

**T.C.
YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

Yüksek Lisans Tezi

**İNDOKSAKARB'IN KAN DOKU ÜZERİNDE İN VİTRO
TOKSİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

ELÇİN ELİF HOLTA

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Dilek PANDIR**

Yozgat 2020

**T.C.
YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

Yüksek Lisans Tezi

**İNDOKSAKARB'IN KAN DOKU ÜZERİNDE İN VİTRO
TOKSİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

ELÇİN ELİF HOLTA

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Dilek PANDIR**

**Bu çalışmada, Yozgat Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
Tarafından 6601-FBE/19-313 Kodu İle Desteklenmiştir.**

Yozgat 2020



YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ
TEZ ONAY FORMU

T.C.
YOZGAT BOZOK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Enstitümüzün Biyoloji Anabilim Dalı Tezli Yüksek Lisans Programı 70110318002 numaralı öğrencisi Elçin Elif HOLTA'nın hazırladığı "İndoksakarb'm Kan Doku Üzerinde İn Vitro Toksik Etkilerinin Belirlenmesi" başlıklı tezi ile ilgili tez savunma sınavı, Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri gereğince 06/01/2020 Pazartesi günü saat 13:00'da yapılmış, tezin onayına oy birliği/oy çokluğu ile karar verilmiştir.

Başkan : Dr. Öğr. Ü. Sedat PER

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Dilek PANDIR
(Danışman)

Jüri Üyesi : Dr. Öğr. Ü. Zekiye KOCAKAYA

ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun 09/01/2020 tarih ve 2 sayılı Enstitü Yönetim Kurulu Kararı ile onaylanmıştır.

09/01/2020

Prof. Dr. Mustafa SACMACI
Müdür



İÇİNDEKİLER

ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
TABLO LİSTESİ	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
KISALTMALAR LİSTESİ	viii
1.GİRİŞ	1
1.1. İndoksakarb.....	2
1.2. Oksidatif Stres.....	4
1.3. Malondialdehit (MDA).....	5
1.4. Süperoksit Dismutaz (SOD)	5
1.5. Katalaz (CAT).....	6
1.6. Glutasyon Peroksidaz (GPx)	7
1.7. DNA Hasarı ve Komet Testi.....	7
2. MATERYAL VE YÖNTEM	9
2.1. İnsan Kanı.....	9
2.2. Kimyasallar	9
2.3. Kanlara uygulama planı.....	9
2.3.1. Kontrol Grubu	9
2.3.2. Uygulama Grubu	9
2.4. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	9
2.4.1. Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi	9
2.4.2. Katalaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi	10

2.4.3. Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi	10
2.5. Malondialdehit Miktarının Belirlenmesi	10
2.6. Komet Testi İle DNA Hasarının Belirlenmesi.....	10
2.7. Verilerin Değerlendirilmesi	11
3. BULGULAR.....	12
3.1. Biyokimyasal Bulgular	12
3.1.1. Enzim Aktivitelerinin Değerlendirilmesi	12
3.1.2. MDA Miktarının Değerlendirilmesi.....	14
3.2. Komet analizi	14
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	17
KAYNAKÇA.....	20
ÖZGEÇMİŞ	28

İNDOKSAKARB'IN KAN DOKU ÜZERİNDE İN VİTRO TOKSİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Elçin Elif HOLTA

Yozgat Bozok Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

2020; Sayfa: 28

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Dilek PANDIR

ÖZET

Günümüzde kullanımı çarpıcı bir şekilde artan pestisitler, modern tarımda böcekler, yabancı otlar, mikroorganizmalar gibi zararlıları kontrol altına almak ve ürün verimini arttırmak için kullanılmaktadır. Bu çalışmada 7 farklı kişiden alınan kan örneklerinde indoksakarb'ın DNA'da oluşturduğu yapısal değişiklikler ve antioksidan enzim aktivitelerinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir. Çalışmamızda kullanılan kan örnekleri kontrol grubu ve uygulama grubu olmak üzere iki grup olarak çalışılmıştır. Uygulama grubuna artan dozlarda indoksakarb maddesi uygulandıktan sonra malondialdehit miktarı, antioksidan enzim aktivitesi ve DNA'da oluşan hasarlar kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Komet testine göre, artan dozlarda verilen indoksakarb DNA kuyruk yüzdesi, kuyruk uzunluğu ve kuyruk momenti değerlerinde artışa neden olarak DNA hasarı belirlenmiştir. Antioksidan savunma sistemi enzimlerinden süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) enzim aktiviteleri ve malondialdehit (MDA) miktarı kontrol ve uygulama gruplarında spektrofotometrede ölçülmüş karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Antioksidan enzim aktivitesinde yer alan enzimlerin aktiviteleri istatistiksel olarak azalırken MDA miktarı artış göstermiştir. Bu çalışma ile indoksakarb insektisitinin doğada kontrolsüz kullanımının canlılara ve çevreye zararlı etkileri olabileceği gösterilmiştir. Ancak mevcut çalışma bu konuda yapılmış bir ön çalışma niteliğinde olup literatüre katkı sağlayacak ve bundan sonraki kapsamlı çalışmalara da ışık tutacaktır.

Anahtar Kelimeler: Pestisit, İndoksakarb, Kan dokusu, Antioksidan enzimler, Komet

DETERMINATION OF IN VITRO TOXIC EFFECTS OF INDOXACARB ON BLOOD TISSUE

Elçin Elif HOLTA

**Yozgat Bozok University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology
Master of Science Thesis**

2020; Page: 28

Thesis Supervisor: Prof. Dr. Dilek PANDIR

ABSTRACT

Pesticides, whose use has increased dramatically, are used in modern agriculture to control pests such as insects, weeds, microorganisms and to increase crop yields in nowadays. In this study, it was aimed to evaluate the structural changes caused by indoxacarb in DNA and antioxidant enzyme activities in blood samples taken from 7 different individuals. Blood samples used in our study were divided into two groups as control group and application group. After increasing doses of indoxacarb, the amount of malondialdehyde, antioxidant enzyme activity and DNA damage were compared with the control group. According to the comet test, DNA damage was determined with DNA tail percentage, tail length and tail moment with increasing the doses of indoxacarb. Antioxidant defense system enzymes which are superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) enzyme and malondialdehyde (MDA) were measured and evaluated in spectrophotometer in control and application groups. The activities of these enzymes involved in antioxidant enzyme decreased while the level of MDA increased statistically. In this study, uncontrolled use of indoxacarb insecticide in nature has been shown to have harmful effects on organisms and the environment. However, the present study has been a preliminary study on this subject and will contribute to the literature and will shed light on the following comprehensive studies.

Key words: Pesticide, Indoxacarb, Blood tissue, Antioxidant enzymes, Comet.

TEŞEKKÜR

Tez alıőmam boyunca bana her konuda yol gösteren Sayın hocam Prof. Dr. Dilek PANDIR'a, alıőmalarımnda bana yardımcı olan ğr. Gr. Fatih Oğuz BEKDEMİR'e, Arő. Gör. Ali DEMİRBAĞ'a ve tüm çalıőmam boyunca maddi ve manevi yönden desteklerini esirgemeyen aileme teőekkürlerimi borç bilirim.

Bu tez alıőması Yozgat Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje Kodu: 6601-FBE/19-313). Maddi desteklerinden dolayı Yozgat Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederim.

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1: Kan dokusunda kontrol ve uygulama gruplarında DNA hasarının (\pm SD) % DNA, kuyruk uzunluğu ve kuyruk momentinin ortalama değerleri.....	16
---	----



ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

- Şekil 1.1:** İndoksakarb'ın kimyasal yapısı4
- Şekil 3.2:** Kontrol grubu ve uygulama gruplarının SOD aktivitelerinin karşılaştırılması 12
- Şekil 3.3:** Kontrol ve uygulama gruplarında CAT enzim aktivitelerinin karşılaştırılması 13
- Şekil 3.4:** Kanda GPx enzim aktivitelerinin kontrol grubu ve uygulama grupları ile karşılaştırılması 13
- Şekil 3.5:** Kanda MDA seviyelerinin kontrol grubu ve uygulama grupları ile karşılaştırılması 14

KISALTMALAR LİSTESİ

DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
SOD	: Süperoksit Dismutaz
CAT	: Katalaz
MDA	: Malondialdehit
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
NADP	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Hidrojen Fosfat
LPO	: Lipit Peroksidasyonunu
Se-GPx	: Selenyuma bağımlı glutasyon peroksidaz

1. GİRİŞ

Pestisitler, tarımsal üretimi olumsuz şekilde etkileyen mantarlara, haşarelere, yabancı otlara ve kemiricilere karşı kullanılan kimyasal maddelere denir [1]. Pestisitler, ekonomik zehirler sınıfına girerler ve kullanıldıkları yerlere göre adlandırılırlar. Bunlar; böcek pestisitlerine insektisitler, mantar pestisitlerine fungusitler, kemirici pestisitlerine rodentisitler, yabancı ot pestisitlerine herbisitler, yumuşakça pestisitlerine molusitler, uyuz böcekleri ve parazit pestisitlerine akarisitler denir. Sağlık açısından tam bir güvenceye sahip olmayan pestisitlerin bir dereceye kadar toksisitesi vardır [2].

Pestisitlerin faydaları olmasına rağmen doğamızı kirleten zehirli maddeler olup, canlıların vücutlarında biyolojik olarak birikerek yoğunlaşmakta ve aynı zamanda giderek biyoderişiklenerek de daha büyük orana erişmektedir. Pestisitler her ne kadar tarımsal açıdan faydaları olsada aşırı kullanımı çok fazla kalıntı bırakır ve çevreyi de ciddi anlamda kirletmekten çeşitli yollarla besin zincirine katılıp insan ve hayvanların sağlığını tehdit etmektedir.

