

Akut klorprifos-etil zehirlenmesine karşı kafeik asit fenetil ester'in koruyucu etkisi

Hacı Ahmet DEVECİ¹, Mahmut KARAPEHLİVAN², İnan KAYA³, Abdulsamed KÜKÜRT², Merve ALPAY⁴

¹ Gaziantep Üniversitesi, İslahiye Meslek Yüksekokulu, Gaziantep; ²Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Kars; ³Kafkas Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kars; ⁴Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara-Türkiye.

Özet: Bu çalışmada organofosfatlı pestisitlerden biri olan klorprifos-etil (CPF) ile akut zehirlenmede kafeik asit fenetil ester (CAPE)'in paraoksonaz (PON1) aktivitesi, oksidatif stres indeksi (OSİ), total antioksidan (TAS) ve total oksidan (TOS) seviyeleri üzerine etkisinin araştırılması amaçlandı. Çalışmada her biri 25-30 g ağırlığında, 32 adet erkek *Mus musculus* türü fare rastgele 4 eşit gruba ayrıldı. Grup I'e periton içi enjeksiyon ile serum fizyolojik (% 0.9 NaCl); grup II'ye deri altı serum fizyolojik ile 101 mg/kg CPF; grup III'e periton içi 10 µmol/kg CAPE; grup IV'e ise deri altı 101 mg/kg CPF ve periton içi 10 µmol/kg CAPE uygulandı. Elde edilen serum örneklerinde PON1 aktivitesi, OSİ, TAS ve TOS düzeyleri analiz edildi. Çalışmada CPF uygulamalarında, PON1 189.21±22.31 U/L; TAS 1.03±0.13 mmol Trolox eşivalen/L; TOS 7.10±0.69 µmol H₂O₂ equiv./L ve OSİ değerleri 0.69±0.09 arbitrary birim olarak bulundu. CPF ile oluşturulan intoksikasyonda PON1 aktivitesi ve TAS düzeyleri azalırken, OSİ ve TOS düzeylerinin arttığı tespit edildi. CAPE'nin ise, CPF'nin neden olduğu oksidatif stresi azaltarak koruyucu etki gösterdiği belirlendi.

Anahtar sözcükler: Kafeik asit fenetil ester, klorprifos-etil, oksidatif stres, paraoksonaz, toplam antioksidan.

Protective role of caffeic acid phenethyl ester against to chlorpyrifos-ethyl acute poisoning

Summary: The present study aimed to investigate the caffeic acid phenethyl ester (CAPE) effect on levels of paraoxonase (PON1) activity, oxidative stress index (OSI), total antioxidant (TAS) and total oxidant (TOS) levels in acute poisoning of chlorpyrifos-ethyl (CPF). All experiments conducted on 32 male *Mus musculus sp.* mice divided into 4 equal groups each 25-30 g as following. Group I were treated with saline (% 0.9 NaCl) by intraperitoneal injection (i.p.). Group II with 101 mg/kg CPF plus saline subcutaneously; group III with 10 µmol/kg CAPE intraperitoneally; group IV with 101 mg/kg CPF plus 10 µmol/kg CAPE were applied. After serum samples obtained, PON1 activity, OSI, TAS and TOS levels were measured. In this study, PON1 189.21±22.31 U/L; TAS 1.03±0.13 mmol Trolox eşivalen/L; TOS 7.10±0.69 µmol H₂O₂ equiv./L and OSİ 0.69±0.09 arbitrary unit levels were found during CPF applications. As conclusion, OSI and TOS levels were increased while serum PON1 activity and TAS levels decreased under CPF intoxication compared to group I. Additionally, CAPE was demonstrated the protective effect by reducing CPF-induced oxidative stress.

Keywords: Caffeic acid phenethyl ester, chlorpyrifos-ethyl, oxidative stress, paraoxonase, total antioxidant.

Giriş

Birçok zararlı ile mücadelede yaygın olarak kullanılan organofosfatlı insektisitler pestisitlerin önemli bir kısmını oluşturmakta olup, günümüzde yaklaşık 200'ün üzerinde organofosfatlı insektisit bulunmaktadır (16, 42). Toprakta uzun süre bozulmadan kalan ve besin zinciri yoluyla vücuda giren pestisitler ile yıkım ürünleri zamanla doku ve organlarda olumsuz sonuçlara neden olmaktadır (28, 36).

