C., MILATOVIC D., DETTBARN W.D., (2001) Nitric oxide modulates high-energy phosphates in brain regions of rats intoxicated with diisopropylphosphorofluoridate or carbofuran: prevention by N-tert-butyl-alpha-phenylnitron or vitamin E. *Arch Toxicol*, **75(6)**: 346-356.
- GUPTA, S.K., TRIVEDI, D., SRIVASTAVA, S., JOSHI, S., HALDER, N., VERMA, S.D. (2003) Lycopene attenuates oxidative stress induced experimental cataract development: an in vitro and in vivo study. *Nutrition*, **19(9)**: 794-9.
- GUTTERIDGE, J.M.C., (1995) Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem*, **41(12)**: 1819-1828.
- GÜLER, T., ÇELEBİ, N., SÜRER, H., YILMAZ, F.M., GÜLER, S., ŞİPİT, T., DURANAY, M., YÜCEL, D. (2004). Pulmoner tüberkülozlu hastalarda serum total antioksidan kapasite. *Türk Klinikleri J Med Sci*, **24(6)**: 618623.
- HAGAR, H.H., AZZA, H., FAHMY., (2002) A biochemical, histochemical and ultrastructural evaluation of the effect of dimethoate intoxication on rat pancreas. *Toxicol Lett*, **133**: 161-70.
- HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, JM., (1990) The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys*, **280(1)**: 1-8.

- HALLIWELL, B., MURCIA, MA., CHIRICO, S., ARUOMA, OI., (1995) Free radicals and antioxidants in food and in vivo: What they do and how they work. *Crit Rev Food Sci Nutr*, **35(1-2)**: 7-20.
- HAWKINS, M., BARZILAI, N., LIU, R., HU, M., CHEN, W., ROSSETTI, L., (1997) Role of the glucosamine pathway in fat-induced insulin resistance. *J Clin Invest*, **99**: 2173–2182.
- HEBER, D., LU, QY., (2002) Overview of mechanisms of action of lycopene. *Exp Biol Med*, **227(1)**: 920-923.
- HEIDLAND, A., SEBEKOVA, K., SCHINZEL, R., (2001) Advanced glycation end products and the progressive course of renal disease. *Am J Kidney Dis*, **38 (4 Suppl 1)**: S100-106.
- HSIAO, G., FONG, T.H., TZU, N.H., LIN, K.H., CHOU, D.S., SHEU, J.R., (2004) A potent antioxidant, lycopene, affords neuroprotection against microglia activation and focal cerebral ischemia in rats. *In Vivo*, **18**: 351–356.
- HUNTER, DL., LASSITER, TL., PADILLA, S., (1999) Gestational exposure to chlorpyrifos: comparative distribution of trichloropyridinol in the fetus and dam. *Toxicol Appl Pharmacol*, **158**: 16-23.
- HUSSEIN, HK., ABU-ZINADAH, OA., (2010) Antioxidant effect of curcumin extracts in induced diabetic wistar rats. *Int J Zool Res*, **6(4)**: 266-276.
- ICENOGLU, LM., CHRISTOPHER, NC., BLACKWELDER, WP., CALDWELL, DP., QIAO, D., SEIDLER, FJ., SLOTKIN, TA., LEWIN, ED., (2004) Behavioral alterations in adolescent and adult rats caused by a brief subtoxic exposure to chlorpyrifos during neurulation. *Neurotoxicol Teratol*, **26(1)**: 95-101.
- IYER, P., KAUFMAN, F., (2008) Evidence on the developmental and reproductive toxicity of chlorpyrifos. Reproductive and Cancer Hazard Assessment Branch Office of Environmental Health Hazard Assessment California Environmental Protection Agency.
- İRER, S.V., ALPER, G., (2004) Deneysel diyabet modelleri, *Türk Klinik Biyokimya Derg*, **2(3)**: 127-136.
- JAIN, C.K., AGARWAL, S., RAO, A.V., (1999) The effect of dietary lycopene on bioavailability, tissue distribution, in-vivo antioxidant properties and colonic preneoplasia in rats. *Nutr Res*, **19**: 1383–91.
- JOHANSEN, J.S., HARRIS, A.K., RYCHLY, D.J., ERGUL, A., (2005) Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. *Cardiovasc Diabetol*, **4(1)**: 5 1-11.
- JONKER, D., KUPER, C.F., FRAÏL, N., ESTRELLA, A., RODRIGUES OTERO, C., (2003) Ninety day oral toxicity study of lycopene from *Blakesleatrispora* in rats. *Regul Toxicol Pharmacol*, **37**: 396–406.
- KAĞA, S., (2006) Streptozotolin ile Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Papatya (*Matricaria Chamomilla* L.) Ekstresinin Antidiabetik ve Antioksidatif Etkisinin Araştırılması. Yüksek lisans tezi, Afyon Kocatepe Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.

- KAKKAR, R., MANTHA, S.V., RADHI, J., PRASAD, K., KALRA, J., (1997). Antioxidant defense system in diabetic kidney: a time course study. *Life Sci*, **60(9)**: 667-79.
- KALAYCIOĞLU, L., SERPEK, B., NIZAMLIOĞLU, M., BAŞPINAR, N., TIFTİK, A.M., (2010) Biyokimya (4. Baskı). Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.
- KAMATH, V., RAJINI, P.S., (2007) Altered glucose homeostasis and oxidative impairment in pancreas of rats subjected to dimethoate intoxication. *Toxicology*, **231**: 137-146.