İnsektisit, günümüzde doğal ürünlerden elde edilen veya yapay kökenli olup ülkemizde yaygın olarak kullanılmaktadır. Zararlı böcekleri etkisiz hale getirmek için kullanılmakta olan insektisitlerin canlı organizmalardaki etkileri bilim dünyasının önemli araştırma konularından birisidir. Son yıllarda moleküler biyoloji, fizyoloji ve biyokimya alanında yapılan çalışmaların, insektisitlerin canlı organizma üzerinde hangi moleküler üzerine ekili olduklarına ilişkin bilgi birikiminin artması sağlanmıştır [1].

Ölüm olayları, pestisitler içinde en çok insektisitlerle olmaktadır [1]. İnsektisitlerin tarımsal üretimi arttırmak amacıyla bilinçsizce ve yaygın kullanılması, kolay elde edilmesinden dolayı zehirlenmeler de sık görülmektedir [2]. Kimyasal yapılarına göre insektisitler; klorlu hidrokarbonlar, karbamatlar, organik fosforular ve diğer insektisitler (alkoloid olanlar, anorganik yapıda olanlar) şeklinde sınıflandırılır [1-4]. Pestisitler içinde en yaygın zehirlenme sebebi organik fosforlu insektisitlerdir [5]. Endüstriyel ülkelere karşı gelişmekte olan ülkelere kıyasla daha fazla pestisit

kullanılmasına rağmen, gelişmekte olan ülkelerde daha fazla pestisit zehirlenmesine rastlanmaktadır [6].

İnsektisitler, tarımda ve birçok alanda yaygın olarak kullanılan böcek öldürücü kimyasal maddelerden biridir. İnsektisitlerin böcekler üzerine etkileri farklı mekanizma yolları ile olabilmektedir. İyon kanalları, hücrede yaşamsal öneme sahip olan iyonların hücreye giriş-çıkışlarını kontrol eden hücre zarına yerleşmiş trans-membran proteinler olup, insektisitlerin böcekler üzerindeki öldürücü etkisi için spesifik bölgeleri oluşturmaktadırlar. Son yıllarda sürdürülen çalışmalar insektisitlerin etkilediği fizyolojik yollar aracılığıyla insan sağlığına tehdit oluşturabileceğini göstermektedir [7].

Ev, toplum sağlığında ve tarımsal üretimin artırılmasında insektisitler önemli bir yere sahiptirler. Fakat ambalajlama, üretim veya kullanım esnasında yeterli özen gösterilmediğinde ciddi zehirlenme ve hatta bazı durumlarda ölümlere sebep olabilmektedirler. Ülkemizde de insektisitlerle zehirlenme olgularıyla sık sık karşılaşılmaktadır [8].

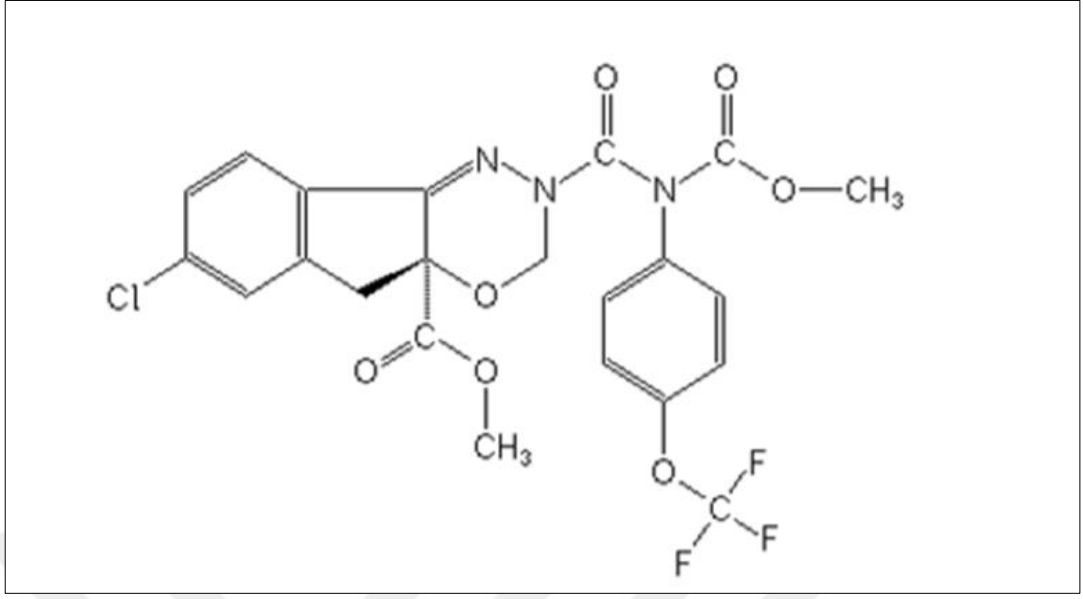
1.1. İndoksakarb

İndoksakarb (S)-methyl 7-chloro-2,5-dihydro-2-[[methoxycarbonyl [4-(trifluoromethoxy) phenyl]amino]carbonyl] indeno[1*i*2-*e*][1,3,4] oxadiazine-4a(3H)carboxylate) domates, fındık, elma ve pamuk üretiminde verimi arttırmak için kullanılan oksidiazin grubundan bir insektisittir. Hedef olmayan organizmalarda toksik etkisinin düşük düzeyde olduğu fakat böcek öldürme gücünün yüksek düzeyde olduğu bildirilmiştir. Etkisini hem memelilerin hem de böceklerin voltaj duyarlı sodyum kanallarını bloke etmesiyle gösterir [9]. İndoksakarbın sodyum kanallarını etkilemesiyle canlılarda toksik etkisini ortaya çıkardığı tespit edilmiştir. Bu bileşik, hiperpolarize membran potansiyelini etkilediği gibi depolarize membranlarda geri dönüşümsüz hasarlara sebep olmaktadır [10-14].

İndoksakarbın hedef olmayan organizmalar üzerinde toksik etkilerini araştırmaya yönelik çalışmalar oldukça azdır. İnsanlarda en yaygın görülen etkisi methemoglobinemidir [15, 16]. Tsurubuchi ve ark. (2003) sıçanların dorsal kök

ganglion hücreleri üzerinde yapılan çalışmada, indoksakarbin hücrelerde voltaj kapılı sodyum kanallarını bloke ettiği görülmüştür [17]. Zhao ve ark. (1999) yaptığı başka bir çalışmada da indoksakarbin memelilerin sinir hücrelerinin nikotinik asetilkolin reseptörlerine etki ettiği görülmüştür [18]. Ayrıca Viswanathan ve ark. (2013) tarafından ortaya konulan çalışma indoksakarbin zehirlenmesinin, solunum sıkıntısının etkilediği periferik nöropati ve turuncu idrar bulgularını ortaya çıkarmıştır [19].

İndoksakarbin çoğunlukla domates, lahana, patlıcan, pamuk gibi sebzeler ve armut, elma, kiraz gibi meyveler için kullanılır. İndoksakarbin, karbamatlar, organofosfatlar ve pretroidlere karşı direnç gösteren böcekler için kullanılan ilk ticari pirazolin tip insektisittir. İndoksakarbin çevre için güvenli, hedefte olmayan organizmalar için yüksek böcek öldürücü aktivite ve düşük zehirlilik gibi özellikleri olduğu ileri sürülmektedir. İnsanlar için indoksakarbin, pestisit veri tabanlarında toksik etkilerine yönelik herhangi bir bilgi bulunmadığı halde, laboratuvarında hayvanlar üzerindeki çalışmalar ile indoksakarba çeşitli yollarla maruz kalmış fare, sıçan, köpek ve tavşanların olumsuz etkilendiği görülmektedir. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda indoksakarbin etkileri olarak gözlerde iltihaplı akıntı, uyku hali, burun akıntısı, hareketsizlik, salya, titreme ve hızlı kilo kaybı görülmüştür. İnsanlarda ise yan etki olarak periferik nöropati olarak bilinen sinir ucu iltihabı, methemoglobinemi, rabdomiyoliz adı verilen kas dokularının hasarı, hemolitik anemi, akut böbrek yetmezliği, akut solunum sıkıntısı sendromu, kalp yetmezliği ve kalp durması ve ritim bozukluğu gibi kardiyovasküler, hematolojik ve nörolojik birçok vaka gözlemlenmiştir [20-22].



Şekil 1.1. İndoksakarb'ın Kimyasal Yapısı [23].

1.2. Oksidatif Stres

Metabolizma ürünü olarak oluşan, son derece reaktif kimyasal moleküllere serbest radikaller denir. Oksijen kaynaklı serbest radikaller reaktif oksijen türleri (ROT) olarak isimlendirilir ve biyolojik sistemlerin en önemli serbest radikalleridir [24].

Vücutta doğal metabolik yollar ile meydana gelen serbest radikaller normal şartlarda radikal parçalayan antioksidan sistemleri ile ortadan kaldırılmaktadır. Fakat çeşitli sebepler ile reaktif oksijen türlerinin çoğalması ve antioksidan mekanizmalarının yetersiz kalması sonucunda oksidatif stres denilen patolojik olay oluşmaktadır. Oksidatif stresin, farklı mekanizmaları aracılığıyla DNA'daki zincir kırıkları, DNA-protein çapraz bağlanması, abazik bölgeler ile baz ve şeker modifikasyonları gibi bir takım anormalliklere sebep olarak hasarlara neden olduğu görülmüştür [25, 26].

Oksidatif DNA hasarı farklı yöntemler ile ortaya çıkarılabilmektedir. Fakat bu tekniklerin birçoğu yalnızca bir hasar ürününü ölçebilmektedir. Bunun yanında kütle spektrometrik teknikler kullanılarak meydana gelen baz hasar ürünlerinin miktarı analiz edilebilir [27].

