

Capoeta capoeta'da Lambda Cyhalothrin'in Biyokimyasal ve Moleküler Karakterizasyonu

Evren KOÇ¹, Mustafa AKÇAY¹

ÖZET: Bu çalışmada, Kars Çayından yakalanan *Capoeta capoeta* (Guldenstaedt 1773) üzerine Lambda cyhalothrin (LCT)'in etkilerinin biyokimyasal ve moleküler yöntemlerle araştırılması amaçlandı. Kars Çayından yakalanan balıklar her grupta 10 adet balık olacak şekilde 3 gruba ayrıldı. Gruplar; kontrol grubu (herhangi bir uygulama yapılmadı), I. gruptaki balıklar 0.012 µg/L⁻¹ LCT içeren tankta, II. gruptaki balıklar ise 0.025 µg/L⁻¹ LCT içeren tankta 6 saat süreyle bekletildi. Bu süre sonunda balıklardan biyokimyasal ve moleküler analizler için kan ve karaciğer doku örnekleri alındı. Uygulanan spektrofotometrik analizlerin sonucu olarak Glutasyon (GSH) düzeyleri için kontrol ve uygulama gruplarında istatistiksel farklılık saptanmadı (P>0.05). 8-Hidroksi-2'-Deoksiguanozin (8-OHdG) düzeylerinin ise LCT uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre azaldığı tespit edildi (P<0.01). Karaciğer Glutasyon S-transferaz (GST), Glutasyon peroksidaz (GPx), Glutasyon Redüktaz (GR), Katalaz (CAT) ve Süperoksit Dismutaz (SOD) enzimlerinin ekspresyon seviyeleri RT-PCR yöntemi ile araştırıldığında ise kontrol grubuna göre artış meydana geldiği belirlendi. Sonuç olarak; LCT'in *Capoeta capoeta* balık türleri üzerinde toksik etki gösterdiği, buna bağlı olarak balıklarda antioksidan enzim düzeyleri artarak oksidatif hasarı ve DNA/RNA hasarını azalttığı tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan enzimler, balık, lambda cyhalothrin

Biochemical and Molecular Characterization of Lambda Cyhalothrin in *Capoeta capoeta*

ABSTRACT: In this study, it was aimed the effects of Lambda cyhalothrin (LCT) on *Capoeta capoeta* (Guldenstaedt 1773) caught from Kars river investigating by biochemical and molecular methods. The fishes, caught from Kars river, were divided into 3 groups as 10 fishes in each group. The groups; control group (no application was applied), the fishes in I. group 0.012 µg/L⁻¹ LCT, II. groups of fishes 0.025 µg/L⁻¹ LCT included to the tanks; duration of the experiment was 6 hours. At the end of this period, blood and liver tissue samples were taken from the fishes for biochemical and molecular analyzes. According to spectrophotometric analyses, no statistically difference were found between the control and application groups for the levels of Glutathione (GSH) (P> 0.05). 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine (8-OHdG) levels were decreased in the LCT-treated groups compared to the control group (P<0.01). It was found that the expression levels of liver Glutathione S-transferase (GST), Glutathione peroxidase (GPx), Glutathione Reductase (GR), Catalase (CAT) and Superoxide Dismutase (SOD) enzymes were increased compared to control group according to RT-PCR method. As a conclusion, LCT showed toxic effects on *Capoeta capoeta* fish species. Accordingly, increased antioxidant enzyme levels in fish, reducing oxidative damage and DNA/RNA damage.

Keywords: Antioxidant enzymes, fish, lambda cyhalothrin

¹ Evren KOÇ (0000-0002-0022-9433), Mustafa AKÇAY (0000-0003-1747-2314), Kafkas Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Kars, Türkiye
Sorumlu yazar/Corresponding Author: Evren KOÇ, evrenkoc@hotmail.com.tr

GİRİŞ

Zararlılara karşı organik ve inorganik maddelerin kullanımı, sentetik pestisitlerin devreye girmesi ile artış göstermiştir (Ağar et al., 1991). Pestisitlerin kullanım alanları çok geniş olup, çevrede uzun süre etki gösterebilmektedirler (Ribeiro Oliveira et al., 2005). Ekosistemde kullanılan pestisitlerin etkileri hedef olmayan organizmalarda olumsuz yan etkiler gösterebilmektedir (Kumar et al., 2010). Lambda cyhalothrin, 1977 yılında yapılan çalışmalar sonucu geliştirilmiş sentetik piretroit sınıfına ait ve cyhalothrin izomerlerinden aktif bir maddedir. Beyaz renkli katı özelliğe sahip ve ışığa karşıda dayanıklılık gösterir. Siyano grubunu yapısında bulundurması nedeniyle ikinci bölüm piretroit sınıfına dahil edilmiştir (Öncüer, 2000). Lambda cyhalothrin, organizmalarda sinir sistemini etkileyerek felç ve ölümlere yol açabilmektedir. Arı, balık ve suda yaşayan birçok tür için zehirli ve tehlikelidir (Toth and Sparks, 1990).