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 pestisittir (14). CPF, tarım alanında ve evlerde yaygın kullanılan bir insektisit olması nedeniyle insan ve

hayvanların sıkça maruz kaldığı önemli bir insektisittir. 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, butirilkolineraz'da olduğu gibi asetilkolinesteraza yüksek affinite ile bağlanmakta ve asetilkolinesterazı inhibe ederek toksik etki göstermektedir (14, 39). Canlılarda organofosfatlı pestisitlerin detoksifikasyonu; Paraoksonaz (PON1), asetilkolinesteraz ve karboksilesteraz gibi enzimler tarafından gerçekleştirilmektedir (20, 35). PON1 enzimi, parathion, diazinon ve CPF gibi çok sayıda insektisit toksik okson metabolitlerini ve soman, sarin, tabun gibi organofosfat sinir ajanlarını hidroliz edebilmektedir (25).

Yapılan deneysel çalışmalarda, akut ve kronik organofosfat uygulamaları sonucu ortaya çıkan toksik etkilerin (nörotoksisite, hepatotoksisite, immünotoksisite, embriyotoksisite, genetik toksisite) patogeneğinde oksidatif doku hasarının rol oynadığı ileri sürülmektedir (3, 14, 21, 38). Oksidatif stres sonucu oluşan serbest radikaller, özellikle DNA, protein ve hücre fosfolipidlerinin çoklu doymamış yağ asitleri başta olmak üzere birçok organik ve inorganik bileşiklerle reaksiyon yeteneğine sahip olduğu kaydedilmektedir (5, 31). Bu serbest radikaller hücreyi koruyan enzimatik ve nonenzimatik antioksidan sistemlerin tükenmesine neden olmaktadır. Bu etkilerin sonucunda oluşan oksidatif hasara bağlı olarak hücrelerin lipid peroksidasyonu, DNA hasarı ve proteinlerinde değişikliklerin ortaya çıktığı bildirilmektedir (38). Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ya da reaktif oksijen türlerini (ROT) toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe etmektedir (5, 10).

Kafeik asit fenetil ester (CAPE), arıların bitkilerden topladığı özütte bulunan keskin, güzel kokulu propolis maddesinin aktif bir bileşenidir. Propolis'in etkin maddelerinden biri olan CAPE'nin antioksidan, antimikrobiyal, antienflamatuar, immunomodülatör, antitumör ve nöroprotektif etkileri çeşitli çalışmalarla ortaya konulmuştur (6, 7, 8, 27). Propolis bileşenlerinden olan galanginin ve CAPE'nin antioksidan etkinliğinin karşılaştırıldığı bir çalışmada; her iki bileşenin de ortamdaki O_2^- radikallerini ve ksantin oksidaz sistemi tarafından oluşturulan ROT'u temizlediği ve CAPE'nin galanginden daha belirgin olarak MDA seviyesini azalttığı kaydedilmektedir (37).

Pestisitlerin çevreye olumsuz etkilerinin tespiti ve bu olumsuz etkileri önleyici maddelerin belirlenmesi büyük önem arz etmektedir. Yapılan bu çalışmada geniş bir kullanım alanına sahip olan klorprifos-etilin farelerde oluşturacağı oksidatif hasara karşı CAPE'nin koruyucu etkisinin araştırılması amaçlandı.

Materyal ve Metot

Çalışma Kafkas Üniversitesi (KAÜ) yerel etik kurulunun 18.03.2011 tarihli 2011/007 karar sayılı kabul yazısı alındıktan sonra yapıldı. Çalışma materyalini 8-10 haftalık toplam 32 adet (25-30 g) erkek *Mus musculus* fare oluşturdu. Fareler Kontrol (K), klorprifos-etil (CPF), kafeik asit fenetil ester (CAPE) ve klorprifos-etil+kafeik asit fenetil ester (CPF+CAPE) grubu olmak üzere 4 gruba ayrıldı. 10 gün süre ile adaptasyonları sağlanan tüm gruplara yem ve içme suyu *ad libitum* verildi. K grubuna serum fizyolojik (% 0.9 NaCl) periton içi, CPF grubuna 101 mg/kg (32) klorprifos-etil serum fizyolojik ile seyreltilerek deri altı, CAPE grubuna % 10'luk etil alkolde çözödürölen 10 µmol/kg CAPE periton içi ve CPF+CAPE grubuna ise 101 mg/kg klorprifos-etil serum fizyolojik ile

seyreltilerek deri altı + % 10'luk etil alkolde çözödürölen 10 µmol/kg CAPE periton içi enjeksiyon uygulandı. Deneş hayvanlarından 24 saat sonra kan örnekleri intrakardiyak olarak alındı. Plazmaları 3000 rpm'de 10 dakika santriföj edilerek elde edilen örnekler analiz edilinceye kadar -20 °C'de saklandı.

