

**T.C.
ADYAMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KATALAZ AKTİVİTESİ ÜZERİNE LAMBDA CYHALOTHRİN VE
FENTHİON PESTİSİTLERİN ETKİSİ**

FİLİZ KAPLAN

KİMYA ANABİLİM DALI

2015

T.C.
ADİYAMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KATALAZ AKTİVİTESİ ÜZERİNE LAMBDA CYHALOTHRİN VE
FENTHİON PESTİSİTLERİN ETKİSİ

Filiz KAPLAN

Yüksek Lisans Tezi

Kimya Anabilim Dalı

Bu tez 29/06/2015 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zübeyde BAYSAL
BAŞKAN

Doç. Dr. Cumhuri KIRILMIŞ
ÜYE

Yrd. Doç. Dr. Hasan KARADAĞ
ÜYE (DANIŞMAN)

Doç. Dr. Ramazan GÜRBÜZ
Enstitü Müdürü

Bu çalışma Adıyaman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: FEFYL/2013-0010

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirimlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KATALAZ AKTİVİTESİ ÜZERİNE LAMBDA CYHALOTHRİN VE FENTHİON PESTİSİTLERİN ETKİSİ

Filiz KAPLAN

Adıyaman Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Hasan KARADAĞ

Yıl: 2015, Sayfa Sayısı: 45

Jüri

: Prof. Dr. Zübeyde BAYSAL

: Doç. Dr. Cumhuri KIRILMIŞ

: Yrd. Doç. Dr. Hasan KARADAĞ

Bu çalışmada, lambda cyhalothrin ve fenthion pestisitlerin sığır karaciğer katalaz (CAT) enzim aktivitesi üzerine olan etkisi incelenmiştir. CAT aktivitesi, 0 ppm'den 500 ppm'e artan lambda cyhalothrin ve fenthion pestisit derişimi ile inhibisyona uğramıştır. Lambda cyhalothrinin 25, 50, 100, 250 ve 500 ppm etkisinde CAT enzim aktivitesindeki yüzde azalışların sırasıyla 3,4; 11,7; 12,7; 21,2 ve 22,5 olduğu hesaplanmıştır. Fenthionun 25, 50, 100, 250 ve 500 ppm etkisinde CAT enzim aktivitesindeki yüzde azalışların sırasıyla 4,6; 6,2; 6,7; 17,1 ve 19,9 olduğu hesaplanmıştır. Lambda cyhalothrinin CAT'ı yarışmasız (nonkompetitif) olarak inhibe ettiği, fenthionun CAT'ı yarışmalı (kompetitif) olarak inhibe ettiği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Lambda cyhalothrin, Fenthion, Katalaz, İnhibisyon ve Pestisit.

ABSTRACT

Master Thesis

EFFECT OF LAMBDA CYHALOTHRIN AND FENTHION PESTICIDES ON CATALASE ACTIVITY

Filiz KAPLAN

Adiyaman University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor : Asst. Prof. Dr. Hasan KARADAĞ

Year: 2015, Number of Pages:45

Jury : Prof. Dr. Zübeyde BAYSAL

: Assoc. Prof. Dr. Cumhuri KIRILMIŞ

: Asst. Prof. Dr. Hasan KARADAĞ

In this study, effect of lambda cyhalothrin and fenthion pesticides on bovine liver catalase (CAT) activity was investigated. CAT activity was inhibited by increasing lambda cyhalothrin and fenthion pesticides concentrations from 0 ppm to 500 ppm. Under the exposure of 25, 50, 100, 250 and 500 ppm lambda cyhalothrin concentrations, percent of CAT enzyme activity decreases were calculated as 3.4; 11.7; 12.7; 21.2 and 22.5, respectively. Under the exposure of 25, 50, 100, 250 and 500 ppm fenthion concentrations, percent of CAT enzyme activity decreases were calculated as 4.6; 6.2; 6.7; 17.1 and 19.9, respectively. Lambda cyhalothrin inhibited CAT non-competitively and fenthion inhibited CAT competitively.

KeyWords: Lambda cyhalothrin, Fenthion, Catalase, Inhibition and Pesticide.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgisini ve deneyimlerini benden esirgemeyen, bilminden faydalandığım, insani değerleri ve bana göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı sayın hocam, Yrd. Doç. Dr. Hasan KARADAĞ'a sonsuz teşekkür ederim.

Tezimi inceleyen Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Zübeyde BAYSAL'a ve Adıyaman Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyesi sayın Doç. Dr. Cumhuri KIRILMIŞ'a çok teşekkür ederim.

Tezin hazırlanması aşamasında, benden bilgilerini esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Ahmet ÖZKAYA'ya ve tez bulgularının istatistik değerlendirmelerinde yol gösteren sayın Doç. Dr. Özgür FIRAT'a teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim süresince beni hep güler yüz ile karşılayan Yrd. Doç. Dr. Murat GENÇ ve Yrd. Doç. Dr. Ceyran VELİYEV'e teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca bana destek olan babama, anneme ve ablama çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

| | |
|--|------|
| ÖZET | i |
| ABSTRACT | ii |
| TEŞEKKÜR | iii |
| İÇİNDEKİLER..... | iv |
| ÇİZELGELER DİZİNİ | vi |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | vii |
| SİMGELER VE KISALTMALAR | viii |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 1.1. Enzimler..... | 1 |
| 1.1.1. Enzimlerin sınıflandırılması..... | 1 |
| 1.1.2. Enzim kinetiği | 2 |
| 1.1.3. Enzim etkinliğini değiştiren faktörler | 4 |
| 1.1.4. Enzim inhibisyonu | 5 |
| 1.1.4.1. Dönüşümsüz inhibisyon | 5 |
| 1.1.4.2. Dönüşümlü inhibisyon | 5 |
| 1.1.4.2.1. Yarışmalı inhibisyon..... | 5 |
| 1.1.4.2.2. Yarışmasız inhibisyon..... | 6 |
| 1.1.4.2.3. Sınırlı yarışmalı inhibisyon | 7 |
| 1.2. Antioksidanlar | 8 |
| 1.3. Katalaz | 9 |
| 1.4. Pestisitler | 11 |
| 1.4.1. Pestisitlerin yapısı..... | 11 |
| 1.4.2. Pestisitlerin sınıflandırılması..... | 12 |
| 1.4.3. Pestisitlerde doz ve letal doz | 12 |
| 1.4.4. Pestisitlerin yayılımı | 13 |
| 1.4.5. Pestisitlerin insan ve çevreye etkileri | 15 |
| 1.4.6. Pestisit zehirlenme belirtileri ve ilk yardım | 16 |
| 1.5. Lambda cyhalothrin | 17 |
| 1.6. Fenthion | 18 |
| 1.7. Çalışmanın Amacı | 20 |

| | |
|---|----|
| 2. MATERYAL ve YÖNTEM..... | 21 |
| 2.1. Materyal..... | 21 |
| 2.1.1. Kimyasallar | 21 |
| 2.1.2. Kullanılan cihazlar | 21 |
| 2.2. Yöntem | 21 |
| 2.2.1. Stok çözeltiler ve tamponlar..... | 21 |
| 2.2.2. CAT aktivitesinin ölçülmesi..... | 22 |
| 2.2.3. Protein tayini | 23 |
| 2.2.4. Pestisit etkisi..... | 24 |
| 2.2.5. Optimum pH..... | 24 |
| 2.2.6. İstatistik | 25 |
| 3. BULGULAR VE TARTIŞMA | 26 |
| 3.1. Bulgular | 26 |
| 3.1.1. Lambda cyhalothrin ve CAT'ın etkileştirilmesi..... | 26 |
| 3.1.2. Lamda cyhalothrinin inhibisyon türü..... | 27 |
| 3.1.3. Fenthion ve CAT'ın etkileştirilmesi | 29 |
| 3.1.4. Fenthionun inhibisyon türü | 30 |
| 3.1.5. Lambda cyhalothrin ve Fenthionun ve CAT aktivitesi üzerine etkisinin karşılaştırılması | 32 |
| 3.2. Tartışma | 34 |
| 4. SONUÇLAR ve ÖNERİLER | 39 |
| 4.1. Sonuçlar | 39 |
| 4.2. Öneriler | 39 |
| KAYNAKLAR..... | 40 |
| ÖZGEÇMİŞ..... | 45 |

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

| | |
|--|----|
| Çizelge 3.1. Farklı lambda cyhalothrin derişimlerinin CAT aktivitesi üzerine etkisi... | 26 |
| Çizelge 3.2. CAT için farklı lambda cyhalothrin ve substrat derişimlerinde ölçülen aktivite değerleri..... | 27 |
| Çizelge 3.3. Farklı fenthion derişimlerinin CAT aktivitesi üzerine etkisi..... | 29 |
| Çizelge 3.4. CAT için farklı fenthion ve substrat derişimlerinde ölçülen aktivite değerleri..... | 31 |
| Çizelge 3.5. Lambda cyhalothrin ve fenthion ile etkileştirilen katalaz enzim aktivitesinin % azalışları..... | 33 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

| | |
|---|----|
| Şekil 1.1. Reaksiyon hızına substrat konsantrasyonu etkisi..... | 2 |
| Şekil 1.2. Lineweaver-Burk grafiği. | 3 |
| Şekil 1.3. Sıcaklığın reaksiyon hızına etkisi..... | 4 |
| Şekil 1.4. pH' reaksiyon hızına etkisi. | 4 |
| Şekil 1.5. Yarışmalı inhibitörlü tepkimede Michaelis-Menten ve Linewear-Burk grafiği..... | 6 |
| Şekil 1.6. Yarışmasız inhibitörlü tepkimede Michaelis-Menten ve Linewear-Burk grafiği..... | 7 |
| Şekil 1.7. Sınırlı-yarışmalı inhibitörlü tepkimede Michaelis-Menten ve Linewear-Burk grafiği..... | 8 |
| Şekil 1.8. CAT'ın etki mekanizması. | 10 |
| Şekil 1.9. CAT enziminin hem b ve hem d yapısı. | 10 |
| Şekil 1.10. Pestisitlerin doğadaki hareketleri. | 14 |
| Şekil 1.11. Pestisitlerin insanlara olumsuz etkileri..... | 15 |
| Şekil 1.12. Pestisit zehirlenme belirtileri..... | 16 |
| Şekil 1.13. Lambda cyhalothrin yapısı..... | 17 |
| Şekil 1.14. Fenthion yapısı..... | 18 |
| Şekil 2.1. Standart protein grafiği..... | 24 |
| Şekil 3.1. Lambda cyhalothrinin CAT aktivitesi üzerine etkisi..... | 26 |
| Şekil 3.2. Lambda cyhalothrin ve CAT'ın etkileşimi Lineweaver-Burk grafiği..... | 28 |
| Şekil 3.3. Fenthionun CAT aktivitesi üzerine etkisi..... | 30 |
| Şekil 3.4. Fenthion ve CAT'ın etkileşimi Lineweaver-Burk grafiği..... | 31 |
| Şekil 3.5. Lambda cyhalothrin ve Fenthion ile etkileştirilen katalaz enzim aktivitesinin % azalışlar grafiği..... | 33 |

SİMGELER VE KISALTMALAR

| | |
|-------------------------------|--|
| CAT | : Katalaz |
| H ₂ O ₂ | : Hidrojen Peroksit |
| Hb | : Hemoglobin |
| Hct | : Hematokrit |
| GP _x | : Peroksidaz |
| GR | : Glutasyon redüktaz |
| GSH | : Glutasyon |
| GST | : Glutasyon S-transferaz |
| K _i | : İnhibisyon sabiti |
| K _m | : Michealis sabiti |
| LDH | : Laktat dehidrogenaz |
| MDA | : Malondialdehit |
| PCO | : Protein karbonil |
| RBC | : Eritrosit |
| RNS | : Reaktif nitrojen türleri |
| ROS | : Reaktif oksijen türleri |
| SOD | : Süperoksit dismutaz |
| V | : Reaksiyon hızı |
| V ₀ | : İlk Hız |
| V _{max} | : Doygun substrat konsantrasyonunda enzimin ulaşabileceği maksimum hız |
| WBC | : Lökosit |
| WHO | : Dünya Sağlık Örgütü |

1. GİRİŞ

1.1. Enzimler

Enzimler metabolizma açısından önemli bir role sahiptir. Canlılığın devamı, kendini yenileyebilme, enerji alabilme ve üretebilme gibi bir çok metabolik olay açısından oldukça önemli bir role sahiptir (Keha ve Küfrevioğlu 2011).

Protein grubunda yer alan ve katalizleme, düzenleme fonksiyonlarına sahip olan enzimler aktivasyon enerjisini düşürerek kimyasal reaksiyonların hızlı gerçekleşmesini sağlar (Keha ve Küfrevioğlu 2011).

1.1.1. Enzimlerin sınıflandırılması

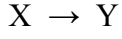
Enzimler etki ettikleri maddenin isminin sonuna 'az' eki getirilerek isimlendirilmiştir. Fakat bu isimlendirme yöntemi ile karışıklık yaşandığı için enzimler özelliklerine göre sınıflandırılmıştır (Tüzün 2005).

| |
|--|
| Oksidoredüktazlar: indirgenme-yükseltgenme reaksiyonlarında rol alan enzimlerdir. Gliseraldehit-3-fosfat: NAD oksidoredüktaz / gliseraldehit fosfat dehidrojenaz |
| Transferazlar: Reaksiyonda transferi sağlayan enzimlerdir. D-Sedoheptüloz-7-fosfat: D-gliseraldehit-3-fosfat glikolaldehittransferaz / transketalaz |
| Hidrolazlar: Hidroliz gerçekleşen reaksiyonlarda rol alan enzimlerdir. Asetilkolin : asetihidroaz / asetilkolinesteraz |
| Liyazlar: Maddelerin birbirinden ayrılması gerektiği reaksiyonlarda rol alırlar. C-C bağınyı bölen enzim Asetoasetat karboksilyaz |
| İzomerazlar: izomerlerin dönüşüm reaksiyonlarında rol alırlar. Alanin rasemaz |
| Ligazlar: maddelerin birbirine bağlanması gerektiği reaksiyonlarda rol alırlar. C-O bağınyı oluşturan enzim L-alanin- tRNA ligaz (Tüzün 2005). |

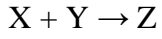
1.1.2. Enzim kinetiği

Enzim kinetiği, enzimlerin reaksiyon hızına nasıl etki ettiğini, reaksiyonların nasıl gerçekteğiğini inceler (Keha ve Küfrevioğlu 2011).

