



## Ratlarda Akut Malathion Toksisitesinin Neden Olduğu Oksidatif Stres Üzerine Kafeik Asit Fenetil Ester ve Elajik Asit'in Etkileri

Harun ALP<sup>1✉</sup>, İsmail AYTEKİN<sup>2</sup>, Onur ATAKIŞI<sup>3</sup>, Metin OGÜN<sup>3</sup>

1. Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır.
2. Balıkesir Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Balıkesir.
3. Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Kars.

**Özet:** Araştırma akut malathion (MAL) toksikasyonuna maruz kalan ratların akciğer, karaciğer ve böbrek dokularında oluşan malondialdehit (MDA), redükte glutatyon (GSH) ve nitrik oksit (NO) aktiviteleri üzerine kafeik asit fenetil ester (CAPE) ve elajik asitin (EA) etkilerini incelemek amacıyla yapıldı. Toplam 36 adet Sprague Dawley soyunda yetişkin dişi rat, randomize şekilde her grupta 6 adet olmak üzere 6 gruba (kontrol, CAPE, EA, MAL, MAL+CAPE, MAL+EA) ayrıldı. Akciğer, karaciğer ve böbrek dokularında redükte GSH, MDA ve NO düzeyleri spektrofotometrik yöntemle kolorometrik olarak ölçüldü. Kontrol grubu ile CAPE ve EA gruplarını redükte GSH, MDA ve NO aktiviteleri açısından karşılaştırdığımızda, gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmadı. MAL'un karaciğer dokusunda MDA düzeylerini önemli derecede arttırdığı, ancak CAPE'nin MAL'un toksik etkisini engelleyerek MDA seviyesini anlamlı şekilde azalttığı belirlendi. Ayrıca, MAL'un akciğer, karaciğer ve böbrek dokularında redükte GSH düzeylerini azalttığı, buna karşın CAPE ve EA'in ise redükte GSH düzeylerini arttırdığı belirlendi. MAL'un neden olduğu şiddetli doku hasarına bağlı olarak NO düzeylerinin de önemli derecede arttığı, fakat CAPE ve EA'in NO düzeylerini azalttığı tesbit edildi ( $p<0,05$ ). Sonuç olarak, CAPE ve EA'in birbirine benzer şekilde etki gösterdiği ve akut malathion zehirlenmesinin neden olduğu oksidatif stres ve doku hasarına karşı koruyucu amaçla kullanılabileceği sonucuna varıldı.

**Anahtar kelimeler:** Kafeik Asit Fenetil Ester, Elajik Asit, Malathion, Oksidatif Stres.

### The Effects of Caffeic Acid Phenethyl Ester and Ellagic Acid on Oxidative Stress Created by Acute Malathion Toxicity in Rat

**Abstract:** The aim of this study was to investigate the effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) and ellagic acid (EA) on activities of malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH) and nitric oxide (NO) in rat lung, liver and kidney tissues in acute malathion (MAL) toxicity. A total of 36 mature female Sprague Dawley rats were randomly divided into 6 groups of 6 including control, CAPE, EA, MAL, MAL+CAPE, MAL+EA. Reduced GSH, MDA and NO levels in lung, liver and kidney tissues were measured colorimetrically by spectrophotometer. When the unmedicated control group was compared with the CAPE and EA groups, there was no statistically significant difference between the groups in terms of GSH, MDA and NO activities. It was determined that MDA levels in liver tissue were significantly increased by MAL, but CAPE significantly reduced the MDA levels by blocking the toxic effect of MAL. Also, it was observed that the reduced GSH levels in the liver tissues of the groups given MAL were reduced, but CAPE and EA increased reduced GSH levels. The NO levels of the groups given MAL were significantly increased dependent on the severe tissue damage created by MAL, but CAPE and EA reduced those levels. As a result, it was concluded that CAPE and EA, which showed similar effects to each other, could be used for protection against the severe oxidative stress and damage tissue caused by acute MAL poisoning.

**Key words:** Caffeic Acid Phenethyl Ester, Ellagic Acid, Malathion, Oxidative Stress.

✉ Harun ALP

Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, e-posta: alpharun@gmail.com