Paraoksonaz (PON1) aktivitesi ölçümü: PON1 aktivitesi ölçümü, Eckerson ve ark. (15)'nin, Gülcü ve Gürsu (22)'nin metotlarına göre yapıldı. PON1 aktivitesi substrat olarak kullanılan paraoksonun (Sigma Co, London, UK) enzimatik olarak hidrolizi sonucu oluşan 4-nitrofenolün verdiği renkli ürünün 25°C ve 412 nanometrede absorbansının spektrofotometrede ölçümü ile belirlendi. Paraoksonaz aktivitesi için 1 ml serumdaki enzimin 1 nmol paraoksonu 1 dakikada 4-nitrofenole dönüştüren enzim aktivitesi ünite olarak tanımlandı ve sonuçlar U/L olarak verildi.

Total antioksidan seviye (TAS) ölçümü: TAS ölçümü, 2,2'-azino-bis (3-etilbenz-thiazoline-6-sulfonik asid) (ABTS) radikalinin oluşturduğu karakteristik rengin ortama ilave edilen numunedeki antioksidanlar ile açılması esasına dayanan otomatik ölçüm metodu ile belirlendi (18). Sonuçlar mmol Trolox eşivalen/L olarak verildi.

Total oksidan seviye (TOS) ölçümü: TOS ölçümü, otomatik ölçüm metodu ile belirlendi (19). Örnekteki oksidanların ferrous iyon kompleksini ferrik iyonla dönüştürme görevleri bulunmaktadır. Demirin (Fe^{2+}) daha stabil formuna oksitlenmesiyle (Fe_2O_3) oluşan ferrik iyonu (Fe^{3+}) asidik ortamda ksilenol oranj ile renk reaksiyonu oluşturur. Spektrofotometrik olarak ölçölen rengin yoğunluğu örnekte bulunan oksidan moleküllerin total miktarı ile ilişkilidir. Ölçüm hidrojen peroksit (H_2O_2) ile kalibre edildi ve sonuçlar litrede mikromolar H_2O_2 eşivalanı (µmol H_2O_2 equiv./L) olarak verildi.

Oksidatif Stres İndeksi (OSİ): OSİ, TOS seviyesinin TAS seviyesine oranının yüzdesi olarak kabul edildi. Hesaplama için TAS'ın ünite sonuçları mmol/L'ye değiştirildi. OSİ şu formüle göre hesaplandı: OSİ (Arbitrary Birim): TOS (µmol H_2O_2 equiv./L) / TAS (mmol Trolox equiv./L) (29).

İstatistiksel Hesaplamalar: Elde edilen sonuçların istatistiksel analizleri (version 20.0 of SPSS for Windows) istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Araştırılan parametre düzeylerinin gruplar arasında farklılık gösterip göstermediğini saptamak için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve çoklu karşılaştırma (*post hoc*) analiz testlerinden T (Tukey) testi kullanıldı. Gruplar arası negatif (-) ya da pozitif (+) ilişkinin araştırılması için korelasyon analizi yapıldı. Testlerin tümünde $P < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi. Sonuçlar; ortalama± standart sapma ($X \pm SD$) olarak verildi.

Tablo 1. Plazma PON1 aktivitesi, TAS, TOS ve OSİ düzeyleri.
Table 1. Levels of plasma PON1 activity, TAS, TOS and OSI.

	GRUPLAR				
	K	CPF	CAPE	CPF+CAPE	P<
PON1 (U/L)	189.21±22.31 ^a	115.52±12.79 ^c	179.72±16.81 ^a	153.80±14.45 ^b	0.001
TAS (mmol Trolox eq/L)	1.03±0.13 ^a	0.57±0.09 ^c	1.11±0.12 ^a	0.84±0.07 ^b	0.001
TOS (µmol H ₂ O ₂ eq /L)	7.10±0.69 ^c	11.34±1.24 ^a	7.32±0.68 ^c	9.15±0.94 ^b	0.001
OSİ (arbitrary birim)	0.69±0.09 ^c	2.04±0.34 ^a	0.66±0.12 ^c	1.10±0.15 ^b	0.001

Ortalama ± Standart sapma: X±SD.

