

DİAZINON'UN SIÇAN TESTİSİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN HİSTOKİMYASAL OLARAK İNCELENMESİ*

Histochemical Investigation of Effects of Diazinon on the Rat Testes

Ayşegül Burçin YILDIRIM¹, Saim ÖZDAMAR²

Özet: Bu çalışmada, Kayseri bölgesinde tarım alanlarında kullanılan insektisitlerden biri olan diazinonun testis dokusuna olan etkilerinin histokimyasal olarak araştırılması amaçlanmıştır. Araştırmada kullanılan sıçanlar 5 gruba ayrıldı. Birinci deney grubuna 1 gün LD50 dozunun (1250 mg/kg) 1/10'u, ikinci deney grubuna 2 gün LD50 dozunun 1/20'si, üçüncü deney grubuna 4 gün LD50 dozunun 1/40'ı, dördüncü deney grubuna 8 gün diazinon'un LD50 dozunun 1/80'i serum fizyolojikle eritilerek sıçanların ağırlıklarına göre 0.75-1 ml/kg/gün gavajla oral olarak verildi. Beşinci grup sıçanlar kontrol grubu olarak değerlendirildi. Işık mikroskopunda histolojik inceleme için rutin takip yöntemleri uygulandıktan sonra elde edilen testis dokusu kesitlerinde her grup için ayrı ayrı Johnsen testiküler biyopsi skoru hesaplandı, seminifer tübül çapları ölçüldü ve histolojik olarak değerlendirildi. İmmunofloresan mikroskopunda inceleme için TUNEL metodu kullanıldı ve germ hücre apoptozisi değerlendirildi. STÇ'leri ve Apoptotik hücre oranları incelendiğinde gruplar arasında anlamlı farklılık saptandı ($p<0.05$). İkinci deney grubunun apoptotik hücre ortalaması diğerlerine göre daha yüksek bulundu. JTBS'leri incelendiğinde, gruplar arasında anlamlı farklılık saptandı ($p<0.05$). Kontrol grubu ile bütün gruplar arasındaki farklılık anlamlı bulundu. Diazinonun LD50 dozunun 1/10, 1/20, 1/40 ve 1/80'inin uygulandığı sıçanların testis dokularında spermatojenik hücrelerin, diazinondan değişik şekillerde etkilendiği, çoğalan apoptotik hücrelerin spermatogenezi engelleyerek infertiliteye neden olabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Diazinon, spermatogenez, testis, apoptozis.

Abstract: The aim of this study is to elucidate the testicular histochemical effects of diazinon, which is an insecticide used for agricultural purposes in areas Kayseri Region. The rats used in the study were divided into 5 groups. To the first experimental group for one day LD50 dose of (1250 mg/kg) 1/10, to the second experimental group for two days the LD50 dose of 1/20, to the third experimental group for four days the LD50 dose of 1/40, to the fourth experimental group for eight days LD50 dose of 1/80 diazinon were given with 0.75-1 ml/kg /day gavage orally after melted in the serum physiologic according to the weights of rats. The rats in the fifth group were assigned to be the control group. After the routine tracking methods were applied for the histologic analysis in the light microscope, in the obtained testes tissues fractions Johnsen testicular biopsy score seminiferous tubule diameters were measured and evaluated histologically. For the analysis in the immunofloresance microscope, TUNEL method was used and apoptosis of germ cell was evaluated. When the groups were analysed according to their STCS and apoptotic cell average, a significant difference was observed between the groups ($p<0.05$). When analysed in terms of the JTBS there was a significant difference between the groups ($p<0.05$). The difference between the control group and the other groups was also significant. We concluded the result that spermatogenic cells in the testes tissues, treated with 1/10, 1/20, 1/40, 1/80 LD50 dose diazinon, were affected in different ways. The proliferation of apoptotic cells caused infertility by hindering spermatogenesis.

¹ Bil. Uzm. Erc. Ün. Sađ. Bil. Ens. Histoloji-Emb. AD, Kayseri

² Prof. Dr. Erc. Ün. Tıp Fak. Histoloji-Emb. AD, Kayseri

Geliş Tarihi : 18.10.2010

Kabul Tarihi : 08.03.2012

*Bu araştırma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TSY-09-769 nolu proje ile yüksek lisans tezi olarak desteklenmiştir .