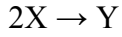
(X: reaksiyona giren madde, Y: reaksiyondan çıkan madde)



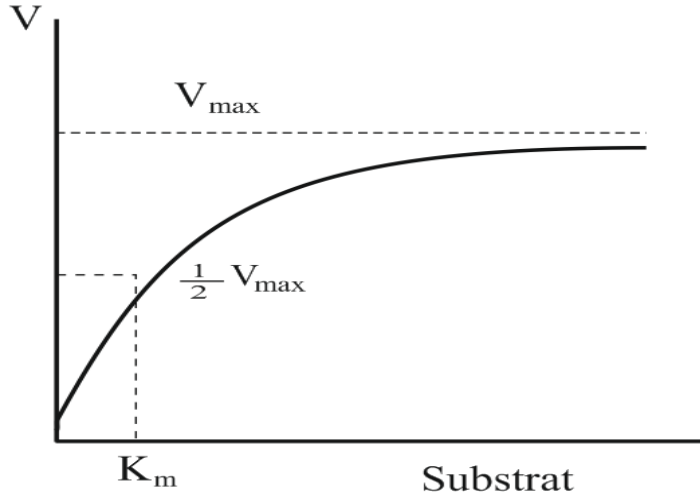
$$V = \frac{d[Y]}{dt} = - \frac{d[X]}{dt} = k[X]$$



$$V = \frac{d[Z]}{dt} = - \frac{d[Y]}{dt} = - \frac{d[X]}{dt} = k[X][Y]$$



$$\frac{d[Y]}{dt} = - \frac{1}{2} \frac{d[X]}{dt} = k[X]^2$$



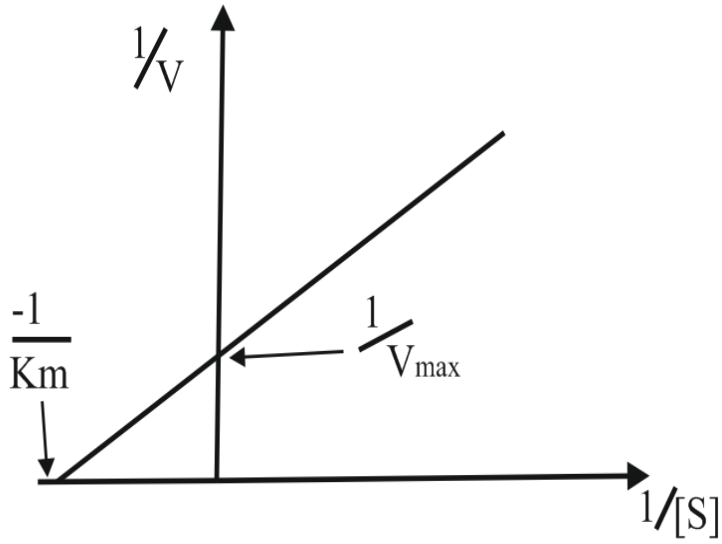
Şekil 1.1. Reaksiyon hızına substrat konsantrasyonu etkisi (Keha ve Küfrevioğlu 2011)

Michaelis-Menten eşitliği:

$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]} \quad K_m = \frac{(k_2 + k_3)}{k_1}$$

Michaelis-Menten eşitliği ters çevrildiği zaman aşağıdaki denklem ortaya çıkar ve bu denkleme Lineweaver-Burk denklemi denir (Keha ve Küfrevioğlu 2011).

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{\max}[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

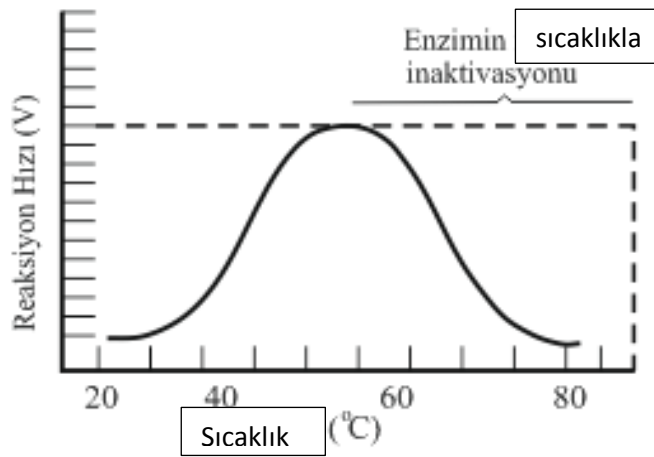


şekil 1.2. Lineweaver-Burk grafiği (Keha ve Küfrevioğlu 2011)

1.1.3. Enzim etkinliğini değiştiren faktörler

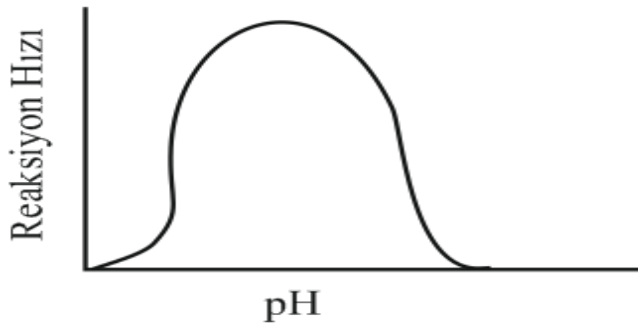
Sıcaklık, pH, substrat konsantrasyonu, enzim miktarı, iyon şiddeti, kofaktör konsantrasyonu, inhibitör ve aktivatör konsantrasyonu enzimin etki etme düzeyini değiştirir (Keha ve Küfrevioğlu 2011).

Sıcaklık arttıķa enzimlerin etkinliği de artar ancak belli bir seviyeden sonra yani sıcaklığın çok fazla artması enzimlerin etkinliğini dūřürür, olumsuz etkiler. Enzimler için en ideal sıcaklık 50 °C civarındadır (Tüzün 2005).



Şekil.1.3 . Sıcaklığın reaksiyon hızına etkisi (Aksoy 2008, Özhan 2014)

Enzimler çok asidik veya çok bazik ortamlarda istenilen etkiyi göstermezler. Nötr ortamlarda daha iyi etki gösterdikleri gözlenmiştir. Bunun nedeni hücre stoplazmasının pH'ı 7,0 civarında olmasıdır (Tüzün 2005).



Şekil.1.4. pH'ın reaksiyon hızına etkisi (Keha ve Küfrevioğlu 2011)

1.1.4. Enzim inhibisyonu

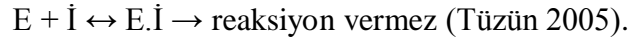
Enzim aktivitesinin düşürülmesine inhibisyon denir. Enzim inhibisyonu dönüşümlü inhibisyon ve dönüşümsüz inhibisyon olmak üzere iki şekilde gerçekleşir.

1.1.4.1. Dönüşümsüz inhibisyon: Bileşikler veya katyonlar (inhibitör) enzime çok sıkı kovalent bağlarla bağlanırlar ve enzim fonksiyonlarını kaybedecek hale gelir (Tüzün 2005).

1.1.4.2. Dönüşümlü inhibisyon

1.1.4.2.1. Yarışmalı inhibisyon: Yarışmalı inhibitör substrata benzer ve substratla yarışarak enzimin aktif bölgesine bağlanır. Böylece yarışmalı inhibitör substratın enzime bağlanmasını engeller ve kendisi bağlanır (Keha ve Küfrevioğlu 2011).

Reaksiyonun mekanizması enzimin (E) substratla (S) ve enzimin inhibitörle ikili kompleksler vermesine dayanır (Tüzün 2005).

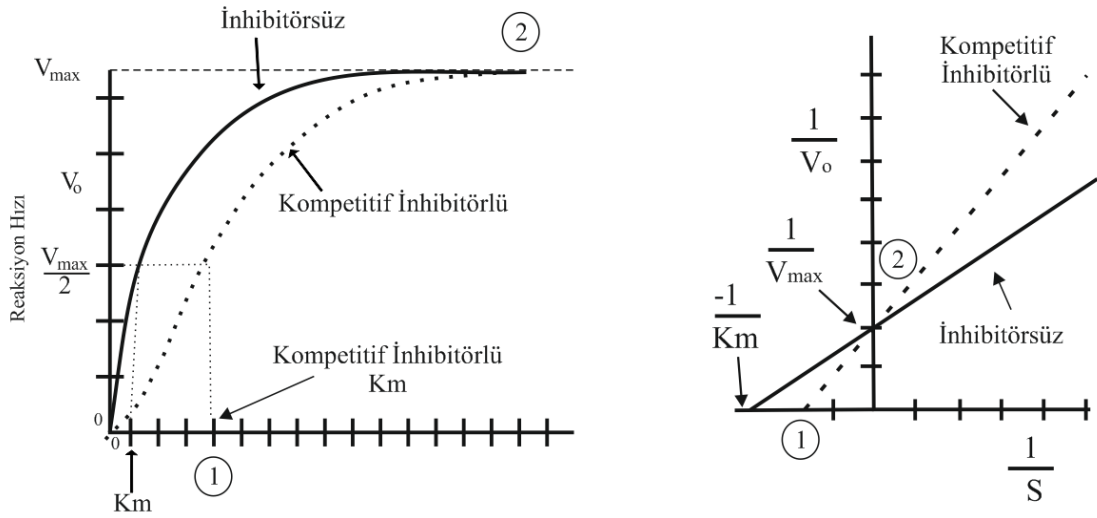


İnhibitörlü reaksiyonun substrat derişimine bağlı hız denklemi (Tüzün 2005).

Linewear-Burk eşitliği ve eğim (Pamuk 2000).

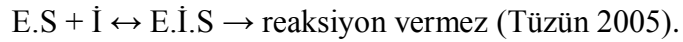
$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{v_{\text{mak}}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{v_{\text{mak}}}$$

$$\text{Eğim} = \frac{K_m}{v_{\text{mak}}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right)$$



Şekil 1.5. Yarışmalı inhibitörlü tepkime Michaelis-Menten ve Linewear-Burk grafiği (Aksoy 2008, Özhan 2014)

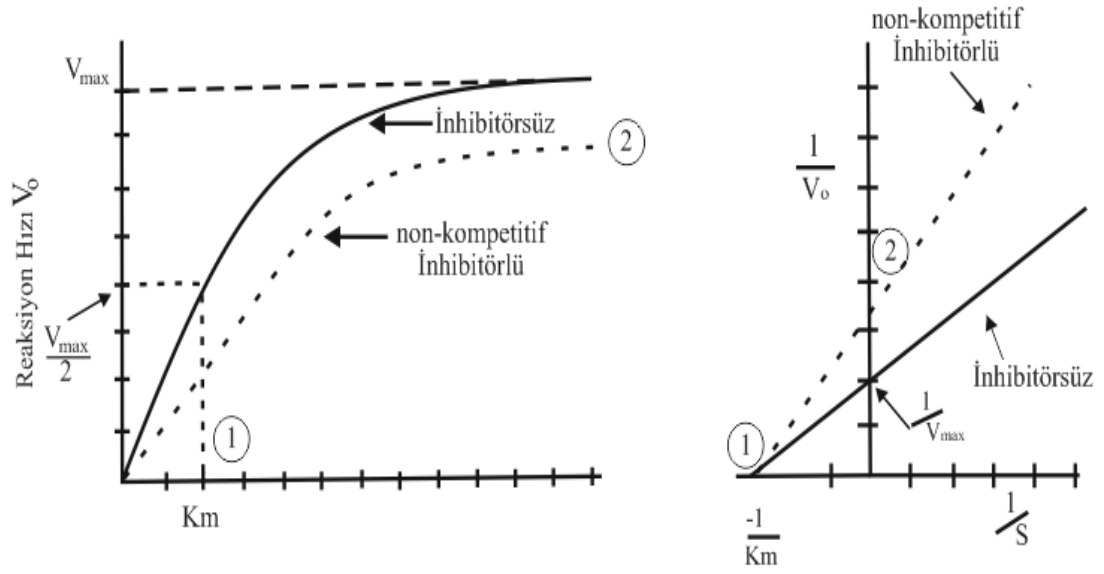
1.1.4.2.2. Yarışmasız inhibisyon: İnhibitör ve substrat birbirine benzemediğinden aralarında yarışma gibi bir durumdan bahsedilemez. İnhibitör (I) ve substrat (S) enzimin farklı bölgelerine aynı anda bağlanabilirler (Keha ve Küfrevioğlu 2011).



Linewear-Burk eşitliği ve eğim (Pamuk 2000).

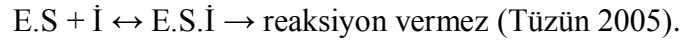
$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{v_{\text{mak}}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{v_{\text{mak}}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right)$$

$$\text{Eğim} = \frac{K_m}{v_{\text{mak}}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right)$$



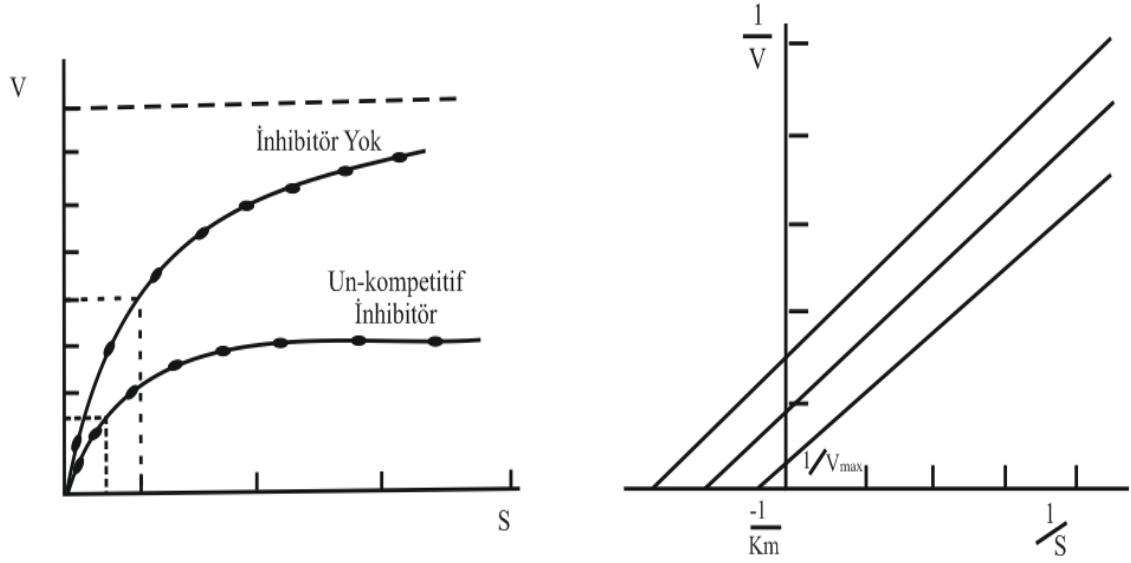
Şekil 1.6. Yarışmasız inhibitörlü tepkimede Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafiği (Aksoy 2008, Özhan 2014)

1.1.4.2.3. Sınırlı yarışmalı inhibisyon: İnhibitör sadece [ES] kompleksine bağlanır (Keha ve Küfrevioğlu 2011).



Lineweaver-Burk eşitliği (Pamuk 2000).