- KAMBOJ, S.S., CHOPRA, K., SANDHIR, R., (2008) Neuroprotective effect of N-acetylcysteine in the development of diabetic encephalopathy in streptozotocin-induced diabetes. *Metab Brain Dis*, **23(4)**: 427-43.
- KAMMON, AM., BARR, RS., SODHI, S., BANGA, HS., SINGH, J., NAGRA, NS., (2011) Chlorpyrifos chronic toxicity in broilers and the effect of vitamin C. *Open Vet J*, **1**: 21-27.
- KANETO, H., XU, G. SONG, KH., SUZUMA, K., BONNER-WEIR, S., SHARMA, A., WEIR, GC., (2001) Activation of the hexosamine pathway leads to deterioration of pancreatic beta-cell function through the induction of oxidative stress. *J Biol Chem*, **276**: 31099–31104.
- KARABACAK, M., KANBUR, M., ERASLAN, G., SOYER SARICA, Z., (2011) The antioxidant effect of wheat germ oil on subchronic coumaphos exposure in mice. *Ecotoxicol Environ Saf*, **74(7)**: 2119-25.
- KARABULUT, A.B., (2001) Hepatit B'li hastalarda eritrosit ve lenfosit antioksidan enzimler, nitrik oksit düzeyleri ve plazma sitokinleri. Doktora Tezi, İnönü Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
- KARAHAN, I., ATEŞ, A., YILMAZ, S., CERİBAS, AO., SAKIN, F., (2005) Protective effect of lycopene on gentamicin-induced oxidative stress and nephrotoxicity in rats. *Toxicology*, **215**: 198–204.
- KARANTH, S., POPE, C. (2003) Age-related effects of chlorpyrifos and parathion on acetylcholine synthesis in rat striatum. *Neurotoxicol Teratol*, **25(5)**: 599-606.
- KARASU, Ç., ARI, N., (2005) Enerji metabolizmasının regülasyonu: pankreasın rolü, gastroenteropankreatik hormonlar, yağ dokusu hormonları, nöropeptidler, diabetes mellitus, antidiyabetik ilaçlar, diyabet/diyabete tedavisinde yeni ajanlar ve potansiyel hedefler. *J Int Med Sci*, **1(35)**: 1-61.
- KATZ, K.D., (2012) Organophosphate toxicity, Erişim: [http://emedicine.medscape.com/article/167726-overview]. Erişim Tarihi: 18.06.2012.
- KAYA, S., (2002) Pestisidler. *Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji* (2.baskı). KAYA, S., PİRİNÇCİ, İ., BİLGİLİ, A., (Editörler), Medisan Yayınları, Ankara, sy. 385-536.
- KAYA, S., (2006) Genel Anestezikler. *Veteriner Farmakoloji (Cilt 1, 4. Baskı)*. KAYA, S (Editör), Medisan Yayınları, Ankara, sy. 181-330.
- KAYA, S., BİLGİLİ, A., (1996) Pestisidler ve yol açabilecekleri başlıca sorunlar, *Türk Vet Hek Derg*,

8(4): 28-37.

- KEHRER, J.P., (1993) Free radicals as mediator of tissue injury and disease. *Crit Rev Toxicol*, **23**: 21-48.
- KHALIFA, F.K., KHALIL, F.A., BARAKAT, H.A., HASSAN, M.M., (2011) Protective role of wheat germ and grape seed oils in chlorpyrifos-induced oxidative stress, biochemical and histological alterations in liver of rats. *Aust J Basic Appl Sci*, **5(10)**: 54-66.
- KIM, Y.C., ARAKI, S., KIM, D.J., PARK, C.B., TAKASUKA, N., BABA-TORIYAMA, H., OTA, T., NIR, Z., KHACHIK, F., SHIMIDZU, N., TANAKA, Y., OSAWA, T., URAJI, T., MURAKOSHI, M., NISHINO, H., TSUDA, H., (1998) Chemopreventive effects of carotenoids and curcumins on mouse colon carcinogenesis after 1,2-dimethylhydrazine initiation. *Carcinogenesis*, **19**: 81-5.
- KOCA, C., ALTAN, N., DİNÇEL, AS., KOSOVA, F., ŞAHİN, D., ARSLAN, M., (2008) Tip 1 ve Tip 2 diyabetik hasta serumlarında oksidatif stres ve leptin düzeylerinin incelenmesi. *Türk Klinik Biyokimya Derg*, **6(3)**: 99-107.
- KOLM-LITTY, V., SAUER, U., NERLICH, A., LEHMANN, R., SCHLEICHER, E.D.,(1998) High glucose induced transforming growth factor beta1 production is mediated by the hexosamine pathway in porcine glomerular mesangial cells. *J Clin Invest*, **101**: 160-169.
- KORACEVIC, D., KORACEVIC, G., DJORDJEVIC, V., ANDREJEVIC, S., COSIC, V., (2001) Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids. *J Clin Pathol*, **54(5)**: 356-61.
- KOWLURU, R.A., KANWAR, M., (2007) Effects of curcumin on retinal oxidative stress and inflammation in diabetes. *Nutr Metabol (Lond)*, **16**: 4-8.
- KOYA, D., KING, G.L., (1998) Protein kinase C activation and the development of diabetic complications. *Diabetes*, **47**: 859-866.