Yüksek reaktif moleküllerin aşırı üretilmesi ya da ortadan kaldırılmalarının yetersiz olması oksidatif stres olarak tanımlanır (Johansen et al., 2005). Oksidatif stres, serbest radikal oluşumu ile antioksidanlar arasında ciddi bir dengesizlik olduğu zaman meydana gelir ve doku hasarına yol açar (Halliwell, 1991). Canlı organizmalar reaktif oksijen ürünleri (ROS) düzeyini azaltarak, üretimini engelleyerek ya da ROS tarafından zarar gören proteinleri onararak oksidatif strese karşı koyabilmeye çalışmaktadır. Antioksidanlar, serbest radikalleri hücreye saldırmadan stabilize edebilme özelliğine sahiptirler (Portugal et al., 2007).

Reaktif oksijen türlerinin DNA'dan neden olduğu yirmi üç oksidatif baz hasarından en çok karşılaşılanı ve duyarlı olanı 8-Hidroksi-2'-Deoksiguanozin (8-OHdG)'dir (De Martinis and Maria De Lourdes, 2002). Guanin bazı DNA bileşenleri içerisinde en düşük iyonizasyon potansiyeline sahip ve oksidasyona en yakın olan bileşiktir. Dolayısıyla ROS'un hedefindedir. OH radikali guaninin 4, 5 ve 8. pozisyonlardaki karbon atomları

ile reaksiyona girerek DNA hasar ürünlerini oluşturur. Oluşan DNA hasar ürünlerinden biri olan 8-OHdG ise, guaninin 8. karbon atomuna hidroksil radikali atakları ile oluşur. 8-OHdG, DNA hasarını belirlemede en çok başvurulan yöntemdir (Helbock, Beckman, and Ames, 1999, De Martinis and Maria De Lourdes, 2002).

Günümüzde tarımsal alanda ürün verimliliği ve miktarını artırmak amacıyla çoğunlukla bilinçsiz ilaçlama yapılmakta ve zararlılara karşı kullanılan kimyasal ajanlar özellikle yağmur sularıyla sucul alanlara karışmaktadır (Ansari and Ansari, 2014a). Lambda cyhalothrin de yaygın olarak kullanılan insektisitlerden biridir (Wang et al., 2016). Bu çalışmada, lambda cyhalothrin'in sucul organizmalardaki etkilerinin belirlenebilmesi için *Capoeta capoeta* türü balıklar kullanılarak, etkilerinin biyokimyasal ve moleküler yöntemler kullanılarak belirlenmesi amaçlandı.

MATERYAL VE YÖNTEM

Hayvan Materyali

Bu araştırma için Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan çalışma izni alınmıştır (Etik kurul karar no: 2017-016). Çalışma materyali olarak Kars Çayı'nda yaşayan, 180-200 g ağırlığında 30 adet *Capoeta capoeta* türü balık kullanıldı. Balıklar adaptasyon ve deneme süresince Kars Çayı'ndan getirilen su ortamında bekletildi. Suyun özellikleri; sıcaklık 16.5-18.2 °C pH 8.1-8.3 oksijen miktarı ise 4.95-10.51 mgL⁻¹ şeklindeydi.

Deney Gruplarının Oluşturulması

Kars Çayı'ndan temin edilen *Capoeta capoeta* laboratuvarında daha önceden hazırlanan 300 L'lik tankların içerisine her grupta 10 adet balık olacak şekilde yerleştirildi. Tankların içerisindeki balıkların ortama uyum (adaptasyon) sağlayabilmesi için 15 gün süreyle bekletildi. Kontrol ve deney grupları aşağıdaki şekilde oluşturuldu (Çizelge 1).

Çizelge 1. Kontrol ve Deney Grupları

Gruplar	Pestisit	Doz	Süre
Kontrol	Yok	Yok	6 saat
I. grup	Lambda cyhalothrin	0.012 µgL ⁻¹	6 saat
II. grup	Lambda cyhalothrin	0.025 µgL ⁻¹	6 saat

Biyokimyasal Analizler

Glutasyon (GSH) ve 8-hidroksi-2- deoksiguanozin (8-OHdG) miktarları ticari kit kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlendi.