Pestisitler, zararlı organizmaları engellemek, kontrol altına almak, ya da zararlarını azaltmak amacıyla tarımda kullanılan kimyasal madde ya da maddelerden oluşan karışımlardır. Pestisitlerin tarımda zararlılara karşı yoğun ve bilinçsiz olarak kullanılmasına bağlı olarak gıda maddelerinde, toprakta ve suda birikebilmektedir. Pestisitlerle kontamine tarım ürünleri ve suyun tüketilmesi ile ve kapalı alanlarda yapılan ilaçlamalarda, solunumla insanlara ve diğer canlılara geçerek olumsuz etkilere neden olabilmektedirler. Sonuçta canlılarda akut ve kronik zehirlenmelerden ölüme kadar çeşitli istenmeyen durumlar meydana gelebilmektedir. Pestisitlerin pek çok kimyasal özellikleri ve farklı türleri bulunmaktadır. Bunlardan biri olan organik fosfatlı pestisitler, kullanma tekniği ve formüllerine göre insan vücuduna deri, solunum veya ağız yoluyla girebilirler. Lipofilik olmaları nedeniyle tüm membranlardan kolayca emilen organik fosfatlı pestisitler deri, konjunktiva, akciğer ve özellikle de ağız yoluyla alındıklarında hızla absorbe olurlar (1,2)

Diazinon asetilkolinesteraz aktivitesini inhibe eden, geniş spektrumlu organofosfatlı bir pestisittir. Asetilkolinesteraz enziminin inhibe edilmesi organik fosfatlıların toksisitesini ortaya çıkarmaktadır (3). Pestisitlerin dolaylı veya doğrudan testis dokusu üzerinde etkilerinin varlığı değişik çalışmalarda gösterilmiş ve bu etkinin özellikle spermatogenez sırasında gelişmekte olan germ hücreleri üzerinde ortaya çıktığı belirtilmiştir (3). Bugüne kadar diazinonun erkek üreme sistemi üzerine etkileriyle ilgili yapılan çalışmalarda, testis fonksiyonlarında bozulmaya yol açtığı bildirilmiştir (4,5). Bu çalışma ile, ülkemizde ve Kayseri'de tarımda yaygın olarak kullanılan diazinonun sıçan testis dokusunda oluşturduğu hasar ve germ hücrelerinde apoptozisin gelişip gelişmediği ışık mikroskopik ve immunofloresan yöntemle belirlenerek diazinonun canlılar üzerindeki etkileri farklı bir bakış açısı ile ortaya konulmaya çalışılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Deneysel Hayvanları Başkanlığı'nın Etik kurulu Onayı (Tarih:12/11/2008, Karar No:06/59) ile Erciyes Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırmalar Merkezi'nden temin edilen erişkin 250-350 gr 30 adet Wistar albino erkek sıçan ile yapıldı. Sıçanlar her birinde 6 sıçan bulunan 5 gruba ayrıldı. Birinci gruba 1 gün, ikinci gruba 2 gün, üçüncü gruba 4 gün, dördüncü gruba 8 gün diazinonun (Basudin 60EC, Syngenta) LD50 dozunun [\(1250 mg/kg\) sırasıyla](#) 1/10, 1/20, 1/40 ve 1/80'si serum fizyolojik içinde eritilerek sıçanların ağırlıklarına göre 0.6-1.4 ml/kg/gün doz gavajla verildi. Beşinci grup sıçanlar normal laboratuvar şartlarında tutularak kontrol grubu olarak kullanıldı. Deneyin 1, 2, 4, ve 8. günleri sonunda Ksilazin 1 mg/100 gr ve ketamin 8 mg/100 gr anestezi altında sıçanların testis dokuları alındı. Alınan testis doku örnekleri ışık mikroskopik inceleme için Bouin ve immunofloresan mikroskopik inceleme için % 10'luk nötral formalinde tespit edildi. Rutin doku takip işlemlerinin ardından parafin bloklardan 5 mikronluk kesitler hematoksilin-eozin ile boyandı. Tüm gruplardaki sıçanların seminifer tübül çapları ölçüldü ve JTBS Tablo I'deki ölçütlere göre derecelendirildi (6). Histolojik değerlendirme, her gruptan 200, toplam 1000 tübülün çap ölçümü ve incelenmesi ile yapıldı.