- KRINSKY, N.I., (1998) The antioxidant and biological properties of the carotenoids, *Ann NY Acad Sci*, **854**: 443-447.
- KUHAD, A., CHOPRA, K., (2007) Curcumin attenuates diabetic encephalopathy in rats: behavioral and biochemical evidences. *Eur J Pharmacol*, **576(1-3)**: 34-42.
- KUHAD, A., CHOPRA, K., (2008) Effect of sesamol on diabetes-associated cognitive decline in rats. *Exp Brain Res*, **185(3)**: 411-20.
- KUHAD, A., SETHI, R., CHOPRA, K., (2008a) Lycopene attenuates diabetes-associated cognitive decline in rats. *Life Sci*, **83**: 128-134.
- KUHAD, A., SHARMA, S., CHOPRA, K., (2008b) Lycopene attenuates thermal hyperalgesia in a diabetic mouse model of neuropathic pain. *Eur J Pain*, **12(5)**: 624-632.
- LAIGHT, D.W., CARRIER, M.J., ANGGARD, E.E., (2000) Antioxidants, diabetes and endothelial dysfunction. *Cardiovasc Res*, **47**: 457-64.

- LANG, J., (1999). Molecular mechanisms and regulation of insulin exo-cytosis as a paradigm of endocrine secretion. *Eur J Biochem*, **259**: 3–17.
- LASSITER, T.L., BRIMIJOIN, S., (2008) Rats gain excess weight after developmental exposure to the organophosphate pesticide, chlorpyrifos. *Neurotoxicol Teratol*, **30(2)**: 125-30.
- LENZEN, S., (2008) The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, **51**: 216–226.
- LEVI, P.E., HODGSON, E., (1992) Metabolism of Organophosphorus Compounds by the Flavin-Containing Monooxygenase. *Organophosphates: Chemistry, Fate and Effects*, (CHAMBERS, JE., LEVI, PE., Eds.). Academic Press, San Diego, pp.141-154.
- LI, B.H., ZHANG, Q.X., DONG, D.J., LIN, X.M., (2007) Effect of lycopene on immunity in rats with acute lung injury. *Beijing Da Xue Xue Bao*, **39**: 77–82.
- LIZARDI, P.S., O'ROURKE, M.K., MORRIS, R.J. (2008) The effects of organophosphate pesticide exposure on Hispanic children's cognitive and behavioral functioning. *J Pediatr Psychol*, **33(1)**: 91-101.
- LOWINSON, J.H., RUIZ, P., MILLMAN, R.B., LANGROD, J.G., (2005) *Substance Abuse: A Comprehensive Textbook (4th Ed.)*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA, pp. 479-481.
- LUFT, FC., (2001) Insecticides and atherosclerosis, *J Mol Med (Berl)*, **79(8)**: 415-6.
- MACDONALD, P.E., WHEELER, M.B., (2003) Voltage-dependent K⁺ channels in pancreatic beta cells: role, regulation and potential as therapeutic targets. *Diabetologia*, **46**: 1046-1062.
- MAMDOUH, M.A., FATMA, G.A. (2009) Amelioration of streptozotocin-induced diabetes mellitus, oxidative stress and dyslipidemia in rats by tomato extract lycopene. *Scand J Clin Lab Invest*, **69(3)**: 371-379.
- MANSOUR, S.A., MOSSA, A.H., (2009) Lipid peroxidation and oxidative stress in rat erythrocytes induced by chlorpyrifos and the protective effect of zinc. *Pestic Biochem Physiol*, **93**: 34–39.
- MANSOUR, S.A., MOSSA, A.H., (2010) Oxidative damage, biochemical and histological alterations in rats exposed to chlorpyrifos and the antioxidant role of zinc. *Pestic Biochem Physiol*, **96**:14-23.
- MARITIM, A.C., SANDERS, R.A., WATKINS, J.B., (2003) Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: A review. *J Biochem Mol Toxicol*, **17(1)**: 24-38.
- MARMOR, M., WILLEBERG, P., GLICKMAN, L.T., PRIESTER, W.A., CYPESS, R.H., HURVITZ, AI. (1982) Epizootiologic patterns of diabetes mellitus in dogs. *Am J Vet Res*, **43**: 465–470.
- MARONI, M., COLOSIO, C., FERIOLI, A., FAIT, A., (2000) Organophosphorous pesticides, *Toxicology*, **143**: 9–37.

- MATOS, H.R., DI MASCIO, P., MEDEIROS, M.H., (2000) Protective effect of lycopene on lipid peroxidation and oxidative DNA damage in cell culture. *Arch Biochem Biophys*, **383(1)**: 56-59.
- MATSCHINSKY, F.M., (1996) Banting lecture 1995. A lesson in metabolic regulation inspired by the glucokinase glucose sensor paradigm. *Diabetes*, **45**: 223-241.
- MAXWELL, DM., (1992) Detoxification of Organophosphorus Compounds by Carboxylesterase. *Organophosphates: Chemistry, Fate and Effects*, (CHAMBERS, JE., LEVI, PE., Eds.), Academic Press, San Diego, pp. 183-199.
- MCCORD, J.M., FRIDOVICH, I., (1969) Superoxide dismutase. An enzymic function for erithrocuprein (hemocuprein). *J Biol Chem*, **244(22)**: 6049-6055.
- MEHTA, A., VERMA, R.S., SRIVASTAVA, N., (2009) Chlorpyrifos-induced alterations in the levels of hydrogen peroxide nitrate and nitrite in rat brain and liver. *Pestic Biochem Physiol*, **94**: 55-59.
