

## ***Cyprinus carpio* (L. 1758)'da Klorprifos-Etil Uygulamasının Sialik Asit, Malondialdehit ve Nitrik Oksit Düzeylerine Etkisi**

Hacı Ahmet DEVECİ<sup>1</sup>, Abdulsamed KÜKÜRT<sup>2</sup>, Gökhan NUR<sup>1</sup>, İnan KAYA<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Gaziantep Üniversitesi, İslahiye Meslek Yüksekokulu, Veterinerlik Bölümü, Gaziantep

<sup>2</sup> Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya A.D, Kars

<sup>3</sup> Kafkas Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kars

**Yayın Kodu (Article Code): 9-2A-9**

**Özet:** Bu çalışmada, tarım alanında yaygın bir şekilde kullanılan ve canlılar üzerinde oldukça toksik olan CPF'nin balıklar üzerinde meydana getirebileceği biyokimyasal değişikliklerin anlaşılabilmesi için total sialik asit (TSA), malondialdehit (MDA) ve nitrik oksit (NO) düzeyleri incelendi. Çalışmada Çıldır Gölü'nden tutulan 27 adet *Cyprinus carpio* (L. 1758) kullanıldı. Balıklar içerisinde 1 g/L olacak şekilde su bulunan polietilen tanklara konularak 7 gün boyunca yeni ortama adaptasyonları sağlandı. Daha sonra CPF eklenmeyen kontrol grubu, 0.040 mg/L CPF eklenen grup ve 0.080 mg/L CPF eklenen grup olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Yaşam ortamlarına 0.040 ve 0.080 mg/L CPF eklenen gruplar ile kontrol grubundan 10 gün sonra kan alındı. Numunelerde TSA, MDA ve NO düzeyleri incelendiğinde, kontrol grubuna kıyasla CPF gruplarında (0.040 ve 0.080 mg/L) TSA, MDA ve NO düzeylerinin anlamlı derecede yükseldiği ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ) tespit edildi.

**Anahtar kelimeler:** *Cyprinus carpio*, Klorprifos-etil, Total sialik asit, Malondialdehit, Nitrik oksit

**Abstract:** In this study, the levels of total sialic acid (TSA), malondialdehyde (MDA) and nitric oxide (NO) were investigated to understand the biochemical changes that CPF, which is widely used in agriculture and is highly toxic to living beings, can bring to fish. In the study, 27 *Cyprinus carpio* (L. 1758) kept in Çıldır Lake were used. The fishes were placed in polyethylene tanks containing 1 g/L of water, and new adaptations were provided for 7 days. Then, control group without CPF, group with 0.040 mg/L CPF and group with 0.080 mg/L CPF were divided into 3 groups. After 10 days, blood was collected the control group and groups with 0.040 and 0.080 mg/L CPF added to the living environments. When the TSA, MDA and NO levels in the samples were examined, TSA, MDA and NO levels increased significantly in the CPF groups (0.040 and 0.080 mg / L) compared to the control group ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ).

**Key words:** *Cyprinus carpio*, Chlorpyrifos-ethyl, Total sialic acid, Malondialdehyde, Nitric oxide

### **Giriş**

Pestisitler sıklıkla tarım alanlarında kullanılan ve zararlı organizmaları öldürmek üzere üretilmiş olan kimyasal bileşiklerdir. Bunlar insektisit, rodentisit, herbisit, fungusid ve fümigant olarak da adlandırılırlar. (Abdollahi et al., 2004; Ellenhorn et al., 1997). Bunlar hedef organizmaların dışında, diğer canlı organizmalar açısından potansiyel bir tehlike oluşturmalarından dolayı önem taşımaktadır (Kaya et al., 2014). Pestisitler tarım ve orman alanlarında uygulanması sırasında ya da uygulama sonrasında yağmur suları, drenaj suları,

yüzey akışları ve sulama suları ile taşınmaları sonucu diğer canlıların su kaynaklarına geçmekte ve ortamdaki diğer organizmaları etkileyebilmektedir (Kaya et al., 2014; Stegeman ve Lech, 1991; Selvi et al., 2004). Uzun süre toprakta bozulmadan kalan ve vücuda besin zinciri yoluyla giren pestisitler zamanla doku ve organlarda birikerek doku ve organlarda çeşitli zararlar oluşturmaktadır (Deveci et al., 2015).