İmmunofloresan mikroskopta inceleme için ise TUNEL metodu kullanıldı ve germ hücre apoptozisi değerlendirildi. Apoptotik hücreler her gruptan 8 preparat, her preparattan da 20'lik objektifteki farklı alanlardan 10 tübülde toplam 80 tübülde sayıldı. Apoptotik hücreler her gruptan 8 preparat, her preparattan da 20'lik objektifteki farklı alanlardan 10 tübülde toplam 80 tübülde sayıldı.

İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Gruplara STÇ, apoptotik hücre ve JTBS değişkenlerinin karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi kullanıldı. Çoklu karşılaştırma testlerinden Tukey testi kullanıldı. Veriler

ortalama±standart sapma ($\bar{x} \pm ss$) olarak ifade edildi. İstatistiksel değerlendirmeler SPSS 16.0

Tablo I. Johnsen Testiküler Biyopsi Skoru (6)

Skor	Histolojik Bulgular
1	Tübüler kesitte hiçbir hücre yoktur.
2	Sadece Sertoli hücreleri vardır.
3	Germ hücreleri olarak sadece spermatogonyumlar vardır.
4	Az sayıda (5/ tübül) spermatosit vardır.
5	Fazla sayıda spermatosit mevcuttur.
6	Az sayıda (5/ tübül) spermatid mevcuttur.
7	Farklanma işareti olmaksızın fazla sayıda spermatid vardır.
8	Olgun spermatozoa olmaksızın geç spermatidler mevcuttur.
9	Az sayıda (5/ tübül) spermatozoa vardır.
10	Fazla sayıda spermatozoanın görüldüğü tam spermatogenez mevcuttur

paket programı kullanılarak yapıldı. p değerinin 0.05'den küçük olması anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Kontrol grubuna ait H-E ile boyanan testislerde seminifer tübül, interstisyel bağ dokusu ve Leydig hücreleri ile seminifer tübüllerdeki spermatogenik hücrelerin dizilisi normal histolojik görünümdeydi (Şekil 1, 1A). 1. gün grubunda, kontrol grubuna benzer şekilde, normal görünümlü seminifer tübüller, bazal membranda dağılıma ve germinal epitelde yer yer bozulmalar tespit edildi (Şekil 1, 2A). 2. gün grubunda Seminifer tübül epitelinde inceleme, germinal epitelde organizasyon bozukluğu, spermatozoon oluşumunda azalma ve spermatogenik hücrelerde küçülme görüldü. Bazı tübüllerde ise tamamen atrofi gözlemlendi (Şekil 1, 3A). 4. ve 8. gün gruplarında germinal epitelin dökülmesinden dolayı lümen hücrelerle dolu olarak görüldü. Germinal epitel kalınlığında ise belirgin bir azalma dikkat çekti (Şekil 1, 4A; Şekil 5, 5A).

TUNEL boyama metodu ile boyanan kontrol grubu kesitlerde apoptotik hücrelere spermatid ve spermatogonyumlarda daha fazla rastlandı (Şekil 2, 1B). Apoptotik hücrelerin 1., 4., ve 8. Gün gruplarında spermatogenik hücre serisinin her katmanına dağılmış olduğu (Şekil 2, 2B; Şekil 2, 4B; Şekil 2,5B), 2. gün grubunda ise bazı