- MEISTER, A. (1998) Glutathione metabolism and its selective modification. *J Biol Chem*, **263**: 17205-17208.
- MELLERT, W., DECKARDT, K., GEMBARDT, C., SCHULTE, S., VAN RAVENZWAAY, B., SLESINSKI, R.S., (2002) Thirtten-week oral toxicity study of synthetic lycopene products in rats. *Food Chem Toxicol*, **40**:1581-1588.
- MEMİŞOĞULLARI, R., (2005) Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. *Düzce Tıp Fak Derg*, **3**: 30-39.
- MICHAEL MCCLAIN, R., BAUSCH, I., (2003) Summary of safety studies conducted with synthetic lycopene. *Regul Toxicol Pharmacol*, **37(2)**: 274-285.
- MILESON, B.E., CHAMBERS, J.E., CHEN, W.L., DETTBARN, W., (1998) Common mechanism of toxicity: a case study of organophosphorus pesticides. *Toxicol Sci*, **41(1)**: 8-20.
- MILLER, N.J., RICE-EVANS, C., DAVIES, M.J., (1993) A new method for measuring antioxidant activity. *Biochem Soc Trans*, **21**: 95S.
- MONCADO, S., PALMER, R.M.J., HIGGS, E.A., (1991) Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev*, **43**: 109 – 42.
- MONTGOMERY, M.P., KAMEL, F, SALDANA, T.M., ALAVANJA, M.C.R., SANDLER, D.P., (2008) Incident diabetes and pesticide exposure among licensed pesticide applicators: Agricultural Health Study, 1993-2003. *Am J Epidemiol*, **67(10)**: 1235-1246.
- NORMAN, A.W., LITWACK, G., (1997) *Hormones* (2nd Ed.), LITWACK, G. (Ed.), Academic Press., San Diego.
- OKAJIMA, E., TSUTSUMI, M., OZONO, S., AKAI, H., DENDA, A., NISHINO, H., OSHIMA, S., SAKAMOTO, H., KONISHI, Y., (1998) Inhibitory effect of tomato juice on rat urinari bladder carcinogenesis after N-butyl- N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine initiation. *Jpn J Cancer Res*, **89**: 22-6.

- ÖNTÜRK, H., ÖZBEK, H., (2007) Deneysel diyabet oluşturulması ve kan şeker seviyesinin ölçülmesi. *Genel Tıp Dergisi*, **17(4)**: 231-236.
- ÖZCAN, N., İKİNCİOĞULLARI, D., (2009) Ulusal zehir danışma merkezi 2008 yılı çalışma raporu özeti. *Türk Hij Den Biyol Derg*, **66 (3) Ek 3**, 29-58.
- PAGLIA, D.E., VALENTINE, W.N., (1967) Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med*, **70**: 158-169.
- PAINTER, FM., (2003) Lycopene: Monograf. *Altern Med Rev*, **8(3)**: 336-342.
- PAIVA, S., RUSSELL, RM., (1999) Beta carotene and other carotenoids as antioxidants. *J Am Coll Nutr*, **18(5)**: 426-433.
- PANAHI, P., VOSOUGH-GHANBARI, S. POURNOURMOHAMMADI, S., OSTAD, S.N., NIKFAR, S., MINAIE, B., ABDOLLAHI, M., (2006) Stimulatory effects of malathion on the key enzymes activities of insulin secretion in langerhans islets, glutamate dehydrogenase and glucokinase. *Toxicol Mech Methods*, **16(4)**: 161-7.
- PARKER, RS., (1996) Absorption, metabolism and transport of carotenoids. *FASEB J.*, **10**: 542-51.
- PASTORI, M., PFANDER, H., BOSCOBOINIK, D., AZZI, A., (1998) Lycopene in association with alpha-tocopherol inhibits at physiological concentrations proliferation of prostate carcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun*, **250**: 582-5.
- PÉREZ, D.D., STROBEL, P., FONCEA, R., DÍEZ, M.S., VÁSQUEZ, L., URQUIAGA, I., CASTILLO, O., CUEVAS, A., SAN MARTÍN, A., LEIGHTON, F., (2002) Wine, diet, antioxidant defences, and oxidative damage, *Ann NY Acad Sci*, **957**: 136-145.
- PICO, Y., BLASCO, C., FONT, G., (2004) Environmental and food applications of LC-tandem mass spectrometry in pesticide-residue analysis: An overview. *Mass Spectrom Rev*, **23**: 45-85.
- POURKHALILI, N., POURNOURMOHAMMADI, S., RAHIMI, F., VOSOUGH-GHANBARI, S., BAEERI, M., OSTAD, S.N., ABDOLLAHI, M. (2009) Comparative effects of calciumchannel blockers, autonomic nervous system blockers, and free radicalscavengers on diazinon-induced hyposecretion of insulin from isolated islets ofLangerhans in rats, *Arh Hig Rada Toxicol*, **60(2)**: 157-64.
- POURNOURMOHAMMADI, S., FARZAMI, B., OSTAD, SN., AZIZI, E., ABDOLLAHI, M., (2005) Effects of malathion subchronic exposure on rat skeletal muscle glucose metabolism. *Environ Toxicol Pharmacol*, **19(1)**:191-6.
- PRATICÒ, D., (2005) Antioxidants and endothelium protection. *Atherosclerosis*, **181(2)**: 215-224.