Klorprifos-etil (CPF) [0,0'-diethyl 0-(3,5,6-trichloro-2-pyridyl) phosphorothioate], tarım,

orman ve bahçe zararlılarına karşı yaygın şekilde kullanılan bir organofosfatlı pestisitir (Deveci et al., 2015; Eaton et al., 2008). CPF asıl toksik etkisini metaboliti olan klorprifos-okson (CPO) aracılığı ile göstermektedir. CPF, sitokrom p-450 tarafından bir metaboliti olan klorprifos-oksona dönüştürülmektedir. Bu metabolit karboksilesteraz, butirilkolinesteraz'da olduğu gibi asetilkolinesteraza yüksek affinite ile bağlanmakta ve asetilkolinesterazı inhibe ederek toksik etki göstermektedir (Deveci et al., 2015; Eaton et al., 2008; Timchalk et al., 2007). Deneysel çalışmalarda, organofosfat uygulamaları neticesinde oluşan toksik etkilerin (nörotoksisite, hepatotoksisite, immünotoksisite, embriyotoksisite, genetik toksisite) oksidatif doku hasarıyla karakterize olduğu ileri sürülmektedir (Deveci et al., 2015; Eaton et al., 2008; Stephen et al., 1997). Metabolizma içindeki oksidatif stresin neden olduğu patolojik etkiler serbest radikallerle ilişkilidir (Kaya et al., 2016). Oksidatif stres sonucu oluşan serbest radikaller, hücreyi koruyan enzimatik ve nonenzimatik antioksidan sistemlerin tükenmesine neden olmaktadır. Bu etkilerin sonucunda oluşan oksidatif hasara bağlı olarak hücrelerin lipid peroksidasyonu, mikronüklei oluşumu, kromozomal aberasyon, DNA hasarı ve proteinlerinde değişikliklerin ortaya çıktığı bildirilmektedir (Nur et al., 2016; Gül et al., 2007; Kaya et al., 2016).

Bu çalışmada tarım alanında yaygın bir şekilde kullanılan ve canlılar üzerinde oldukça toksik etkili olan CPF'nin Türkiye'de ekonomik öneme sahip olan *Cyprinus carpio* (L. 1758) üzerinde meydana getirebileceği biyokimyasal değişikliklerin anlaşılabilmesi için total sialik asit (TSA), malondialdehit (MDA) ve nitrik oksit (NO) düzeylerinin araştırılması amaçlanmıştır.

### Materyal ve Metot

Bu çalışmada Çıldır Gölü'nden tutulan 27 adet *Cyprinus carpio* kullanıldı. Balıkların laboratuvara nakli sağlanarak 7 gün boyunca balıklarda 1 g/L olacak şekilde su bulunan polietilen tanklarda (22-25 °C ve normal fotoperiyod) yeni ortama adaptasyonları sağlandı. Daha sonra balıklar, her grupta 9 balık olacak şekilde, kontrol grubu, 0.04

mg/L CPF grubu ve 0.08 mg/L CPF grubu olmak üzere 3 gruba ayrıldı. 10 günlük uygulama sonunda balıklardan kan örnekleri alındı ve serumları ayrıldı. Elde edilen serum örneklerinde TSA, MDA ve NO düzeyleri ölçüldü.