Uzun yıllardır yapılan birçok çalışmada, antioksidanların beslenme ve sağlık yararlarının yanı sıra, kendi aralarında ve serbest radikallerin arasında bulunan ters ilişki üzerinde durulmuştur. Oksidatif stres yoluyla reaktif türlerin ya da serbest radikallerin, kanser, diyabet, kardiyovasküler bozukluklar, nörodejeneratif bozukluklar ve diğer kronik durumlar gibi farklı sağlık koşullarının ilerlemesinde belirgin bir şekilde etkili oldukları görülmüştür [28]. Oksidatif stres, oksidanların lehine oksidanlar (serbest radikaller veya reaktif türler) ve antioksidanlar arasında bulunan fizyolojik dengesizliğin sonucu olarak meydana gelen hücresel bir olaydır.

Bir noktadan sonra, serbest radikallerin üretimi, vücudun doğal antioksidan savunma mekanizmalarının yeterli gelebileceği seviyeyi aştığında, serbest radikaller DNA, protein ve lipidler gibi temel biyomoleküllerin okside edilmesini tetikleyerek birçok hastalığa sebep olan hücresel bir oksidatif ortam oluşturur. Serbest radikaller, antioksidanlar ve hastalıklar arasında bulunan etkileşim, sağlık, yaşlanma ve yaşa bağlı hastalıkların korunmasında önemlidir [29].

1.3. Malondialdehit (MDA)

Serbest oksijen gruplarının dokuda oluşturduğu hasar ve lipit peroksidasyonu şiddetinin belirlenmesi için kullanılan yöntemlerden biri MDA seviyesinin belirlenmesidir. MDA, kan plazmasında kolay tanımlanabilmekte ve oksidatif stres ölçümlerinde kullanılmaktadır. MDA'nın plazmada kolay çözünebilmesi idrarda da görülebilir kılmaktadır [30].

Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen MDA, membran bileşiklerinin parçalanmasına neden olur. Bununla birlikte iyon geçirgenliği, deformasyon, hücre yüzey bileşenlerinin toplanması, enzim aktivitesi gibi membran özelliklerini değiştirir. Bu şekilde oluşan etkiler MDA'nın neden genotoksik, karsinojenik ve mutajenik olduğunu açıklamaktadır [31].

1.4. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Superoksit dismutaz (SOD), hücrede bulunan ilk detoksifikasyon enzimi olmakla beraber en kuvvetli antioksidandır. Reaktif oksijen türlerine (ROT) karşı birinci hat savunma sisteminin bir parçası olan önemli bir endojen antioksidan enzimdir. SOD

dismutasyon reaksiyonu ile süperoksit radikalini ($O_2^{\cdot-}$) daha az zararlı olan hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) katalizleyen enzimatik bir antioksidandır. SOD bir metaloenzim olduğundan dolayı etki göstermesi için metal bir kofaktöre ihtiyaç duyar. SOD tarafından kofaktör olarak kullanılacak enzimin çeşitli formları bulunmaktadır [32, 33]. SOD ile bağlı metal iyonları demir (Fe), manganez (Mn), bakır (Cu) ve çinko (Zn)'dur. Bu bağlamda, SOD'ların üç formu bulunur ve bunlar; FeSOD, CuZnSOD, MnSOD'dur.

SOD, hücrel sağlık için vazgeçilmez bir antioksidandır. Vücut hücrelerini yaşlanmaya ve hücre ölümüne teşvik eden zararlı ajanlardan, serbest radikallerden ve aşırı oksijen radikallerinden korur. SOD seviyeleri yaş ile birlikte düşerken, serbest radikal oluşumları artar. SOD takviyesinin bağışıklık sistemini koruduğu, hastalık riskini büyük oranda azalttığı ve sonuç olarak yaşlanma sürecini yavaşlattığı ileri sürülmüştür [34].

1.5. Katalaz (CAT)

Katalaz, dört protein alt biriminden oluşur ve her alt birim, bir NADPH molekülü ve bir hem grubu içermektedir [35, 36]. Katalaz da NADPH molekülü yüzeye sıkıca bağlanır [37]. CAT oldukça önemli bir antioksidandır; bir saniyede milyonlarca hidrojen peroksit molekülünü parçalayabilme yeteneğindedir [38]. CAT, oksijen bulduran tüm canlı dokularda yaygın olarak bulunan bir antioksidandır [39]. Katalaz, peroksizomlar gibi hücre içi organellerde bulunur, endoplazmik retikulum ve mitokondride de az miktarda bulunur ve hidrojen peroksitin, su ve serbest oksijen moleküllerine dönüştürülmesini katalize eder [40]. Süperoksit radikali, SOD enzimi aracılığıyla daha az zararlı olan hidrojen peroksit (H_2O_2)'ye dönüştürülür. H_2O_2 serbest radikaller arasında yer alır baskılanmadığında hücreye zarar verir ve biyolojik öneme sahiptir. Fenton reaksiyonu ile tehlikeli oksijen türü olan hidrosil radikalinin (OH^{\cdot}) oluşmasında önemli role sahiptir [41, 42].

Katalazın eksikliğinde ve mutasyona uğraması sonucunda çeşitli hastalık koşulları ve anormalliklerin ortaya çıktığı görülmüştür [43]. Zámocký ve Koller (1999), genetik polimorfizme sahip ve katalazdaki gen ekspresyon seviyesini değiştiren bireylerde

oksidatif DNA hasarının ortaya çıktığı ve ardından kanser duyarlılığı riskinin arttığı sonucuna ulaşmışlardır [44].

1.6. Glutasyon Peroksidaz (GPx)

GPx, dört alt birimden meydana gelen tetramerik bir enzimdir. 1957 yılında ilk olarak Mills tarafından memeli eritrositlerinden izole edilmiştir [32].

Hücrelerin sitoplazmasında bulunan GPx'in, her bir alt birimi bir selenyum atomu içerir ve H₂O₂'in sebep olduğu oksidatif hasarlara karşı hücreyi korur. Bu şekilde H₂O₂'den OH'nin oluşmasına engel olur [45]. GPx enziminin aktif bölgesinde selenyum bulunduran ve bulundurmayan olarak iki ana tipi bulunur. Bunlardan biri selenyum bulunduran selenyuma bağımlı glutasyon peroksidaz (Se-GPx)'dir. Se-GPx, organik hiperoksitlere ve H₂O₂'ye karşı oldukça etkili olan bir antioksidandır. GST, selenyuma bağımlı olmayan glutasyon peroksidazdır ve organik hidroperoksitlerin parçalanmasında etkilidir [46-50]. Reaksiyonlar sırasında GSH, hidrojen verici olduğundan H₂O₂ ve hidroperoksitler indirgenir ve GSH oksitlenerek glutasyon disülfid (GSSG)'te dönüşür [50].

1.7. DNA Hasarı ve Komet Testi

DNA yapısının korunması, kalıtsal bilginin sağlıklı ve güvenilir bir şekilde nesilden nesile aktarılabilmesi için oldukça önemlidir. Genotoksik ajanlar DNA'da yapısal değişikliklere, sarmalında kırılmalara ve geri dönüşümsüz hasarlara sebep olabilirler. [51]. DNA hasarı genetik endojen veya ekzojen etkenlerden dolayı oluşabilmektedirler [52]. Bu hasara sebep olan nedenleri sınıflandırılması;

Endojen Etkenler;

- Yanlış eşleşmeler, delesyonlar /insersiyon
- Kimyasal değişiklikler: metilasyon, deaminasyon
- Baz kayıpları: depurinasyon
- Oksidatif Hasar: 100.000 /hücre/gün
- Replikasyon hataları

Ekzojen Etkenler;

- Kimyasal ajanlar: aflotoksin, benzopren, kemoterapi ilaçları, vinil klorid, alkilleyici ajanlar, mustard gazları
- Fiziksel ajanlar: UV radyasyon, iyonize radyasyon şeklinde gösterilebilir.

Son yıllarda çalışmalarda yaygın olarak uygulanan Komet testi, çeşitli ajanların sebep olduğu DNA zincir kırıklarının tespit edilmesi için kullanılan güvenilir, hızlı ve hassas bir yöntemdir. DNA hasar ve onarımının tayininde, genetik toksikoloji ve biyoizleme çalışmalarında yaygın olarak kullanılan bir tekniktir [52, 53]. Tek hücre jel elektroforez tekniği olarak da bilinen Komet yöntemi, sitotoksik ve genotoksik hasarlarının belirlenmesi amacıyla günümüzde sıklıkla kullanılan bir test yöntemidir [54]. DNA kırıklarının belirlenmesinde kullanılan bu yöntem, birçok fiziksel ve kimyasal ajanların insanlarda neden olduğu DNA hasarı tayininde, kanser hastalarında ise DNA hasarının derecesini ve onarımını belirlemek için kullanılan bir testtir [55-64]. Bu amaçla uygulanan çeşitli analiz yöntemleri bulunur ve son yıllarda en yaygın kullanılan testlerden biri komet yöntemidir [52, 53].

Bu çalışmada bir insektisit türü olan İndoksakarb'ın kan hücreleri üzerine toksik etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla, bu çalışmada 7 sağlıklı insandan heparinli tüplere 10 mL alınan kanlarda sitotoksik ve genotoksik etki, ışık mikroskobu ve spektrofometre kullanılarak ortaya konulmuştur.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. İnsan Kanı

Bu çalışma, Yozgat Kızılay Kan merkezindeki bağış kanlarını kullanmak için etik kurul onayı (14 nolu onay ve 2017-KAEK-189_2019.07.24_07 nolu karar) ile gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada, İndoksakarb'ın kan hücreleri üzerine toksik etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla 7 sağlıklı insandan heparinli tüplere 10 mL alınan kanlardan sitotoksik ve genotoksik etki ışık mikroskobu ve spektrofometre ile incelenmiştir.

2.2. Kimyasallar

Deneyde sadece insan kanına indoksakarb maddesi uygulanmıştır. Uygulanan insektisit Avaunt adlı firmadan temin edilmiştir. Diğer kimyasal maddeler Sigma-Aldrich'ten alınmıştır.

2.3. Kanlara uygulama planı

Kanlar, kontrol grubu ve uygulama grubu olmak üzere ikiye ayrılmıştır. Deneyde oluşturulan 1 kontrol grubu ve 4 uygulama grubu olmak üzere 5 grupta çalışılmıştır.