- RAHIMI, R., ABDOLLAHI, M., (2007) A review on the mechanisms involved in hyperglycemia induced by organophosphorus pesticides. *Pestic Biochem Physiol*, **88**: 115-121.
- RAHIMI, R., NIKFAR, S., LARIJANI, B., ABDOLLAHI, M., (2005) A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. *Biomed Pharmacother*, **59(7)**: 365-73.

- RAJASEKARAN, S., RAVI, K., SIVAGNANAM, K., SUBRAMANIAN, S., (2006) Beneficial effects of aloe vera leaf gel extract on lipid profile status in rats with streptozotocin diabetes. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, **33(3)**: 232-7.
- RAND, J.S., FLEEMAN, L.M., FARROW, H.A., APPLETON, D.J., LEDERER, R., (2004) Canine and feline diabetes mellitus: nature or nurture?. *J Nutr*, **134**: 2072S-2080S.
- RAO, A.V., AGARWAL, S., (1998) Bioavailability and antioxidant properties of lycopene from tomato products. *Nutr Cancer*, **31**: 199-203.
- RAO, A.V., RAO, L.G., (2007) Carotenoids and human health. *Pharmacol Res*, **55**: 207-216.
- RAO, A.V., RAY, M.R., RAO, L.G., (2006) Lycopene. *Adv Food Nutr Res*, **51**: 99-164.
- RAO, L.G., MACKINNON, E.S., JOSSE, R.G., MURRAY, T.M., STRAUSS, A., RAO, A.V., (2007) Lycopene consumption decreases oxidative stress and bone resorption markers in postmenopausal women. *Osteoporos Int*, **18(1)**: 109-15.
- RICHARDSON, R.J., MOORE, T.B., KAYYALI, U.S., FOWKE, J.H., RANDALL, J.C., (1993) Inhibition of hen brain acetylcholinesterase and neurotoxic esterase by chlorpyrifos in vivo and kinetics of inhibition by chlorpyrifos oxon in vitro: application to assessment of neuropathic risk. *Fundam Appl Toxicol*, **20(3)**: 273-279.
- RISO, P., VISIOLI, F., GRANDE, S., GUARNIERI, S., GARDANA, C., SIMONETTI, P., PORRINI, M., (2006) Effect of a tomato based drink on markers of inflammation, immunomodulation, and oxidative stress. *J Agric Food Chem*, **54**: 2563-2566.
- ROBERTSON, R.P., HARMON, J., TRAN, P.O., POITOUT, V., (2004) Beta-cell glucose toxicity, lipotoxicity, and chronic oxidative stress in type 2 diabetes. *Diabetes*, **53(Suppl 1)**: 119-124.
- ROBERTSON, R.P., HARMON, J.S., (2006) Diabetes, glucose toxicity, and oxidative stress: A case of double jeopardy for the pancreatic islet β cell. *Free Rad Biol Med*, **41**: 177-184.
- ROMERO-NAVARRO, LOPEZ-ACEVEZ, T., ROJAS-OCHOA, A., FERNANDEZ MEJIA, C., (2006) Effect of dichlorvos on hepatic and pancreatic glucokinase activity and gene expression, and on insulin mRNA levels. *Life Sci*, **78(9)**: 1015-20.
- RORSMAN, P., (1997) The pancreatic beta-cell as a fuel sensor: An electrophysiologist's viewpoint. *Diabetologia*, **40**: 487-495.
- ROWSEY, P.J., GORDON, C.J. (1999). Tumor necrosis factor is involved in chlorpyrifos-induced changes in core temperature in the female rat. *Toxicol Lett*, **109**: 51-59.
- SACKS, D.B., (1999) Carbohydrates. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry* (3th Ed), Burtis, CA., Ashwood, ER. (Eds), Saunders, Philadelphia, 766-776.
- SANCHETI, S., SANCHETI, S., SEO, SY., (2013) Antidiabetic and antiacetylcholinesterase effects of ethyl acetate fraction of *Chaenomeles sinensis* (Thouin) Koehne fruits in streptozotocin induced diabetic rats. *Exp Toxicol Pathol*, **65(1-2)**: 55-60.

- SANKARANARAYANAN, C., PARI, L., (2011) Thymoquinone ameliorates chemical induced oxidative stress and β -cell damage in experimental hyperglycemic rats. *Chem Biol Interact*, **190(2-3)**: 148-54.
- SATOH, J., YAGIHASHI, S., TOYOTA, T., (2003) The possible role of tumor necrosis factor-alpha in diabetic polyneuropathy. *Exp Diabetes Res*, **4**: 65-71.
- SAXENA, R., GARG, P., JAIN, D.K., (2011) In vitro anti-oxidant effect of vitamin E on oxidative stress induced due to pesticides in rat erythrocytes. *Toxicol Int*, **18(1)**: 73-76.
- SCHMATZ, R., MAZZANTI, C.M., SPANEVELLO, R., STEFANELLO, N., GUTIERRES, J., CORRÊA, M., DA ROSA, M.M., RUBIN, M.A., CHITOLINA SCHETINGER, M.R., MORSCH, V.M., (2009) Resveratrol prevents memory deficits and the increase in acetylcholinesterase activity in streptozotocin-induced diabetic rats. *Eur J Pharmacol*, **610(1-3)**: 42-8.