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{v_{mak}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{v_{mak}} \left(1 + \frac{[I]}{K_I} \right)$$



Şekil 1.7. Sınırlı-yarışmalı inhibitörlü tepkimedeki Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafiği (Gözükara 2011, Özhan 2014)

1.2. Antioksidanlar

Antioksidanlar bir çeşit savunma sistemleridir. Reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve oluşan tahribatı önlemek amacıyla savunma oluştururlar. Peroksidasyon zincir tepkimesini engeller ve reaktif oksijen türlerini toplayıp lipid peroksidasyonunu inhibe ederler. Hücrenin sıvı ve membranlarında bulunabilirler. Antioksidanlar toplayıcı, bastırıcı, onarıcı ve zincir kırıcı gibi etki gösterirler (Akkuş 1995).

Oksijen çok reaktif bir moleküldür ve O_2 'nin H_2O 'ya redüksiyonu esnasında daha reaktif ara bileşikler oluşturur (Lledias ve ark. 1998, Çinkiloğlu 2007). Fotosentetik organizmalarda meydana gelen evrim sonucu atmosfere O_2 girmesi ve O_2 bağlı tür ve cinslerde evrim gerçekleşmiştir. Oksidatif reaksiyon ile glikoz aerobik organizmada parçalanır. Sonuç olarak O_2 var olan ortamda ROS (Reaktif Oksijen Türleri) ve RNS (Reaktif Nitrojen Türleri)'ne karşı endojen bir antioksidan sistem gelişmiştir (Sen ve Packer 2000, Çinkiloğlu 2007). Doğal antioksidant enzimler organizmada hücre denge ve düzenin sağlanması açısından hayati öneme sahiptir ve indüksiyonları kirleticilere karşı verilen tepkinin sonucudur (Doyette ve ark. 1997, Çinkiloğlu 2007).

Antioksidan savunma sistemi enzimatik ve nonenzimatik özellik göstererek serbest radikal reaksiyonlarının belirli bir seviyede kalmasını sağlar. Serbest radikaller ve lipid peroksidasyonuna karşı antioksidan savunma sistemi dengeleyici konumdadır. Organizma toksik maddelere karşı savunma mekanizmasına sahip olmasına karşın bazı hallerde bu savunma sistemi yetersiz kalabilmektedir (Thomas 1995, Kanter 2009).

Doğal (endojen) antioksidanlar; ör: katalaz, hidroperoksidaz, süperoksid dismutaz, E vitamini, askorbik asit, melatonin, ürat, sistein, miyoglobin, hemoglobin, albümin. Eksojen antioksidanlar (ilaçlar) ör: ksantin oksidaz inhibitörleri, soya fasülyesi inhibitörleri, NADPH oksidaz inhibitörleri ve rekombinant süperoksit dismutaz.

Gıda antioksidanları; ör: bütillenmiş hidroksi toluen, sodyum benzoat (Akkuş 1995).

1.3. Katalaz

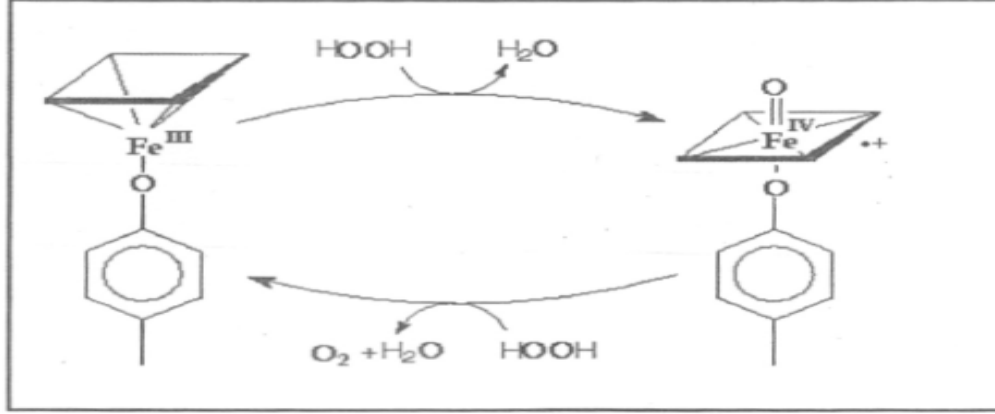
Katalaz (CAT) (E.C.1.11.1.6.) hayvan, bitki ve mikroorganizmada mevcuttur. Protein yapısında bol miktarda bulunan antioksidan bir enzimdir. Antioksidan enzimler hücre yapısının korunması ve serbest radikallerin yok edilmesinde önemli rol oynar. Ayrıca toksik hidrojen peroksidi hücrelerden uzaklaştırmada etkilidirler (Çimen vd. 2005).

Katalazın temel görevi moleküler oksijen varlığında sentezlenen hidrojen peroksidin membranlarda oluşturduğu geri dönüşümsüz hasarı engellemektir. Hidrojen peroksit singlet oksijen ve hidroksil radikalının potansiyel kaynağıdır. Hüresel bileşiklere zarar vermesini engellemek amacıyla katalaz, hidrojen peroksidin su ve oksijene dönüşmesini sağlar (Seriner ve Bilgin 2012).



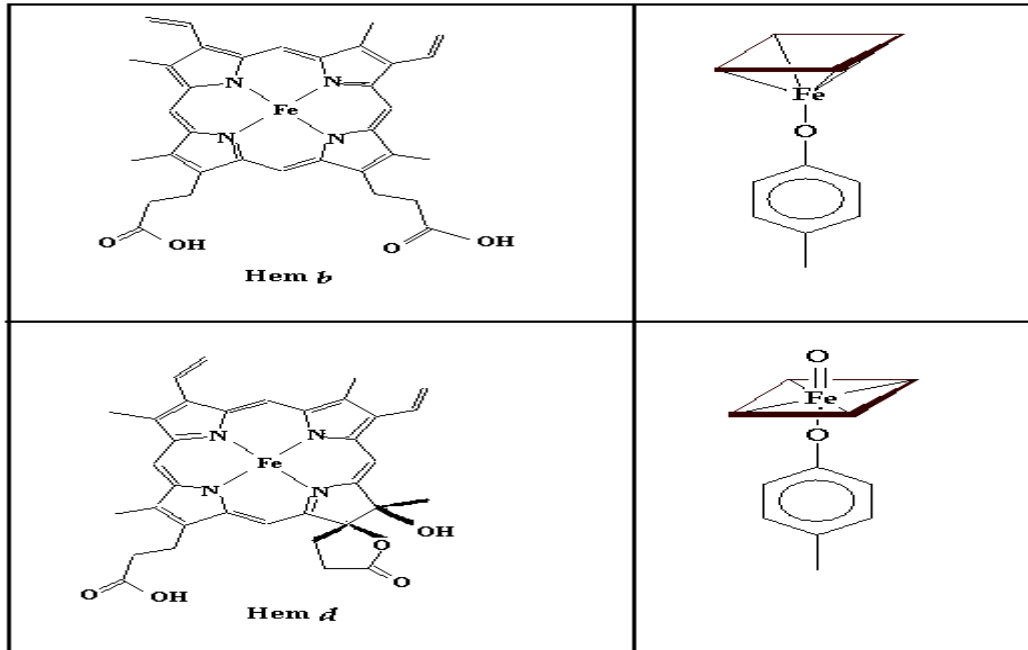
Katalaz enzimi peroksidaz aktivitesine sahiptir ve peroksidomlarda lokalize etki gösterirler. İndirgeyici aktivitesi hidrojen peroksit, metil, etil hidroperoksitleri gibi

küçük moleküllü yapılara karşı etki gösterir. Büyük yapıda lipid hidroperoksid moleküllerine karşı etki göstermezler (Akkuş 1995).



Şekil 1.8. CAT'ın etki mekanizması (Anderson ve Dawson 1991)

Katalazlar genel olarak dört gruba ayrılır: Monofonksiyonel hem grubu içeren katalazlar, katalaz peroksidazlar, demir/hem içermeyip Mn içeren katalazlar ve düşük katalaz aktivitesi gösteren çeşitli proteinler. Hem grubu içeren monofonksiyonel katalazlar (hidrojen peroksit oksidoredüktazlar, E.C.1.11.1.6.), en yaygın gruptur (Yüzügüllü ve Ögel 2013).



Şekil 1.9. CAT enziminin hem b ve hem d yapısı (Vasudevan ve Weiland 1994)

Katalaz enzimi aerobik solunum yapan canlıların durağan fazda uzun süre yaşamalarını sağlar. Katalazlar etanol ve metanol metabolizmasında da rol alır. Katalazların hidrojen peroksiti mikromolar seviyelerin altına indirerek hücre içi ve hücreler arası sinyal iletimini artırıp büyümeyi kısmen uyardıkları da öne sürülmüştür. Yapılan araştırmalar değerlendirildiğinde katalazın sinyal iletimi, detoksifikasyon, antioksidan mekanizmasına katkı gibi birçok rolü olduğu anlaşılmaktadır (Yüzügülü ve Ögel 2013).

1.4. Pestisitler

1.4.1. Pestisitlerin yapısı

Pestisitler zararlı öldürücü kimyasal maddelerdir. Enzimlerin çalışmasını engelleyerek zehirlenmelere neden olurlar. Pestisitlerin kullanılabilirliği ve istenilen etkiyi göstermesi açısından fiziksel özelliği, erime ve kaynama noktası, özgül ağırlığı, çözünürlüğü, dayanıklılığı, akıcılığı, nem çekme, emme yeteneği, suda dağılma, öğütülme ve aşındırma yeteneği ve renk gibi etkiler önem arz eder (Öncüer 2000).

1.4.2. Pestisitlerin sınıflandırılması

| | |
|--|--|
| Aktif oldukları etkene göre sınıflandırma (Güler ve Çobanoğlu 1997). | |
| İnsektisitler: | Böcek öldürücüler, (karıncalar, hamam böcekleri, sivrisinekler vb) |
| Herbisitler : | Ot öldürücüler (yabani otlar, bitkiler, yosunlar) |
| Fungisitler : | Mantar öldürücüler (bitkisel hastalık mantarları, diğer mantar cinsleri) |
| Akarisitler : | Akar öldürücüler (Keneler, halı böcekleri, toz böcekleri vb) |
| Rodentisitler : | Fare öldürücüler, kemirici öldürücüler. |
| Pisisitler : | Balık öldürücüler |
| Avisitler : | Kuş Öldürücüler |
| Mollusisitler : | Yumuşakça öldürücüler |
| Nematisitler : | Nematodlar, topraktaki segmentsiz kurtlar |
| Kimyasal tiplerine göre sınıflandırma. | |
| Organofosfatlar | |
| Piretroidler | |
| N-metil karbamatlar | |
| Klorlu hidrokarbonlar | |
| Bisditiyokarbamatlar | |
| Organotinler | |
| Botanik kökenli maddeler | |
| Arsenikler | |
| Fenoksialifatik asitler | |
| Fenol türevleri | |
| Mikrobiyaller. | |

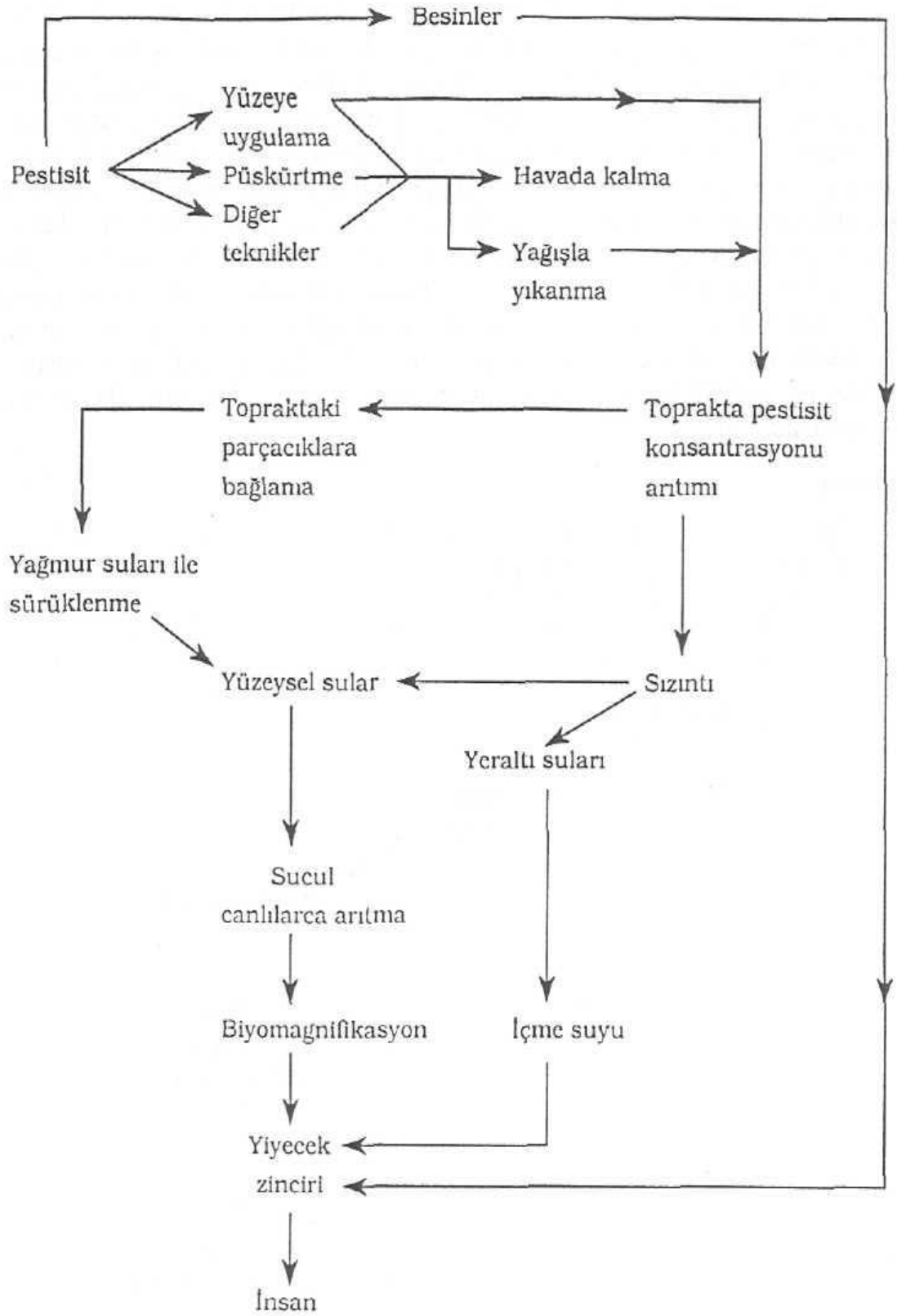
1.4.3. Pestisitlerde doz ve letal doz

Pestisitlerde uygulanacak doz miktarı etkili maddeye ve preparata göre ayarlanır. Uygulanan doz miktarı arttıkça ölüm oranı artar. Fakat bu artış belli bir noktaya kadar sürer belli bir noktadan sonra doz artsa bile ölüm oranı aynı seviyede devam eder (Öncüler 2000).