Total sialik asit analizi (TSA) Sydow (Sydow, 1985)'un metoduna göre kolorimetrik yöntemlerle spektrofotometre (PowerWave XS, BioTek, USA) kullanılarak ölçüldü ve sonuçlar mg/dl olarak verildi. MDA seviyesi Yoshioka ve ark. (Yoshioka et al., 1979)'nın bildirdiği metoda göre tespit edildi. Oluşan MDA, tiobarbitürik asitle (TBA) pembe renkli bir kompleks oluşturmakta ve bu çözeltinin absorbansı 535 nm'de spektrofotometrik (PowerWave XS, Biotek, USA) olarak ölçülerek lipid peroksidasyonun derecesi saptanmaktadır. MDA düzeyi  $\mu\text{mol/l}$  olarak hesaplandı. Serum nitrik oksit konsantrasyonu Miranda ve ark. (Miranda et al., 2001)'in bildirdiği metoda göre spektrofotometrede (PowerWave XS, BioTek, USA) ölçüldü. Serum örnekleri %10 çinko sülfat ile deproteinize edildi. Bu yöntemde nitrat, Vanadyum (III) klorür ile nitrite dönüştürüldü. Nitritle sülfanilamidin asidik ortamda N-(1-Naftil) etilen diamini dihidroklorür ile reaksiyonu sonucu kompleks diazonyum bileşiği oluştu. Oluşan bu renkli kompleks 540 nm'de ölçüldü. Nitrat ve nitrit düzeyleri ayrı ayrı belirlendikten sonra ikisinin toplamı NO miktarını gösterir. NO düzeyi  $\text{nmol/ml}$  olarak hesaplandı.

Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesi SPSS paket programı ile yapıldı. Sonuçlar ortalama değer (X)  $\pm$  standart sapma (SD) olarak ifade edildi. Grup ortalama değerleri arasındaki fark student-t testi ile belirlendi.

### Bulgular ve Tartışma

Yaşam ortamlarına 0.04 ve 0.08 mg/L CPF eklenen balıklar ile CPF eklenmeyen kontrol grubu balıklardan 10 gün sonra alınan kan örneklerinde oluşan biyokimyasal parametreler değerlendirildiğinde kontrol grubuna kıyasla CPF gruplarında (0.040 ve 0.080 mg/L) MDA, TSA ve NO düzeylerinin anlamlı derecede yükseldiği ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ) tespit edildi (Tablo 1).

**Tablo 1.** Kontrol ve CPF gruplarında MDA, NO ve TSA düzeyleri.

Parametreler	n	Kontrol±SD	CPF		p<
			0.04 mg/L±SD	0.08 mg/L±SD	
MDA ( $\mu\text{mol/l}$ )	9	9,25±0,52 <sup>a</sup>	14,30±1,15 <sup>b</sup>	15,10±1,25 <sup>b</sup>	0.05
NO (nmol/ml)	9	28,55±2,40 <sup>a</sup>	34,50±4,15 <sup>b</sup>	33,10±3,80 <sup>b</sup>	0.01
TSA (mg/dl)	9	36,20±4,91 <sup>a</sup>	43,80±6,10 <sup>b</sup>	42,40±6,3 <sup>a,b</sup>	0.05

<sup>a, b</sup>: Aynı satırda farklı harfler arasında istatistiksel önem ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ )

Oksidatif stres ve sialik asit seviyeleri arasındaki ilişkinin araştırılması pestisit kirliliğinin azaltılması ve uygun oranda kullanılması bakımından önemlidir. Balıklarda yapılan ölçümler, akuatik çevre kirliliğinin göstergesi olarak kullanılabilir (Gül et al., 2005; Van Der Oast et al., 2003). Tarım arazilerinde kullanılan çeşitli kimyasalların sucul ekosisteme geçişleri ile bu ortamdaki birikim açısından indikatör gösterebilme özelliği bakımından balıklar yaygın olarak deneysel amaçlı kullanılmaktadır (Özkan et al., 2009; Gül et al., 2005). Pestisitlerin kullanımı ile canlı organizmalarda oluşan reaktif oksijen türlerinin miktarı ya da oranının değişmesi, lipid peroksidasyonu ve oksidan/antioksidan dengenin bozulmasına neden olabilmektedir (Kaya et al., 2014; Livingstone, 2001; Mohammad et al., 2004). Organofosfatlı pestisitler ağırlıklı olarak kolinesteraz önleyici kimyasallardır. Ayrıca kimyasal savaş ajanları (sinir ajanları) olarak kullanılırlar. Organofosfatlı bütün insektisitler fosforik asitten türetilmiş fosfor içerirler ve genellikle vertebralı hayvanlar için kullanılan pestisitlerin en toksik olanlarıdır. Organofosfatlar ve karbamatlar kimotripsin, asetilkolinesteraz, plazma veya butirilkolinesteraz, plazma ve hepatik karboksilesteraz, paraoksonaz ve vücuttaki diğer spesifik olmayan esterazlar gibi karboksilik ester hidrolazların fonksiyonunu inhibe eder. Organofosfatlarla zehirlenmenin en belirgin klinik etkileri asetilkolinesterazın inhibisyonundan kaynaklanmaktadır (Mohammad et al., 2004).