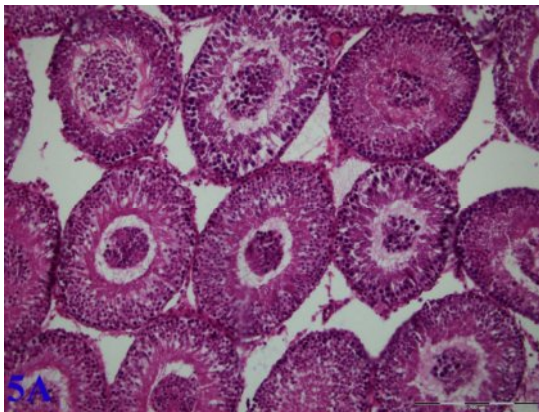
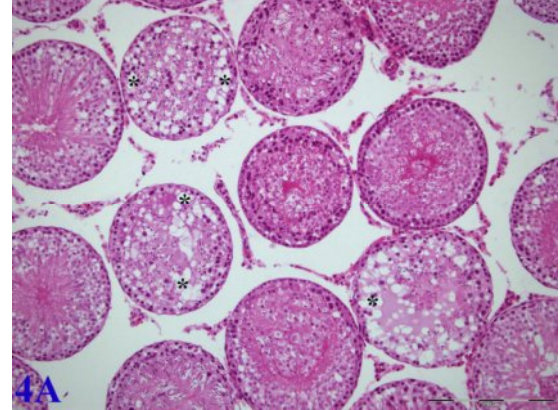
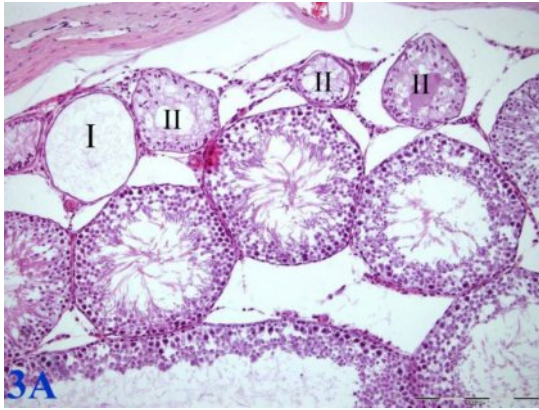
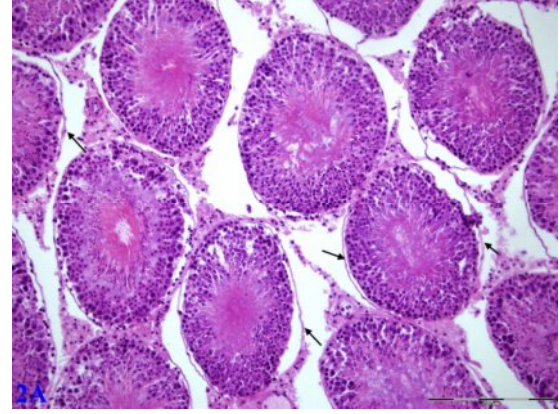
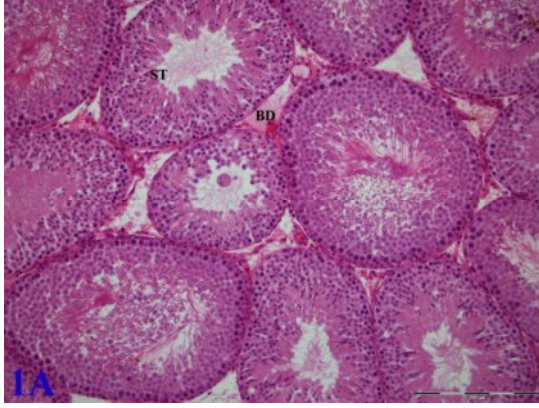
tübüllerde spermatogonyum katında bazısında ise spermatidlerin yer aldığı lümeneye yakın alanlarda ve spermatositlerde bulunduğu gözlemlendi (Şekil 2, 3B).