Pestisitlerde letal doz pestisitinin zehirliliği hakkında bilgi verir. Letal doz (LD₅₀) test edilen populasyonun yarısını öldürmek için gereken dozdur. Laboratuvar koşullarında ilaçlar böcek, fare gibi canlılara uygulanarak pestisit konsantrasyonu ve ölüm arasındaki korelasyon hesaplanır ve prebit analizi yöntemi ile letal doz değerleri hesaplanabilir (Öncüler 2000).

1.4.4. Pestisitlerin yayılımı

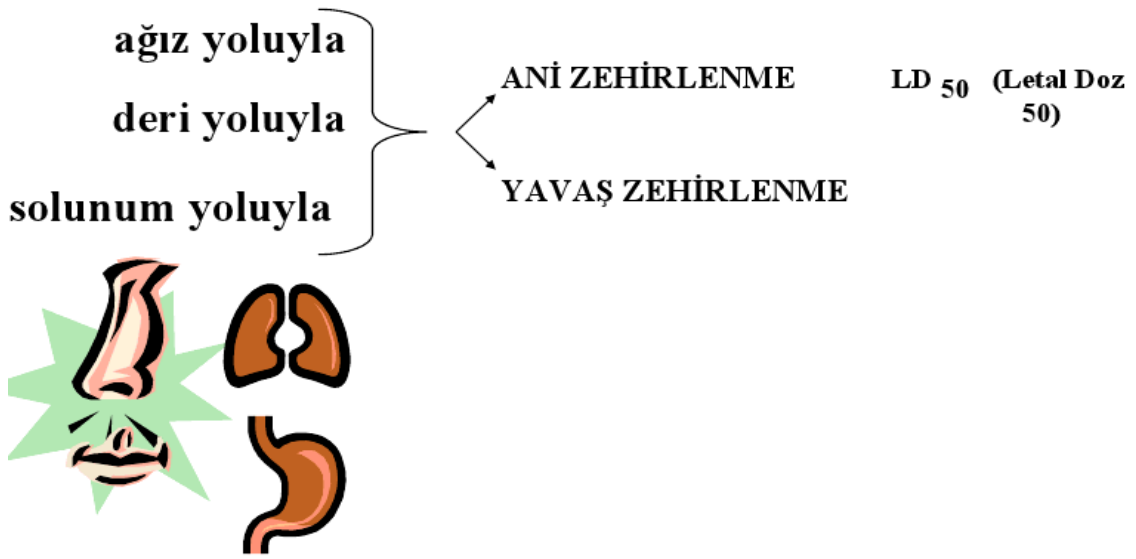
Pestisitler hava, su, yiyecekler, toprak gibi maddelerle yayılım halindedir. Dolayısıyla pestisitlerden hem doğrudan hem de dolaylı olarak etkilenme söz konusudur. Sis ve duman makineleri ile havaya püskürtülen pestisitler parçacık büyüklüğüne, dağılan hacme, hava akımının hızına, havanın sıcaklığına ve farklı etkenlere göre belirli bir alanda kalabilir veya istenmeyen alanlara dağılabilir. Bazı pestisitler su akımı, toprağa enjekte edilmesi, yağmur ve karla yer altı sularına karışabilir. Bu nedenle suların denetimi düzenli yapılmalıdır. Pestisitlerin taşınması ve depolanması özenle yapılmalı yiyeceklerden uzak tutulmalıdır. Yiyeceklerin yetiştirilmesi, sulandırılması, ilaçlanması, işlenmesi ve denetimi dikkatle yapılmalıdır. Pestisitler topraktan havaya karışabilir, yer altı sularına sızabilir ve toprak kirliliğine bağlı olarak canlılar dolaylı olarak etkilenebilir (Güler ve Çobanoğlu 1997).



Şekil 1.10. Pestisitlerin doğadaki hareketleri (Güler ve Çobanoğlu 1997)

1.4.5. Pestisitlerin insan ve çevreye etkileri

Pestisit ve diğer kimyasallar insan vücuduna ağız, solunum ve deri yoluyla girip akut ve kronik zehirlenmelere neden olabilir. Pestisitler vücuda genellikle deri yoluyla girerler. Ön kolda bilek ve dirseklerde derinin emme oranı diğer bölgelere göre daha yüksektir. Kimyasallar vücutta toksik etki oluşturabilir. Toksikiteyi doz, kimyasalın özelliği, bireyin duyarlılığı etkiler. Pestisitler yağlarda depolanabilme ve kanser yapıcı etkiye sahiptirler (Meb 2012).



Şekil 1.11. Pestisitlerin insanlara olumsuz etkileri (Meb 2012)

Pestisitler irritasyon, dermatid, solunum ve kardiyovasküler sistem hastalıkları gibi bir çok akut etkilere neden olabildiği gibi kanser, doğum defektleri, nörotoksisite, nörodavranışsal bozukluk, nörofizyolojik değişiklik, üreme ve fertilitate gibi kronik etkilere de neden olabilir (Meb 2012).

Evcil hayvanlar, büyük baş, küçük baş ve kümes hayvanları, kuşlar, balık ve suda yaşayan diğer canlılar, arılar, toprak mikroorganizmaları direkt ve dolaylı yollardan pestisitlerden etkilenerek akut ve kronik zehirlenmeler gerçekleşebilir. Pestisitler büyümeyi yavaşlatarak üremeyi engelleyebilir, yaşam alanlarının değişmesine neden olabilir (Öncüler 2000).

1.4.6. Pestisit zehirlenme belirtileri ve ilk yardım

Pestisit zehirlenmelerinde baş ağrısı, yorgunluk, solunum güçlüğü, ateş, terleme, morarma, konuşma ve refleks bozukluğu, ishal, bayılma gibi belirtiler gerçekleşebilir (Öncüer 2000).

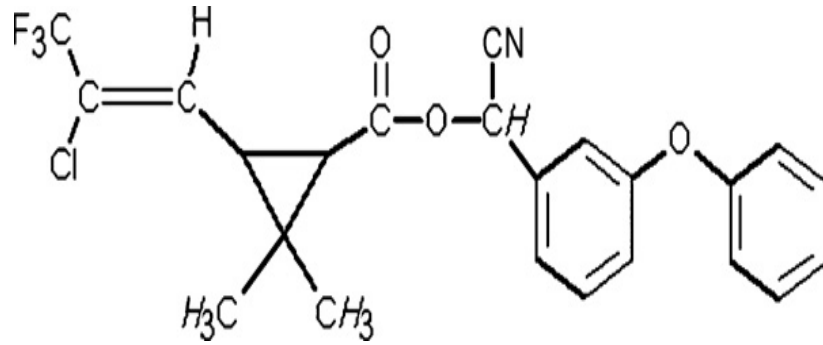


Şekil 1.12. Pestisit zehirlenme belirtileri (Meb 2012)

Pestisit zehirlenmelerinde ilk yardım amaçlı;

- Kişinin düzenli soluk alıp-vermesi sağlanmalıdır.
- Zehirlendiği ortamdan uzaklaştırılmalıdır.
- Tüm vücut bol su ile yıkanmalıdır.
- Baş geride çene ileri çekilmiş olarak yan yatırılıp kusması sağlanabilir.
- Titreme kasılma var ise hareketler engellenmemeli ve dişler arasına mendil konulmalıdır.
- En yakın sağlık kuruluşuna götürülmelidir (Öncüer 2000).

1.5. Lambda cyhalothrin



Şekil 1.13. Lambda cyhalothrin yapısı (Fetoui ve ark. 2008)

Kimyasal formül: [α -cyano-3-phenoxybenzyl 3-(2-chloro-3,3,3-trifluoro-1-propenyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate] (Who 1990).

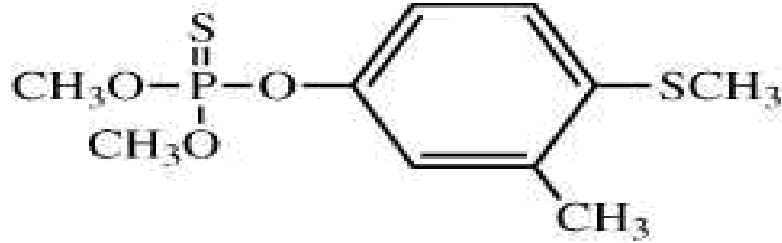
Lambda cyhalothrin sentetik piretroit insektisittir. Beyaz ve katı fiziksel özellik gösterir (Öncüer 2000). Buhar basıncı düşüktür. Isı ve ışığa karşı stabildir. Alkali ortamda hidroliz olurken asidik ve nötr ortamlarda hidroliz olmaz. Lipofilik bir bileşik olup organizmada membranları geçerek dokuda emilebilir ve birikme eğilimi gösterebilir (Piner 2009). Lambda Cyhalothrin; eklem bacaklıların, insanlara, hayvanlara

ve bitkisel ürünlere zararlarına karşı ani ve kalıcı etki gösterir (World Health Organization 1990).

Tip II ester grubundadır. Tip II ester, tip I ester grubuna oranla daha toksik etkiye sahiptir (Mazmancı 2003). Tip II piretroitler sinir sistemi için önemli olan sodyum, klor ve kalsiyum kanallarının işleyişini bozarak sinir iletimini olumsuz etkiler (He ve ark. 2008).

Piretroitler organofosforlu insektisitlerden sonra en çok kullanılan pestisitlerdir. Sentetik piretroitler tarım, hayvancılık ve evlerde akarlar karşı yaygın olarak kullanılmaktadır (Soderlund ve ark. 2002). Canlı vücudunda hipereksitasyon, titreme, konvülsiyon, paralizi ve ölüme sebep olabilir. Organizmada asetilkolinesteraz, ATPaz aktivitesi, hormonların salınımı, kadınlarda östrojen, erkeklerde antiandrojen etki gibi işlevde bozucu etki gösterir. Hücre döngüsü ve immün sistemi yavaşlatır. Solunum organlarının yüzeyinde bozulmalara yol açabilir (Oros ve Werner. 2005). Piretroitler omurgasız ve balıklara karşı fazla miktarda nörotoksiktirler (Moore ve Waring, 2001).

1.6. Fenthion



Şekil 1.14. Fenthion yapısı (Çmıkıloğlu 2007)

Kimyasal formül: ($C_{10}H_{15}O_3PS_2$) (o,o-dimetil-o-(4 metilmerkpto-3- metilfenil)-fosforotioat)

Fenthion organik fosforlu bir insektisittir. Suda çözünürlüğü 20 °C’de 50 mg/L dir. Renksiz ve sıvı özelliktedir. Bal arıları ve balıklara karşı zehirli etkiye sahiptir. LD₅₀: ağızdan 255-290 mg/kg , deriden 1680-2830 mg/kg’dır. Tolerans meyve ve sebzelede 0,2 ppm’dir. Günlük alınabilecek zararsız düzeyi 0,001 mg/kg’dır. Bekleme süresi 15-20 gün kadardır. Fransa’da zararlı etki göstermesi nedeni ile bitkilerin çiçeklenme döneminde kullanımı engellenmiştir (Öncüer 2000).

Fenthion dünyanın her tarafında, tarımsal ve şehirsal alanda kullanılan organofosfat bir insektisittir (Sefi vd. 2011). Fenthion ve bazı kimyasallar endokrin sisteminin çalışmasını bozar. Hormonların salınım, sentez, taşınma, atılma gibi durumlarına etki ederek üreme, gelişme ve davranışlarda olumsuz değişikliklere neden olur (Çinkıloğlu 2007).

Fenthion antiandrojenik etkili endokrin disrupter bir maddedir. Endokrin disrupter maddeler balıklarda büyüme, gelişme ve üremede bozukluklara neden olur. Fenthionun bitki ve hayvanlarda biyotransformasyonu sonucu fenthion sülfoksit, fenthion sülfon, fenthion okson, fenthion okson sülfoksit, fenthion okson sülfon meydana gelir. Fenthion okson kuvvetli asetilkolinesteraz inhibitörüdür (Piner 2005).

1.7. Çalışmanın Amacı

Bu çalışmada Lambda Cyhalothrin ve Fenthion pestisitlerin katalaz enzim aktivitesi üzerine olan etkisi incelenmiştir. Çalışılan pestisitler tarafından katalaz aktivitesi inhibisyona uğramış ve ne tür bir inhibisyona yol açtığı belirlenmiştir.