Bir lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehitin (MDA) yarılma ömrü uzundur ve üretildiği yerden uzaktaki hücre içi ve hücre dışı bölgelere ulaşabilir. MDA, lipid peroksidasyonu sırasında

üretilir ve bu nedenle oksidatif stresi artırır (Ogun et al., 2016). Deneysel toksisite oluşturulan bir çalışmada, tetrametrin'in mitotik indeksi düşürdüğü, mikronükleus ve kromozomal aberasyonu arttırdığı, GSH miktarında azalmaya karşın MDA ve TSA düzeylerinde ise anlamlı bir artışa neden olduğu belirtilmiştir (Nur et al., 2016). Yapılan önceki çalışmalarda klorprifos uygulamasının hem in vitro ortamda eritrositlerde hem de in vivo ortamda MDA seviyesini artırdığı bildirilmiştir (Gültekin et al., 2000; Gültekin et al., 2001). Başka bir çalışmada ise ratlarda klorprifos-etil'in oral olarak verilmesiyle akut etkilerine bakılmış ve karaciğer dokusu lipid peroksidasyonunda önemli derecede artış tespit edildiği rapor edilmiştir (Oncü et al., 2002). Bizim yaptığımız çalışmada da, anılan çalışmaları destekler mahiyette, MDA seviyesi artmış ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Yapılan deneysel çalışmalara göre eritrositlerin toksik bir aldehit olan (50  $\mu\text{mol}$ ) MDA'ya maruz kalması erken redoks bozukluğuna ve bunun sonucunda redükte glutatyonun azalmasına, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz ve oksijenleşmiş hemoglobinin tükenmesine yol açtığı belirtilmiştir (Tesoriere et al., 2002). Akuatik çevrede, toksik madde içeriğinin artması nedeniyle çözülmüş oksijen miktarında azalma gerçekleşir. Antioksidan enzimlerin yukarı regülasyon mekanizmalarının, normoksi'den hipoksi ve anoksiye geçişler sırasında artmış ROS düzeyine yanıt verebileceği ileri sürülmüştür (Lushchak, 2011). Hipoksida, aynalı sazan (*Cyprinus carpio*) karaciğerinde SOD ve katalaz aktivitelerini de arttırdığı tespit edilmiştir (Lushchak et al., 2005). Bu, değişken çevresel koşullara karşı reaktif oksijen türleri üretimi ve azalması arasındaki dengesizlikten

kaynaklanıyor olabilir (Kaya et al., 2012). Bu çalışmada MDA seviyesindeki artışın başlıca nedenlerinden birisinin klorprifos-etil maruziyetinden kaynaklandığı ve klorprifos-etil'e bağlı solunum fonksiyonlarındaki bozukluk ile ilişkili olduğu kanaatindeyiz.

Sialik asit, glikoprotein yapısında yer alan karbonhidratların terminal şekerini oluşturan nöraminik asitten türeyen bir akut faz proteindir (Çiftçi et al., 2010; Karapehlivan et al., 2007) Sialik asitlerin, hücresel aktarım, embriyogenez, organ gelişimi, bağışıklık sistemi düzenlemeleri, lökodiapesis, neoplastik hücrelerin metastazı ve membran reseptör fonksiyonlarının gerçekleştirilmesi gibi birçok önemli fizyolojik ve patolojik fonksiyonları vardır (Karapehlivan et al., 2014). Sialik asitin canlı organizmalarda vasküler sistemden oksijenin uzaklaştırılmasından sorumlu bir antioksidatif ajan olduğu ileri sürülmüştür (Henricks et al., 1982). Ayrıca, oksidatif stresin hücre yüzeyindeki oligosakkaritlerden sialik asit salınımını, sialidaz aktivitesi veya indüksiyonu olmaksızın, başlatabileceği bildirilmiştir (Eguchi et al., 2005). Çalışmamızda total sialik asit seviyelerinin kontrol grubuna göre önemli ölçüde değiştiği saptanmıştır. Bu sonuçlar sialik asitlerin klorprifos kaynaklı stres sırasında önemli olduğunu teyit eder niteliktedir.