## GİRİŞ

Pestisitler, besinlerin korunması bakımından ekonomik faydalar sağlamaktadırlar. Tarımda pestisitler, hem kemiriciler, böcekler ve diğer pestileri yok etmek ve hem de bu hayvanlarla taşınan hastalıklara karşı mücadele etmek amacıyla sıkça kullanılmaktadırlar. Ayrıca pestisitler tarımsal amaç dışında, evlerde, bahçe işlerinde, kırsal alanlarda yabancı otlarla mücadelede ve sivrisinek ile rodentlere karşı resmi kuruluşlar tarafından da yaygın şekilde kullanılmaktadırlar. Ancak belirtilen faydalı etkilerinin yanı sıra bıraktıkları kalıntılarla su, toprak, hava ve besin kirlenmesine neden olup, ekolojik sistemin dengesini bozmaktadırlar. Pestisitlerin en önemli zararlı etkisi ise, insan ve hayvanlarda sıklıkla karşılaşılan zehirlenmelere neden olmalarıdır. Bu zehirlenmeler pestisitlerin üretimleri, uygulanmaları, depolanmaları, taşınmaları sırasında görülebilmektedir (Vural, 1996; Uzun, 2007). Dünyada yılda ortalama 2,5 milyon ton pestisit kullanılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün raporlarında, her yıl yaklaşık olarak 3 milyon insanda pestisit zehirlenmesi meydana geldiği ve bu zehirlenmelerin 220.000'nin ölümle sonuçlandığı belirtilmektedir (Anonim, 1997).

Ülkemizdeki tarım ilacı kullanımı dünya tüketiminin % 1'i civarındadır. Ülkemizin kırsal kesimlerinde görülen zehirlenme olgularında en sık rastlanılan etken organofosfatlardır (OP) (Delen, 1990; Demircan, 2005; Oğuzhanoglu, 2009). OP'lar özellikle tarımsal üretim yapılan bölgelerde sağlık sektörü açısından önemli sorun oluşturmaktadırlar.

OP'ler hedef dokularda asetilkolinesteraz (AChE) enziminin inhibisyonuna sebep olarak dokularda asetilkolin birikimine yol açarlar. Bu şekilde nörotoksik etki yaparak sinir fonksiyonlarında hasarla birlikte geri dönüşü olmayan akut ya da kronik zehirlenmeler meydana getirirler (Savolainen ve ark., 2001; Hazarika ve ark., 2003). Bu amaçla OP grubuna ait olan Malathion (MAL) (S-1,2-bis (ethoxycarbonyl) ethyl O,O-dimethyl phosphoro-

dithioate), çalışmamızın toksik materyali olarak seçilmiştir. Ayrıca MAL, memeli hayvanlar ve insanlara yönelik toksisitesi en düşük OP türevlerinden biri olduğu için, yaygın kullanım alanına sahiptir. MAL doğada birkaç günden birkaç aya kadar kalabilir. Gastrointestinal sistem, deri ve solunum yoluyla vücuda alınır (Ören, 2009) ve karaciğer ile böbrekte yüksek yoğunlukta birikir. Başlıca karaciğerde esteraz hidrolizi ve konjugasyon ile metabolize edilir. MAL oksidatif ürünü ve etkin metaboliti olan maloksan'a dönüşür ve vücuttan çoğunlukla idrar, safra ve dışkı yolu ile atılır (Kozacı, 2006).

Araştırmamızda MAL'ın toksik etkilerine karşı, koruyucu etkileri araştırılan doğal maddeler ise kafeik asit fenetil ester (CAPE) ve elajik asit (EA)'dir. CAPE; propolis ekstraktının aktif birleşimidir ve uzun yıllar geleneksel tıpta kullanılmaktadır. Son zamanlarda yapılmış çalışmalar, CAPE'nin antiinflamatuvar, antioksidan, immunomodülatör, antimikotik ve antikarsinojenik özelliklerinin olduğunu ortaya çıkarmıştır (Hepsen ve ark., 1997; İlhan ve ark., 1999; Orhan ve ark., 1999; Uz ve ark., 2002; Gurel ve ark., 2004). EA ise, deney hayvanı modellerinde ve in vitro çalışmalarda antioksidan, antikarsinojenik ve antimutajenik özellikleri ortaya konulmuş olan doğal bir fenolik birleşiktir (Solon ve ark., 2000; Festa ve ark., 2001). Pestisit zehirlenmesi konusunda son zamanlarda yapılan çalışmalara baktığımızda, pestisitler tarafından üretilen serbest radikallerin meydana getirdiği oksidatif strese ve memeli veya diğer organizmaların çeşitli dokularında artan lipid peroksidasyona dikkat çekilmektedir (Oruç ve Üner, 2000; Hazarika ve ark., 2003). Örneğin; Sharma ve ark., organofosfatlı bir pestisit olan dimethoat'a akut olarak maruz kalan erkek sıçanlarda hepatik sitokrom P450 enzimlerinde, beyin ve karaciğer lipid peroksidasyonunda, katalaz, (CAT), süper oksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon redüktaz (GR) aktivitesinde artış olduğunu bildirmişlerdir (Sharma ve ark., 2005). Gupta ve Data., MAL'un in vitro şartlarda insan fetuslarından

elde edilen karaciğer ve beyin doku homojenatlarına etkilerini araştırmış ve her iki dokuda da SOD ile CAT aktivitelerinin önemli derecede azaldığını ve malondialdehit (MDA) oluşumunda artış olduğunu saptamışlardır (Gupta ve Data., 1992).