Katalaz, antioksidan özellik gösteren bir enzimdir. Katalaz, organizmada hidrojen peroksidin su ve oksijene parçalanmasını katalizler. Pestisitler ise enzimi bloke ederek faaliyetlerini engeller. Lambda-Cyhalothrin ve Fenthion pestisitleri katalaz aktivitesini bozmuş ve hidrojen peroksidin su ve oksijene parçalanmasını engellemiştir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. Kimyasallar

Fenthion (36552), Lambda cyhalothrin (31058), Sığır Karaciğer Katalazı (CAT) (C-1345, 2000-5000 U/mg, EC:1.11.1.6), Etil alkol, Sığır serum albumin, NaOH (Sodyum Hidroksit), HCl (hidroklorik Asit), NaCl (Sodyum Klorür), CuSO₄.5H₂O (Bakır iki sülfat pentahidrat), Folin-Ciocalteu, K₂HPO₄ (Potasyum hidrojen fosfat), KH₂PO₄ (Potasyum dihidrojen fosfat), H₂O₂ (Hidrojen peroksit) ve Na₃C₆H₅O₇ (Trisodyum Sitrat), Sigma-Aldrich'den alınmıştır.

2.1.2. Kullanılan cihazlar

pH Metre, Vorteks, Etüv, Otomatik Pipet, Analitik Terazı, UV-Vis Spektrofotometre (Perkin Elmer), Magnetik Karıştırıcı.

2.2. Yöntem

2.2.1. Stok çözeltiler ve tamponlar

1M HCl Çözeltisi: Az miktarda saf su üzerine 8,3 ml HCl (stok, derişik) ilave edilerek saf su ile 100 ml 'ye tamamlanmıştır.

1M NaOH Çözeltisi: 4 g NaOH 100 ml saf su içerisinde çözülmüştür.

CAT Çözeltisi (0,5mg/ml): 0,025 g CAT üzerine daha önce hazırlamış olduğumuz fosfat tamponu dan 50 ml ilave edilmiştir.

Serum Fizyolojik (%0,9 NaCl): 0,9 g NaCl üzerine saf su ilave edilerek hacmi 100 ml'ye tamamlanmıştır.

Fosfat Tamponu: 5,8 g K₂HPO₄ ve 2,273 g KH₂PO₄ bir balon joje içerisinde alınıp üzerine 1L'den az olacak şekilde saf su eklenerek bir beher içine alınmıştır. Magnetik karıştırıcı üzerinde daha önce hazırlamış olduğumuz 1M HCl ve 1M NaOH çözeltileri

ile çözeltinin pH değerinin 7,5 olması sağlanmıştır. Daha sonra üzeri saf su ile 1L'ye tamamlanmıştır.

Standart Protein Çözeltisi: 0,025 g sığır albüminin üzerine köpürmeyi önlemek amacıyla yavaşça serum fizyolojik ilave edilerek hacmi 50 ml'ye tamamlanmıştır.

Lambda cyhalothrin ve Fenthion Pesticit Çözeltileri: 0,0100 g lambda cyhalothrin üzerine 2 mL etil alkol eklenerek 5000 ppm (mg/L) lambda cyhalothrin pestisit çözeltisi hazırlanmıştır. Yoğunluğu 1,250 g/cm³ olan 8 µL fenthion üzerine 2 mL etil alkol eklenerek 5000 ppm (mg/L) fenthion pestisit çözeltisi hazırlanmıştır. Daha sonra 0, 25, 50, 100, 250 ve 500 ppm pestisit ve 700 µL CAT çözeltisi ilave edilerek son hacim 1000 µL'ye tamamlanmıştır. 0 ppm pestisit derişiminde yani kontrolde 300 µL % 100 etil alkol ve 700 µL CAT çözeltisi ilave edilerek çalışılmıştır.

2.2.2. CAT aktivitesinin ölçülmesi

CAT aktivitesinin ölçülmesi, Aebi, H. (1974) tarafından önerilen Lartillot, S. ve vd. (1988) tarafından geliştirilen yöntemle yapılmıştır. Enzimatik aktivite tayini, hidrojen peroksidin (H₂O₂) 240 nm'deki absorbans değerinin enzim ile etkileşmesi sonucu zamanla azalmasına bağlı olarak gerçekleştirilmiştir. Hidrojen peroksit (H₂O₂) molar ekstinksiyon katsayısı 0,0396 cm²/µmol'dür. CAT aktivitesinin ölçülmesi işleminde substrat olarak 50 mmol/L fosfat tamponu (pH:7,5) içerisinde 10 mmol/L hidrojen peroksit (H₂O₂) olacak şekilde hazırlanmıştır. 2,5 mL substrat üzerine 20 µL test edilecek olan enzim çözeltisi ekleyip 37 °C 'de iki dakika bekletilmiştir. Enzimatik reaksiyonunun durmasını sağlamak amacı ile 0,5 ml 1M HCl çözeltisi eklenmiştir. 240 nm'de absorbans değeri ölçülmüştür (Ar).

Kör olarak 2,5 ml 50 mmol/L fosfat tamponu (pH=7,5) ve 0,5 ml 1M HCl içeren çözelti kullanılmıştır (Lartillot ve vd. 1988).

H₂O₂'in başlangıçtaki absorbansını (As) belirlemek için 2,5 ml substrat ve 0,5 ml 1M HCl içeren çözeltinin absorbansı ölçülmüştür.

Proteinin neden olacağı absorbansı (At) belirlemek için 20 µL enzim çözeltisi, 2,5 ml fosfat tamponu ve 0,5 ml 1M HCl içeren çözeltinin absorbansı ölçülmüştür.

Enzimatik aktiviteden dolayı absorbans (A) değişimi;

$$A = (A_s + A_t) - A_r$$

Enzim aktivitesinin IU/mL cinsinden hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanılır (Lartillot ve vd. 1988).

$$Akt = \frac{A.V_t}{\epsilon.t.V_e}$$

V_t= Toplam reaksiyon hacmi (mL)

V_e= Kullanılan enzim çözeltisinin hacmi (mL)

ε= H₂O₂'nin molar ekstinksiyon katsayısı (0,0396 cm²/μmol)

t= Reaksiyon zamanı (dakika)

Her örnekteki protein miktarı belirlenerek aktivite μmol H₂O₂ mg prot⁻¹.dak⁻¹ (U/mg) olarak hesaplanmıştır (Lartillot ve vd. 1988).

2.2.3. Protein tayini

Protein tayini metodu Lowry ve vd. (1951) tarafından geliştirilen metoda göre yapılmıştır. Protein tayinini yapmak amacıyla aşağıda ifade edilen I, II ve III çözeltileri hazırlanmıştır.

Çözelti I : 2 g Na₂CO₃, 0,1 M NaOH çözeltisinde çözülerek ve aynı çözelti ile son hacim 100 ml'ye seyreltilerek hazırlanmıştır

Çözelti II : 0,5 g CuSO₄.5H₂O, %1'lik Na₃C₆H₅O₇ 2 H₂O çözeltisinde çözülerek son hacim aynı çözelti ile 100 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.

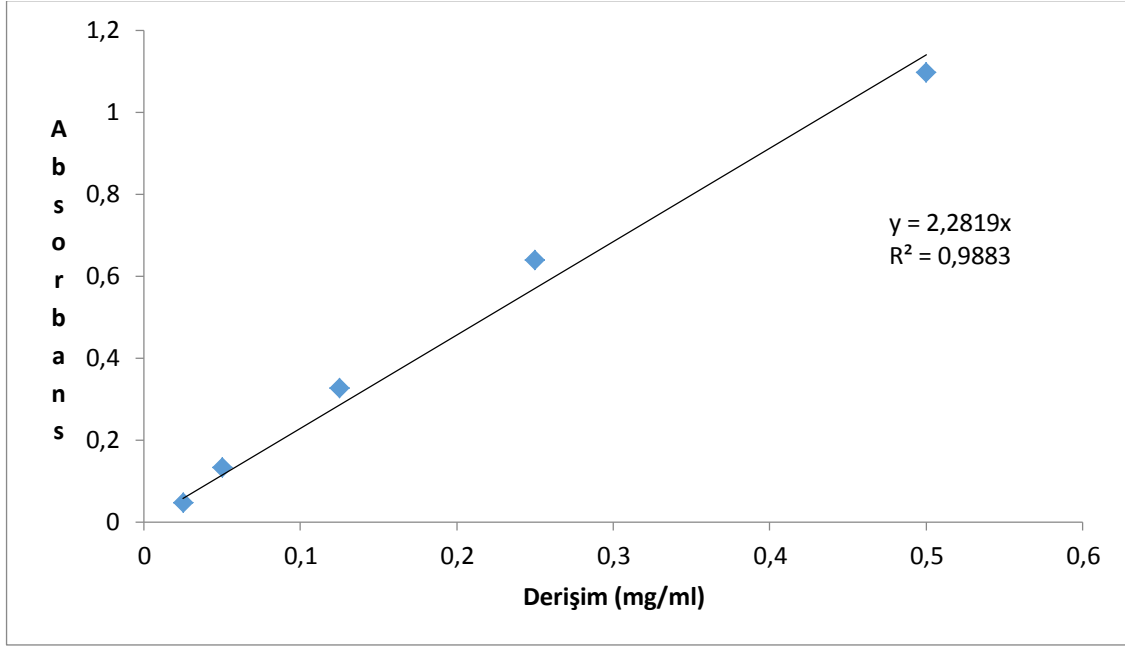
Çözelti III : 50 ml I. çözeltilen ve 1 ml II. çözeltilen karıştırılarak hazırlanmıştır.

Folin-Ciocalteu Çözeltisi: Folin-Ciocalteu saf su ile 1:1 oranında seyreltilerek hazırlanmıştır.

Standart Protein Çözeltisi: 1 ml'sinde 0,5 mg. sığır albümini olacak şekilde % 0,9'luk NaCl (serum fizyolojik) çözeltisiyle hazırlanmıştır.

Standart Protein Eğrisinin Çizimi: 6 adet deney tüpü hazırlanır ve bu tüplere sırasıyla standart protein çözeltisinden (0,5 mg/ml) 0; 50; 100; 250; 500; 1000 μl eklenip serum fizyolojik ile 1 ml'ye tamamlanmıştır. Bu tüplerin protein derişimleri sırasıyla 0; 0,025; 0,05; 0,125; 0,25; 0,5 mg/ml dir. Her bir tüpe 5 ml çözelti III eklenip, 10 dakika oda sıcaklığında bekletilerek her tüpe 1:1 oranında seyreltilmiş Folin-

Ciocalteu çözeltilisinden 0,5 mL eklenmiştir. 30 dakika oda sıcaklığında bekletilerek tüp içeriklerinin absorbansları köre karşı 750 nm’de okunmuştur. Okunan absorbans değerleri standart protein derişimlerine karşı grafiğe geçirilmiştir (Lowry ve vd. 1951).



Şekil 2.1. Standart protein grafiği

2.2.4. Pestisit etkisi

Etil alkol içerisinde çözülmüş lambda cyhalothrin ve fenthion pestisitleri ile saf CAT enzimi oda sıcaklığında 1 saat etkileştirilerek aktivitedeki değişim incelenmiştir.

2.2.5. Optimum pH

50 mM pH=7,5 fosfat tamponu kullanılmıştır (Tükel ve Alptekin 2004).

2.2.6. İstatistik

Yapılan deneyler sonucu elde edilen bulguların istatistik analizi için SPSS 21 bilgisayar paket programı kullanılmıştır. Her bir pestisit etkisinde derişimler arasındaki aktivite düzeylerini karşılaştırmak için SNK (Student Newman Keul's) testi uygulanmıştır.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Bulgular

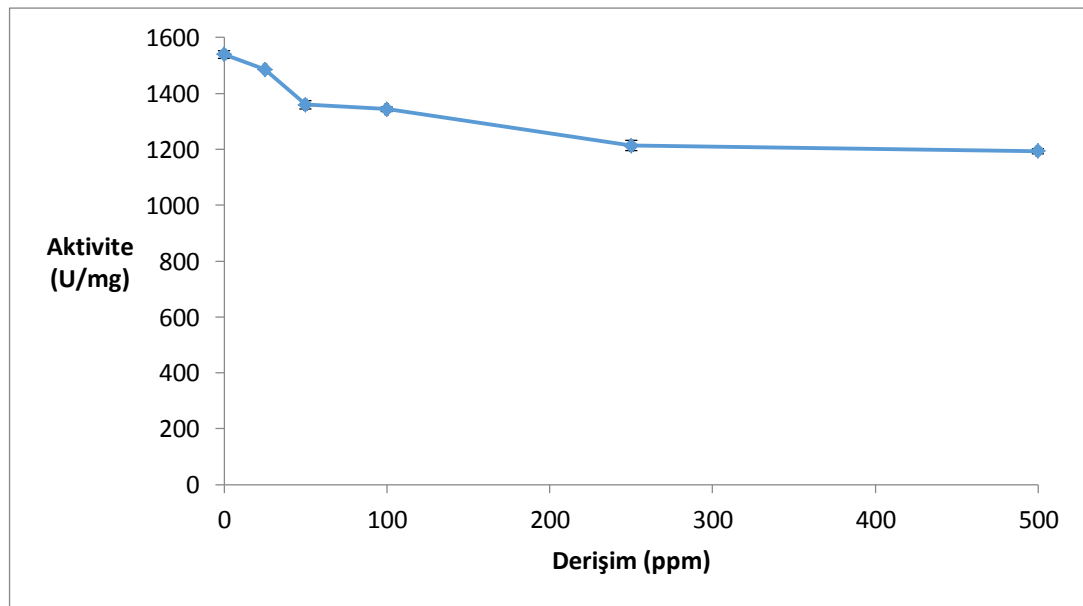
3.1.1. Lambda Cyhalothrin ve CAT'ın Etkileştirilmesi

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan lambda cyhalothrin ve CAT etkileştirilerek CAT enzimi aktivite, standart hata değerleri ölçülmüştür. Elde edilen değerler Çizelge 3.1.' de verilmiştir. Aktivite-konsantrasyon grafiği ise Şekil 3.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Farklı lambda cyhalothrin derişimlerinin CAT aktivitesi üzerine etkisi

| Derişim (ppm) | Aktivite±Standart Hata (U/mg) |
|---------------|-------------------------------|
| 0 | 1539±14a |
| 25 | 1486±3b |
| 50 | 1359±15c |
| 100 | 1343±7c |
| 250 | 1213±18d |
| 500 | 1193±10d |

Veriler Aritmetik ortalama ± Standart hata şeklinde verilmiştir. Çizelgedeki “a, b, c, d” harfleri derişimler arasındaki aktivite düzeylerinin ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistiksel ayırım vardır ($P < 0.05$, $n=3$).