Nitrik oksit sentaz enzimi katalizi ile L-arjininden sentezlenen nitrik oksit, organizmada fizyolojik ve patofizyolojik birçok olayda önemli role sahip olan ve spesifik olmayan immunitede rol oynayan bir radikaldir. Organizmada stres, kronik hastalıklar, enfeksiyon ve sindirim bozukluğu gibi durumlarda serbest radikal miktarında artış gözlenmekte dolayısıyla doku hasarı ve yangı oluşmaktadır (Bozukluhan et al., 2016; Çenesiz et al., 2007; Nisbet et al., 2007; Kırmızıgül et al., 2016). Nitrik oksitin oluşturduğu peroksinitritin DNA hasarı ve enzim fonksiyon bozukluklarına neden olan zararlı etkileri olduğunun kaydedilmesinin yanı sıra antioksidanlar gibi oksidatif hasara karşı koruyucu ve düzenleyici olarak etki gösterdiği de bildirilmiştir (Laspina et al., 2005; Singh et al., 2008). Nitrik oksitin özellikle endotelial hücrelerde fonksiyon kaybının sonucu olarak metabolik reaksiyonlarda işlevini yerine getirememesinden dolayı vasküler sistemde oksijen üretiminin ve birikiminin arttığı ileri sürülmüştür (Kumagai, 2009; Smith ve Hagen, 2003). Bu çalışmada nitrik oksit seviyelerinde kontrol

grubuna göre istatistiksel olarak önemli derecede artış tespit edilmiştir.

Sonuç olarak klorprifos-etil uygulamasının balıklarda meydana getirdiği reaktif oksijen türlerine bağlı olarak oksidatif stres meydana getirmiştir. Oluşan bu oksidatif stres sonucunda organizmada hücre zarı hasarına bağlı olarak MDA, NO ve TSA düzeylerinde artış görülmüştür. Serum TSA düzeylerinin yüksekliği oksidatif doku hasarına bağlı olarak hücre membran yüzeyindeki sialik asit sekresyonunun artmasından da kaynaklanabilir.

### Kaynaklar

**Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaiee A 2004.** Pesticides and oxidative stress: a review. *Medical Science Monitor*, 10(6): 141-147.

**Bozukluhan K, Merhan O, Ögün M, Cihan M, Gökçe G 2016.** Omfalitisli Buzağılarda Bazı Oksidatif Stres Parametre Düzeylerinin Belirlenmesi. *F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg*, 30 (2): 79-81.

**Cenesiz S, Nisbet C, Yarım GF, Arslan HH, Çiftçi A 2007.** Serum adenosine diaminase activity and nitric oxide level in cows with trichophytosis. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 54: 155-158.

**Ciftci, G, Cenesiz, S, Yarım GF, Nisbet O, Nisbet C, Cenesiz M, Guvenc D 2010.** Effect of fluoride exposure on serum glycoprotein pattern and sialic acid level in rabbits. *Biological trace element research*, 133(1): 51-59.

**Deveci HA, Karapehlivan M, Kaya I, Kükürt A, Alpay M 2015.** Protective role of caffeic acid phenethyl ester against to chlorpyrifos-ethyl acute poisoning. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 62(4): 255-260.

**Ellenhorn MJ, Schonwald S, Ordog G, Wasserberger J 1997.** Ellenhorn's Medical Toxicology: Diagnosis and treatment of Human Poisoning. Williams & Wilkins, Maryland, 1614-63.