Yukarıda bahsedilen çalışmalar gibi oksidatif stres üzerine yapılmış çalışmalar fazla sayıda mevcuttur. Ancak, MAL'nun aynı anda akciğer, karaciğer ve böbrek dokularında oluşturduğu oksidatif hasar ve bu oluşan hasara karşı muhtemel tedavi edici veya koruyucu etkileri olabilecek ilaç çalışmaları henüz yeterli seviyede değildir. Bu amaçla yapılan araştırma, 3 temel amaç çerçevesinde planlanmıştır; 1) MAL'un aynı anda rat akciğer, karaciğer ve böbrek dokularında oluşturduğu oksidatif stresi araştırmak 2) Yalnız başına kullanılan CAPE ve EA'in oksidatif mekanizma üzerine etkilerini incelemek 3) Akut MAL toksisitesi sonucu oluşan oksidatif stres üzerine CAPE ve EA'in koruyucu etkilerini araştırmaktır.

## MATERYAL ve METOD

### Hayvanlar, Bakım, Besleme ve İlaç Uygulamaları

Çalışmada erişkin sprague dawley soyunda ortalama ağırlıkları 200-250 gr olan dişi ratlar kullanıldı. Her grupta 6 adet rat olmak üzere rastgele 6 gruba ayrılmış toplam 36 adet rat kullanıldı. Hayvanların laboratuvar şartlarında 12 saat aydınlık/karanlık periyodunda ve oda sıcaklığında (21±3°C) barınmaları sağlandı. Çalışmada kullanılan hayvanlar ve uygulanacak deneyler Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deneysel Hayvanları Etik Kurulu tarafından onaylandı.

Gruplar kendi içinde; ilaçsız kontrol, CAPE kontrol (Sigma C8221) (10 µmol/kg dozunda intraperitoneal (ip) yolla), EA kontrol (E2250 Sigma, CAS Number: 476-66-4) (85 mg/kg dozunda oral (po) yolla), MAL kontrol (Fluka- 36143, sigma) (200mg/kg dozunda po yolla MAL), MAL+CAPE ve MAL+EA olarak 6 gruba ayrıldı. İlaç uygulamalarını takiben 24 saat bekleme süresi sonrasında, ketamin (50 mg/kg dozunda ip yolla) ve ksilazin (5 mg/kg dozunda ip

yolla) anestezisi sonrası hayvanlar sakrifiye edildi. Akciğer, karaciğer ve böbrek dokularında oluşan malondialdehit (MDA), redükte glutatyon (GSH) ve nitrik oksit (NO) aktiviteleri araştırıldı.

### Biyokimyasal Parametreler

Akciğer, karaciğer ve böbrekten, redükte GSH, MDA ve NO düzeylerini spektrofotometrik yöntemle kolorimetrik olarak analiz etmek için doku örnekleri alındı. Dokular, hemen 4 °C'de 0.15M KCl ile fikse edildikten sonra, 3 dakika süreyle 290 g'de bir soğutuculu (A: 50 mM, H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ve B: 50 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O:A:B (v/v) = 1:1.5) homojenizatör yardımıyla homojenize edildi. Homojenatlar 15 dakika süre ile 4 °C'de 2400 g devirde santrifüj edildikten sonra elde edilen süpernatantlar analiz edilene kadar -25 °C'de muhafaza edildi. NO düzeyleri Miranda ve ark., bildirdiği metoda göre spektrofotometre (PowerWave XS, BioTek, Instruments, Winooski, VT, USA) kullanılarak kolorimetrik olarak ölçüldü (Miranda ve ark., 2001). Redükte GSH ve MDA konsantrasyonları ise sırası ile Beutler ve ark., ve Yoshiko ve ark., bildirdiği metoda göre spektrofotometrik olarak (UV-1201, Shimadzu, Japan) ölçüldü (Beutler ve ark.,1963; Yoshiko ve ark.,1979).

### İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizleri SPSS Windows 10.0 paket programı kullanılarak gerçekleştirildi. Her bir parametre, 'analysis of repeated measures' metodu ile test edildikten sonra post-hoc testler (günler arası karşılaştırmalar) Bonferoni düzeltmesi kullanılmış paired samples t-testi ile yapıldı. Veriler mean ± SE şeklinde sunuldu ve p değeri p<0.05 olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar ve bu sonuçların istatistiksel analizleri aşağıda tablolar halinde sunulmuştur. Tablo 1.'de; kontrol, CAPE ve EA gruplarının MDA, GSH ve NO enzim seviyeleri üzerine

etkileri belirtildi. Tablo 2.'de; MAL+CAPE, MAL+EA ve yalnızca MAL'ın karaciğer, böbrek ve akciğer

dokularında MDA, redükte GSH ve NO düzeyleri üzerine etkileri belirtildi.