2.3.1. Kontrol Grubu

Kimyasal madde uygulanmamış olan gruptur.

2.3.2. Uygulama Grubu

4 uygulama grubuna artan dozlarda (1µM, 10 µM, 100 µM, 250 µM) indoksakarb maddesi verilmemiştir.

2.4. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

2.4.1. Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Enzim aktivitesinin tayininde Marklund'un (1974) geliştirdiği bu yöntem kullanılmıştır [65]. SOD enziminin aktivitesi için 10 dk, 4 °C'de 1000 rpm'de süpernatantlar santrifüj edilmiştir. Tris-EDTA tamponu içeren küvetlere hacimleri farklı olan süpernatantlar eklenmiş ve daha sonra enzim kaynağı uygulanmıştır. Elde edilen karışımlara pyrogallol eklendikten sonra 440 nm spektrofotometrede absorbans değerleri ölçülmüştür. Ölçülen değerlerden sonra kan hücreleri için enzim aktiviteleri U/mg Hb olarak belirlenmiştir.

2.4.2. Katalaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Katalaz enziminin aktivitesi, Aebi metodu (1984) ile tayin edilmiştir [66]. Aktivite tayininde süpernatantlar 4 °C'de 10 dakika 1000 rpm de santrifüj edilmiştir. İlk olarak peroksizomlarda bulunan CAT enzimini belirlemek için süpernatanta Triton X-100 eklenmiştir. Daha sonra H₂O₂ eklenerek 240 nm spektrofotometrede absorbans değerleri ölçülmüştür. Değerler ölçüldükten sonra kan hücrelerinin enzim aktivitesi, U/mg Hb olarak belirlenmiştir.

2.4.3. Glutatyon Peroksidaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

GPx enzim aktivitesinin belirlenmesi için Paglia ve Valentine'nin (1987) yöntemi kullanılmıştır [67]. Süpernatantlar 20 dakika 4 °C'de 16.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Bu yöntem, GR'nin 340 nm spektrofotometrede nikotinamid-adenin-dinükleotid hidrojen fosfat'ı (NADPH) oksitlemesiyle oluşan absorbans değerlerini ölçme prensibine dayalıdır. NADPH'nin Nikotinamid-adenin-dinükleotid fosfat (NADP)'a yükseltgenmesi 340 nm'de absorbans değerini azaltır. GPx aktivite tayininde direkt değil, dolaylı olarak kullanılmıştır. Karışım üzerine H₂O₂ eklenerek reaksiyon başlatılmış olup 3 dakika 340 nm'de oluşan absorbanslar okunmuştur. Enzim aktivite sonuçları kan hücreleri için U/mg Hb olarak verilmiştir.

2.5. Malondialdehit Miktarının Belirlenmesi

Ohkawa ve ark. (1979) geliştirdiği metot ile MDA miktarının belirlenmesi için [68] süpernatantlar, 10 dakika 4000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Elde edilen karışımın üzerine tiyobarbitürik asit (TBA) eklenip oluşan reaksiyonun sonucuna göre lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA'nın 532 nm'de absorbans değeri ölçülmüştür. Ölçülen sonuçlar kan hücreleri için nmol/mg Hb olarak verilmiştir.

2.6. Komet Testi İle DNA Hasarının Belirlenmesi

%1'lik yüksek erime noktasına sahip olan agar mikrodalga fırında ısıtılıp sıvı hale getirilir. Rodajlı lamlar, sıvı agara batırılıp oda sıcaklığında bir gece kurumaya bırakılır. Steril, heparinli ve vakumlu tüplere alınan kan örneklerinden; içerisinde 1000 µl RPMI-1640 besiyeri bulunan ependrof tüpler içerisine 15 µl eklenir. 5 dk 2000 rpm'de santrifüj edilmiş elde edilen pellet üzerine 80 µl % 0.65'lik agaroz eklenerek pipetleme yapılır.

Elde edilen karışımdan 75 µl alınarak, önceden hazırlanmış lam üzerine eklenir ve hücrelerin agar ile yayılması sağlanır. Üzeri kapatılarak +4 °C'de 30 dk inkübasyona bırakılır. Preparatlar 20 dk çözündürme solüsyonunda bekletilir. Bu aşamada agara gömülü lamlardaki hücre zarı ve proteinler yıkılır ve DNA elde edilir. 20 dk dilue elektroforez içerisinde bırakılır ve sonrasında 200 Volt'ta 4 dk yürütülür. Yürütme işlemi sırasında DNA sarmalı ayrılarak tek iplik haline getirilir. Elektroforez işleminden sonra 5'er dk üç kez olmak üzere dH₂O'da bekletilip kurumaya bırakılır. Kuruyan preparatlar 80 µl etidyum bromür ile boyanarak mikroskopik incelemeye hazır duruma getirilir.

2.7. Verilerin Değerlendirilmesi

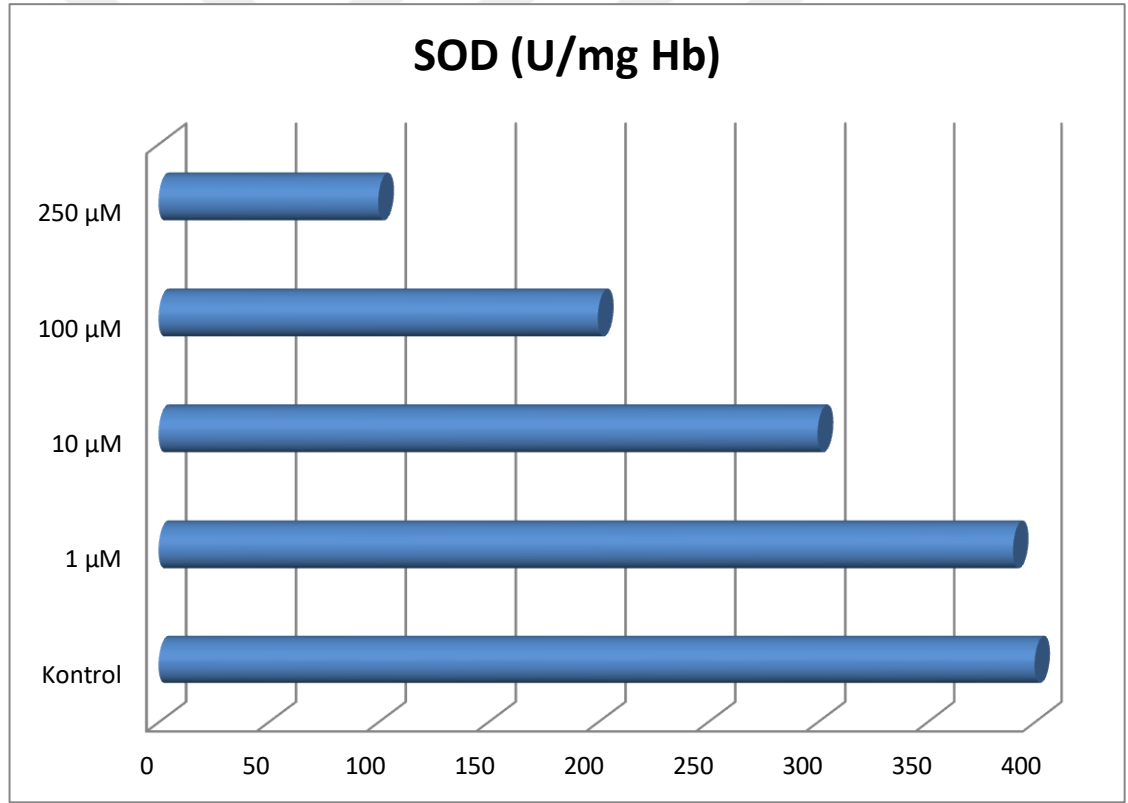
Tezde bulunan istatistiksel analizlerin tümü Windows SPSS 11.5 bilgisayar programı kullanılarak Tukey testi ve tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile yapılmıştır. Sonuç olarak P<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