Average± Standart deviation: X±SD.

X±SD ^{a,b,c} : Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arası farklılık önemlidir (P<0.001).

X±SD ^{a,b,c} : There are significant differences between (a,b,c) averages (P<0.001).

Bulgular

Yapılan çalışmada Kontrol, CPF, CAPE ve CPF+CAPE gruplarında sırasıyla plazma PON1 aktivitesi 189.21±22.31, 115.52±12.79, 179.72±16.81, 153.80±14.45 U/L, TAS düzeyleri 1.03±0.13, 0.57±0.09, 1.11±0.12, 0.84±0.07 mmol Trolox eq/L, TOS düzeyleri 7.10±0.69, 11.34±1.24, 7.32±0.68, 9.15±0.94 µmol H₂O₂ eq /L, OSİ değerleri 0.69±0.09, 2.04±0.34, 0.66±0.12, 1.10±0.14 arbitrary birim olarak tespit edildi. Gruplara ait plazma PON1 aktivitesi, TAS ve TOS düzeyleri ile OSİ değerleri Tablo.1'de gösterildi.

Çalışmada kontrole göre, CPF ve CPF+CAPE gruplarında plazma PON1 aktivitesi ve TAS düzeylerinde azalma (P<0.001), TOS ve OSİ değerlerinde ise artış (P<0.001) olduğu tespit edildi. CPF grubunda CPF+CAPE grubuna göre plazma PON1 aktivitesi ve TAS düzeylerinin önemli derecede azaldığı (P<0.001), TOS ve OSİ değerlerinin anlamlı derecede arttığı (P<0.001) gözlemlendi. Plazma PON1 aktivitesi, TAS, TOS ve OSİ düzeyleri arası korelasyon ilişkileri Tablo.2'de gösterildi.

Tablo 2. Plazma PON1 aktivitesi, TAS, TOS ve OSİ düzeyleri arası korelasyon değerleri.

Table 2. Correlation values between levels of plasma PON1 activity, TAS, TOS and OSI.

	PON1	TAS	TOS	OSİ
PON1		0.700*	-0.792*	-0.787*
TAS			-0.775*	-0.923*
TOS				0.905*
OSİ				

*: Korelasyon P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

*: Correlation P < 0.01 were significant.

Tartışma ve Sonuç

Böcekler ve diğer zararlıların kontrolünde kullanılan organofosfatlı insektisitlerin bazen insanları da içeren hedef olmayan organizmalarda olumsuz etkilerinin olduğu bildirilmektedir (9). İnsanlar diyet yoluyla pek çok pestisite maruz kalmaktadırlar (11). Organofosfatlı insektisitlerin geniş ölçüde kullanımı, insan ve diğer birçok canlıda zehirlenmelere ve ölümlere neden olmaktadır (27). Organofosfatlı bileşiklerin yoğun serbest radikal üretimine neden olduğu, başta membran lipidleri olmak üzere metabolizmadaki önemli biyomoleküllerin oksidatif hasarına yol açtığı ileri sürülmektedir (13, 22).

Klorprifos, sitokrom p-450 tarafından bir metaboliti olan klorprifos-oksona dönüştürülmektedir. Bu metabolit asetilkolinesteraza yüksek affinite ile bağlanmakta ve asetilkolinesterazı inhibe ederek toksik etki göstermektedir (14, 39). Akut CPF toksisitesi, asetilkolinesteraz inhibisyon mekanizması dışında oksidatif stresi de kapsayan asetilkolinesteraz inhibisyonuyla ilişkili olmayan diğer mekanizmaları da içermektedir (4). Lipofilik bir molekül olarak CPF hücrelerden stoplazma içine girer ve hücre içinde hücre sel molekülere hasar vermeye başlar (40). Oksidatif hasar öncelikle reaktif oksijen türlerinin üretimi ile başlar ve lipid, DNA, protein gibi makromoleküllerin hasarına neden olur (4). Son yıllarda yapılan çalışmalarda Klorpifos-etile maruz kalınması sonucu üretilen serbest radikallere bağlı olarak organizmanın çeşitli dokularında artan lipid peroksidasyonuna dikkat çekilmektedir (23, 34).