**Tablo 1.** Kontrol, CAPE ve EA gruplarının karaciğer, böbrek ve akciğer dokularında MDA (nmol/g Protein), redükte GSH ( $\mu\text{g/g}$  Protein) ve NO (nmol/g Protein) düzeyleri üzerine etkileri.

**Table 1.** The effects on MDA (nmol/ g Protein), reduced GSH ( $\mu\text{g/g}$  Protein) and NO (nmol/g Protein) parameters in liver kidney and lung tissue in the control, CAPE and EA groups.

Parametreler		Kontrol	CAPE	EA	P
Karaciğer	MDA	16.41 $\pm$ 1.32	13.59 $\pm$ 1.49	11.94 $\pm$ 1.48	Ns
	GSH	15.53 $\pm$ 1.05	16.34 $\pm$ 0.98	16.80 $\pm$ 0.82	Ns
	NO	275.55 $\pm$ 41.40	250.94 $\pm$ 30.75	266.31 $\pm$ 30.74	Ns
Böbrek	MDA	10.78 $\pm$ 0.88	10.59 $\pm$ 1.21	10.65 $\pm$ 1.05	Ns
	GSH	9.95 $\pm$ 0.36	11.61 $\pm$ 0.88	9.98 $\pm$ 0.88	Ns
	NO	271.96 $\pm$ 24.0	266.74 $\pm$ 53.98	268.47 $\pm$ 136.18	Ns
Akciğer	MDA	25.56 $\pm$ 2.80	24.61 $\pm$ 1.7	22.64 $\pm$ 1.46	Ns
	GSH	15.44 $\pm$ 1.85	12.32 $\pm$ 0.81	14.18 $\pm$ 2.19	Ns
	NO	962.23 $\pm$ 138.8	930.65 $\pm$ 192.41	950.55 $\pm$ 144.07	Ns

Ns: İstatistiksel olarak anlamlı değil.

**Tablo 2.** Kontrol, Malathion+CAPE, Malathion+EA ve yalnızca malahtion'un karaciğer, böbrek ve akciğer dokularında MDA (nmol/ g Protein), redükte GSH ( $\mu\text{g/ g}$  Protein) ve NO (nmol/g Protein) düzeyleri üzerine etkileri.

**Table 2.** The effects on MDA, reduced GSH and NO levels in liver kidney and lung tissue in the Control, MAL, MAL+CAPE and MAL+ EA groups.

Parametreler		Kontrol	MAL	MAL+CAPE	MAL+EA	P
Karaciğer	MDA	16.41 $\pm$ 1.32	22.82 $\pm$ 1.53	16.45 $\pm$ 1.35	20.86 $\pm$ 1.92	0.019
	GSH	15.53 $\pm$ 1.05	10.05 $\pm$ 0.91	13.08 $\pm$ 0.90	10.94 $\pm$ 1.16	0.006
	NO	275.55 $\pm$ 41.4	940.77 $\pm$ 95.12	591.25 $\pm$ 73.8 <sup>b</sup>	858.05 $\pm$ 140.9	0.004
Böbrek	MDA	10.78 $\pm$ 0.88	12.64 $\pm$ 1.11	10.49 $\pm$ 2.1	12.22 $\pm$ 1.22	Ns
	GSH	9.95 $\pm$ 0.36	9.70 $\pm$ 1.12	12.24 $\pm$ 1.65	12.79 $\pm$ 0.76	Ns
	NO	271.96 $\pm$ 24.0	594.38 $\pm$ 87.5	353.16 $\pm$ 44.1	573.35 $\pm$ 91.3	0.011
Akciğer	MDA	25.56 $\pm$ 2.80	25.82 $\pm$ 2.4	21.71 $\pm$ 2.3	24.38 $\pm$ 2.9	Ns
	GSH	15.94 $\pm$ 1.85	15.84 $\pm$ 0.97	21.47 $\pm$ 2.38	18.25 $\pm$ 2.32	Ns
	NO	862.23 $\pm$ 138.8	956.34 $\pm$ 188	725.35 $\pm$ 133	885.92 $\pm$ 245	Ns

Ns: İstatistiksel olarak anlamlı değil.

a, b, c: aynı harflerin olması birbirine uyumlu sonuçların olduğunu göstermektedir.