Şekil 3.1. Lambda cyhalothrinin CAT aktivitesi üzerine etkisi

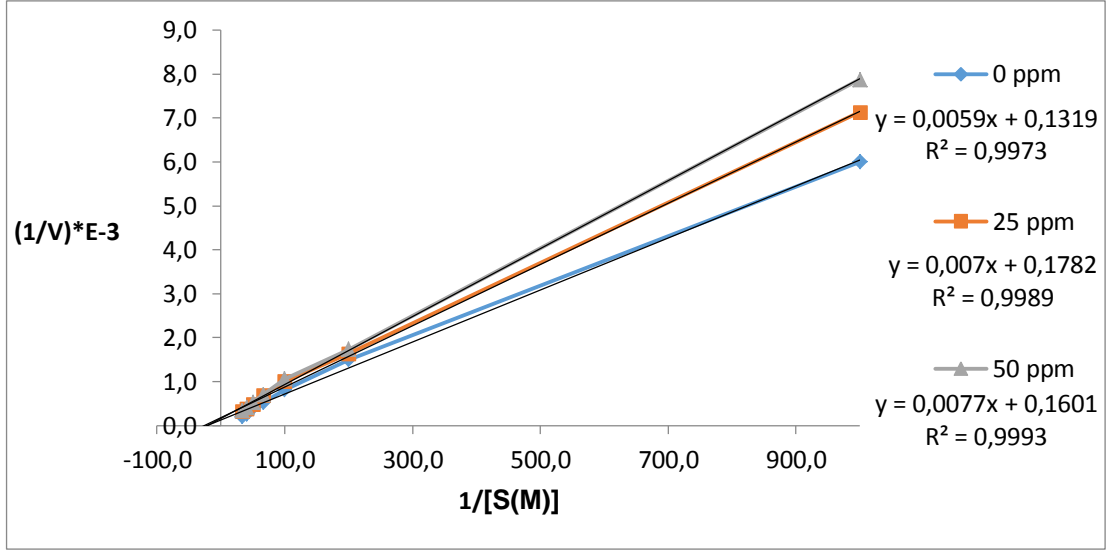
Çizelge 3.1. ve Şekil 3.1. incelendiğinde lambda cyhalothrin konsantrasyonu artarken CAT enzim aktivitesinin azaldığı gözlenmiştir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında tüm test edilen etkileşim konsantrasyonlarda CAT enzim aktivitesindeki inhibisyonların istatistiksel açıdan önemli olduğu gözlenmiştir. ($P < 0.05$, $n=3$). Lambda cyhalothrin'in 25, 50, 100, 250 ve 500 ppm etkisinde katalaz enzim aktivitesindeki yüzde azalışların sırasıyla 3,4; 11,7; 12,7; 21,2 ve 22,5 olduğu hesaplanmıştır.

3.1.2. Lambda cyhalothrinin inhibisyon türü

Farklı derişimlerde hazırlanan substrat (H_2O_2 : 1 mM, 5 mM, 10 mM, 15 mM, 20 mM, 25 mM ve 30 mM) ve lambda cyhalothrin (0 ppm, 25 ppm ve 50 ppm) derişimlerinde CAT aktivitesi incelenmiştir. Lineweaver-Burk grafiğinden Lambda cyhalothrin'in, CAT enzimini yarışmasız (nonkompetitif) olarak inhibe ettiği anlaşılmıştır. Aktivite değerleri Çizelge 3.2'de grafiği ise Şekil 3.2'te gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. CAT için farklı lambda cyhalothrin ve substrat derişimlerinde ölçülen aktivite değerleri

| H_2O_2 | 0 ppm | 25 ppm | 50 ppm |
|---------------------|---|---|---|
| $1/[S] \quad (1/M)$ | $1/V \quad (U/mg \quad prot)^{-1} \times 10^{-3}$ | $1/V \quad (U/mg \quad prot)^{-1} \times 10^{-3}$ | $1/V \quad (U/mg \quad prot)^{-1} \times 10^{-3}$ |
| 1000,0 | 6,0 | 7,1 | 7,9 |
| 200,0 | 1,5 | 1,6 | 1,7 |
| 100,0 | 0,8 | 1,0 | 1,1 |
| 66,7 | 0,5 | 0,7 | 0,7 |
| 50,0 | 0,4 | 0,5 | 0,5 |
| 40,0 | 0,3 | 0,4 | 0,4 |
| 33,3 | 0,2 | 0,3 | 0,3 |



Şekil 3.2. Lambda cyhalothrin ve CAT'ın etkileşimi Lineweaver-Burk grafiği

Lineweaver-Burk grafiğinden lambda cyhalothrinin, CAT enzimini yarışmasız (nonkompetitif) olarak inhibe ettiği anlaşılmıştır.

Yarışmasız (nonkompetitif) inhibisyon için Lineweaver-Burk eşitliği:

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{mak}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{mak}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)$$

$$\text{Eğim} = \frac{K_m}{V_{mak}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right), \text{den } K_i \text{ bulunabilir.}$$

0 ppm lambda cyhalothrin için V_{max} ve K_m değerleri;

$$V_{max} = 7581 \text{ U/mg,}$$

$$K_m = 4,47 \times 10^{-2} \text{ M,}$$

$$K_i = 0,00 \text{ M}$$

25 ppm lambda cyhalothrin için V_{max} ve K_m değerleri;

$$V_{max} = 5612 \text{ U/mg,}$$

$$K_m = 3,93 \times 10^{-2} \text{ M,}$$

$$K_i = 4,68 \times 10^{-8} \text{ M}$$

50 ppm lambda cyhalothrin için V_{max} ve K_m değerleri;

$$V_{max} = 6246 \text{ U/mg},$$

$$K_m = 4,81 \times 10^{-2} \text{ M},$$

$$K_i = 8,50 \times 10^{-8} \text{ M}$$

Lambda cyhalothrinin etkisiyle K_m değerlerinin birbirine yakın, V_{max} değerlerinin kontrole göre azaldığı belirlenmiştir.

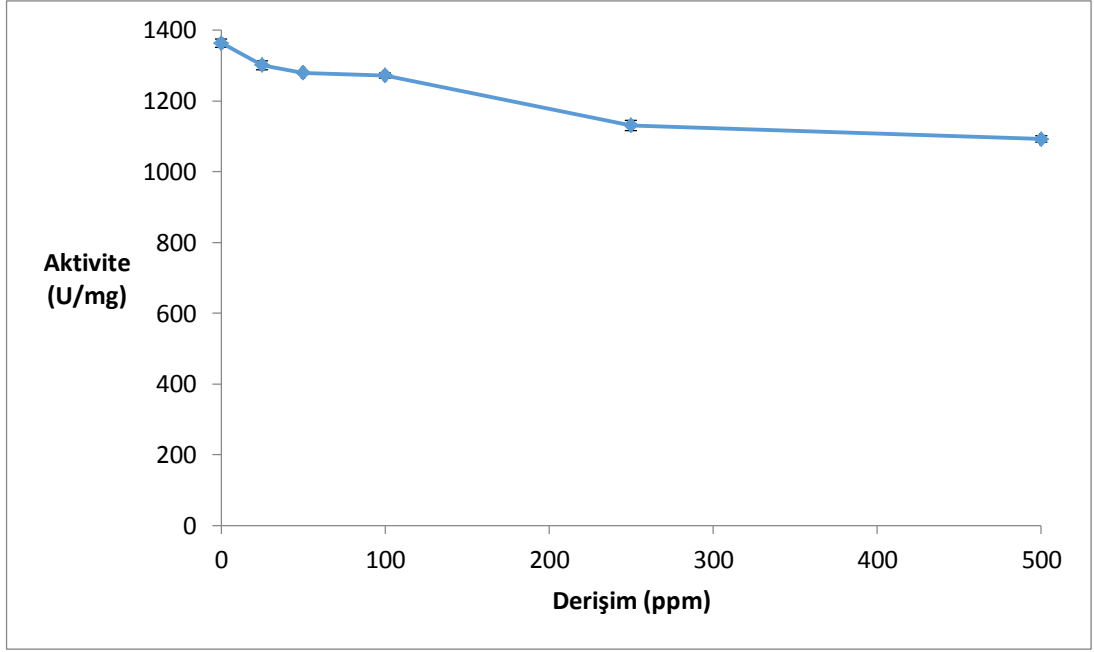
3.1.3. Fenthion ve CAT'ın etkileştirilmesi

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan fenthion ve CAT etkileştirilerek CAT enzimi aktivite, standart hata değerleri ölçülmüştür. Elde edilen değerler Çizelge 3.3.' de verilmiştir. Aktivite-konsantrasyon grafiği ise Şekil 3.3.' de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3. Farklı fenthion derişimlerinin CAT aktivitesi üzerine etkisi

| Derişim (ppm) | Aktivite±Standart Hata (U/mg) |
|---------------|-------------------------------|
| 0 | 1364±12a |
| 25 | 1301±12b |
| 50 | 1280±3b |
| 100 | 1272±7b |
| 250 | 1131±15c |
| 500 | 1092±9d |

Veriler Aritmetik ortalama ± Standart hata şeklinde verilmiştir. Çizelgedeki "a, b, c, d" harfleri derişimler arasındaki aktivite düzeylerinin ayrımını belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistiksel ayırım vardır ($P < 0.05$, $n=3$).



Şekil 3.3. Fenthionun CAT aktivitesi üzerine etkisi

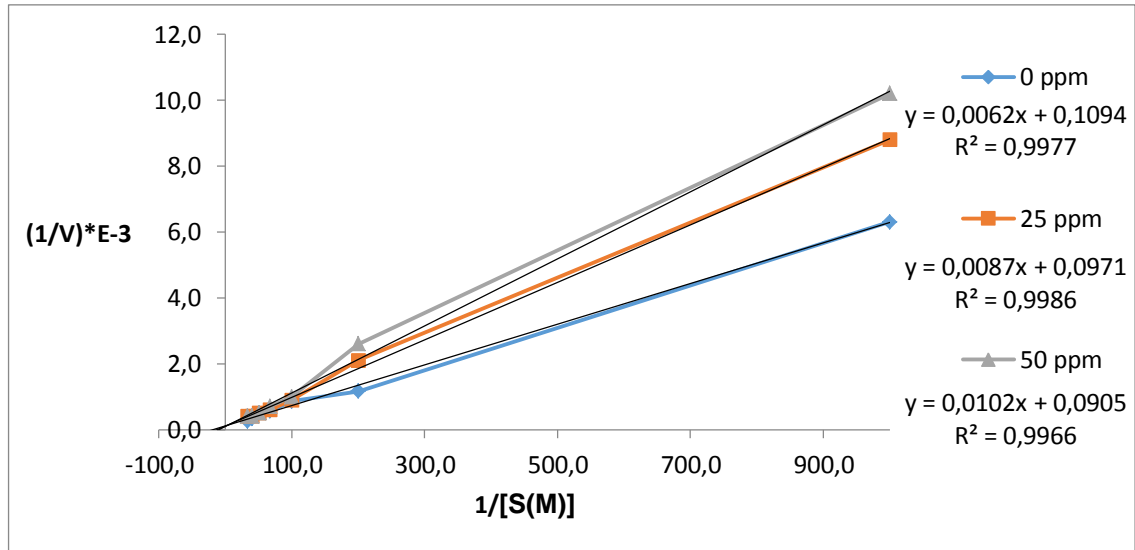
Çizelge 3.3. ve Şekil 3.3. incelendiğinde fenthion konsantrasyonu artarken CAT enzim aktivitesinin azaldığı gözlenmiştir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında tüm test edilen etkileşim konsantrasyonlarda CAT enzim aktivitesindeki inhibisyonların istatistiksel açıdan önemli olduğu gözlenmiştir. ($P < 0.05$, $n=3$). Fenthionun 25, 50, 100, 250 ve 500 ppm etkisinde katalaz enzim aktivitesindeki yüzde azalışların sırasıyla 4,6; 6,2; 6,7; 17,1 ve 19,9 olduğu hesaplanmıştır.

3.1.4. Fenthionun İnhibisyon Türü

Farklı derişimlerde hazırlanan substrat (H_2O_2 : 1 mM, 5 mM, 10 mM, 15 mM, 20 mM, 25 mM ve 30 mM) ve fenthion (0 ppm, 25 ppm ve 50 ppm) derişimlerinde CAT aktivitesi incelenmiştir. Lineweaver-Burk grafiğinden fenthionun, CAT enzimini yarışmalı (kompetitif) olarak inhibe ettiği anlaşılmıştır. Aktivite değerleri Çizelge 3.4'de grafiği ise Şekil 3.4'te gösterilmiştir.

Çizelge 3.4. CAT için farklı fenthion ve substrat derişimlerinde ölçülen aktivite değerleri

| H ₂ O ₂ | 0ppm | | 25 ppm | | 50 ppm | |
|-------------------------------|---|--|---|--|---|--|
| 1/[S] (1/M) | 1/V (U/mg ×10 ⁻³ prot) ⁻¹ | | 1/V (U/mg ×10 ⁻³ prot) ⁻¹ | | 1/V (U/mg ×10 ⁻³ prot) ⁻¹ | |
| 1000,0 | 6,3 | | 8,8 | | 10,2 | |
| 200,0 | 1,2 | | 2,1 | | 2,6 | |
| 100,0 | 0,9 | | 0,9 | | 1,0 | |
| 66,7 | 0,6 | | 0,6 | | 0,7 | |
| 50,0 | 0,5 | | 0,5 | | 0,5 | |
| 40,0 | 0,3 | | 0,4 | | 0,4 | |
| 33,3 | 0,3 | | 0,4 | | 0,4 | |



Şekil 3.4. Fenthion ve CAT'ın etkileşimi Lineweaver-Burk grafiği

Lineweaver-Burk grafiğinden fenthionun, CAT enzimini yarışmalı (kompetitif) olarak inhibe ettiği anlaşılmıştır.