Gültekin ve ark. (23), yaptıkları bir çalışmada organofosfatlı bir insektisit olan klorprifos uygulamasının eritrositlerde lipid peroksidasyon ürünü Malondialdehit (MDA) seviyesini artırdığını görülmektedir. Yine Gültekin ve ark. (24) başka bir çalışmada klorprifos-etili ratlara ağız yoluyla uygulamasıyla klorprifos-etilin lipid peroksidasyonunu artırdığını, artan oksidatif stres ile antioksidan savunma potansiyelinin azaldığını rapor edilmektedir. Yapılan başka bir çalışmada ise akut klorprifos-etil uygulanan ratların karaciğer doku homejenatla-

rında lipid peroksidasyonunu gösteren tiyobarbitürik asit reaktif ürünleri (TBARS) seviyesinin kontrol grubuna göre önemli derecede artış gösterdiği ve bu artışın klorprifos metabolizması sırasında oluşan serbest radikaller ile onların lipid peroksidatif hasarının bir göstergesi olabileceği bildirilmektedir (34). Yaptığımız bu çalışmada CPF grubu farelerde TOS düzeylerinin kontrol grubu farelere göre önemli derecede (0.001) arttığı, CPF+CAPE grubunda ise CPF grubuna göre azaldığı tespit edildi. Böylece CPF uygulaması sonucu oluşan oksidatif hasara bağlı olarak serbest radikallerin oksidatif strese neden olabileceği ve plazma TOS düzeylerinin yükselebileceği, CAPE'nin ise CPF'nin organizmada meydana getirebileceği toksik etkileri ve serbest radikallerin oluşumunu önleyebileceği böylece plazma TOS düzeylerinin CPF+CAPE grubu farelerde azalabileceği kanaatine varıldı.

Pestisitlerin neden olduğu oksidatif stres sonucu etkilenen en önemli sistemlerden biri de antioksidan sistemdir. Antioksidanlar hem doğrudan hem de dolaylı olarak ksenobiyotiklerin, ilaçların, karsinojenlerin ve toksik radikal reaksiyonların istenmeyen etkilerine karşı hücreleri koruyan maddelerdir. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek veya serbest radikal türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler (5, 10). El-Banna ve ark. (17) yaptıkları bir çalışmada, düşük ve yüksek dozda CPF uyguladıkları ratlarda TBARS seviyesini yüksek, TAS seviyesinin ise düşük olduğunu rapor etmişlerdir. Öncü ve ark.(34)'nin akut klorprifos-etil uyguladıkları ratlarda Katalaz (CAT), Süperoksit dismutaz (SOD) ve Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) seviyelerinin ise kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu ve bu düşüşün klorprifos metabolizması sırasında oluşan serbest radikallerin organizmada antioksidan seviyelerini azaltmasına bağlamışlardır.

Yapılan bu çalışmada benzer şekilde akut CPF uygulaması sonucu CPF grubu farelerde TAS düzeylerinin kontrol grubu farelere göre azaldığı, CPF+CAPE grubu farelerde göre ise arttığı tespit edildi. Buna göre farelere akut uygulama sonrası CPF'nin metabolize edilmesi esnasında organizmada oksidatif strese neden olabileceği ve oksidatif strese bağlı olarak meydana gelebilecek serbest radikallerin plazma TAS düzeylerinin azalmasına neden olabileceği düşünüldü. Ayrıca akut CPF uygulaması esnasında CAPE'nin, CPF ile birlikte uygulanmasıyla CPF'nin organizmada meydana getirebileceği muhtemel oksidatif hasarı önleyebileceği ve organizmanın enzimatik ve non enzimatik antioksidanlarına katkıda bulunarak plazma TAS düzeylerini arttırabileceği kanaatine varıldı.