3. BULGULAR

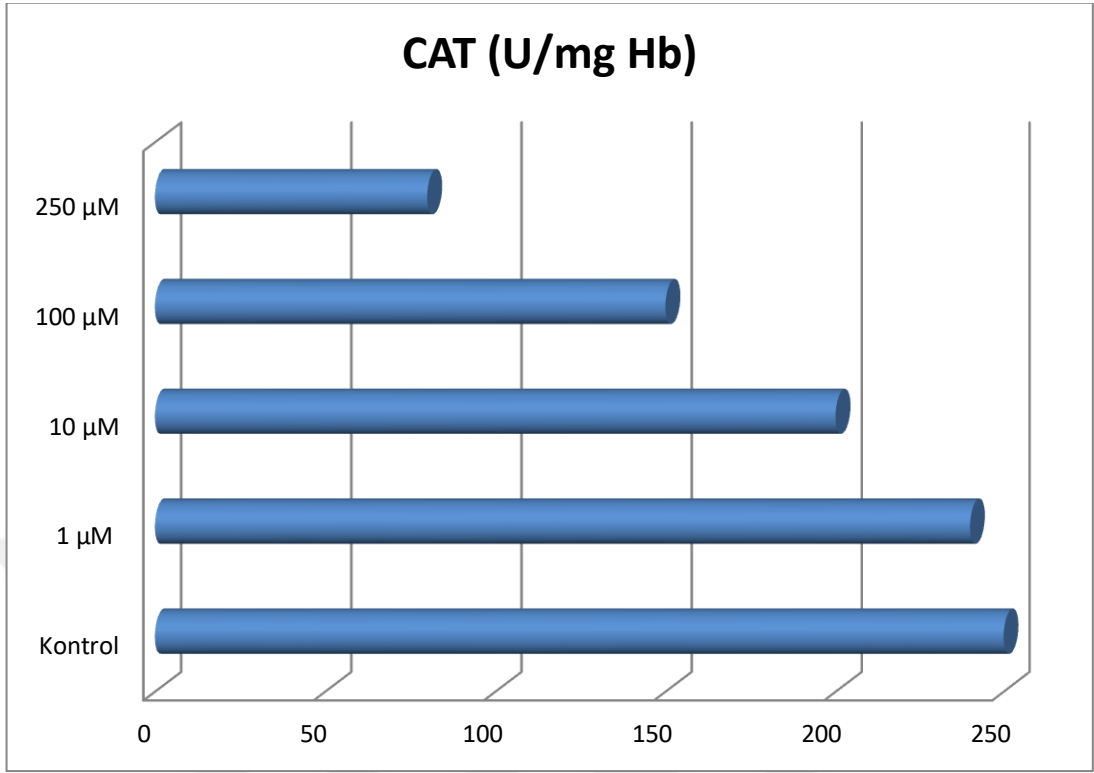
3.1. Biyokimyasal Bulgular

3.1.1. Enzim Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

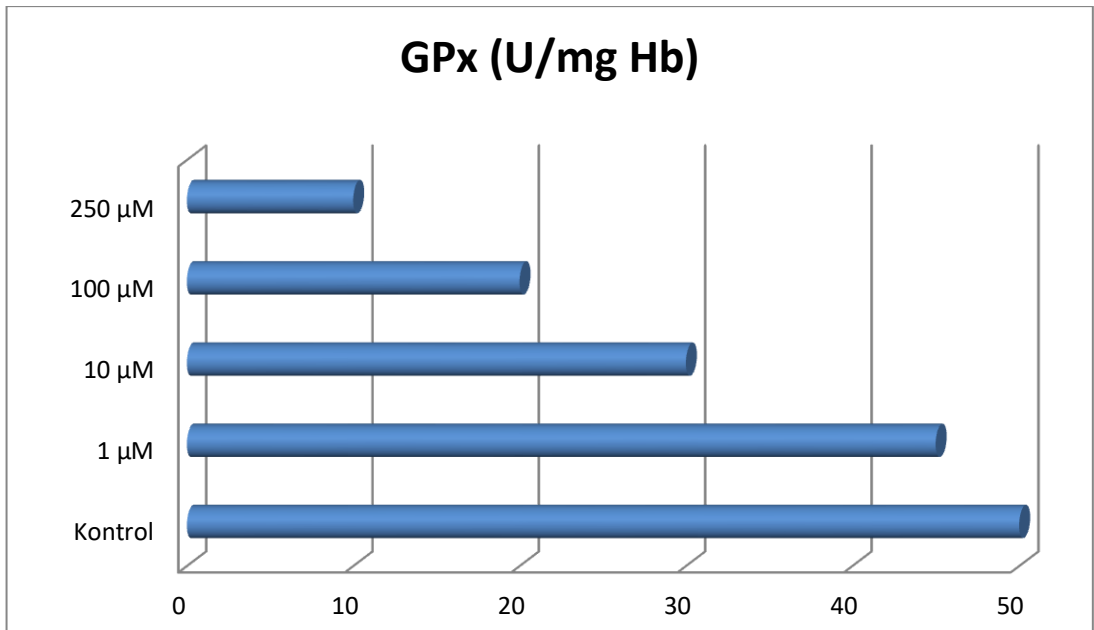
Bir saatin sonunda kontrol grubu ve uygulama gruplarının biyokimyasal sonuçları karşılaştırılmıştır. Kontrol grubu ve 1 μM doz indoksakarb uygulanan grup karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak bir fark olmadığı belirlenmiştir. 10 μM , 100 μM , 250 μM uygulanan gruplarda enzim aktivite değerlendirmelerinde anlamlı değişimler tespit edilmiştir ($P<0.05$). Artan dozlarda indoksakarb uygulanan gruplarda SOD, CAT ve GPx aktivitelerinde düşüş olduğu gözlemlenmiştir. Antioksidan enzim aktivite değişim grafikleri şekil 3.1-3'de verilmiştir.



Şekil 3.2. Kontrol grubu ve uygulama gruplarının SOD aktivitelerinin karşılaştırılması.



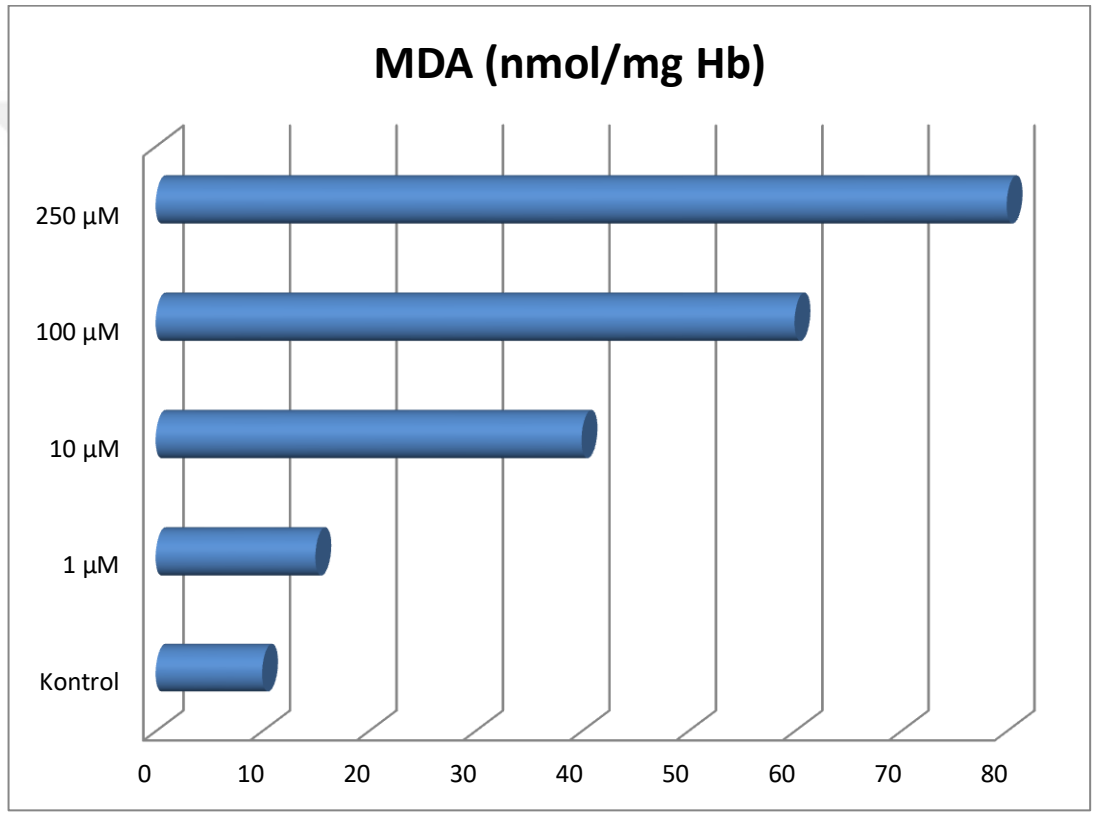
Şekil 3.3. Kontrol ve uygulama gruplarında CAT enzim aktivitelerinin karşılaştırılması.



Şekil 3.4. Kanda GPx enzim aktivitelerinin kontrol grubu ve uygulama grupları ile karşılaştırılması.

3.1.2. MDA Miktarının Değerlendirilmesi

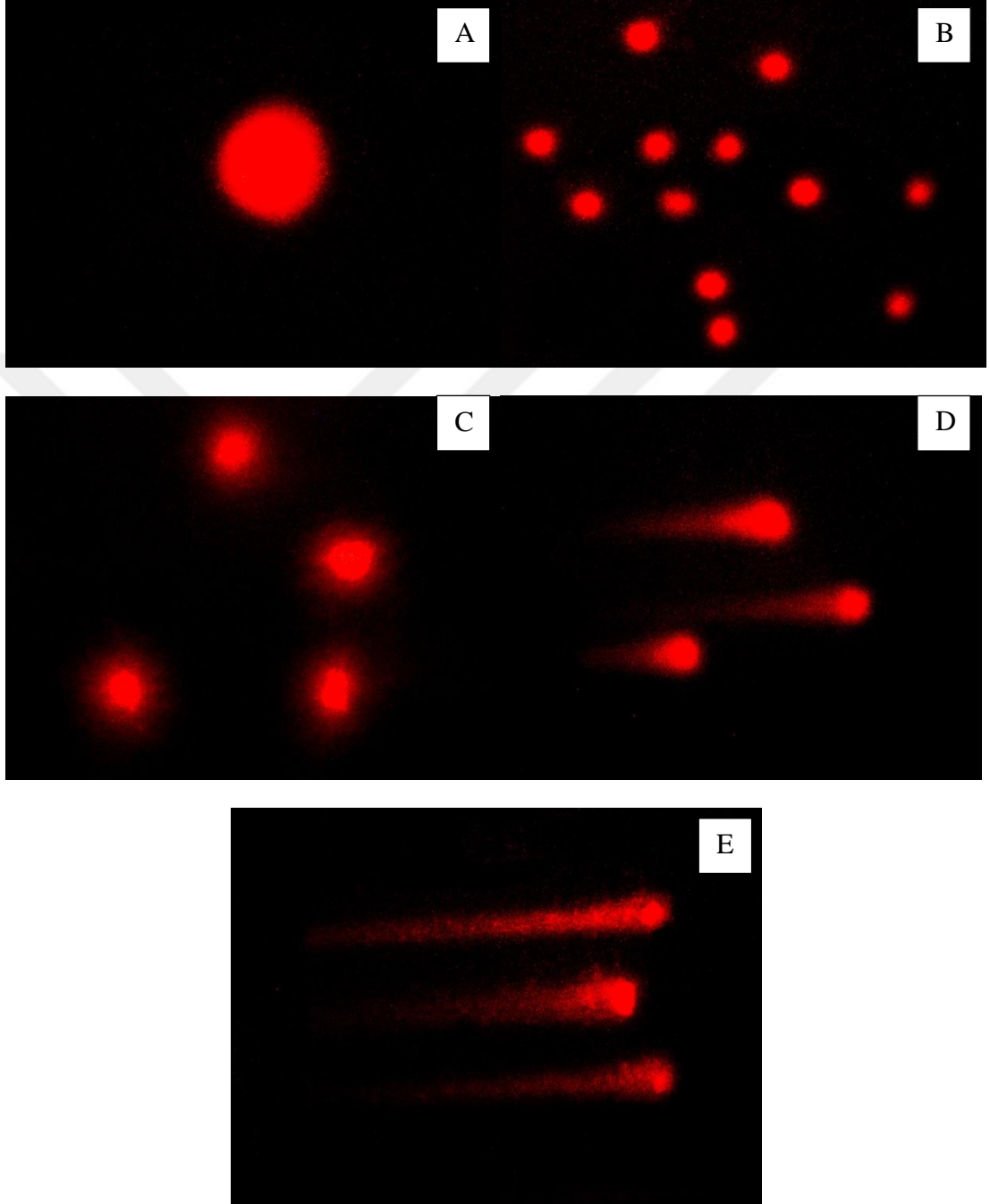
Kan dokusundaki MDA düzeyinin belirlenmesinde elde edilen sonuçlar Şekil 3.4'de gösterilmiştir. Kontrol grubu ile indoksakarb uygulanan grup karşılaştırıldığında artan dozlardaki indoksakarb'ın MDA seviyesinde anlamlı bir artış gözlemlenmiştir. Ancak 1 μ M indoksakarb uygulanan grubun MDA seviyesinin kontrol grubuna daha yakın olduğu belirlenmiştir.