Yarışmalı (kompetitif) inhibisyon için Lineweaver-Burk eşitliği:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{v_{\text{mak}}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{v_{\text{mak}}}$$

$$\text{Eğim} = \frac{K_m}{V_{\text{mak}}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) \text{den } K_i \text{ bulunabilir.}$$

0 ppm fenthion için V_{max} ve K_m değerleri;

$$V_{\text{max}} = 9141 \text{ U/mg,}$$

$$K_m = 5,67 \times 10^{-2} \text{ M,}$$

$$K_i = 0,00 \text{ M}$$

25 ppm fenthion için V_{max} ve K_m değerleri;

$$V_{\text{max}} = 10299 \text{ U/mg,}$$

$$K_m = 8,96 \times 10^{-2} \text{ M,}$$

$$K_i = 6,41 \times 10^{-8} \text{ M}$$

50 ppm fenthion için V_{max} ve K_m değerleri;

$$V_{\text{max}} = 11050 \text{ U/mg,}$$

$$K_m = 11,27 \times 10^{-2} \text{ M,}$$

$$K_i = 10,92 \times 10^{-8} \text{ M}$$

Fenthionun etkisiyle, V_{max} 'larda birbirine yakın değerler elde edilmiş, K_m 'lerde ise artışlar gözlenmiştir.

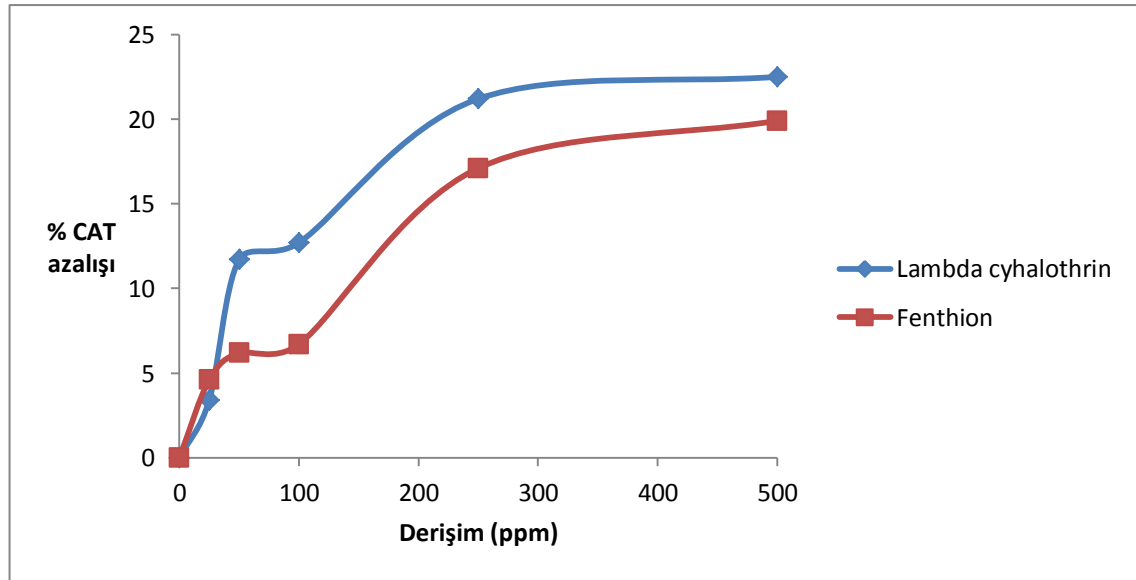
3.1.5. Lambda Cyhalothrin ve Fenthionun CAT Aktivitesi Üzerine Etkisinin Karşılaştırılması

Çizelge 3.5 ve Şekil 3.5 incelendiğinde lambda cyhalothrin ile etkileştirilen katalaz enziminin aktivitesindeki % azalışın, fenthion ile etkileştirilen katalaz enziminin aktivitesindeki % azalıştan daha yüksek olduğu görülmektedir. Yani aynı oranda artan pestisit derişimlerinde lambda cyhalothrin, fenthiona göre katalaz aktivitesini daha fazla düşürmüştür. 500 ppm'deki derişimler incelendiğinde katalaz aktivitesini, lambda cyhalothrine maruz bırakılan ölçümde % 22,5 oranında kaybederken, fenthiona maruz bırakılan ölçümde % 19,9 oranında kaybetmiştir. İki pestisitte % azalışlar birbirine

paralellik göstermiştir. 500 ppm de lambda cyhalothrin aktiviteyi fenthiona göre sadece % 2,6 oranında daha fazla düşürmüştür.

Çizelge 3.5. Lambda cyhalothrin ve fenthion ile etkileştirilen katalaz enzim aktivitesinin % azalışları

| Pestisit Derişimi (ppm) | Lambda cyhalothrin ile etkileştirilen CAT enzim aktivitesinde % Azalışlar | Fenthion ile etkileştirilen CAT enzim aktivitesinde % Azalışlar |
|-------------------------|---|---|
| 0 | 0 | 0 |
| 25 | 3,4 | 4,6 |
| 50 | 11,7 | 6,2 |
| 100 | 12,7 | 6,7 |
| 250 | 21,7 | 17,1 |
| 500 | 22,5 | 19,9 |



Şekil 3.5. Lambda cyhalothrin ve fenthion ile etkileştirilen katalaz enzim aktivitesinin % azalışlar grafiği

3.2. Tartışma

Bu çalışmada sentetik piretroit insektisit olan lambda cyhalothrin ve organik fosforlu insektisit olan fenthionun CAT enzimi ile etkileşmesi sonucu enzim aktivite değişimi belirlenmiştir.

Lambda cyhalothrin'in 25, 50, 100, 250 ve 500 ppm etkisinde katalaz enzim aktivitesindeki yüzde azalışların sırasıyla 3,4; 11,7; 12,7; 21,2 ve 22,5 olduğu hesaplanmıştır. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında tüm test edilen etkileşim konsantrasyonlarda CAT enzim aktivitesindeki inhibisyonların istatistiksel açıdan önemli olduğu gözlemlenmiştir ($P<0.05$, $n=3$). Bu verilerden anlaşıldığı üzere lambda cyhalothrin konsantrasyonu artarken CAT enzim aktivitesinin azaldığı gözlemlenmiştir.

El-demerdash (2007), eritrositler üzerine, lambda cyhalothrinin etkisini incelemiştir. Lambda cyhalothrinin, çeşitli konsantrasyonlarda (0; 0,1; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0 mM), eritrositlerde, tiyobarbütirik asitin konsantrasyonunun artmasının sonucu olarak oksidatif strese neden olduğu belirlenmiştir. Lambda cyhalothrin, sülfidril grup (-SH) içeriğinde ve asetilkolin esterase, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon S-transferaz aktivitelerinde hafif düzeyde azalmaya yol açmıştır. C Vitamini (20 mM) ve E vitamini (2 mM) ile eritrositlerin öninkübasyonu ile lambda cyhalothrinin oluşturduğu sitotoksik etkiler, hafifçe bertaraf edilmiştir. Bizim yaptığımız çalışmada da lambda cyhalothrinin konsantrasyonunun artırılmasıyla, katalaz aktivitesinde azalmalar görülmüştür.

El-demerdash (2011), organofosfat ve piretroit karışımı insektisitlerin (% 25 fenitrothion, % 2,5 lambda cyhalothrin ve % 6 piperonil butoksit) farklı konsantrasyonlarda (0; 0,1; 1; 10; 100 ve 1000 mM) sıçan beyininde antioksidan ve oksidatif stres biyobelirteçleri üzerine etkilerini incelemiştir. Beyin homojenatını 37 ° C'de, 0, 30, 60, 120, 180 ve 240 dk zaman aralıkları ile insektisit karışımına maruz bırakmıştır. İşlem sonrası sıçan beyininde, indirgenmiş glutatyon düzeylerinde (GSH), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon S-transferaz (GST) ve asetil kolinesteraz aktivitelerinde ve protein içeriğinde azalma olduğunu gözlemlemiştir. Sonuç olarak kullanılan insektisitlerin, sıçan beyininde önemli oksidatif hasara neden olduğunu belirtmiştir. El-demerdash'ın 2011'de organofosfat ve piretroit karışımı insektisitleri ile yapmış olduğu bu çalışma, El-demerdash'ın 2007'de lambda

cyhalothrin ile yaptığı ve bizim lambda cyhalothrin ile yaptığımız çalışma ile katalaz aktivitesi üzerine benzer etkiler oluşturmuştur.

Fetoui ve vd. (2010), lambda cyhalothrinin erkek sıçanların böbreklerindeki biyokimyasal değişiklikler, oksidatif strese neden olan parametreler, enzim aktiviteleri üzerine olan etkisini ve C vitaminin bu etkiyi azatıp azaltmadığını araştırmışlardır. Erkek sıçanların böbreklerindeki, böbrek fonksiyonu, histopatoloji, doku malondialdehit (MDA), protein karbonil (PCO) düzeyleri, antioksidan enzim aktiviteleri ve indirgenmiş glutasyon (GSH) düzeylerini değerlendirmişlerdir. Sıçanları 3 hafta lambda cyhalothrine maruz bıraktıklarından dolayı, böbrek MDA ve protein karbonil düzeyinde önemli bir artış gözlemlenmiş, C vitamini ile birlikte uygulamada MDA düzeyinde azalma belirtmiş, böbrekte ciddi vakuolleşme, hücrelerde süzülme sergilemiş ve genişletilmiş tübüler lümen gözlemlenmişlerdir. Katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutasyon peroksidaz (GPx), glutasyon redüktaz (GR) ve glutation-S-transferaz (GST) aktivitelerinde lambda cyhalothrine maruz kalma nedeniyle hafif düzeyde azalma gözlemlenmişlerdir. Lambda cyhalothrinin, C vitamini ile birlikte uygulanması ile birlikte, amino transferazların (AST ve ALT) aktivitelerinde, laktat dehidrogenaz (LDH), kreatinin, üre düzeyi ve antioksidan durumlarında gelişme olduğunu tespit etmişlerdir. Lambda cyhalothrin erkek sıçanların böbreklerinde enzim aktivitelerini azalttığı gibi yaptığımız çalışmada sıçır karaciğer katalazının aktivitesini de azaltmıştır.

Lambda cyhalothrin için 0 ppm, 25 ppm, ve 50 ppm derişimlerde V_{max} (7581 U/mg, 5612 U/mg, ve 6246 U/mg) ve K_m ($4,47 \times 10^{-2}$ M, $3,93 \times 10^{-2}$ M, ve $4,81 \times 10^{-2}$ M) değerleri hesaplanmıştır. Farklı derişimlerde hazırlanan substrat (H_2O_2 : 1 mM, 5 mM, 10 mM, 15 mM, 20 mM, 25 mM ve 30 mM) ve lambda cyhalothrin (0 ppm, 25 ppm ve 50 ppm) derişimlerinde CAT aktivitesi incelenmiş ve Lineweaver-Burk grafiğinden Lambda cyhalothrin'in, CAT enzimini yarışmasız (nonkompetitif) olarak inhibe ettiği anlaşılmıştır. Lambda cyhalothrinin etkisiyle K_m değerlerinin birbirine yakın, V_{max} değerlerinin kontrole göre azaldığı belirlenmiştir. Yarışmasız (nonkompetitif) inhibisyonun belirgin özelliği, inhibitör varlığında, Michaelis sabitinin (K_m) değişmemesi ve maksimum hızın (V_{max}) düşmesidir (Fersht, 1985). Bu nedenle, lambda cyhalothrinin, CAT enziminine yarışmasız (nonkompetitif) olarak bağlandığını önermekteyiz.

Bouyahia ve vd. (2011) siyanürün, sığır karaciğer katalazına bağlanması için yarışmasız (nonkompetitif) inhibisyonu önermişlerdir. Buna benzer bir şekilde, çalıştığımız pestisit olan lambda cyhalothrinde de siyano grubu bulunmaktadır.

Başka bir çalışmada Karadağ ve Bilgin (2010) fludioxonilin, süperoksit dismutaz'ı (SOD) yarışmasız (nonkompetitif) olarak inhibe ettiğini belirlemişlerdir. Fludioxonilin yapısına bakıldığında, fludioxonilin yapısında da siyano grubunun bulunduğu belirlenmiştir.

Fenthionun 25, 50, 100, 250 ve 500 ppm etkisinde katalaz enzim aktivitesindeki yüzde azalışların sırasıyla 4,6; 6,2; 6,7; 17,1 ve 19,9 olduğu hesaplanmıştır. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında tüm test edilen etkileşim konsantrasyonlarda CAT enzim aktivitesindeki inhibisyonların istatistiksel açıdan önemli olduğu gözlemlenmiştir ($P < 0.05$, $n=3$). Bu verilerden anlaşıldığı üzere fenthion konsantrasyonu artarken CAT enzim aktivitesinin azaldığı gözlemlenmiştir.

Altuntaş ve Delibaş, (2002), fenthionun serum kolinesteraz (ChE), karaciğer hasarını ilgilendiren enzimler, lipid peroksidasyonu (LPO) üzerine etkilerini, E vitamini ve C vitaminin kombinasyonun koruyucu etkisini incelemişlerdir. Sonuçlar, in vivo olarak, fenthionun LPO'yu, aspartat aminotransferazı (AST), alkali fosfatazı (ALP), gama-glutamilttransferazı (GGT) ve laktat dehidrojenazı (LDH) hafif arttırdığını, ChE ve alanin aminotransferaz (ALT) aktivitelerini hafif arttırdığını göstermiştir. Ayrıca, E vitamini ve C vitaminin kombinasyonun muamalesi ile LPO'da ve AST aktivitesinde hafif azalma gözlemlenmiştir. İn vitro deneyde, ChE ve ALT aktiviteleri fenthion tarafından inhibe edilmiştir. Bu sonuçlardan, fenthionun, karaciğer hasarına yol açtığını çıkarmışlardır. Altuntaş ve Delibaş (2002) yaptıkları bu çalışmada, fenthionun in vitro olarak ChE ve ALT aktivitelerini inhibe ettiğini bulmuşlardır. Benzer bir şekilde yaptığımız çalışmada, katalaz enzimide fenthion tarafından inhibe edilmiştir.