Canlılarda organofosfatlı pestisitlerin detoksifikasyonu; asetilkolinesteraz, karboksilesteraz ve paraoksonaz (PON1) gibi enzimler tarafından gerçekleştirilmektedir (20, 35). PON1, 43-45 kDa ağırlığında, 354 aminoasit içeren glikoprotein yapısında bir esterazdır. Organofos-

fatların hidrolizini katalizleyen bu enzim, karaciğer, böbrek, bağırsak ve serumda HDL'ye bağlı olarak yaygın bir şekilde bulunmaktadır (41). İnsan serum PON1 enzimi parathion, diazinon ve CPF gibi çok sayıda insektisit toksik okson metabolitlerini ve soman, sarin, tabun gibi organofosfat sinir ajanlarını hidroliz edebilmektedir. İnsan sağlığı açısından organofosfatlı bileşikler terörizm tehdidi kadar bir çevresel risk oluşturur. PON1 enziminin çok yönlü bir araştırma konusu olmasının en önemli nedenlerinden biri budur (25).

PON1'in organofosfatlı bileşiklerin toksisitesindeki rolü ile ilgili kanıtlar çoğunlukla saflaştırılmış PON1 enzimi kullanılan hayvan çalışmalarından gelmektedir. Costa ve ark. (12) tavşan serumundan saflaştırılıp sıçanlara intravenöz yolla enjekte ettikleri PON1 enziminin, sıçanların serum PON1 aktivitesini paraoksone karşı 9 kat, klorprifos oksona karşı 50 kat arttırdığını bildirmişlerdir (12). Yapılan başka bir çalışmada farelere enjekte edilen eksojen PON1'in, klorprifos oksonun yanı sıra, insektisit olarak kullanılan CPF'ye karşı da koruma sağladığı gözlemlenmiş ve PON1 enjeksiyonunun organofosfat maruziyetinin öncesinde yapıldığında zehirlenmeyi engellediği gibi maruziyetten sonra (yaklaşık 3 saate kadar) yapıldığında da koruma sağladığı bildirilmektedir (30).

Akgür ve ark. (1) akut organofosfat zehirlenme şikayeti ile gelen 28 hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada (1) PON1 düzeyleri ile akut zehirlenmeler arasında negatif bir korelasyon olduğu ve bu korelasyonun kronik zehirlenmelere göre daha düşük olduğunu bildirmiştir. Benzer şekilde Alagöz ve ark. (2) değişik maddelerle akut zehirlenme sonucu acil servise gelen 82 hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada organofosfatlı maddelerle zehirlenen hastalarda 6. ve 24. saatte serum PON aktiviteyi karşılaştırıldığında 24. saatte 6. saate göre serum PON aktivitesinin daha düşük olduğunu saptamışlardır. Çalışmamızda ise, CPF grubundaki farelerde CPF uygulamasından sonraki 24. saatte PON1 aktivitesinin diğer gruplara göre anlamlı derecede düştüğü ve CPF+CAPE grubunda ise CPF zehirlenmesi sonucu azalan PON1 aktivitesinin CAPE'nin etkisiyle normal düzeye yaklaştığı tespit edildi. Önemli bir enzimatik antioksidan olan ve organofosfatların detoksifikasyonunda görev alan PON1 aktivitesinin CPF uygulanan farelerde düşük olmasının nedeni CPF'nin detoksifikasyonu sırasında PON1'in aktivite kaybına uğradığının bir göstergesi olabilir. Çalışmamızda CPF+CAPE grubundaki farelerde PON1 aktivitesinin CPF grubu farelere göre daha yüksek olmasının nedeni, CPF'nin detoksifikasyonu esnasında CAPE'nin antioksidan etkisinin PON1'in antioksidan aktivitesi ile sinerji oluşturması ve böylece PON1 aktivitesinin korunabilmesidir.

Sonuç olarak, geniş bir kullanım alanına sahip klorprifos-etil'in; Farelerde plazma PON1 aktivitesini ve

TAS düzeyini düşürebileceği, plazma TOS ve OSİ değerlerini yükseltebileceği; önemli bir antioksidan molekül olan CAPE'nin klorprifos-etil gibi organofosfatlı pestisitlerin neden olduğu oksidatif strese organizmanın antioksidan sistemi üzerine koruyucu etkisinin olabileceği; tarımla uğraşan kişilerde CAPE ve diğer antioksidan moleküllerin önceden alınmasının karşılaşılabilecek zehirlenme olaylarında koruyucu etkisinin olabileceği kanaatine varıldı.