**Eaton DL, Daroff RB, Autrup H, Bridges J, Buffler P, Costa LG, Coyle J, McKhann G, Mobley WC, Nadel L, Neubert D, Schulte-Hermann R, Spencer PS 2008.** Review of the toxicology of chlorpyrifos with an emphasis on human exposure and neurodevelopment. *Crit. Rev. In Toxicol*, 38: 1-125.

**Eguchi H, Ikeda Y, Ookawara T, Koyota S, Fujiwara N, Honke K, Wang PG, Taniguchi N, Suzuki, K 2005.** Modification of oligosaccharides by reactive oxygen species decreases sialyl lewis x-mediated cell adhesion. *Glycobiology*, 15: 1094-1101.

**Gül S, Nur G, Kaya ÖT, Kamber U, Gürgegin B 2007.** Detection of micronuclei in peripheral erythrocytes of *Orthrias angorae* (Steindachner, 1897) exposed to malathion." *Fresenius Environmental Bulletin*, Vol. 16, No 5, pp. 472-476.

**Gül S, Nur G, Kaya ÖT 2005.** 2.4-D'nin Siraz Balığındaki (*Capoeta capoeta umbla*, Heckel 1843) LC<sub>50</sub> Değeri." *Türk Sucul Yaşam Dergisi*, Sayı 4: 245-249.

**Gültekin F, Oztürk M, Akdogan M 2000.** The effect of organophosphate insecticide chlorpyrifos-ethyl on lipid peroxidation and antioxidant enzymes (in vitro). *Arch. Toxicol*, 74: 533-538.

**Gültekin F, Delibaş N, Yaşar S, Kılınç 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.

**Henricks PA, Van Erne-van der Tol ME, Verhoef J 1982.** Partial removal of sialic acid enhances phagocytosis and the generation of superoxide and chemiluminescence by polymorphonuclear leukocytes. *The Journal of Immunology*, 129: 745-750.

**Kaya İ, Yılmaz M, Koç E, Deveci HA, Ersan Y, Karapehlivan M 2014.** Tebukonazol (Fungisit) Uygulanan *Cyprinus Carpio* (L. 1758)'Da Serum Total Antioksidan, Oksidan Ve Sialik Asit Düzeylerinin İncelenmesi. *Journal of Fisheries Sciences*, 8(3): 214-219.

**Kaya I, Kukurt A, Karapehlivan M 2016.** Investigation of Serum Oxidative Stress Index and Paraoxonase Activity Levels in Colostrum Period of Dairy Cows. *Int. J. Livest. Res*, 6(3): 1-7.

**Kaya I, Karapehlivan M, Yılmaz M., Ersan Y, Koc E 2012.** Investigation of effects on plasma nitric oxide, malondialdehyde and total sialic acid

levels of glyphosate in Kars creek transcaucasian barb (*Capoeta capoeta* [Guldenstaedt, 1773]) in Turkey *Fresenius Environ Bull*, 21, 123-126.

**Karapehlivan M, Atakisi E, Citiş M, Kankavi O, Atakişi O 2007.** Serum Sialic Acid Levels in Calves with Pneumonia. *Vet Res Commun*, 31: 37-41.

**Karapehlivan M, Ogun M, Kaya I, Ozen H, Deveci HA, Karaman, M 2014.** Protective effect of omega-3 fatty acid against mercury chloride intoxication in mice. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 28(1): 94-99.

**Kumagai R, Lu X, Kassab GS 2009.** Role of glycocalyx in flow-induced production of nitric oxide and reactive oxygen species. *Free Radical Biology and Medicine*, 47: 600-607.

**Kirmizigül AH, Ogun M, Ozen H, Erkilic EE, Gokce E, Karaman M, Kukurt A 2016.** Oxidative Stress and Total Sialic Acid Levels in Sheep Naturally Infected with Pox Virus. *Pak Vet J*, 36(3): 312-315.

**Van Der Oost, R, Beyer J, Vermeulen NPE 2003.** Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 13, 57-149.

**Livingstone DR 2001.** Contaminant stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Marine Pollution Bulletin*, 42: 656-666.