Şekil 3.5. Kanda MDA seviyelerinin kontrol grubu ve uygulama grupları ile karşılaştırılması.

3.2. Komet analizi

Kan dokusundaki DNA hasarını tespit etmek için kontrol grubu ve uygulama gruplarına ait olan ortalama kuyruk % DNA, ortalama kuyruk uzunluğu, ortalama kuyruk momenti değerleri Tablo 3.1'de verilmiştir. Yapılan komet testinde kontrol grubunda DNA hasarının olmadığı görülmüştür. Her artan doz grubunda DNA hasarı görülmüş ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında kuyruk oluşumu belirgin olarak tespit edilmiştir.



Şekil 3.7. Kontrol grubu ve uygulama gruplarının kan dokusunda meydana gelen DNA hasarı. Kontrol grubu (A), 1 μ M İndoksakarb uygulanan grup (B), 10 μ M İndoksakarb uygulanan grup (C), 100 μ M İndoksakarb uygulanan grup (D), 250 μ M İndoksakarb uygulanan grup (E).

Tablo 3.1. Kan dokusunda kontrol ve uygulama gruplarında DNA hasarının (\pm SD) % DNA, kuyruk uzunluğu ve kuyruk momentinin ortalama değerleri

Gruplar	Kuyruk DNA % \pm SD	Kuyruk Uzunluğu \pm SD	Kuyruk Momenti \pm SD
Kontrol	18.59 \pm 0.42 ^a	19 \pm 5.01 ^a	3.53 \pm 0.02 ^a
1 μ M	19.78 \pm 3.14 ^a	11.55 \pm 0.15 ^a	2.28 \pm 0.04 ^a
10 μ M	57.16 \pm 3.21 ^b	34.67 \pm 1.25 ^b	19.82 \pm 0.04 ^a
100 μ M	74.45 \pm 9.02 ^c	60.08 \pm 3.20 ^c	44.72 \pm 0.28 ^a
250 μ M	92.25 \pm 13.85 ^d	116 \pm 19.20 ^d	107.01 \pm 2.65 ^b

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Dünyada tarım alanındaki zararlı organizmaları yok etmek ve ürün kalitesini arttırmak için pestisitler yaygın olarak kullanılmaktadır. Pestisitler tarımda hedef organizmaları yok ettiği gibi, hedef olmayan organizmalarda da hasara sebep olur [69, 70]. Pestisitlerin etkilediği sistemlerden biri de antioksidan sistemdir. Antioksidan sistem vücutta meydana gelen reaktif oksijen türlerini inhibe etmek için oluşturulmuş güçlü bir savunma sistemidir [71]. Želježić ve ark. (2007) yaptıkları bir çalışmada bir karbamat pestisiti olan carbofuran üretiminde çalışan 30 işçi (en az 4 ay ile ortalama 15 yıl çalışan) ve 30 kontrol grubu ile genotoksik etki araştırılmış, DNA hasarı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kontrol grubuna daha yakın olduğunu gözlemlemişlerdir. Ancak alkol alınması ve sigara içilmesinin etkiyi anlamlı hale getirdiği bildirilmiştir [72].

SOD enzimi dismutasyon reaksiyonunu katalizleyerek süperoksit radikalini moleküler oksijen ve hidrojen peroksit'e çevirir. Serbest radikallere karşı olan savunma hattının birinci basamağını SOD oluşturur [73]. Hücrenin peroksizomlarında bulunan CAT, SOD enziminin oluşturduğu hidrojen peroksitin su ve moleküler oksijene dönüşmesini katalizleyen enzimdir [74]. Organik peroksit ya da hidrojen peroksitin substratı olan GPx bir hidroperoksidazdır. GPx elektron kaynağı olarak glutatyonu kullanarak, hidrojen peroksit ve diğer hidroperoksitlerin indirgenmesini sağlarken glutatyonun okside olmasına neden olarak su ve glutatyon disülfid oluşturur [32].

Çömelekoğlu ve ark. (2000) yaptıkları çalışmada İçel ili Kazanlı beldesinde pestisitlerin kronik etkisine maruz kaldığı belirlenen 40 tarım işçisinden alınan kan örneklerinin eritrositlerinde SOD, CAT antioksidan enzim düzeyleri ölçülmüştür. Kontrol grubuyla karşılaştırdıklarında SOD enzim aktivitesinin arttığı, CAT enzim aktivitesinde ise azalma olduğunu belirlemişlerdir [75]. Bir başka çalışma da Altuntas ve ark. (2003) bir organofosfat insektisit olan Phosalone'un lipit peroksidasyonuna (LPO) ve antioksidan savunma sistemine *in vitro* olarak etkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla, çeşitli phosalon dozlarının LPO üzerindeki etkileri ve eritrositlerdeki SOD, GPx, CAT enzim aktiviteleri ve MDA düzeyleri

incelenmiştir. Phosalone MDA oluşumunda bir artışa ve SOD, GPx ve CAT aktivitelerinde ise bir azalmaya sebep olduğu belirlenmiştir [76]. Yaptığımız çalışmada, kan hücreleri 1 saat indoksakarb ile muamele edilmiştir. Muamele edildikten sonra kontrol grubuyla kıyaslandığında SOD, CAT, GPx enzim aktivitesinde düşüş, MDA seviyesinde artış olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte 1 μ M indoksakarb uygulanan gruplarda SOD, CAT, GPx ve MDA seviyelerinin kontrol grubuna daha yakın olduğu belirlenmiştir. 10, 100 ve 250 μ M indoksakarb'ın SOD, CAT, GPx enzim aktivitelerini düşürdüğü, MDA seviyesini istatistiksel olarak yükselttiği belirlenmiştir.

DNA hasarı, genetik materyalin moleküler yapısında endojen ve ekzojen faktörlerin etkisi ile meydana gelen değişikliklerdir [77, 78]. DNA üzerindeki polar gruplarda kimyasal değişiklikler oluşur ve eşleşme sırasında mutasyona yol açar [79, 86]. DNA üzerinde oluşan hasarları onaran spesifik onarım sistemleri DNA üzerinde bulunur ve DNA hasarı düşük oranda ise bu onarım mekanizmaları ile onarılır. Orta dereceli hasarlar çoğunlukla mutasyonlar ile sonuçlanırlar. DNA üzerinde ağır hasarlar oluşmuş ise apoptotik mekanizmalar uyarılarak hücre ölümleri gerçekleşir [87, 88]. Bazı araştırmacılar, kimyasalların *in vitro* sitotoksik etkilerinin DNA çift sarmal kırıklarının oluşumundan sorumlu olduğunu bildirmişlerdir [89, 90].

Dinçer ve ark. (2003) yaptıkları bir çalışmada erkeklerde sigara kullanımının güçlü bir endojen antioksidan olan indirgenmiş glutatyon (GSH) düzeyi ve DNA hasarı üzerine etkisini araştırmışlardır. Sigara kullanan erkeklerde sigara kullanmayan erkeklere göre GSH düzeyinin düşük, DNA zincir kırıkları sıklığının ise yüksek olduğu belirlenmiştir [91].

Çeşitli çalışmalar, süperoksit anyonunun ve onun dismutasyonunun oluşturduğu hidrojen peroksidin, doğrudan DNA'ya bağlanması yoluyla zincir kırılmalarına ve baz oksidasyonuna yol açmadığını, ancak geçiş metal iyonlarının varlığında Fenton reaksiyonu, hidroksil radikalinin daha aktif olduğunu göstermiştir [92, 93]. Hasar görmemiş olan DNA'lar komet analizlerinde bütünlüklerini devam ettirirken, hasar görmüş DNA parçaları, elektriksel alanda farklı hızlarda hareket etmektedir, çünkü ortaya çıkan hasar sebebiyle farklı moleküler ağırlıktaki DNA parçaları kuyruk

şeklinde görüntü oluşturmaktadır. Bu çalışmada DNA hasarını belirlemek için sigara içmeyen 7 erkek bireyden alınan kan örnekleri 1 saat indoksakarb uygulanan grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında kuyruk % DNA'sı, kuyruk uzunluğu ve kuyruk momenti ölçümlerinde anlamlı bir artış olduğu belirlenmiştir.

İndoksakarb; çay, sebze, pamuk ve pirinç tarlalarının kontrolünde kullanılan oldukça güçlü bir böcek ilacıdır. İndoksakarb, böceklerin vücuduna oral yoldan girer. Sodyum kanallarındaki bir bölgeye bağlanır ve sodyum iyonlarının sinir hücrelerine olan akışını engeller. Bu nedenle, sinir sistemi fonksiyonunu bozabilir, felç ve ölüme neden olabilir. İndoksakarb'ın insan toksisitesi ile ilgili sınırlı sayıda çalışmalar bulunmaktadır [94].