Kaynaklar

1. **Akgür SA, Oztürk P, Solak I, Moral AR, Ege B** (2003): Human serum paraoxonase (PON1) activity in acute organophosphorous insecticide poisoning. *Forensic Sci Int*, **133**, 136-140.
2. **Alagöz G, Durukan P, Yıldız M, Bayar M.K, İlhan N, Çevik Y, Seçkin D** (2007): Akut zehirlenme hastalarında serum malondialdehid, paraoksonaz ve karaciğer fonksiyon testleri arasındaki ilişkinin araştırılması. *Fırat Tıp Derg.*, **12**, 184-189.
3. **Alp H, Sak ME, Evsen MS, Fırat U, Evliyaoglu O, Penbegül N, Sancaktutar AA, Söylemez H, Tuzcu M** (2012): Effects of malathion in fetal kidney tissues in pregnant rats: teratogenic effects induced by different doses. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.*, **18**, 221-226.
4. **Ambali FS, Ayo JO, Esievo KAN Ojo SA** (2011): Hemotoxicity Induced by Chronic Chlorpyrifos Exposure in Wistar Rats: Mitigating Effect of Vitamin C. *Vet Med Int*, Article ID 945439, DOI: 10.4061/2011/945439.
5. **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.
6. **Banskota AH, Tezuka Y, Kadota S** (2001): Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytother. Res.*, **15**, 561-571.
7. **Borrelli F, Maffia P, Pinto L, Ianaro A, Russo A, Capasso F, Ialenti A** (2002): Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. *Fitoterapia*, **73**, 53-63.
8. **Castaldo S, Capasso F** (2002): Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*, **73**, 1-6.
9. **Chaudhuri K, Selvaraj S, Pal AK** (1999): Studies on the genotoxicity of endosulfan in bacterial systems. *Mutation Research*, **439**, 63-67.
10. **Cheeseman KH, Slater TF** (1993): An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull.*, **49**, 479-480.
11. **Chung MK, Kim JC, Han SS** (2002): Developmental toxicity of flupyrzofos, a new organophosphate insecticide in rats. *Food and Chem. Toxicol.*, **40**, 723-729.
12. **Costa LG, Mcdonald BE, Murphy SD, Omenn GS, Richter RJ, Motulsky AG, Furlong CE** (1990): Serum Paraoxonase and its influence on paraoxon and chlorpyrifos-oxon toxicity in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **103**, 66-76.
13. **Dwivedi PD, Mukul D, Khanna SK** (1998): Role of cytochrome p-450 in quinalphos toxicity : Effect on hepatic and brain antioxidant enzymes in rats. *Food and Chem Toxicol.*, **36**, 437-444.
14. **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.
15. **Eckerson HW, Romson J, Wyte CM, La Du BN** (1983): The human serum paraoxonase polymorphism: Identification of phenotypes by their response to salts. *Am. J. Hum. Genet.*, **35**, 214-227.
16. **Ekebaş S, Çakır S, Ertuğrul O, Kence A** (2000): The detection of mutagenic activity of some chemicals (azamethypos, dichlorvos, methyl parathion, aflatoxin b1) by the smart test in drosophila melanogaster. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, **24**, 563-569.
17. **El-Banna SG, Attia AM, Hafez AM, El-Kazaz SM** (2009): Effect of garlic consumption on blood lipid and oxidant/antioxidant parameters in rat males exposed to chlorpyrifos. *Slovak J. Anim. Sci.*, **42**, 111-117.
18. **Erel O** (2004): A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable abts radical cation. *Clin. Biochem.*, **37**, 277-285.
19. **Erel O** (2005): A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin. Biochem.*, **38**, 1103-1111.
20. **Eyer P, Szinicz L, Thiermann H, Worek F, Zilker T** (2007): Testing of antidotes for organophosphorus compounds: Experimental procedures and clinical reality. *Toxicology*, **233**, 108-119.
21. **Gökalg O, Mollaoglu H, Yılmaz HR, Altuntas D** (2003): Organofosfat insektisit fenthion'un rat amilaz ve lipaz enzimleri üzerine etkisi: Vitamin E ve C'nin rolü. *Süleyman Demirel Üniv. Tıp Fak. Derg.*, **10**, 21-23.
22. **Gülcü F, Gürsu MF** (2003): Paraoksonaz ve aril esteraz aktivite ölçümlerinin standardizasyonu. *Turk J. Biochem.*, **28**, 45-49.
23. **Gültekin F, Oztürk M, Akdoğan M** (2000): The effect of organophosphate insecticide chlorpyrifos-ethyl on lipid peroxidation and antioxidant enzymes (in vitro). *Arch. Toxicol.*, **74**, 533-538.
24. **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.
25. **Harel M, Aharoni A, Gaidukov L, Brumshtein B, Khersonsky O, Meged R, Dvir H, Ravelli RBG, McCarthy A, Toker L, Silman I, Sussman JL, Tawfik DS** (2004): Structure and evolution of the serum paraoxonase family of detoxifying and anti-atherosclerotic enzymes. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **11**, 412-419.
26. **İlhan A, İraz M, Gürel A, Armutcu F, Akyol O** (2004): Caffeic acid phenethyl ester exerts a neuroprotective effect on CNS against pentylene tetrazol-induced seizures in mice. *Neurochem Res.*, **29**, 2287-2292.
27. **Jacobsen H, Qstergaard G, Lam HR, Poulsen ME, Frandsen H, Ladefoged O, Meyer O** (2004): Repeated dose 28-day oral toxicity study in Wistar rats with a mixture of five pesticides often found as residues in food:

- alphacypermethrin, bromopropylate, carbendazim, chlorpyrifos and mancozeb. *Food and Chem. Toxicol.*, **42**, 1269-1277.
28. **Khan S, Khan, NN** (1986): The mobility of some organophosphorus pesticides in soils as affected by some soil parameters. *Soil Sci.*, **142**, 214-222.
29. **Köseçik M, Erel O, Sevinc E, Selek S** (2005): Increased oxidative stress in children exposed to passive smoking. *Int J Cardiol.*, **100**, 61-64.
30. **Li WF, Furlong C, Costa LG** (1995): Paraoxonase protects against chlorpyrifos toxicity in mice. *Toxicol. Lett.*, **76**, 219-226.
31. **Lodovici M, Cassalini C, Briani C, Dolara P** (1997): Oxidative liver DNA damage in rats treated with pesticide mixtures. *Toxicology*, **117**, 55-60.
32. **Mitra NK, Nadarajah VD, Siong, HH** (2009): Effect of concurrent application of heat, swim stress and repeated dermal application of chlorpyrifos on the hippocampal neurons in mice. *Folia neuropath.*, **47**, 60-68.
33. **Ncibi S, Othman MB, Akacha A, Krifi MN, Zourgui L** (2008): Opuntia ficus indica extract protects against chlorpyrifos-induced damage on mice liver. *Food and Chem Toxicol.*, **46**, 797-802.
34. **Oncü M, Gültekin F, Karaöz E, Altuntaş I, Delibaş N** (2002): Klorprifos-etil tarafından oluşturulan oksidatif hasarın sıçan karaciğerine etkileri. *T Klin Tıp Bil. Derg.*, **22**, 50-55.
35. **Peter JV, Moran JL, Graham P** (2006): Oxime therapy and outcomes in human organophosphate poisoning: An evaluation using meta-analytic techniques. *Crit. Care Med.*, **34**, 502-510.
36. **Reuber MD** (1978): Carcinomas and other lesions of the liver in mice ingesting organochlorine pesticides. *Clinical Toxicol.*, **13**, 231- 256.
37. **Russo A, Longo R, Vanella A** (2002): Antioxidant activity of propolis: Role of caffeic acid phenethyl ester and galangin. *Fitoterapia*, **73**, 21-29.
38. **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.
39. **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.
40. **Uzun FG, Demir F, Kalender S, Baş H, Kalender Y** (2010): Protective effect of catechin and quercetin on chlorpyrifos-induced lung toxicity in male rats. *Food and Chem Toxicol.*, **48**, 1714-1720.
41. **Watson AD, Berliner JA, Rama SY, La Du BN, Faul KF, Fogelman AM, Navab M** (1995): Protective effect of high density lipoprotein associated Paraoxonase: Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. *J. Clin. Invest.*, **96**, 2882-2891.
42. **WHO:** Organophosphorus Pesticides. Erişim (<http://www.WHO.Org>). Erişim Tarihi. 21.03.2013.

Geliş tarihi: 02.04.2014/ Kabul tarihi: 03.11.2014

Yazışma adresi:

Hacı Ahmet Deveci
Gaziantep Üniversitesi,
İslahiye Meslek Yüksekokulu,
Gaziantep - Türkiye.
e-mail: h.ahmet.deveci@hotmail.com