İstatistik Analiz

Grupların normal dağılım gösterip göstermedikleri Shapiro Wilk-W Testi kullanılarak belirlendi. İstatistik hesaplamalarda tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) kullanıldı. Gruplar arası farklılığı belirlemek amacıyla tukey testi uygulandı. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma ($\bar{X} \pm SD$) olarak belirlendi ve $p < 0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Tüm hesaplamalar SPSS 22 paket programı kullanılarak yapıldı.

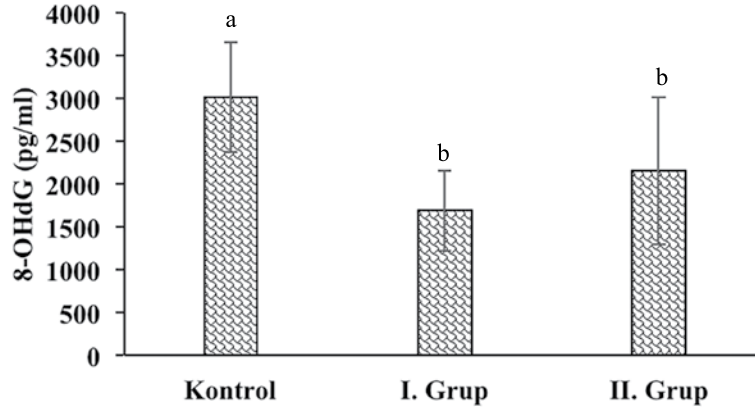
RT-PCR

Total RNA, TRIzol reaktifi kullanılarak dokudan izole edildi (Antica et al., 2010). RT-PCR için TGF β 1, IL-6, PDGF, PAI-1 ve β -aktin kullanıldı. Toplam RNA, RQ1 DNase I (Promega) ile muamele edildi. Ters transkripsiyon (RT), reaksiyonu için Fermentas Revert Aid First Strand cDNA synthesis kit kullanıldı. Tüm basamaklar kit prosedürüne göre yapıldı (Roth

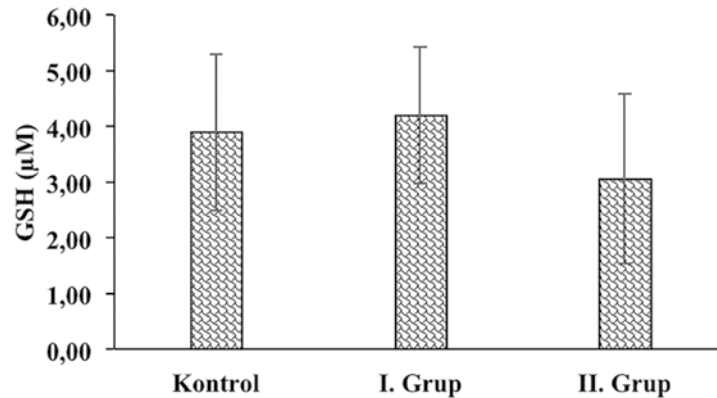
and Hughes, 1985). PCR, primerleri ile üstel aralıkta 30 döngü için Taq DNA Polimeraz (Sigma Aldrich) enzimi kullanılarak 25 μ L'lik bir toplam hacimde 1 μ L seyreltilmiş cDNA (1:10) ile gerçekleştirildi. PZR reaksiyonunda kaynak DNA olarak daha önceden RT reaksiyonu sonucu elde edilen cDNA kullanıldı. PZR reaksiyonu spesifik (F ve R) primerlerle kuruldu; 2,5 μ L 10X tampon, 2,5 μ L 25 mM MgCl $_2$, 2 μ L 2,5 μ M dNTP karışımı, 2,5 μ L F, 2,5 μ L R, 0,5 μ L cDNA kalıbı (1:10 dilüe), 0,5 μ L Taq DNA Polimeraz enzimi (5 μ L $^{-1}$) üzerine son hacmi 25 μ L olacak biçimde 12 μ L ddH $_2$ O eklendi.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Yapılan analizler neticesinde kontrol ve deney gruplarına ait 8-OHdG düzeylerinin 1. grup ve 2. grupta kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli bir azalma tespit edildi ($P < 0.001$) Şekil 1). GSH düzeyleri bakımından kontrol ve deney grupları kıyaslandığında ise grup verileri arasında istatistiksel bir farklılık meydana gelmediği saptandı ($P > 0.05$) (Şekil 2).