**Laspina NV, Groppa MD, Tomaro ML, Benavides MP 2005.** Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress. *Plant Science*, 169: 323-330.

**Lushchak VI 2011.** Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic Toxicology*, 101: 13-30.

**Lushchak VI, Bagnyukova TV, Lushchak OV, Storey JM, Storey KB 2005.** Hypoxia and recovery perturb free radical processes and antioxidant potential in common carp (*Cyprinus carpio*) tissues. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 37: 1319-1330.

- Miranda KM, Espey MG, Wink DA 2001.** A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide*, 5: 62-71.
- Mohammad A, Akram R, Shahin S, Sherkoupeh N, Ali R 2004.** Pesticides and oxidative stress: a review, *Medical Science Monitor*, 10: 141-147.
- Nur G, Deveci HA, Ersan Y, Merhan O, Nazlı M, Nur O 2016.** Protective role of caffeic acid phenethyl ester against tetramethrine-induced toxicity in mice. *Medicine Science*, 5(4): 972-978.
- Nisbet C, Yarim GF, Ciftci A, Cenesiz S, Ciftci G 2007.** Investigation of serum nitric oxide and malondialdehyde levels in cattle infected with *Brucella abortus*. *Ankara Universitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 54: 159-163.
- Özkan O, Gül S, Keles O, Aksu P, Kaya OT, Nur G 2009.** The Investigation of the Mutagenic Activity of Kars River Sediments on *Orthrias angorae* (Steindachner, 1897)'. *Kafkas Üniv Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(1): 35-40.
- Ogun M, Ozcan, A, Karaman M, Merhan O, Ozen H, Kukurt A, Karapehlivan M 2016.** Oleuropein ameliorates arsenic induced oxidative stress in mice. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 36: 1-6.
- Oncü M, Gültekin F, Karaöz E, Altuntaş I, Delibaş N 2002.** Klorprifos-etil tarafından oluşturulan oksidatif hasarın siçan karaciğerine etkileri. *T Klin Tıp Bil. Derg.*, 22: 50-55.
- Stegeman JJ, Lech JJ 1991.** Cytochrome P-450 Monooxygenase systems in aquatic species. carcinogen metabolism and biomarkers for carcinogen and pollutant exposure. *Environmental Health Perspectives*, 90: 101-109.
- Selvi M, Sarıkaya R, Erkoç F 2004.** Acute behavioral changes in the guppy (*Poecilia reticulata*) exposed to temephos. *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 17: 15-19.
- Stephen B, Kyle L, Yong X, Cynthia A, Donald E, Earl F, James E 1997.** Role of oxidative stress in the mechanism of dieldrin's hepatotoxicity. *Annals of Clin. and Lab.Sci.*, 27: 196-208.
- Singh HP, Batish DR, Kaur G, Arora K, Kohli RK 2008.** Nitric oxide (as sodium nitroprusside) supplementation ameliorates Cd toxicity in hydroponically grown wheat roots. *Environmental and Experimental Botany*, 63: 158-167.
- Smith AR, Hagen TM 2003.** Vascular endothelial dysfunction in aging: loss of Akt-dependent endothelial nitric oxide synthase phosphorylation and partial restoration by (R)-alpha-lipoic acid. *Biochemical Society Transactions* 31: 1447-1449.
- Sydow G 1985.** A simplified quick method for determination of sialic acid in serum. *Biomed Biochim Acta*, 44: 1721-1723.
- Timchalk C, Busby A, Campbell JA, Needham LL, Barr DN 2007.** Comparative pharmacokinetics of the organophosphorus insecticide chlorpyrifos and its major metabolites diethylphosphate, diethylthiophosphate and 3,5,6-trichloro-2-pyridinol in the rat. *Toxicology*, 237: 145-157.
- Tesoriere L, D'Arpa D, Butera D, Pintaudi AM, Allegra M, Livrea MA 2002.** Exposure to malondialdehyde induces an early redox unbalance preceding membrane toxicity in human erythrocytes. *Free Radical Research*, 36: 89-97.
- 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. Gynecol.*, 135: 372-376.