Johnsen Testiküler Biyopsi Skoru

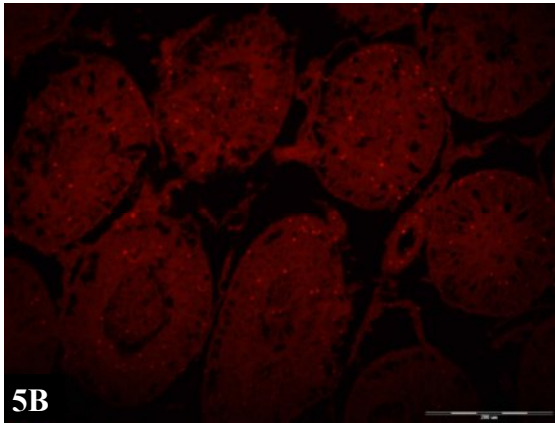
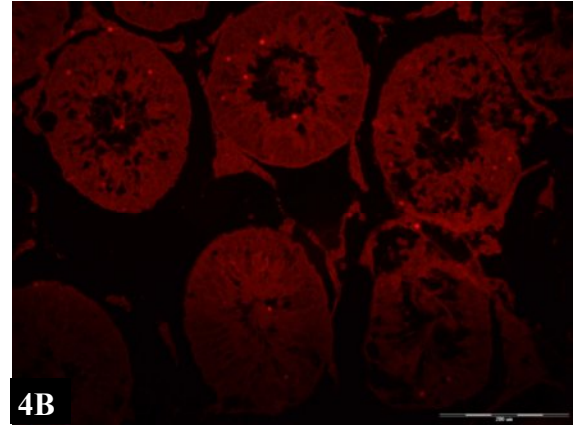
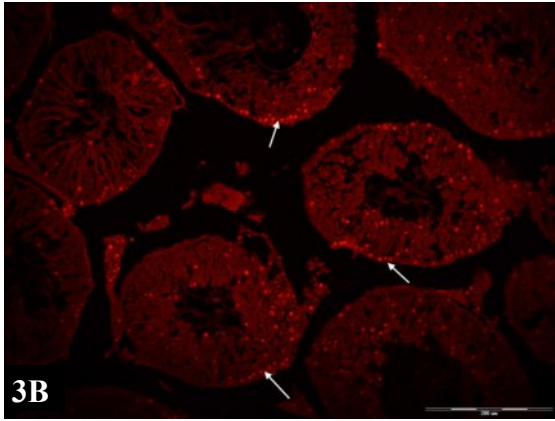
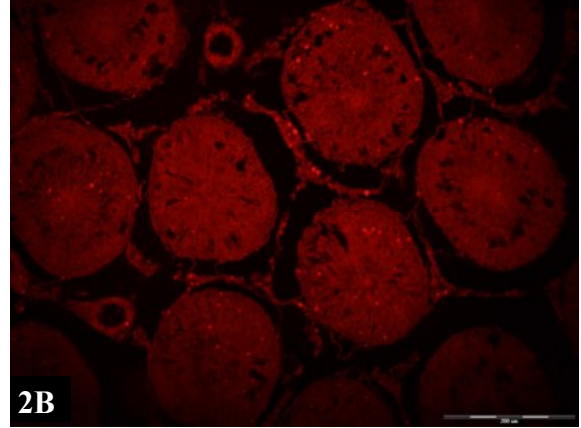
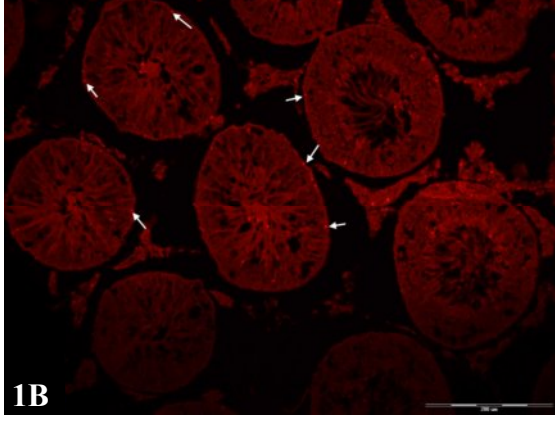
Johnsen testiküler biyopsi skoru için gruplar incelendiğinde ikinci gün grubunun skorlama ortalaması en düşük bulundu. Gruplar karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0.001$). Gruplar arası çoklu karşılaştırmada ise kontrol grubu ile bütün gruplar arasında fark anlamlı idi ($p<0.05$). Birinci gün ile sekizinci gün, ikinci gün ile dördüncü gün grupları arasında skorlamada istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. İkinci gün grubu ile birinci gün, sekizinci gün ve kontrol grupları arasındaki fark ise istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0.05$), (Tablo II).

Apoptotik Germ Hücre Sayımı

Apoptotik hücre oranları açısından gruplar incelendiğinde, ikinci gün grubunun apoptotik hücre ortalaması diğerlerine göre daha yüksek bulundu. Gruplar karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0.001$). Kontrol grubu ile diğer gruplar



Şekil 1: 1A, Kontrol grubu. Testisin genel histolojik yapısı; ST:Seminifer tübül, BD: Bağ doku. 2A, Birinci gün grubu. Bazal membranın germinal epitelden ayrılmaya başladığı tübüller (ok) . 3A, İkinci gün grubu. Bazı tübüllerde hiçbir spermatojenik hücre bulunmazken (I), bazılarında az sayıda hücre bulunan tübüller (II). 4A, Dördüncü gün grubu. Lümenin tamamen hücrelerle dolu olduğu tübüller, dejenere olan spermatojenik hücrelerin tübüllerde bıraktıkları yuvarlak boşluklar (*) görülmekte. 5A, Sekizinci gün grubu. Lümenin tamamen hücrelerle dolu olduğu tübüller ve lümeninde hücre döküntüleri görülmekte (H+E X 20, Bar:200µm).