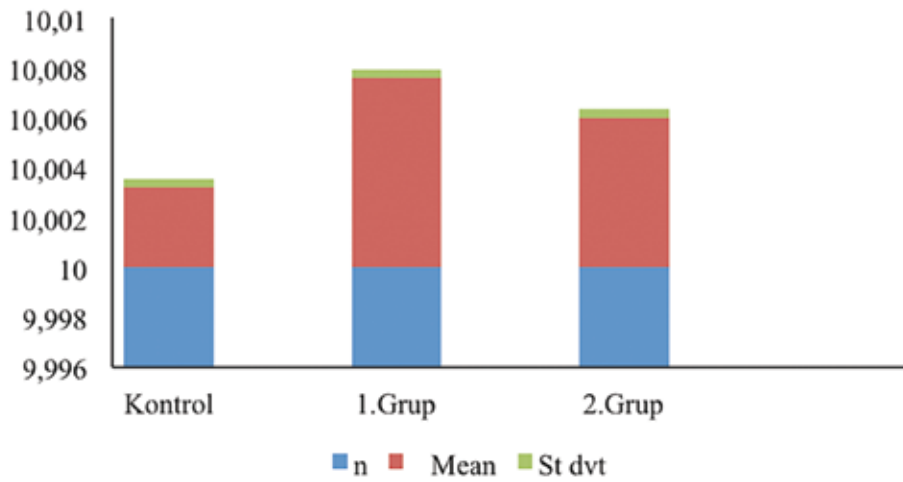
Şekil 1. Kontrol grubu ve Lambda cyhalothrin Uygulanan Gruplardaki Hayvanlara Ait 8-OHdG Düzeyleri. ($P < 0.001$) (Şekilde farklı harfler istatistiksel önemliliği ifade etmektedir).



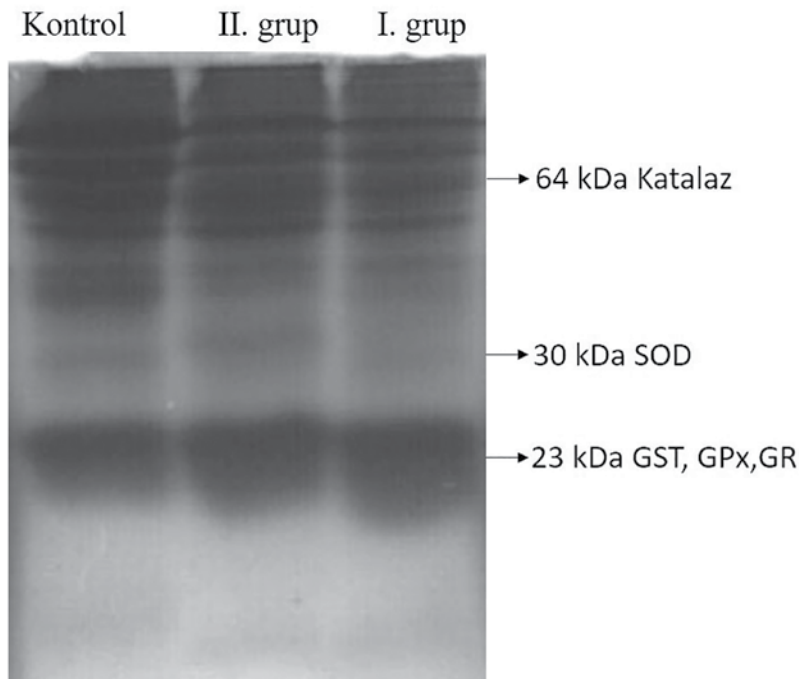
Şekil 2. Kontrol grubu ve Lambda cyhalothrin uygulanan gruplardaki hayvanlara ait GSH düzeyleri ($P > 0,05$).

Çalışmada kullanılan gruplar arasında çeşitli enzimlerin ekspresyon seviyeleri hem gen hem de protein seviyeleri açısından karşılaştırılmıştır. Şekil 3-4'de görüldüğü üzere GST, GPx, GR, Katalaz ve SOD enzimlerinin ekspresyon grafiği incelendiğinde gruplar arasında 1.grupta enzim düzeyinin en yüksek olduğu görülmüştür. 2. grup, 1. gruba göre daha düşük ve kontrol grubuna göre ise daha yüksek enzim ekspresyonu görülmüştür. Lambda cyhalothrin ile antioksidatif

metabolizma arasındaki ilişkinin incelenmesi ve oksidatif hasarın boyutunun Glutasyon ve GST, GPx, GR, Katalaz ve SOD enzimleri üzerinden gösterilmesi amacıyla yapılan çalışmada, Glutasyon düzeyi ile GST, GPx, GR, Katalaz ve SOD enzimleri arasında ters orantı olduğu görülmüştür. Enzim ekspresyonunun uygulanan dozun artmasına bağlı olarak düşmesinin, kullanılan maddenin yarattığı hasarın hücresel boyutta ve DNA üzerinde değişimlere yol açabileceği düşünülmektedir.