Park ve ark. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada indoksakarb alımından sonra methemoglobineminin ortaya çıktığı öne sürülmüş, ancak bugüne kadar akut böbrek yetmezliği gibi indoksakarb kaynaklı sistemik toksisite vakası bildirilmemiştir. Bir kadın indoksakarb zehirlenmesi ile başvurmuştur, methemoglobinemi ve akut böbrek yetmezliği görülmüştür [95]. Literatürde indoksakarb'ın kan doku üzerindeki toksik etkilerini belirleyen bir çalışma yoktur. Bu çalışmanın amacı, indoksakarb'ın kan doku üzerindeki toksik, genotoksik etkilerini, SOD, CAT, GPx, MDA parametrelerini kullanarak belirlemektir. Çalışmanın sonucunda İndoksakarb'ın insan sağlığı üzerinde genotoksik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Enzim aktivitelerinde ise önemli değişikliklere neden olmuştur. Yapılan bu çalışmanın literatüre katkıda bulunması, bu konuda daha çok araştırma yapılması gerektiğini ve pestisitlerin kontrollü kullanılması gerektiği konusunda sonraki çalışmalara ışık tutması amaçlanmıştır.

KAYNAKÇA

1. Raouf-Delpech, V., ve ark., Ion channels: Molecular Targets of Neuroactive Insecticides, *Invert Neurasci* 5(3-4), 119-33, 2005.
2. Vural, N., Toksikoloji, Ankara üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 73, 344-63, 1996.
3. Dökmeçi, İ., Toksikoloji, Akut Zehirlenmelerde Tanı ve Tedavi. 1. Baskı. Nobel Tıp Yayınevi, 362-402, 1988.
4. Haddad L.M, Vinchester, Clinical Management of Poisoning and Drug Overdose, Second Edition, WB Saunders Company, Philadelphia, 1076-1087, 1990.
5. Garcia JE. Acute Poisoning From Pesticides; Human and Economic Costs, Panam Solud Public, 4(6), 383-387, 1998.
6. Kumar,, S., Recent Developments In Clean Up Techniques of Pesticide Residue Analysis for Toxicology Study, A Critical Review, Univers, J. Agric. Res., 2(6), 199-203, 2014.
7. Kumar,, S., Recent Developments In Clean Up Techniques of Pesticide Residue Analysis for Toxicology Study, A Critical Review, Univers, J. Agric. Res., 2(6), 199-203, 2014.
8. Lapiéd, B., ve ark., Indoxacarb, an Oxadiazine Insecticide, Blocks Insect Neuronal Sodium Channels, Br. J. Pharmacol, 132(2), 587-95, 2001.
9. Silver, KS., Soderlund, DM., Differential Sensitivity of Rat Voltage-sensitive Sodium Channel Isoforms to Pyrazoline-type Insecticides, Toxicol Appl Pharmacol, 214(2),209-17, 2006.
10. Zhao, X., ve ark., Block of Two Subtypes of Sodium Channels in Cockroach Neurons by Indoxacarb Insecticides. Neurotoxicology, 26(3):455-465, 2005.
11. Zhao, X., ve ark., Voltage-dependent Block of Sodium Channels in Mammalian Neurons by The Oxadiazine Insecticide Indoxacarb and its Metabolite DCJW. Neurotoxicol., 24(1), 83-96, 2003.
12. Tillman, PG., ve ark., Toxicity of a Formulation of The Insecticide Indoxacarb to the Tarnished Plant Bug, *Lygus Lineolaris* (Hemiptera: Miridae), and The Big-eyed Bug, *Geocoris Punctipes* (Hemiptera: Lygaeidae), Pest. Manag. Sci., 58(1), 92-100, 2002.

13. Silver, K., Soderlund, DM., State-dependent Block of Rat Nav1.4 Sodium Channels Expressed In *Xenopus* Oocytes by Pyrazoline-type Insecticides, *Neurotoxicol.*, 26(3), 397-406, 2005.
14. Park, JS., ve ark., Successful Treatment of Methemoglobinemia and Acute Renal Failure After Indoxacarb Poisoning, *Clin. Toxicol.*, 49(8), 744-746, 2011.
15. Lee, D.K., ve ark., Methaemoglobinaemia İn Acute Indoxacarb Poisoning, *Emerg. Med., Australas.*, 27(4), 376-377, 2015.
16. Tsurubuchi, Y., Kono, Y., Modulation of Sodium Channels by the Oxadiazine Insecticide Indoxacarb and its N-decarbomethoxylated Metabolite in Rat Dorsal Root Ganglion Neurons, *Pest. Manag. Sci.*, 59(9), 999-1006, 2003.
17. Zhao, X., ve ark., Effects of the Oxadiazine Insecticide Indoxacarb, DPX-MP062, on Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors in Mammalian Neurons, *Neurotoxicol.*, 20(4), 561-70, 1999.
18. Viswanathan, S., Kumar S, Kandan ve ark., Indoxacarb-Related ARDS, Neurotoxicity and Orange Urine, *Eurasian J Med.*, 45(2), 135-7, 2013.
19. Tankiewicz, M., ve ark., Determination of organophosphorus and organonitrogen pesticides in water samples, *Trends Analyt. Chem.*, 29(9), 1050-1063, 2010.
20. Sarver, J.W. Acute Oral Toxicity Study with DPX-MP062 Technical (approximately 75% DPX- KN128 and 25% DPX-KN127) in Male and Female Rats, Unpublished Report No, HLR 910-96 from DuPont Haskell Laboratory, Newark, Delaware, USA, Submitted to WHO by E.I. du Pont de Nemours and Company, Wilmington, Delaware, USA, 1996.
21. Shashibhushan, J., ve ark., Indoxacarb Poisoning Presenting as Methemoglobinemia and Seizure, *J. Assoc. Physicians, India.*, 63(12), 85-86, 2015.
22. Ahat, C., Domates Ve Biberde Ardışık Pestisit Uygulamasının Pestisitlerin Parçalanma Kinetiğine Olan Etkisi, Yüksek Lisanas Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın, 2015.
23. Gülbahar, Ö., Protein Oksidasyonunun Mekanizması, Önemi ve Yaşlılıkla İlişkisi. *Turkish J. Geriat.*, 10 (1), 43-48, 2007.

24. Williams, G.M., Jeffrey, A.M., Oxidative DNA Damage, Endogenous and Chemically Induced, *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 32 (3), 283-292, 2000.
25. Cooke, M.S., ve ark., Oxidative DNA damage, Mechanism, Mutation and Disease, *FASEB., J.*, 17(10), 1195- 214, 2003.
26. Dizdaroglu, M, ve ark., Free Radical-induced Damage to DNA, Mechanism and Measurement, *Free Radic. Biol. Med.*, 32 (11), 1102-1115, 2002.
27. Giustarini, D., ve ark., Oxidative Stress and Human Diseases, Origin, Link, Measurement, Mechanisms, and Biomarkers, *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*, 46, 241-281, 2009.
28. Rahman, K., Studies on Free Radicals, Antioxidants, and Co-factors, *Clin. Intervent Aging*, 2, 219, 2007.
29. Akkuş, İ., Serbest Oksijen Radikalleri ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Basım Yayın ve Dağıtım, Konya, 1995.
30. Deger, S., ve ark., Determination of the Status of Lipid Peroxidation and Antioxidants in Cattle Infected with *Dictyocaulus Viviparus*, *Turkiye Parazitol Derg.*, 32, 234-237, 2008.
31. Fridovich, I., Superoxide Radical and Superoxide Dismutases, *Ann. Rev. Biochem.*, 64, 97-112, 1995.
32. Dringen, R., ve ark., Peroxide detoxification by brain cells, *J. Neurosci. Res.*, 79, 157-165, 2005.
33. Krishnamurthy, P., Wadhvani, A., Antioxidant Enzymes and Human Health, *Antioxidant Enzyme*, InTech., 2012.
34. Young, I.S., Woodside, J.V., Antioxidants in Health and Disease, *J. Clin. Pathol.*, 54(3), 176-186, 2001.
35. Kirkman, H.N., ve ark., The Function of Catalase-bound NADPH, *J. Biol. Chem.*, 262(2), 660–666, 1987.
36. Zamocky, M., Koller, F., Understanding the Structure and Function of Catalases, Clues from Molecular Evolution and In vitro Mutagenesis, *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 72(1), 19-66, 1999.
37. Radi, R., ve ark., Freeman Detection of catalase in rat heart mitochondria *J. Biol. Chem.*, 266, 22028-22034, 1991.

38. Marklund, S.L., Extracellular Superoxide Dismutase and Other Superoxide Dismutase Isoenzymes in Tissues from Nine Mammalian Species, *Biochem J.*, 222, 649-655, 1984.
39. Limon-Pacheco, J., Gonsebatt, M.E., The Role of Antioxidants and Antioxidant-related Enzymes in Protective Responses to Environmentally Induced Oxidative Stress, *Mutat. Res.*, 674(1-2), 137-147, 2009.
40. Cheung, C.C.C., ve ark., Relationship Between Tissue Concentrations of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Antioxidative Responses of Marine Mussels, *Perna viridis*, *Aquat Toxicol.*, 52(3-4), 189-203, 2001.
41. Larson, R.A., The Antioxidants of Higher Plants, *Phytochem.*, 27(4), 969-978, 1988.
42. Góth, L., ve ark., Catalase Enzyme Mutations and Their Association with Diseases, *Mol. Diagn.*, 8, 141-149, 2004.
43. Zámocký, M., Koller, F., Understanding the Structure and Function of Catalases, Clues from Molecular Evolution and *in vitro* Mutagenesis, *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 72(1), 19-66, 1999.
44. Sen, S., Chakraborty, R., The Role of Antioxidants in Human Health, American Chemical Society, *Oxidative Stress, Diagnostics, Prevention and Therapy*, 1, 1-37, 2011.
45. Cnubben, N.H.P., ve ark., The Interplay of Glutathione Related Processes in Antioxidant Defense, *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 10(4), 141-152, 2001.
46. Deaton, C.M., Marlin, D.J., Exercise Associated Oxidative Stress, *Clinic. Techn. Equine Pract.*, 2(3), 278-291, 2003.
47. Guemouri, L., ve ark., Biological Variability of Superoxide Dismutase, Glutathione peroxidase and Catalase in Blood, *Clin. Chem.*, 37(11), 1932-1937, 1991.
48. Halliwell, B., Antioxidant Defence Mechanisms, from the Beginning to the end (of the beginning), *Free Radical Res.*, 31(4), 261-272, 1999.
49. Reiter, R.J., ve ark., A Review of the Evidence Supporting Melatonin's Role as an Antioxidant, *J. Pineal Res.*, 18(1), 1-11, 1995.
50. Kent, C., Teratogens and Carcinogens, in *Basics of Toxicology*, *Mutat.*, 1998.