Şekil 2: 1B, Kontrol Grubu. Spermatid ve spermatogonyum evrelerinde daha fazla apoptotik hücre görülmekte. 2B, Birinci gün grubu. Apoptotik hücrelerin spermatogonyum hücre serisinin her katmanına dağılmış olduğu görülmekte. 3B, İkinci gün grubu. Bazı tübüllerde spermatogonyumlarda daha yoğun apoptotik hücreler. 4B, Dördüncü gün grubu. Apoptotik hücrelerin farklı hücre seviyelerinde olduğu görülmekte. 5B, Sekizinci gün grubu. Apoptotik hücrelerin farklı hücre seviyelerinde olduğu görülmekte, (TUNEL X 20, Bar 200µm).

Tablo II. Grupların JTBS, Apoptotik Hücre, STÇ Ortalamaları ve Standart Sapma Değerleri

Değişkenler	1. gün ($\bar{x} \pm ss$)	2. gün ($\bar{x} \pm ss$)	4. gün ($\bar{x} \pm ss$)	8. gün ($\bar{x} \pm ss$)	Kontrol ($\bar{x} \pm ss$)	p
JTBS (n=200)	8.27 ± 0.78 ^a	7.47 ± 1.83 ^b	7.65 ± 1.63 ^b	8.16 ± 0.55 ^a	9.40 ± 0.80 ^c	<0.001
Apop.H. (n=80)	23.50 ± 8.11 ^a	36.25 ± 8.45 ^b	18.87 ± 7.56 ^{ac}	17.12 ± 9.38 ^{ac}	13.75 ± 12.04 ^c	<0.001
STÇ (n=200)	198.93 ± 20.96 ^a	179.77 ± 57.97 ^b	214.09 ± 26.86 ^c	227.05 ± 20.76 ^c	207.00 ± 37.88 ^d	<0.001

JTBS: Johnsen Testiküler Biyopsi skoru, Apop.H.:Apoptotik hücre, STÇ:Seminifer Tübül Çapı Ölçümü. Alfabetik üst simgeler post hoc (Tukey) sonucuna göre aynı harfler gruplar arasında anlamlı farkın olmadığını, farklı harfler gruplar arasında anlamlı farkın olduğunu ifade etmektedir.

karşılaştırıldığında sadece birinci ve ikinci gün grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark bulundu. İkinci gün ile diğer bütün gruplar arasında apoptotik germ hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0.05$), (Tablo II).

Seminifer Tübül Çapı Ölçümü

STÇ'ları açısından gruplar incelendiğinde ikinci gün grubunun STÇ ortalaması en küçük değerde bulundu. Gruplar arasında anlamlı farklılık saptandı ($p < 0.001$). Gruplar arası çoklu karşılaştırmalarda ise dördüncü ve sekizinci gün gruplarının STÇ'ları arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Diğer gruplar arasında STÇ'ları farkı anlamlıydı ($p < 0.05$), (Tablo II).

TARTIŞMA

Ülkemizde tarım alanlarında zararlı canlılara karşı yaygın pestisit kullanımı söz konusudur. Pestisitlerin aşırı dozda ve zamansız uygulanması tarım ürünleri üzerinde kalıntıların oluşmasına ve bu ürünleri tüketen insanlar üzerinde zararlı etkilere yol açabilmektedir (7).

Pestisitlerden organofosfatlar tüm dünyada yaygın olarak tarımda, evlerde ve bahçelerde kullanılmaktadır. Organofosfatların canlı organizmalar üzerinde istenmeyen etkilere neden olduğu bilinmektedir (8,9). Methidathion, Fenthion, Klorpirofos etil, Fosalon ve Diazinon değişik deneysel çalışmalarda en sık kullanılan

organofosfatlardır. Bu çalışmaların bir bölümünde, organofosfatların, hem insanlarda hem de hayvanlarda, merkezi sinir sistemi, kardiyovasküler sistem, ürogenital sistem, nöromusküler kavşak, metabolik ve endokrin sistem üzerine zararlı etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (10,11,12).