Şekil 3. GST, GPx, GR, Katalaz ve SOD enzimlerinin ekspresyonu seviyelerinin gruplarda RT-PCR ile karşılaştırılması. Kontrol: GST, GPx, GR, Katalaz ve SOD, I. grup: GST, GPx, GR, Katalaz ve SOD, II. grup: GST, GPx, GR, Katalaz ve SOD



Şekil 4. GST, GPx, GR, Katalaz ve SOD enzimlerinin ekspresyon seviyelerinin gruplarda SDS-PAGE ile karşılaştırılması. Kontrol, I. grup: 0.012 μgL^{-1} 2.grup: 0.025 μgL^{-1} LCT uygulanan grup

Özellikle tarımsal alanda zararlılarla mücadelede kontrol amaçlı kullanılan insektisitler, verim ve ürün kalitesi açısından yararlı olmakla birlikte; tüketim esnasında ve sucul ortamların kontamine olmasına bağlı olarak canlılar üzerinde olumsuz etki etmektedir (Ansari and Ansari, 2014a). İsektisitlere bağlı gelişen etkilerin en önemlisi, organizmada oluşan reaktif oksijen türleridir (Ding et al., 2012). SOD, CAT, GSH ve GSH'la ilişkili enzimler (GSH-Px, GR, GST gibi) organizmada oluşan reaktif oksijen türlerinin ortadan kaldırılmasında ve organizmada hasar oluşmasının engellenmesinde önemli rol oynamaktadır (Sharma and Sangha, 2014). Bu enzimler organizmayı oksidatif hasardan koruyan ilk savunma mekanizmalarıdır. SOD süperoksit anyonunu daha az reaktif olan hidrojen perokside dönüştürür. Bu da daha sonra CAT ve GPx tarafından su ve oksijene dönüştürülerek reaktifliği ortadan kaldırılmış olur (Mossa et al., 2015). Organizmadaki antioksidan/oksidan dengenin bozulmasına bağlı olarak oksidatif hasar olarak adlandırılan durum meydana gelmekte ve buna bağlı olarak nükleik asitler, lipitler ve proteinlerde hasar oluşmaktadır (Topal et al., 2017b). Oksidatif hasarın en önemli belirteci DNA'nın uyarılması sonucu meydana gelen 8-OHdG gibi oksidize olan bazlardır ve oksidatif strese bağlı olarak artış göstermektedir (Abu-Qare and Abou-Donia, 2000; Topal et al., 2017b; Topal et al., 2017a). İsektisitlerin antioksidanlar ve DNA hasarı üzerine etkileri ile ilgili birçok araştırma mevcuttur.

Lodovici et al. (1994) ratlara yaygın olarak kullanılan 15 insektisit karışımı uygulamışlar ve uygulanan pestisit karışımının GPx, GR, GST enzim aktivitelerini azalttığını açıklamışlardır. Başka bir çalışmada tarım ve halk sağlığında geniş alana sahip bir insektisit olan fipronilin SOD, CAT, GPx, GST ve GSH seviyelerini anlamlı olarak azaltırken, LPO konsantrasyonunun önemli derecede arttığını açıklamışlardır (Mossa et al., 2015). Topal et al. (2017b) Gökkuşluğu alabalığı üzerinde yapmış oldukları çalışmada balıkları 21 gün boyunca 5 mg/L, 10 mg/L ve 20 mg/L dozlarında imidacloprid'ine maruz bırakmışlar ve beyin dokusunda SOD, CAT ve GPx antioksidan enzim seviyelerinin ve Lipit peroksidasyon (LPO) seviyelerinin kontrol grubuna göre artış gösterdiğini belirtmişlerdir. Yine Topal et al. (2017a) Gökkuşluğu balığı üzerine yapmış oldukları başka bir çalışmada linuron isimli bir herbisiti 30 µg, 120 µg ve 240 µg olarak uygulamışlar sonuç olarak beyin dokularında GSH düzeylerinde düşüş, SOD ve CAT aktivitelerinde ise düşük dozlarda artış, yüksek dozda ise azalma olduğunu, lipid peroksidan seviyesinin ise 240 µg uygulanan