51. Kulaksız, G., Sancar, A., Nükleotid Eksizyon Onarımı ve Kanser, Türk Biyokim. Derg., 32, 104-111, 2007.
52. Onur, E., ve ark., DNA Damage and Repair Mechanisms, Türk Klin. Biyokim. Derg., 7, 61-70, 2009.
53. Lindahl, T., Instability and Decay of the Primary Structure of DNA. Nat. 362, 709-715, 1993.
54. Choy, W.N., Genetic Toxicology and Cancer Risk Assessment, Marcel Dekker, New York, 29-187, 2001.
55. Östling, O., Johanson, K.J., Microelectrophoretic Study of Radiation-induced DNA Damages in Individual Mammalian Cells, Biochem. Biophys.. Res. Commun., 123 (11), 291-298, 1984.
56. McKelvey-Martin, V.J., ve ark., The Single Cell Gel Electrophoresis Assay (comet assay), A European Review, Mutat. Res., 288, 47-63, 1993.
57. Fairbairn, D.W., ve ark., The Comet Assay, a Comprehensive Review, Mutat. Res., 339, 37-59, 1995.
58. Singh, N.P., ve ark., A simple Technique for Quantitation of Low Levels of DNA Damage in Individual Cells, Exp. Cell Res., 175, 184-191, 1988.
59. Kassie, F., ve ark., Single Cell Gel Electrophoresis Assay, a New Technique for Human Biomonitoring Studies, Mutat. Res., 463, 13-31, 2000.
60. Tice, R.R., ve ark., Single Cell Gel/Comet Assay, Guidelines for In vitro and In vivo Genetic Toxicology Testing, Environ Mol. Mutagen., 35, 206-221, 2000.
61. Olive, P.L., Banath, J.P., The Comet Assay, a Method to Measure DNA Damage in Individual Cells, Nature Protocol., 1 (1), 23-29, 2006.
62. Dinçer, Y., Kankaya, S., DNA Hasarının Belirlenmesinde Comet Assay, Türkiye Klinikleri J. Med. Sci., 30 (4), 1365-1373, 2010.
63. Şekeroğlu, Z.A., ve ark., The In vitro Alkaline Comet Assay in Genetic Toxicology, JABS., 5 (13), 49-54, 2011.
64. Marklund, S., Marklund, G., Involvement of the Superoxide Anion Radical in the Autoxidation of Pyrogallol and a Convenient Assay for Superoxide Dismutase, Eur. J. Biochem., 47, 469-474, 1974.
65. Aebi, H., Catalase In vitro, Method. Enzymol., 105, 121-126, 1984.

66. Paglia, D.E., Valentine, W.N., Studies on the Quantative and Qualitative Characterization of Glutathione Peroxidase, *J. Lab. Med.*, 70, 158-165, 1987.
67. Ohkawa, H., ve ark., Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction, *Anal. Biochem.*, 95, 351-358, 1979.
68. McEven, F.L., Stephenson, G.L., The use and significiance of pesticides in the environment, John Wiley & Sons Pub., New York, 538, 1979.
69. Amdur, M.O., ve ark., Casarett and Doull's Toxicology, The Basic Science of Poisons, Pergamon Press, New York 1033, 565-623, 1991.
70. Sohal, R.S., ve ark., Relationship Between Life Expectancy Endogenous Antioxidants and Products or Oxygen Free Radical Reactions in Housefly *Musca Domestica*, *Mech. Ageing Dev.*, 36, 71-76, 1986.
71. Želježić, D., ve ark., Comparative Evaluation of Acethylcholinesterase Status and Genome Damage in Blood Cells of Industrial Workers Exposed to Carbofuran, *Food Chem. Toxicol.*, 45, 2488-2498, 2007.
72. Kılınç, K., Kanserde Oksijen Radikalleri ve Süperoksit Dismutaz, *Türk Biyokim. Der.*, 11, 59-76, 1986.
73. Turrens, J.F., *Compherensive Toxicology*, Second Edition, 4, 219-229, 2010.
74. Çömelekoğlu, Ü., Mazmancı, B., Pestisidlerin Kronik Etkisine Maruz Kalan Tarım İşçilerinde Eritrosit Süperoksit Dismutaz ve Katalaz Aktiviteleri, *Turk J. Biol.* 24, 483-488, 2000.
75. Altuntas, I., ve ark., Role of Reactive Oxygen Species in Organophosphate Insecticide Phosalone Toxicity in Erythrocytes In vitro , *Toxicol. in Vitro*, 17, (2), 153-157, 2003.
76. Kulaksız, G., Sancar, A., Nükleotid Eksizyon Onarımı ve Kanser, *Türk Biyokim. Der.*, 32, 104-111, 2007.
77. Valavanidis, A., ve ark., 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8- OHdG), A Critical Biomarker of Oxidative Stress and Carcinogenesis, *J. Environ Sci. Health Part C.*, 27, 120-139, 2009.
78. Çevik, A., Broilerlerde Bakır Noksanlığına Bağlı Oksidatif Strese Karşı Antioksidan Yanıt, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2004.

79. Kargin, F., Fidancı, U.R., Serbest Oksijen Radikalleri ve Oksidatif Hasar, Türk Vet. Hek. Derg., 9, 26-28, 1997.
80. Dinçer, Y., Kankaya, S., DNA Hasarının Belirlenmesinde Comet Assay, Türkiye Klinikleri, J. Med. Sci., 30, 1365-73, 2010.
81. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., Free Radicals in Biology and Medicine, London Oxford University Press, 3, 267-274, 1999.
82. Müftüoğlu, M., DNA Tamiri ve Erken Yaşlanma Sendromları, Turk J. Biochem., 28, 20-24, 2003.
83. Evans, M.D., Cooke, M.S., Factors Contributing to the Outcome of Oxidative Damage to Nucleic Acids, Bio Essays, 26, 533-542, 2004.
84. Sancar, A., ve ark., Molecular Mechanisms of Mammalian DNA Repair and the DNA Damage Checkpoints, Ann. Rev. Biochem., 73, 39-85, 2004.
85. Bütüner, B., Kantarcı, G., Mutasyon, DNA hasarı, Onarım Mekanizmaları ve Kansere İlişkisi. J. Fac. Pharm., 35, 149-170, 2006.
86. Golubnitschaja, O., Yeghiazaryan, K., Opinion Controversy to Chromium Picolinate Therapy's safety and Efficacy, Ignoring 'Anecdotes' of case Reports or Recognising Individual Risks and New Guidelines Urgency to Introduce Innovation by Predictive Diagnostics, The EPMA J., 3-11, 2012.
87. Dinçer, Y., Kankaya, S., DNA Hasarının Belirlenmesinde Comet Assay, Türkiye Klin. J Med. Sci., 30, 1365-73, 2010.
88. Opal, S.M., Huber, C.E., Bench to Bedside Review, Toll like Receptors and Their Role in Septic Shock, Critical Care, 6, 125, 2002.
89. Dinarello, C.A., Interleukin-1, Cytokine Growth Factor Rev., 8(4), 253-265, 1997.
90. Dinçer, Y., ve ark., Influence of Smoking on DNA Damage and Blood Glutathione Level, Türk. Clin. J. Med. Sci., 23(2),108-11,2003.
91. Aruoma, O.I., ve ark., Iron Ion-Dependent Modification of Bases in DNA by the Superoxide Radical-Generating System Hypoxanthine/Xanthine Oxidase, J. Biol. Chem., 264, 13024-13028, 1989.
92. Aruoma, O.I., et al., Damage to the Bases in DNA Induced by Hydrogen Peroxide and Ferric Ion Chelates, J. Biol. Chem., 264, 20509-20512, 1989.

93. Ghelichpour, M., ve ark., Expression of Immune, Antioxidant and Stress Related Genes in Different Organs of Common Carp Exposed to Indoxacarb, *Aquatic Toxicology*, 208, 208-216, 2019.
94. Park, J.S., ve ark., Successful Treatment of Methemoglobinemia and Acute Renal Failure After Indoxacarb Poisoning, *Clin. Toxicol.*, 49(8), 744-746, 2011.



ÖZGEÇMİŞ

1996 yılında Kayseri’de doğan Elçin Elif HOLTA, ilk, orta ve lise öğrenimini sırası ile Sema Yazar İlköğretim Okulu, Behice Yazgan Kız Lisesinde tamamlamıştır. 2014 yılında kazandığı Yozgat Bozok Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümünü 2018 yılında bitirmiştir.

2018 yılında yüksek lisans eğitimine Yozgat Bozok Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalında başlamıştır.

Projeler

1. İndoksakarb’ın Kan Doku Üzerinde *in vitro* Toksik Etkilerinin Belirlenmesi.
Bozok Üniversitesi BAP Projesi, 6601-FBE/19-313, Proje Araştırmacısı

İletişim Bilgileri

E -posta: elcinholta@gmail.com