Diazinon geniş spektrumlu bir organofosfattır. Diazinonla ilgili hem histokimyasal (13,14) hem de biyokimyasal (15) çalışmalar yapılmıştır. Diazinonun sıçan testisi üzerine etkilerini histolojik olarak belirleyen az sayıda çalışma bulunmaktadır (14). Ural ve ark. (14) kısa dönemde dahi, diazinonun gonadlar üzerine patolojik etkileri olduğunu göstermişlerdir. Başka bir çalışmada ise önemli akut etkileri olduğu, testiste nekrotik alanlar oluşturduğu ve spermatogenezi durdurduğu bildirilmiştir (16). Akut tek doz diazinonla yapılan çalışmalar (14,17) ile sunulan araştırmanın bulguları uyumludur. Germinal epitelde organizasyon bozukluğu, seminifer tübül kontürlerinde düzensizleşme, germinal epitel hücre sayısında azalma gibi yapısal değişiklikler belirlenmiştir. Ayrıca diazinona maruz kalan bir balık türünde yapılan çalışmada germ hücrelerinde ve seminifer tübül çaplarında önemli değişikliklere rastlanıldığı bildirilmiştir (18).

Pestisitlerin hormonal değişiklikler oluşturarak, çeşitli üreme parametrelerinde değişiklikler meydana getirdiği gözlenmiş ve karbosulfana maruz kalma ile infertilite arasında bir ilişkinin olabileceği

açıklanmıştır (13). Sunulan çalışmada çalışma planı, yüksek dozlarda az gün sayısı, düşük dozlarda ise daha fazla gün sayısı olarak tasarladı ve iki yönlü bir karşılaştırmaya gidildi. Yüksek dozlarda yapılan diğer çalışmalarla paralel olarak akut toksik etkileri görüldü. Özellikle de yüksek dozlarda ve kısa süreli diazinon uygulanan gruplarda daha fazla dejenere olmuş seminifer tübüller dikkat çekiciydi. Düşük doz ve daha fazla gün sayısının olduğu gruplarda ise daha farklı ve daha az dejeneratif değişiklikler görüldü. Özellikle de düşük doz gruplarında lümeninde çok sayıda hücre döküntüsü ve hatta lümeni tamamen hücrelerle dolu olan tübüller görüldü. Özellikle de spermatogenezin ilerleyen evrelerinde duraklama ve sperm sayısında azalma tespit edildi. Ayrıca çalışmamızda, diğer çalışmalarda belirlenen değişikliklerden farklı olarak, Sertoli hücrelerinin yoğun fakat az sayıda spermatogonyumların bulunduğu tübüller yanında, sadece bazal membranla çevrelenmiş ve hiç hücre içermeyen tübüller de belirlendi. Çalışmamızda apoptozisin değerlendirilmesinde standart yöntem kabul edilen TUNEL yöntemini kullandık (19). Kontrol grubu ile diğer grupların apoptozis oranları karşılaştırıldığında sadece birinci ve ikinci gün grubu ile anlamlı fark bulunurken diğer gruplarla anlamlı fark bulunamadı. Karbosulfanla yapılan çalışmada (13) 28 günlük grupların kesitlerinde seminifer tübül lümeninde apoptotik cisimciklere rastlanılmıştır. Hem bu çalışmanın sonuçları hem de bizim bulgularımız, pestisitlerin apoptozisi indüklediğini göstermektedir. Sonuç olarak; Farklı doz ve farklı gün sayısında uygulanan diazinonun, sıçan testisinin seminifer tübülleri üzerinde önemli yapısal değişiklikler oluşturduğu görüldü. Diazinon hem apoptozisi indüklemekte hem de seminifer tübül epitelinin atretik hale gelmesine neden olmaktadır. Diazinonun spermatogenezini engellediği ve infertiliteye neden olabileceği kanaatine varılmıştır. Ayrıca, diazinonun düşük dozlarda daha uzun süreli uygulanması, uygulama aşaması bittikten sonra belli bir süre beklenilmesi ve oluşan hasarlarda düzelmenin olup olmadığına dair çalışmaların da yapılmasının faydalı olabileceği düşünülmüştür. Tarım alanlarındaki