grupta önemli artış gösterdiğini belirtmişlerdir. Başka bir çalışmada Gökkuşluğu alabalığı üzerine Lambda cyhalothrin uygulamasına bağlı olarak GSH-Px ve GSH düzeylerinin konsantrasyona bağlı olarak arttığını ve CAT aktivitesinin azaldığını belirtmişlerdir (Kutluyur et al., 2015). Erkek sıçanlar üzerinde lambda cyhalothrin uygulamasının CAT, SOD, GPx, GR ve GST düzeylerini önemli oranda azalttığını bildirilmiştir (Fetoui et al., 2010). Zebra balığı üzerine sentetik piretroid Alphamethrin uygulamasına bağlı olarak CAT, GSH düzeylerinde azalma olduğu, LPO seviyelerinde de artış saptandığı belirtilmiştir (Ansari and Ansari, 2014b). Ansari ve Ansari (2014) Zebra balığı üzerine organofosforlu bir böcek öldürücü dimetoat uygulamışlar ve sonuç olarak bu kimyasala maruz kalan balıkların CAT seviyelerinde bir azalmaya neden olduğunu solungaçlarında GSH düzeylerinin yine azaldığını ve LPO seviyelerinin ise arttığını ifade etmişlerdir (Ansari and Ansari, 2014a). Liu et al. (2015) Japon balığı üzerine uygulamış oldukları organofosforlu böcek ilacı Triazophosun etkilerine bakmış ve sonuç olarak GSH, SOD, CAT ve laktat dehidrogenaz (LDH) aktivitelerinin azaldığını açıklamışlardır (Liu et al., 2015). Ahmet ve Nasr (2015) erkek albino sıçanlar üzerinde uygulamış oldukları brokoli su ekstraktı, ferulik asit ve imidaklopridin oksidatif stres üzerine sonuçlarını araştırmışlar ve imidaklopridin, LPO içeriklerini artırdığını, Brokoli ve ferulik asit LPO seviyesini azalttığını, imidaklopridin GSH'yı düşürmüş, brokoli ve ferulik asit birlikte kullanıldığı zaman ise GSH düzeyini iyileştirdiğini açıklamışlardır (Ahmed and Nasr, 2015).

Mevcut çalışmada da LCT'nin balıklarda antioksidan enzim sistemi ve DNA/RNA hasarı üzerine etkileri araştırılmış ve GSH enzim düzeylerinin spektrofotometrik inceleme neticesinde kontrol grubuna kıyasla 1. grupta arttığı, 2. grupta ise azaldığı tespit edilmiştir. GST, GPx, GR, CAT ve SOD enzimlerinin ekspresyon seviyelerinin RT-PCR ile karşılaştırılması sonucunda da yine 1. gruptaki hayvanlarda enzim miktarlarının kontrol ve 2. gruba göre artış gösterdiği belirlenmiştir. Bu enzimlerin seviyelerinin SDS PAGE'den elde edilen elektroforegrama göre 1. grupta diğer gruplara göre artış gösterdiği saptanmıştır. Yukarıdaki literatür verilerinde antioksidan enzim düzeylerinin, uygulanan insektisit, hayvan türü, doz ve uygulama süresine bağlı olarak değişiklik gösterdiği görülmektedir. Yapılan bu çalışmada da düşük doz uygulanan gruptaki hayvanların antioksidan enzim düzeylerinin kontrol ve yüksek doz uygulanan gruba göre artış gösterdiği gözlemlenmiştir. Lodovici et al.

(1994) DNA hasarı açısından ratlarda yapmış oldukları incelemede ise düşük dozlarda 8-OHdG'nin kontrol grubu seviyesine göre bariz bir oranda arttığını yüksek doz uygulanan grupta ise bu oranın kontrol grubu seviyesine geri döndüğünü belirtmişlerdir ve düşük dozlarda serbest radikal oluşumuna bağlı olarak DNA hasarına yol açtığını, yüksek doz uygulamasına bağlı olarak ise oksidatif hasar ürünlerinin oluşumu inhibe edilerek hücrel metabolizma baskılanmasının bir ürünü olan 8-OHdG'in üretiminin baskılandığı belirtilmiştir (Lodovici et al., 1994). Gökkuşluğu alabalığı üzerinde yapılan bir çalışmada 8-OHdG düzeylerinin 5 mgL⁻¹ de arttığı, 10 ve 20 mgL⁻¹ miktarlarında ise değişimin olmadığı vurgulanmıştır (Topal et al., 2017b). Gowri et al. (2013) tatlı su balığı *Cyprinus carpio* üzerine sentetik pretroitlerden sipermetrini uygulamışlar ve 7 gün içerisinde bu kimyasala maruz kalan balıkların DNA ve RNA içeriklerinde değişiklik olmadığı yalnız 14 ve 21 gün süreyle bekletilen balıkların ise DNA ve RNA içeriğinin beyin, solungaçlar ve karaciğerde önemli ölçüde düştüğünü vurgulamışlardır (Gowri, Govindassamy, and Ramalingam, 2013). Ahmet ve Nasr (2015) erkek albino sıçanlar üzerinde uygulamış oldukları brokoli su ekstraktı, ferulik asit ve imidaklopridin 8-OHdG seviyesini artırdığını ve brokoli ve ferulik asitin kullanıldığı seviyelerde 8-OHdG azaldığını açıklamışlardır (Ahmed and Nasr, 2015). Calviello et al. (2006) sıçanlar üzerinde fungusit olan Mancozebi uygulamışlar ve 8-OHdG DNA