Tablo1'de kontrol grubu ile CAPE ve EA gruplarını kendi aralarında MDA, NO ve redükte GSH parametreleri üzerine etkilerini karşılaştırdığımızda, istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı bir fark

saptanmadı. Bu sonuç, CAPE ve EA'in yalnız başlarına kullanıldıklarında, akciğer, karaciğer ve böbrek dokularında MDA, GSH ve NO seviyeleri üzerine herhangi bir negatif etki oluşturmadıklarını ve her iki

ilacın da bu enzimler üzerine birbirine benzer şekilde etkilere sahip olduğunu gösterdi.

Tablo 2'ye baktığımızda ise; MAL'un karaciğer dokusunda MDA düzeylerini yükselttiği, ancak özellikle CAPE'nin MDA seviyesini istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı belirlendi. Yine MAL verilen grupların akciğer, karaciğer ve böbrek dokularında redükte GSH düzeylerinin azaldığı, fakat CAPE ve EA'in redükte GSH düzeylerini arttırdığı saptandı. Ayrıca MAL'un neden olduğu şiddetli doku hasarına bağlı olarak, MAL verilen tüm dokularda NO düzeylerinin önemli derecede arttığı, fakat CAPE ve EA'in NO düzeylerini azalttığı tesbit edildi ( $p<0,05$ ).

## TARTIŞMA

Malathion toksisitesinin en önemli özelliği, dönüşümsüz olarak kan AChE enzim inhibisyonuna neden olmasıdır (Neishabouri ve ark., 2004). Ancak, son zamanlarda yapılmış çalışmalar OP'ların, oksidatif strese, serbest radikallerin üretimine ve antioksidan düzeylerde çeşitli değişikliklere neden olduğunu belirtmektedir (Bagchi ve ark., 1995; Ahmed ve ark., 2000; Gultekin ve ark., 2000; Sutcu ve ark., 2007). Buna karşın hücrelerin de OP zehirlenmesinde, enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar yoluyla oksidatif hasara engel olduğu veya hücre hasarını onarmaya çalıştığı çeşitli çalışmalar ile ortaya konulmuştur.

OP toksisitesinin önemli hücresel mekanizmalarından bir tanesi lipid peroksidasyondur (LPO) (Yamano ve ark., 1992; Bagchi ve ark., 1995; Sutcu ve ark., 2007). LPO'un en büyük göstergesi ise oksidan ürünü olan MDA'dır. Bazı çalışmalar pestisidlerin dokularda MDA seviyesini arttırdığını bildirmiştir (Kehrer, 1993; Banerjee ve ark., 1999; Hazarika, 2003; Dilek ve ark., 2008). Örneğin, bazı in vivo ve in vitro çalışmalar, klorprifos ve diazinon uygulaması ile MDA düzeylerinin arttığını ortaya koymuştur (Gultekin ve ark., 2001; Altuntas ve ark., 2002; Altuntas ve ark., 2003; Altuntas ve ark., 2004; Sutcu ve ark., 2007). Ancak bazı çalışmalar ise, OP uygula-

malarının MDA seviyelerinde herhangi bir değişiklik meydana getirmediğini bildirmişlerdir. Örneğin, Yildirim ve ark., sisplatin uygulanan gruplarda NO düzeylerinin tersine, MDA seviyelerinde herhangi bir değişiklik oluşmadığını ve bunun nedeni olarak da karaciğer dokusunda LPO sonunda salıverilen MDA'nın çok hızlı metabolize olmasından kaynaklandığını bildirmişlerdir (Yildirim ve ark., 2003). Gultekin ve ark., ise klorprifos uygulaması sonucu, eritrositlerde MDA seviyesinde artış meydana geldiğini ve buna reaktif oksijen radikallerinin ya da serbest radikallerin neden olabileceğini belirtmişlerdir (Gultekin ve ark., 2000).

Çalışmamızda ise Yildirim ve ark., belirttiğinin aksine ve Gultekin ve ark., belirttiğine benzer şekilde, akut MAL uygulaması sonucu oluşan oksidatif hasara bağlı olarak oksijen radikallerin ya da serbest radikallerin karaciğer dokusunda MDA düzeylerini yükselttiği ve oksidatif strese neden olduğu, ancak özellikle CAPE'nin MAL'un toksik etkisini engelleyerek MDA düzeylerini anlamlı şekilde azalttığı saptanmıştır.