kullanım şekli, gün sayısı ve doz yönünden değerlendirildiğinde, elde ettiğimiz bulgulara göre, yüksek doz ve az gün sayısına göre, düşük doz fakat gün sayısının fazla olduğu uygulamaların üreme sağlığı üzerine daha az zararlı olabileceği şeklinde bir sonucun ortaya çıktığı bu çalışmada görülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Vural N. Toksikoloji. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara 1996; 342-373.
2. World Health Organization: Organophosphorus Pesticides. Erişim: [<http://www.who.org>], Erişim tarihi: 02.07.2009.
3. Sarabia L, Maurer I, Bustos-Obregon V. Melatonin prevents damage elicited by the organophosphorous pesticide diazinon on the mouse testis. *Ecotoxicol Environ. Saf* 2009; 72: 938-942
4. Yücel Ü. Pestisitlerin insan ve çevre üzerine etkileri. Erişim: [<http://www.dogainsanisbirligidernegi.org.tr/makaleler/pestisitler.doc>], Erişim tarihi: 15.07.2009.
5. Dağlıoğlu N. Akut Organofosfatlı Pestisit Entoksikasyonlarının Sıçanlarda Deneysel Olarak Gösterilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana 2004.
6. Luna LG. *Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. 3th ed. Van Nostrand Reinhold Company, New York 1972; 53.
7. Özdaş E, Ates U, Uyanıkgil Y, Baka M, Yavaşoğlu A, Biçer S, Ergen G. Bir herbisit olan 2,4-d (diklorofenoksiasetik asit)' in sıçanlarda testis dokusu üzerine etkisi. *Ege Tıp Dergisi*, 2006; 45: 169-174.
8. Dabrowski S, Hanke W, Polanska K, Mako-

- wiec-Dabrowska T, Sobala W. Pesticide exposure and birthweight: an epidemiological study in Central Poland. *Int J Occup Med Environ Health* 2003; 16: 31-39.
9. Lotti M. Promotion of organophosphate induced delayed polyneuropathy by certain esterase inhibitors. *Toxicology* 2002; 27: 181-182; 245-248.
 10. Sarıtaş A, Çakır Z, Aslan Ş. Organofosfat ve Karbamat Zehirlenmeleri. Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Acil Tıp Anabilim Dalı, Erzurum, *The Euroasian J Med* 2007; 39: 55-59
 11. Karcıoğlu Ö, Çolak N, Topaçoğlu H, Ünverir P. Akut miyokard infarktüsünün eşlik ettiği organofosfat zehirlenmesi. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı, *Genel Tıp Dergisi* 2006; 16: 37-42
 12. Karalliedde L. Organophosphorus poisoning and anaesthesia. *Anaesthesia* 1999; 54: 1073-88.
 13. Gubari S. Karbosulfanla kontamine besin alımının sıçan testisi üzerine kronik etkilerinin ince yapı düzeyinde araştırılması, Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana 2008.
 14. Ural M, Özgüner M, Büyükvanlı B, Kuplay H, Köylü H. Akut diazinon toksisitesinin testis dokusunda oluşturduğu histolojik değişiklikler ve bu değişikliklere C vitamini ve E vitaminin etkisi. *S.D.Ü. Tıp Fak. Dergisi*, 2006; 13: 22-25.
 15. Gökçimen A, Gülle K, Demirin H, Bayram D, Kocak A, Altuntas I. Effects of diazinon at different doses on rat liver and pancreas tissues, *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2007;87:103-108.
 16. Schmidt L, Munster K. and Hehn P. infertility and the seeking of infertility treatment in a representative population. *Br J Obstet Gynaecol* 1995; 102: 978-984.
 17. Dikshith TS, Behari JR, Datta KK, Mathur AK. Effect of diazinon in male rats. *Histological and Biochemical studies. Environ Physiol Biochem.* 1975; 5:239-299
 18. Dutta HM, Meijer HJ. Sublethal effects of diazinon on the structure of the testis of bluegill, *Lepomis macrochirus*: a microscopic analysis. *Environ Pollut.* 2003; 12: 355-360
 19. Kockx MM, Muhring J, Knaapen MWM, de Meyer GRY. RNA synthesis and splicing interferes with DNA in situ end labeling techniques used to detect apoptosis. *Am J Pathol*