- SEGHROUCHNI, I., DRAI, J., BANNIER, E., RIVIÈRE, J., CALMARD, P., GARCIA, I., ORGIAZZI, J., REVOL, A., (2002) Oxidative stress parameters in type I, type II and insulin-treated type 2 diabetes mellitus; insulin treatment efficiency. *Clin Chim Acta*, **321(1-2)**: 89-96.
- SEIFERT, J., (2001) Toxicologic significance of the hyperglycemia caused by organophosphorus insecticides. *Bull Environ Contamin Toxicol*, **67(1)**: 463-469.
- SEKEROGLU, MR., SAHIN, H., DULGER, H., ALGUN, E., (2000) The effect of dietary treatment on erythrocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and serum lipid peroxidation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Biochem.*, **33**: 669-674.
- SENGUPTA, A., GHOSH, S., DAS, R.K., BHATTACHARJEE, S., BHATTACHARYA, S., (2006) Chemopreventive potential of diallylsulfide, lycopene and theaflavin during chemically induced colon carcinogenesis in rat colon through modulation of cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase pathways. *Eur J Cancer Prev*, **15**: 301-305.
- SHADNIA, S., AZIZI, E., HOSSEINI, R., KHOEI, S., FOULADDEL, S., PAJOUMAND, J., JALALI, N., ABDOLLAHI, M., (2005) Evaluation of oxidative stress and genotoxicity in organophosphorus insecticide formulators. *Hum Exp Toxicol*, **24(9)**: 439-445.
- SHARBIDRE, A.A., METKARI, V., PATODE, P., (2011) Effect of methyl parathion and chlorpyrifos on biomarkers in various tissues of guppy fish, *Poecilia reticulata*. *Pestic Biochem Physiol*, **101(2)**: 132-141.
- SHARMA, S., CHOPRA, K., KULKARNI, SK., (2007) Effect of insulin and its combination with resveratrol or curcumin in attenuation of diabetic neuropathic pain: participation of nitric oxide and TNF-alpha. *Phytother Res*, **21**: 278-283.
- SHITTU, M., AYO, J.O., AMBALI, S.F., FATIHU, M.Y., ONYEANUSI, B.I., KAWU, M.U., (2012) Chronic chlorpyrifos-induced oxidative changes in the testes and pituitary gland of Wistar rats: Ameliorative effects of vitamin C. *Pestic Biochem Physiol*, **102(1)**: 79-85.
- SIES, H., STAN, L.W., (1998) Vitamins E and C, carotene and other carotenoids as antioxidants. *Am J Clin Nutr*, **62(1)**: 1315S-1321S.

- SINGH, M., SANDHIR, R., KIRAN, R., (2006) Erythrocyte antioxidant enzymes in toxicological evaluation of commonly used organophosphate pesticides. *Indian J Exp Biol*, **44(7)**: 580-3.
- SLOTKIN, T.A., LEVIN, E.D., SEIDLER, F.J., (2006) Comparative developmental neurotoxicity of organophosphate insecticides: Effects on brain development are separable from systemic toxicity. *Env Health Persp*, **114**: 746-751.
- SPSS INC., (2002) SPSS for windows, version 11.5, Chicago SPSS Inc.
- TANG, X.Y.; YANG, X.D.; PENG, Y.F.; LIN, J.H., (2009) Protective effects of lycopene against H₂O₂-induced oxidative injury and apoptosis in human endothelial cells. *Cardiovasc Drug Ther*, **23**: 439-448.
- TAPIERO, H., TOWNSEND, D.M., TEW, K.D., (2004) The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. *Biomed Pharmacother*, **58(2)**:100-110.
- TAS, M., SARUHAN, B.G., KURT, D., YOKUS, B., DENLI, M., (2010) Protective role of lycopene on aflatoxin B₁ induced changes sperm characteristics and testicular damages in rats. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, **16(4)**: 597-604.
- TAYSI, S., KOC, M., BUYUKOKUROGLU, M.E., ALTINKAYNAK, K., SAHIN, Y.N. (2003) Melatonin reduces lipid peroxidation and nitric oxide during irradiation-induced oxidative injury in the rat liver. *J Pineal Res*, **34**: 173–177.
- TEKKES, Y. (2006). Streptozotosin ile Diyabet Oluşturulmuş Farelerde Aspirin ve E Vitaminin Dokularda Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Sisteme Etkisinin Araştırılması. Yüksek lisans tezi, Sütçü İmam Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
- TELLO, S., HALİFEOĞLU, D. (2008). Meme kanseri oluşturulmuş ratlarda ısırgan otunun total antioksidan durumu üzerine etkisi. *F Ü Sağ Bil Tıp Derg*, **22(4)**: 179–183.
- TIAN, L., CAI, Q., WEI, H., (1998) Alterations of antioxidant enzymes and oxidative damage to macromolecules in different organs of rats during aging. *Free Radic Biol Med*, **24(9)**: 1477-84.
- TIEDGE, M., LORTZ, S., DRINKGERN, J., LENZEN, S., (1997) Relation between antioxidant enzyme gene expression and antioxidative defense status of insulin-producing cells. *Diabetes*, **46(11)**: 1733-1742.
- TRIPATHI, R., MOHAN, H., KAMAT, J.P. (2007) Modulation of oxidative damage by natural products. *Food Chem*, **100**: 81-90.
- TRIPATHI, S., SRIVASTAV, AK., (2010) Nephrotoxicity induced by long-term oral administration of different doses of chlorpyrifos, *Toxicol Ind Health*, **26(7)**: 439-447.