Çalışmamızın diğer belirteç parametrelerinden biri olan NO ise, hücresel hasarı gösteren önemli diğer bir enzimdir. Celik ve ark., Escherichia Coli' nin neden olduğu pyonefritli grupları kontrol grubu ile karşılaştırdığında NO ve MDA düzeylerinin önemli miktarda arttığını, fakat CAPE uygulamasının NO ve MDA düzeylerini önemli şekilde azalttığını bildirmiştir (Celik ve ark., 2006). Ayrıca Altug ve ark., CAPE uygulanan gruplarda plazma MDA düzeylerinin önemli şekilde azaldığını ( $p<0,05$ ) (Altug ve ark., 2008) ve Ozyurt ve ark., yaptıkları iskemi-reperfüzyon hasarının MDA ve NO düzeylerini arttırdığını buna karşın CAPE'nin, MDA ve NO düzeylerini azalttığını ortaya koymuştur (Ozyurt ve ark., 2007). Devipriya ve ark., ise alkol toksisitesine karşı antioksidan özelliğe sahip EA'in etkisini araştırmış ve alkole bağlı olarak yükselmiş olan TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) ve NO düzeylerinin EA'in etkisiyle önemli derecede azaldığını ve hatta normale yakın düzeylere indiğini

bildirmiştir (Devipriya ve ark., 2007). Yildirim ve ark., sisplatin tarafından böbrek dokusunda NO düzeylerinin arttığını, ancak erdosteinin bu artışı engellediğini ortaya koymuştur (Yildirim ve ark., 2003). Ayrıca Peresleni ve ark., oksidatif stresin epitelial hücrelerde NO üretimini ve saliverimini arttırdığını, buna bağlı olarak hücre sel canlılığın azaldığını bildirmiştir (Peresleni ve ark., 1996). Song ve ark., ise CAPE'nin NO üretimini azalttığını belirtmiştir (Song ve ark., 2002).

Çalışmamızda ise, yukarıda belirtilen çalışma sonuçlarına benzer şekilde, MAL verilen grupların tüm dokularında NO düzeylerinin önemli derecede artmasına karşın, CAPE ve EA'in NO düzeylerini azalttığı tesbit edildi ( $p < 0,05$ ).

Araştırmamızın belirteç parametrelerinden olan ve reaktif oksijen türlerine karşı hücre sel savunmada önemli rol oynayan önemli diğer bir enzim ise redükte glutatyon (GSH)'dur. Redükte GSH aktivitesindeki artış, pestisid toksisitesine karşı daha iyi korumanın olduğunu göstermektedir. Redükte GSH aktivitesi inhibe edildiğinde ise, LPO ürünlerinin birikmeye başladığı ve hücre sel hasarın arttığı anlaşılmaktadır (Oruç ve ark., 2006; Oruc, 2010). Pari ve ark. (2008) siklosporin (CsA) toksisitesine karşı, EA'in redükte GSH düzeylerini arttırdığını, bundan dolayı karaciğerde koruyucu etkinlik gösterdiğini ve ayrıca TBARS düzeyleri ve hidroperoksidlerin önemli derecede azaldığını ve enzimatik, nonenzimatik antioksidan düzeylerin karaciğer dokusunda EA uygulamasıyla arttığını bildirmiştir.

Çalışmamızda redükte GSH ile ilgili verileri incelediğimizde; MAL verilen grupların akciğer, karaciğer ve böbrek dokularında LPO ürünlerinin (MDA) birikmeye başlaması ve hücre sel hasarın artmasına bağlı olarak redükte GSH düzeylerinin azaldığı, fakat CAPE ve EA'in ise redükte GSH düzeylerini arttırdığı saptanmıştır.

Sonuç olarak, CAPE ve EA'in akut MAL toksikasyonunda oluşan oksidatif stres üzerine,

birbirine benzer şekilde antioksidan etki gösterdikleri ve akut MAL toksikasyonunda bu amaçla kullanılabilecekleri sonucuna varıldı.