Cemek ve vd. (2010), yaptıkları bir çalışmada sıçanların organofosfat zehirlenmesine karşı E vitamini, Selenyum ve E vitamini + Se etkisini ve bunun dokulardaki eser ve ana elementler ve antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisini incelemişlerdir. Fenthion ile etkileştirilen grupta (kontrol grup), antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz aktivitelerinin arttığını belirlemişlerdir. E vitamini, Selenyum ve E vitamini + Se ile etkileşim ile birçok dokuda biyo-element seviyelerinin arttığını belirtmişlerdir. Yapılan bu çalışma,

yaptığımız çalışma ile tezat oluşturmaktadır. Cemek ve vd. (2010) yaptıkları çalışmada katalaz aktivitesi fenthion ile etkileşim sonucu artarken, yaptığımız çalışmada katalaz aktivitesi fenthion ile etkileşim sonucu azalmaktadır.

Sefi ve vd. (2011), fenthion gibi toksik bileşiklerin neden olduğu oksidatif hasarı ve karaciğer hasarını önlemek için yavşan otu (*Artemisia campestris*) (Ac) yaprak tozunun rolünü dişi sıçan ve yavrularının üzerine araştırmışlardır. Çalışmada dişi Wistar sıçanlar dört gruba ayrılıp: Grup I'e, kontrol grubu olarak standart diyet verilip, grup II'ye, ağızdan, 551 ppm fenthion verilip, grup III hem 551 ppm fenthion ve deneysel diyet (% 5 yavşan otu) ve grup IV'e deneysel diyet (% 5 yavşan otu) verilmiştir. Yetişkin sıçanlara su içerek ağızdan 551 ppm fenthion verilmesiyle, karaciğer hasarınının belirteçlerin düzeylerinde, transaminaz ve laktat dehidrojenaz enzimlerinde, total kolesterol ve trigliseritlerde, hem de karaciğersel malondialdehit düzeylerinde, artış gözlemlenmiştir. Özellikle, fenthion muamelesi ile, katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutation peroksidaz (GPx) aktivitelerinde ve glutatyon (GSH) düzeylerinde artış gözlemlenmiştir. Yavşan otunun muamelesi ile fenthion tarafından başlatılan karaciğer hasarının önlendiğini belirtmişlerdir. Sefi ve vd. (2011) yaptıkları çalışma, yaptığımız çalışma ile zıtlık teşkil etmektedir.

Fenthion için 0 ppm, 25 ppm, ve 50 ppm derişimlerde V_{max} (9141 U/mg, 10299 U/mg, ve 11050 U/mg) ve K_m ($5,67 \times 10^{-2}$ M, $8,96 \times 10^{-2}$ M, ve $11,27 \times 10^{-2}$ M) değerleri hesaplanmıştır. Farklı derişimlerde hazırlanan substrat (H_2O_2 : 1 mM, 5 mM, 10 mM, 15 mM, 20 mM, 25 mM ve 30 mM) ve fenthion (0 ppm, 25 ppm ve 50 ppm) derişimlerinde CAT aktivitesi incelenmiş ve Lineweaver-Burk grafiğinden fenthionun, CAT enzimini yarışmalı (kompetitif) olarak inhibe ettiği anlaşılmıştır. Fenthionun etkisiyle, V_{max} 'larda birbirine yakın değerler elde edilmiş, K_m 'lerde ise artışlar gözlemlenmiştir. Yarışmalı (kompetitif) inhibisyonun belirgin özelliği, inhibitör varlığında, Michaelis sabitinin (K_m) artması ve maksimum hızın (V_{max}) değişmemesidir (Keha ve Küfrevioğlu 2011). Bu nedenle, fenthionun, CAT enzimini yarışmalı (kompetitif) olarak inhibe ettiğini önermekteyiz. Fenthion molekülünün, hidrojen peroksida benzememesine rağmen radikal oluşturduğu ve bu radikallerin enzimin hem grubuna bağlanmak için yarıştığını düşünmekteyiz.

Daha önce yapılan çalışmalar incelendiğinde pestisitlerin toksik etki göstermesi, oksidatif stresi artırması, katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon

redüktaz ve glutation-S-transferaz, asetil kolinesteraz aktivitelerinde inhibisyona neden olması gibi durumlar göz önünde bulundurularak elde edilen bulgular genellikle çalışmamızı desteklemektedir.

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

4.1 Sonuçlar

Yapılan deneyler sonucunda aşağıdaki sonuçlar bulunmuştur.

- 1) 0 ppm'den 500 ppm'e kadar artan lambda cyhalothrin derişimleri ile etkileştirilen katalaz (CAT) enziminin aktivitesinde azalma gözlenmiştir.
- 2) Lambda cyhalothrin'in katalazı (CAT) yarışmasız (nonkompetitif) olarak inhibe ettiği tespit edilmiştir.
- 3) 0'dan 500 ppm'e kadar artan fenthion derişimleri ile etkileştirilen CAT enziminin aktivitesinde azalma gözlenmiştir.
- 4) Fenthion'un katalazı (CAT) yarışmalı (kompetitif) olarak inhibe ettiği tespit edilmiştir.
- 5) Lambda cyhalothrin'in fenthion'a oranla katalaz enzim aktivitesini daha fazla azalttığı belirlenmiştir.

4.2. Öneriler

- 1) CAT enzimi ile farklı pestisitler etkileştirilebilir.
- 2) Lambda cyhalothrin ve fenthion ile farklı enzimler etkileştirilebilir.
- 3) Sığır karaciğerinden elde edilen CAT enzimi yerine başka kaynaklardan elde edilen CAT enzimi kullanılabilir.
- 4) CAT enzimini başka hangi inhibitörlerin inhibe ettiği araştırılabilir.

KAYNAKLAR

- Aebi, H., Scherz, B., Skvaril, F., Wyss, S. R. (1974). Heterogeneity of erythrocyte catalase II, Eur. J. Biochem., (48): 137-145 .
- Akkuş, İ. (1995). Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Sağlık Dizisi 5, Mimoza Basım Yayım Dağıtım, Konya.
- Aksoy, M., (2008). Beslenme biyokimyası, 2. Baskı, Hatipoğlu Yayınları, Ankara.
- Altuntaş, İ., Delibaş, N., (2002), The effects of fenthion on lipid peroxidation and some liver enzymes: The possible protective role of vitamins E and C, Turk J Med Sci,32: 293-297
- Anderson, L.A. and Dawson, J.H. (1991).EXAFS Spectroscopy of Heme containing Oxygenases and Peroxidases, Structure and Bonding, 64: 1- 40.
- Bouyahia, N., Hamlaoui, M.L., Hnaïen M., Lagarde, F., Jaffrezic-Renault N. (2011). Impedance spectroscopy and conductometric biosensing for probing catalase reaction with cyanide as ligand and inhibitör, Bioelectrochemistry, 80, 155–161.
- Cemek, M., Büyükokuroğlu, M.E., Büyükben, A., Aymelek, F., Özcan, L., (2010), Effects of vitamin E and selenium on tissue bio-element status in organophosphate toxicity of rats, Pesticide Biochemistry and Physiology, 98:9–18
- Çinkılığlu, E. , (2007). *Cyprinus carpio*'da beyin dokusunda fenthionun antioksidan savunma sistemi, lipid peroksidasyonu ve Asetilkolinesteraz enzim aktivitesine N-asetilsistein modülatörlüğünde etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.

- Çimen, Ç., Öter, Ç., Demir, H., Savran, A., (2005). Rat eritrositlerinden elde edilen katalaz enzimin karakterizasyonu ve kinetiğinin incelenmesi, Veterinerlik Fakültesi Dergisi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van, 16 (1): 15-20.
- Doyotte, A., Cossu, C., Jacqun, M.C., Babut, M., Vasseur, P., (1997). Antioxidant enzymes, glutathione and lipid peroxidation as relevant biomarkers of experimental or field exposure in the gills and digestive gland of freshwater bivalve *Unio tumidus*, Aquatic Toxicology, 39: 93-110.
- El-Demerdash, F.M., (2007). Lambda-cyhalothrin-induced changes in oxidative stress biomarkers in rabbit erythrocytes and alleviation effect of some antioxidants, Toxicology in Vitro, 21: 392–397
- El-Demerdash, F.M., (2011). Lipid peroxidation, oxidative stress and acetylcholinesterase in rat brain exposed to organophosphate and pyrethroid insecticides, Food and Chemical Toxicology, 49: 1346–1352
- Fersht A. (Ed.) (1985). Enzyme structure and mechanism. W.H. Freeman and Company, New York.
- Fetoui H., Garoui, E.M., Makni-ayadi, F., Zeghal, N., (2008). Oxidative stress induced by lambda-cyhalothrin (LTC) in rat erythrocytes and brain: Attenuation by vitamin C, Environmental Toxicology and Pharmacology, 26: 225–231
- Fetoui H., Makni, M., Garoui, E.M., 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
- Gözükara, E.M., (2011). Biyokimya, 5. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- Güler,Ç., Çobanoğlu,Z., (1997), Pestisitler, Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi no:52, Ankara.

- He, L.M., Troiano, J., Wang, A., Goh, K., (2008). Environmental chemistry, ecotoxicity, and fate of lambda-cyhalothrin. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 195: 71-91.
- Kanter, A. (2009). Zirai mücadele ilaçlarından fenthion'un su kurbağasının antioksidan savunma sistemi ve lipid peroksidasyon seviyeleri üzerine etkileri, yüksek lisans tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van.
- Karadag H., Bilgin R. (2010). Effects of cyprodinil and fludioxonil pesticides on human superoxide dismutase, *Asian J Chem*, 22, 8147-8154.
- Keha, E. E., Küfrevioğlu Ö. İ., (2011). *Biyokimya*, 8. Baskı, Aktif Yayınevi, İstanbul.
- Lartillot, S., Athios, A., Kadziora, P. (1988). Purification and characterization of new fungal catalase, *Preparative Biochemistry*, 18 (3): 241-246.
- Lledias, F., Rangel, P., Hansbergt, W., (1998). Oxidation of catalase by singlet oxygen. *The Journal of Biological Chemistry*, 273: 10630-10637.
- Lowry, O. H., Farr A. L., Rondall, R. J., Rosebrough N. J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 193:261-275.
- Mazmancı, B., (2003). Lambda-cyhalothrinin swiss albino ratlarda biyokimyasal ve hematolojik etkileri, Doktora Tezi, Mersin Üniversitesi, Mersin.
- Meb, (2012), Çevre Sağlığı, Pestisitler, Ankara.
- Moore, A., Waring, C.P., (2001). The effects of a synthetic pyrethroid pesticide on some aspects of reproduction in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.), *Aquatic Toxicology*, 52: 1-12.

- Oros, D.R., Werner, I., (2005). Pyrethroid insecticides: An analysis of use patterns, distributions, potential toxicity and fate in the Sacramento–San Joaquin Delta and Central Valley. White Paper for the Interagency Ecological Program SFEI Contribution 415. San Francisco Estuary Institute, Oakland, CA, USA.
- Öncüer, C., (2000). Tarımsal zararlılarla savaş yöntemleri ve ilaçları, 4. Baskı, Aydın.
- Özhan, F., (2014). Katalaz aktivitesi üzerine cyprodinil ve fludioxonil pestisitlerin etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Adıyaman Üniversitesi, Adıyaman.
- Pamuk, F. (2000). Biyokimya, 1. Baskı, Gazi Kitabevi, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi, Ankara.
- Piner, P. , (2005). Fenthion içeren ortamda BSO ve NAC' nin *oreochromis niloticus*'da beyin dokusunda glutasyon metabolizması, lipid peroksidasyonu ve asetilkolinesteraz aktivitesine etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.
- Piner, P., (2009). Lambda cyhalothrinin *oreochromis niloticus*'da karaciğerde piperonil bütoksit modülatörlüğünde oksidatif stres potansiyelinin belirlenmesi, stres proteinleri ve apoptozis üzerine etkileri, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.
- Sefi M., Bouaziz H., Soudani N., Boudawara T., Zeghal N. (2011). Fenthion induced-oxidative stress in the liver of adult rats and their progeny: Alleviation by *Artemisia campestris*, Pesticide Biochemistry and Physiology, 101;71–79.
- Sen, C.K., Packer, L., (2000). Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. American Journal of Clinical Nutrition, 72: 653-669.

- Seriner, R., Bilgin, R., (2012). Katalaz enziminin hiyardan (*cucumis sativus*) saflaştırılması, Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, Çukurova Üniversitesi, Adana, 28-4.
- Soderlund, D.M., Clark, J.M., Sheets, L.P., Mullin, L.S., Piccirillo, V.J., Sargent, D., Stevens, J.T., Weiner, M.L., (2002). Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment, *Toxicology*, 171: 3-59.
- Thomas, M., (1995). The role of free radicals and antioxidants: how do we know that they are working. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.*, 35 (1): 21-39.
- Tukel, S.S., Alptekin, O. (2004). Immobilization and kinetics of catalase onto magnesium silicate, *Process Biochemistry*, 39 (2004): 2149–2155.
- Tüzün, C. , (2005). Biyokimya, 5. Baskı, Palme Yayıncılık, Ankara.
- Vasudevan, P. T., Weiland, R.H. (1994). Studies on the Morphology of Immobilized Catalase, *The Chemical Engineering Journal*, 55:B41-B45.
- Yüzüğüllü, Y., Ögel, Z.B., (2013). Çift aktiviteli katalaz-fenol oksidazının ve diğerkatalazların gıda sanayisindeki önemi, *Gıda*, 38(2): 111-118.
- World Health Organization (WHO), (1990). International programme on chemical safety. Environmental Health Criteria, 99, Cyhalothrin. Geneva, Switzerland.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Filiz KAPLAN
Doğum Yeri : Besni-Adıyaman
Doğum Tarihi : 11.10.1984
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce (Orta Seviye)

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Besni Lisesi, 2001.
Lisans : Karadeniz Teknik Üniv. Eğitim Fakültesi,
Kimya Öğretmenliği Bölümü, Trabzon, 2009.
Yüksek Lisans : Adıyaman Üniversitesi – Fen Bilimleri Enstitüsü, 2015.