oksidasyon ve ROS seviyelerinde düşük bir artışın olduğunu ifade etmişlerdir (Calviello et al., 2006). Hamster üzerinde biyosid penteklorofenol kullanılan başka bir çalışmada ise düşük dozların 8-OHdG düzeylerini etkilemediği lakin yüksek dozların 8-OHdG düzeylerini artırdığını vurgulamışlardır (Dahlhaus et al., 1995).

DNA/RNA oksidatif hasarı açısından değerlendirme yapıldığında da 8-OHdG düzeyinin kontrol grubuna göre 1. ve 2. grupta daha düşük olduğu belirlenmiştir. İnsektisit uygulamasına bağlı olarak artış gözlenmesi beklenen bu değerdeki düşüşün sebebinin 1. ve 2. gruplarda antioksidan enzim seviyelerindeki artışa bağlı olduğu düşünülmektedir. Bu durumu Lodovici et al. (1994) yüksek doz uygulamasına bağlı olarak oksidatif hasar ürünlerinin oluşumu inhibe edilerek hücrel metabolizma baskılanmasının bir ürünü olan 8-OHdG'in üretiminin baskılanması şeklinde belirtmişlerdir (Lodovici et al., 1994).

SONUÇ

LCT'in *Capoeta capoeta* balık türleri üzerinde, uygulanan doz ve sürede toksik etki gösterdiği, buna bağlı olarak balıklarda antioksidan enzim düzeyleri artarak oksidatif hasarı ve DNA/RNA hasarını azalttığı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abu-Qare A, Abou-Donia M. 2000. Increased 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, a biomarker of oxidative DNA damage in rat urine following a single dermal dose of DEET (N,N-diethyl-m-toluamide), and permethrin, alone and in combination. *Toxicology Letters* 117: 151–160.
- Ağar S, Aydınöğlü H, Temel O, İkizünal K, Ece H. 1991. Pestisit kullanımının tarihçesi, bugünü ve geleceği. *Türk. entomol. derg.*, 15: 247–256.
- Ahmed MM, Nasr SA. 2015. Protective effect of broccoli and ferulik acid on imidakloprid induced neurotoxicity in rats. *Journal of Biomedical and Pharmaceutical Research* 4: 82–89.
- Ansari S, Ansari BA. 2014a. Temporal variations of CAT, GSH, and LPO in gills and livers of zebrafish, *Danio rerio*, exposed to dimethoate. *Arch. Pol. Fish.* 22: 101–109.
- Ansari S, Ansari BA. 2014b. Toxic effect of Alphamethrin on catalase, reduced glutathione and lipid peroxidation in the gill and liver of zebrafish, *danio rerio*. *World Journal of Zoology* 9: 155–161.
- Antica M, Paradzik M, Novak S, Dzebro S, Dominis M. 2010. Gene expression in formalin-fixed paraffin-embedded lymph nodes. *Journal of immunological methods* 359: 42–46.
- Calviello G, Piccioni E, Boninsegna A, Tedesco B, Maggiano N, Serini S, Wolf FI, Palozza P. 2006. DNA damage and apoptosis induction by the pesticide Mancozeb in rat cells: Involvement of the oxidative mechanism. *Toxicology and Applied Pharmacology* 211: 87–96.
- Dahlhaus M, Almstadt E, Henschke P, Lüttger S, Appel KE. 1995. Induction of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and single-strand breaks in DNA of V79 cells by tetrachloro-p-hydroquinone. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 329: 29–36.
- De Martinis BS, Maria De Lourdes PB. 2002. Methodology for urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine analysis by hplc with electrochemical detection. 46: 129–131.
- Ding G, Han S, Wang P, Gao Y, Shi R, Wang G, Tian Y. 2012. Increased levels of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine are attributable to organophosphate pesticide exposure among young children. *Environmental Pollution* 167: 110–114.
- Fetoui H, Makni M, Garoui EM, Zeghal N. 2010. Toxic effects of lambda-cyhalothrin, a synthetic pyrethroid pesticide, on the rat kidney: Involvement of oxidative stress and protective role of ascorbic acid. *Experimental and Toxicologic Pathology* 62: 593–599.