## KAYNAKLAR

- Ahmed RS., Sehit V., Pash ST., Banerjee BD., 2000. Influence of dietary (Zingiber officinales Rosc) on oxidative stress induced by malathion rats. *Food Chem. Toxicol.*, 38, 443–450.
- Altug ME., Serarslan Y., Bal R., Konaş T., Ekici F., Melek IM., Aslan H., Duman T., 2008. Caffeic acid phenethyl ester protects rabbit brains against permanent focal ischemia by antioxidant action: A biochemical and planimetric study. *Brain Res.*, 1201, 135-142.
- Altuntas I., Delibas N., Can M., Yonden Z., Orhan H., Sutcu R., 2002. Effects of organophosphate insecticide fenthion on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in erythrocyte (in vitro). *Ibni Sina Dergisi.*, 7, 90–95.
- Altuntas I., Delibas N., Doguc DK., Ozmen S., Gultekin F., 2003. Role of reactive oxygen species in organophosphate insecticide phosalone toxicity in erythrocytes in vitro. *Toxicol. in Vitro.*, 17, 153–157.
- Altuntas I., Kilinc I., Orhan H., Demirel R., Koylu H., Delibas N., 2004. The effects of diazinon on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in erythrocytes in vitro. *Hum. Exp. Toxicol.*, 23, 9–13.
- Anonim. 1997. WHO (World Health Organization). Guidelines for poison control, [http://www.who.int/ipcs/publications/training\\_poisons/guidelines\\_poison\\_control/en/index.html](http://www.who.int/ipcs/publications/training_poisons/guidelines_poison_control/en/index.html). [Erişim: 13.12.2010].
- Bagchi D., Bagchi M., Hassoun EA., Stohs SJ., 1995. In vitro and in vivo generation of reactive oxygen species. DNA damage and lactate dehydrogenase leakage by selected pesticides. *Toxicology*, 104, 129–140.
- Banerjee BD., Seth V., Bhattacharya A., Pahsa ST., Chakraborty AK., 1999. Biochemical effects of some pesticides on lipid peroxidation and free-radical scavengers. *Toxicol. Lett.*, 107, 33–47.
- Beutler E., Duron O., Kelly BM., 1963. Improved method for the determination of blood glutathione. *J. Lab. Clin. Med.*, 61, 882-888.

- Celik S., Gorur S., Aslantas O., Erdogan S., Ocak S., Hakverdi S., 2007. Caffeic acid phenethyl ester suppresses oxidative stress in Escherichia coli-induced pyelonephritis in rats. *Mol. Cell. Biochem.*, 297, 131–138.
- Delen N., Özbek T., 1990. Türkiye'de Tarım İlacı Kullanımı ve Yarattığı Sorunlar. TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, T.C. Ziraat Bankası Kültür Yayınları. Ankara. 26, 1015-1028.
- Demircan V., Yılmaz H., 2005. The analysis of pesticide use in apple production in Isparta province in terms of economy and environmental sensitivity perspective. *Ekoloji.*, 14,15-25.
- Devipriya N., Srinivasan M., Sudheer AR., Menon VP., 2007. Effect of elajik acid, a natural polyphenol, on alcohol-induced prooxidant and antioxidant imbalance: a drug dose dependent study. *Singapore Med. J.*, 48, 311.
- Durak D., Uzun FG., Kalender S., Ogutcu A., Uzunhisarcikli M., Kalender Y., 2009. Malathion-induced oxidative stress in human erythrocytes and the protective effect of vitamins C and E in vitro. *Environ. Toxicol.*, 24, 235-242.
- Festa F., Aglitti T., Duranti G., Ricordy R., Perticone P., Cozzi R., 2001. Strong antioxidant activity of ellagic acid in mammalian cells in vitro revealed by the comet assay. *Anticancer Res.*, 21, 3903.
- Gultekin F., Ozturk M., Akdogan M., 2000. The effect of organophosphate insecticide chlorpyrifos-ethyl on lipid peroxidation and antioxidant enzymes (in vitro). *Arch. Toxicol.*, 74, 533–38.
- Gultekin F., Delibas N., Yasar S., Kiline 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. Toxicol.*, 75, 88–96.
- Gupta J., Data C., 1992. "Effects of malathion on antioxidant defence system in human fetus-An in vitro study", *Ind. J. Exp. Biol.*, 352-354.
- Gurel A., Armutcu F., Hosnuter M., Unalacak M., Kargi E., Altinyazar C., 2004. Caffeic acid phenethyl ester improves oxidative organ damage in rat model of thermal trauma. *Physiol. Res.*, 53, 675-682.
- Hazarika A., Sarkar SN., Hajare S., Kataria M., Malik JK., 2003. Influence of malathion pretreatment on the toxicity of anilofos in male rats: a biochemical interaction study. *Toxicology*, 185, 1–8.
- Hepsen IF., Bayramlar H., Gultek A., Ozen S., Tilgen F., Evreklioglu C., 1997. Caffeic acid phenethyl ester to inhibit posterior capsule opacification in rabbits. *J. Cataract Refract. Surg.*, 23, 1572-1576.
- Ilhan A., Koltuksuz U., Ozen S., Uz E., Ciralik H., Akyol O., 1999. The effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on spinal cord ischemia/ reperfusion injury in rabbits. *Eur. J. Cardio-Thorac. Surg.*, 16, 458-463.
- Kehrer JP., 1993. Free radical as mediator of tissue injury and disease. *Crit. Rev. Toxicol.*, 23, 21–48.
- Kozacı N., 2006. Organofosfat Zehirlenmelerinde Pralidoksimin Farklı Doz Uygulama Şekillerinin Etkinliği ve Yan Etkilerinin Klinik Karşılaştırılması. Ç.Ü. Acil Tıp ADı.Uzm. Tezi.
- Miranda KM., Espey MG., Wink DA., 2001. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide.*, 5, 62-71.
- Neishabouri EZ., Hassan ZM., Azizi E., Ostad SN. 2004. Evaluation of immunotoxicity induced by diazinon in C57bl/6 mice. *Toxicology.*, 196, 173–79.
- Oğuzhanoğlu E., 2009. Ratlarda Diazinon Zehirlenmesinin Oluşturduğu Pankreatitte Kafeik Asit Fenetil Esterin Olası Etkileri. SDÜ Tıp Fak. Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD.Uzm. Tezi.
- Orhan H., Marol S., Hepsen IF., Sahin G., 1999. Effects of some probable antioxidants on selenite-induced cataract formation and oxidative stress-related parameters in rats. *Toxicology*, 139, 219-232.
- Oruc E., 2010.Effects of diazinon on antioxidant defense system and lipid peroxidation in the liver of *Cyprinus carpio* (L.). *Environ. Toxicol.*, DOI 10.1002/tox.20573/pdf
- Oruç EÖ., Üner N., 2000. Combined effects of 2,4-d and azinphosmethyl on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in liver of *Orochromis niloticus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 127, 291–296.