- TSAKIRIS, S., (2001) Effects of L-phenylalanine on acetylcholinesterase and Na (+), K (+)-ATPase activities in adult and aged rat brain. *Mech Ageing Dev*, **122**: 491–501.
- TURK, G., ATESSAHIN, A., SONMEZ, M., YUCE, A., CERIBAS, AO., (2007) Lycopene protects against cyclosporine A-induced testicular toxicity in rats. *Theriogenology*, **67**: 778–85.

- TUZCU, M., BAYDAS, G., (2006) Effect of melatonin and vitamin E on diabetes-induced learning and memory impairment in rats. *Eur J Pharmacol*, **537(1-3)**: 106–110.
- TÜRKMEN, F., AKKUŞ, İ., BÜYÜKBAŞ, S., ÇIĞLI, A., (1990) Diabetes mellitus’da biyokimyasal değişiklikler ve komplikasyonlar. *Türkiye Klinikleri*, **10(1)**: 1-10.
- TÜRKMEN, R., ÖZDEMİR, M., (2011) Diabetes mellitus’ta serbest radikallerin rolü. *KVD*, **4(1)**: 65-72.
- UCHIYAMA, S., YAMAGUCHI M., (2005) Oral administration of beta-cryptoxanthin prevents bone loss in streptozotocin-diabetic rats in vivo. *Biol Pharm Bull*, **28(9)**:1766-9.
- UZUN, F.G., DEMİR, F., KALENDER, S., BAS, H., KALENDER, Y., (2011) Protective effect of catechin and quercetin on chlorpyrifos-induced lung toxicity in male rats. *Food Chem. Toxicol*, **48(6)**: 1714-1720.
- VALE, J.A., (1998) Toxicokinetic and toxicodynamic aspects of organophosphorus insecticides poisoning. *Toxicol Lett*, **102-103**: 649-52.
- VALKO, M., LEIBFRITZ, D., MONCOL, J., CRONIN, MT., MAZUR, M., TELSER, J.,(2007) Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, **39(1)**: 44-84.
- VAN POOPPEL, G., GOOLDBOHM, R.A., (1995) Epidemiologic evidence for beta-carotene and cancer prevention. *Am J Clin Nutr*, **62**: 1393S–402S.
- VELAZQUEZ, E., WINOCOUR, P.H., KESTEVEN, P., ALBERTI, K.G., LAKER, M.F., (1991) Relation of lipid peroxides to macrovascular disease in type 2 diabetes. *Diabet Med*, **8**: 752–8.
- VELMURUGAN, B., SANTHIYA, S.T., NAGINI, S., (2004) Protective effect of S-allylcysteine and lycopene in combination against N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine-induced genotoxicity. *Pol J Pharmacol.*, **56**: 241–245.
- VENKATESWARAN, S., PARI, L., (2003) Effect of Coccinia indica leaves on antioxidant status in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol*, **84(2-3)**: 163-8.
- VERMA, R.S., MEHTA, A., SRIVASTAVA, N., (2007) In vivo chlorpyrifos induced oxidative stress: Attenuation by antioxidant vitamins. *Pestic Biochem Physiol*, **88**: 191-196.
- VIDEIRA, R.A., ANTUNES-MADERIA, M.C., LOPES, V.I., MADEIRA, V.M., (2001) Changes induced by malathion, methylparathion and parathion on membrane lipid physicochemical properties corralate with their toxicity. *Biochim Biophys Acta*, **1511(2)**: 360-368.
- WANG, H.P., LIANG, Y.J, LONG, D.X., CHEN, J.X., HOU, W.Y., WU, Y.J., (2009) Metabolic profiles of serum from rats after subchronic exposure to chlorpyrifos and carbaryl. *Chem Res Toxicol*, **22**: 1026-1033.
- WASMUTH, H.E., KUNZ, D., GRAF, J., STANZEL, S., PURUCKER, E.A., KOCH, A., GARTUNG, C., HEİNTZ, B., GRESSNER, A.M., MATERN, S., LAMMERT, F., (2004) Hyperglycemia at admission to the intensive care unit is associated with elevated serum

- concentrations of interleukin-6 and reduced ex vivo secretion of tumor necrosis factor-alpha. *Crit Care Med*, **32(5)**: 1109-14.
- WAY, K.J., KATAI, N., KING, G.L., (2001) Protein kinase C and the development of diabetic vascular complications. *Diabet Med*, **18 (12)**: 945-959.
- WOLFF, S.P., (1993) Diabetes mellitus and free radicals. *Br Med Bull*, **49(3)**: 642-652.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, (1997) The WHO recommended classification of pesticides by hazard 1996–1997, International programme on chemical safety, WHO/IPCS/96.3.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, (2004) The impact of pesticides on health: preventing intentional and unintentional deaths from pesticide poisoning agriculture.
- XIA, Z., NAGAREDDY, P.R., GUO, Z., ZHANG, W., MCNEILL, J.H., (2006) Antioxidant N-acetylcysteine restores systemic nitric oxide availability and corrects depressions in arterial blood pressure and heart rate in diabetic rats. *Free Radic Res*, **40(2)**: 175–184.
- YAN, Z., (2010) Characterization of chlorpyrifos toxicity on the pancreatic beta cell line RINM5F, Doctoral dissertation, Wright State University, USA.