- Gowri B, Govindassamy P, Ramalingam V. 2013. Influence of Cypermethrin on DNA and RNA content in different organs of fresh water fish *Cyprinus carpio*. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences* 9: 1–10.
- Halliwell B. 1991. Drug Antioxidant Effects. *Drugs* 42: 569–605.
- Helbock HJ, Beckman KB, Ames BN. 1999. 8-Hydroxydeoxyguanosine and 8-hydroxyguanine as biomarkers of oxidative DNA damage (BM in Enzymology, Ed.). *Methods in Enzymology* 300: 156–166.
- Johansen SJ, Harris AK, Rychly DJ, Ergul A. 2005. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: Linking basic science to clinical practice. *Cardiovascular Diabetology* 4.
- Kumar A, Sharma B, Pandey RS. 2010. Toxicological assessment of pyrethroid insecticides with special reference to cypermethrin and cyhalothrin in freshwater fishes, International Journal of Biological Medical Research. *BioMed SciDirect Publications* 1: 315–325.
- Kutluyer F, Erişir M, Benzer F, Öğretmen F, İnanan BE. 2015. The in vitro effect of Lambda-cyhalothrin on quality and antioxidant responses of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* spermatozoa. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 40: 855–860.
- Liu L, Zhu B, Gong YX, Liu GL, Wang GX. 2015. Neurotoxic effect of triazophos on goldfish (*Carassius auratus*) and tissue specific antioxidant responses. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 116: 68–75.
- Lodovici M, Aiolfi S, Monserrat C, Dolara P, Medica A, Di Simplicio P. 1994. Effect of a mixture of 15 commonly used pesticides on DNA levels of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine and xenobiotic metabolizing enzymes in rat liver. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology: Official Organ of the International Society for Environmental Toxicology and Cancer* 13: 163–168.
- Mossa ATH, Swelam ES, Mohafrash SMM. 2015. Sub-chronic exposure to fipronil induced oxidative stress, biochemical and histopathological changes in the liver and kidney of male albino rats. *Toxicology Reports* 2: 775–784.
- Ongley ED. 1996. *Control of water pollution from agriculture*. Roma: Daya Publishing House.
- Portugal M, Barak V, Ginsburg I, Kohen R. 2007. Interplay among oxidants, antioxidants, and cytokines in skin disorders: Present status and future considerations. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 61: 412–422.
- Ribeiro Oliveira CA, Vollaire Y, Sanchez-Chardi A, Roche H. 2005. Bioaccumulation and the effects of organochlorine pesticides, PAH and heavy metals in the Eel (*Anguilla anguilla*) at the Camargue Nature Reserve, France. *Aquatic Toxicology* 74: 53–69.
- Roth JR, Hughes KT. 1985. Directed formation of deletions and duplication using Mud(Ap, lac). *Genetic* 109: 263–282.
- Sharma D, Sangha GK. 2014. Triazophos induced oxidative stress and histomorphological changes in liver and kidney of female albino rats. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 110: 71–80.
- Topal A, Alak G, Altun S, Erol HS, Atamanalp M. 2017a. Evaluation of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine and NFκB activation, oxidative stress response, acetylcholinesterase activity, and histopathological changes in rainbow trout brain exposed to linuron. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 49: 14–20.
- Topal A, Alak G, Ozkaraca M, Yeltekin AC, Comaklı S, Acil G, Kokturk M, Atamanalp M. 2017b. Neurotoxic responses in brain tissues of rainbow trout exposed to imidacloprid pesticide: Assessment of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine activity, oxidative stress and acetylcholinesterase activity. *Chemosphere* 175: 186–191.
- Toth SJ, Sparks TC. 1990. Effect of Temperature on Toxicity and Knockdown Activity of cis-Permethrin, Esfenvalerate, and λ-Cyhalothrin in the Cabbage Looper (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology* 83: 342–346.
- Wang Q, Xia X, Deng X, Li N, Wu D, Zhang L, Yang C, Tao F, Zhou J. 2016. Lambda-cyhalothrin disrupts the up-regulation effect of 17β-estradiol on post-synaptic density 95 protein expression via estrogen receptor α-dependent Akt pathway. *Journal of Environmental Sciences* 41: 252–260.