- Oruç EÖ., Üner N., Sevgiler Y., Usta D., Durmaz H., 2006. Sublethal effects of organophosphate diazinon on the brain of *Cyprinus Carpio*. *Drug. Chem. Toxicol.*, 29, 57–67.
- Ozyurt H., Ozyurt B., Koca K., Ozgocmen S., 2007. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) protects rat skeletal muscle against ischemia–reperfusion-induced oxidative stress. *Vascul. Pharmacol.*, 47, 108–112.
- Ören P., 2009. Malathion'un *Oreochromis Niloticus*'ta Oksidatif Stres Kaynaklı Endokrin Bozucu Etkileri. *Ç.Ü. Fen Bil. Ens. Biyoloji AD. Yüksek Lisans Tezi*.
- Pari L., Sivasankari R., 2008. Effect of elajik acid on cyclosporine A-induced oxidative damage in the liver of rats. *Fundam. Clin. Pharmacol.*, 22 395–401.
- Peresleni T., Noiri E., Bahou WF., Goligorsky MS., 1996: Antisense oligodeoxynucleotides to inducible NO synthase rescue epithelial cells from oxidative stress injury. *Am. J. Physiol.*, 270, F971-77.
- Savolainen K., 2001. Understanding the toxic actions of organophosphates. In: Krieger RI (ed) New York, Academic Pres., *Hanbook of Pesticide Toxicology.*, 1013–1041.
- Sharma Y., Bashir S., Irshad M., Datta Gupta S., Dogra TD., 2005. Effect of acute dimethoate administration on antioxidant status of liver and brain of experimental rats. *Toxicology*, 206, 49-57.
- Solon S., Lopes L., P. Teixeira de Sousa Jr P., 2000. Schmeda-Hirschmann, J. *Ethnopharmacol.*, 72, 173.
- Song YS., Park EH., Hur GM., 2002. Caffeic acid phenethyl ester inhibits nitric oxide synthase gene expression and enzyme activity. *Cancer Letters.*, 175, 53-61.
- Sutcu R., Altuntas I., Buyukvanli B., Akturk O., Ozturk O., Koylu H., Delibas N., 2007. The effects of diazinon on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat erythrocytes: role of vitamins E and C. *Toxicol. Ind. Health.*, 23, 13–17.
- Uz E., Sogut S., Sahin S., Var A., Ozyurt H., Gulec M., Akyol O., 2002. The protective role of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on testicular tissue after testicular torsion and detorsion. *World. J. Urol.*, 20, 264-270.
- Uzun FG., 2007. Malathion'un Ratlarda Nefrotoksik Etkisi ve Vitamin C ve E'nin Koruyucu Rolü. *GÜ. Fen Bil. Ens. Biyoloji. Yüksek Lisans Tezi*.
- Vural N., 1996. Toksikoloji. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 73, 342-373.
- Yamano T., Morita S., 1992. Hepatotoxicity of trichlorfon and dichlorvos in isolated rat hepatocytes. *Toxicology*, 76, 69–77.
- Yildirim Z., Sogut S., Odaci E., Iraz M., Ozyurt H., Kotuk M., Akyol O. 2003. Oral erdosteine administration attenuates cisplatin-induced renal tubular damage in rats. *Pharmacol. Res.*, 47, 149-56.
- Yoshioka T., Kawada K., Shimada T., Mori M., 1979. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated oxygen toxicity in the blood. *Am. J. Obstet. Gyn.*, 135, 372-376.