- YANO, B.L., YOUNG, J.T., MATTSON, J.L., (2000) Lack of carcinogenicity of chlorpyrifos insecticide in a high-dose, 2-year dietary toxicity study in Fischer 344 rats. *Toxicol Sci*, **53**: 135-144.
- YAPING, Z., WENLI, Y., WEILE, H., YING, Y., (2003) Anti-inflammatory and anticoagulant activities of lycopene in mice. *Nutr Res*, **23**: 1591–1595.
- YARDIM-AKAYDIN, S., SEPICI, A., OZKAN, Y., SIMSEK, B., SEPICI, V., (2006) Evaluation of allontoin levels as a new marker of oxidative stress in Behçet's disease. *Scand J Rheumatol*, **35(1)**: 61-64.
- YARSAN, E., CAKIR, O., (2006) Effects of dichlorvos on lipid peroxidation in mice on subacute and subchronic periods. *Pestic Biochem Physiol*, **86(2)**: 106–109.
- YAZICI, A.E., PAŞAOĞLU, H., YÜCEL, D., ÇELEBİ, N., BAKIR, F., ÖZKAYA, M., (2002) Tip II diabetes mellituslu hastalarda plazma total tiyol ve eritrosit redükte glutatyon düzeyleri. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, **22**: 487-492.
- YAZICI, C., KÖSE, K., (2004) Melatonin karanlığın antioksidan gücü. *Erciyes Üniv Sağ Bilim Derg*, **13(2)**: 56-65.
- YILMAZ, B., (1999) *Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi (1. Baskı)*, Feryal Matbaacılık, Ankara.
- YILMAZ, M.T., (2010) Diyabette yeni vizyon, yeni hedefler ve çözüm yolları: Diyabet 2020 platformu. *Mised*, **23-24**, 1-5.
- YILMAZ, S., ATESSAHİN, A., SAHNA, E., KARAHAN, I., OZER, S., (2006) Protective effect of lycopene on adriamycin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity. *Toxicology*, **218**: 164–71.

- YILMAZ, S., OZAN, T.S., (2003) Meme kanserli hastalarda lipid peroksidasyonu ve bazı enzim aktiviteleri arasındaki ilişki. *Turk J Biochem*, **28(4)**: 252-256.
- YOKOI, M., YAMAGISHI, S.I., TAKEUCHI, M., OHGAMI, K., OKAMOTO, T., SAITO, W., MURAMATSU, M., IMAIZUMI, T., OHNO, S., (2005) Elevations of AGE and vascular endothelial growth factor with decreased total antioxidants tatus in the vitreous fluid of diabetic patients with retinopathy. *Br J Ophthalmol*, **89(6)**: 673-675.
- YOSHIDA, A., KOSAKA, T., MIYAOKA, T., MAITA, K., GOTO, S., SHIRASU, Y., (1985) Chlorpyrifos-methyl: 28-day oral toxicity study in mice. Unpublished Report No. GHF-R 80 from the Institute of Environmental Toxicology, Tokyo, Japan, submitted to Dow Elanco, Indianapolis, USA.
- YOUNG, A.J., LOWE, G.M., (2001) Antioxidant and prooxidant properties of carotenoids. *Arch Biochem Biophys*, **385(1)**: 20-7.
- YU, F., WANG, Z., J.U., B., WANG, Y., WANG, J., BAI, D., (2008) Apoptotic effect of organophosphorus insecticide chlorpyrifos on mouse retina in vivo via oxidative stress and protection of combination of vitamins C and E. *Exp Toxicol Pathol*, **59(6)**: 415-423.
- YURUMEZ, Y., CEMEK, M., YAVUZ, Y., BIRDANE, YO., BUYUKOKUROGLU, ME., (2007) Beneficial effect of N-acetylcysteine against organophosphate toxicity in mice. *Biol Pharm Bull*, **30(3)**: 490-4.
- ZHOU, J.F., XU, G.B., FANG, W.J., (2002) Relationship between acute organophosphorus pesticide poisoning and damages induced by free radicals. *Biomed Environ Sci*, **15(2)**: 177-186.
- ZHU, J., WANG, C., XU, Y., (2011) Lycopene attenuates endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats by reducing oxidative stress. *Pharm Biol*, **49(11)**: 1144-1149.
- ZIEMAN, S., KASS, D.A., (2004) Advanced glycation end product cross-linking: pathophysiologic role and therapeutic target in cardiovascular disease. *Congest Heart Fail*, **10**: 144-151.
- ZOU, M.H., SHI, C.M., COHEN, R.A. (2002) Oxidation of the zinc-thiolate complex and uncoupling of endothelial nitric oxid synthase by peroxynitrite. *J Clin Invest*, **109(6)**: 817-826.
- ZWANG, EY., SWAAN, PW., (1999) Determination of membrane protein glycation in diabetic tissue. *AAPS Pharm Sci*, **20**: 1-7.

ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Tarsus'ta doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimi Tarsus'ta tamamladıktan sonra 1999 yılında başladığı AKÜ Veteriner Fakültesi'nden 2004 yılında dönem birincisi olarak mezun oldu. Bir süre özel bir şirkette sorumlu müdür olarak görev yaptıktan sonra 23 Eylül 2005 tarihinde AKÜ Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak görevine başladı. Şubat 2007 tarihinde AKÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü bünyesinde açılan Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalındaki doktora programına kabul edildi. 4 dönem süren doktora ders aşamasından hemen sonra Mart 2009'da doktora yeterlilik sınavını geçti.