T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

# HEK293 HÜCRELERİNDE KLORPRİFOS, SELENYUM VE KURKUMİN UYGULANMASININ HÜCRE CANLILIĞINA OLAN ETKİSİ

ELİF TAŞPINAR

DANIŞMAN
PROF. DR. SEMRA ÖZDEMİR
II. DANIŞMAN
DR. BAHAR ÖZTÜRK KURT

BİYOFİZİK ANABİLİM DALI
BİYOFİZİK PROGRAMI

İSTANBUL-2019

Bu çalışma 29.11.2019 Tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyofizik Anabilim Dalı, Biyofizik Tezli Yüksek Lisans Programı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

TEZ JÜRİSİ

Prof. Dr. Semra ÖZDEMİR
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

Prof. Dr. A. Meltem ERCAN
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

Dr.Öğr.Üyesi Fatma ATEŞ ALKAN
Beykent Üniversitesi
Tıp Fakültesi

# BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

ELİF TAŞPINAR



# İTHAF

Aileme ithaf ediyorum.

# TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle her zaman yol gösteren değerli tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Semra ÖZDEMİR'e, tez çalışmamda bilgilerini benimle paylaşan ve yardımcı olan ikinci tez danışmanım Arş. Gör. Dr. Bahar ÖZTÜRK KURT'a,

Laboratuvarlarını kullanmama imkân sağlayan Sayın Dr. Öğr. Üyesi Leyla TÜRKER ŞENER'e,

Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalının tüm değerli hoca ve öğrencilerine,

Laboratuvarlarında çalıştığım süre boyunca sorularımı yanıtsız bırakmayıp, yardımcı olan İstanbul Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı yüksek lisans ve doktora öğrencilerine,

Hayatım boyunca maddi ve manevi destekleriyle her zaman yanımda olan annem Fatma TAŞPINAR, babam Yunus Zafer TAŞPINAR ve kardeşlerim Ezgi ve Mehmet TAŞPINAR'a,

Uzak yakın fark etmeksizin yanımda olan arkadaşlarıma, beni cesaretlendirip güç veren M. Mustafa ŞİMŞEK'e,

Saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

# İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI ..... İİ
BEYAN ..... İİİ
İTHAF ..... İV
TEŞEKKÜR ..... V
İÇİNDEKİLER ..... Vİ
TABLOLAR LİSTESİ ..... Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ ..... İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ ..... X
ÖZET ..... Xİİ
ABSTRACT ..... Xİİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ ..... 1
2. GENEL BİLGİLER ..... 3
2.1. PESTİSİTLER ..... 3
2.1.1. PESTİSİTLERİN SINIFLANDIRILMASI ..... 5
2.1.2. ORGANOFOSFATLI PESTİSİTLER ..... 8
2.1.2.1. KLORPRİFOS ..... 13
2.2. SELENYUM ..... 15
2.3. KURKUMİN ..... 19
3. GEREÇ VE YÖNTEM ..... 22
3.1. GEREÇLER ..... 22
3.1.1. Kitler ve kimyasallar: ..... 22
3.1.2. Cihazlar: ..... 23
3.2. YÖNTEMLER ..... 23
3.2.1. Hücre Kültürü ..... 23
3.2.1.1. Hücrelerin Çözdürülmesi ..... 25
3.2.1.2. Hücrelerin Pasaj İşlemi ..... 25
3.2.1.3. Hücrelerin Dondurularak Saklanması ..... 25
3.2.1.4. Hücre Sayısı ve Canlılığının Belirlenmesi ..... 26
3.2.2. İstatistiksel Analiz ..... 27
4. BULGULAR ..... 28
4.1. Hücre Canlılığı Analizi ..... 28

4.1.1. Klorprifosun Hücre Canlılığı Üzerine Doza Bağımlı Etkisi .....28
4.1.2. Kurkuminin Hücre Canlılığı Üzerine Doza Bağımlı Etkisi .....29
4.1.3. Selenyumun Hücre Canlılığı Üzerine Doza Bağımlı Etkisi.....30
5. TARTIŞMA .....32
KAYNAKLAR .....35
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....42
ÖZGEÇMİŞ .....43

# TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. Pestisitlerin DSÖ LD50 (sıçan) Vücut Ağırlığı (mg/kg)na Göre Sınıflandırılması ..... 4
Tablo 2. Organofosfatlı Pestisitlerin DSÖ Risk Sınıflaması ..... 12
Tablo 3. Bazı Besinlerin Bir Porsiyonlarında Bulunan Selenyum Miktarı ..... 18
Tablo 4. 7-24 ay Çocuklarda Selenyum İçin Önerilen Yeterli Alım (RDA/AI) ve Tolere Edilebilir Üst Düzey (AI) Alım Miktarları ..... 19
Tablo 5. Selenyum İçin Yeterli Alım (AI) ve Tolere Edilebilir Üst Düzey (UL) Alım Miktarları ..... 19

# ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Savaş Ajanı Olarak Kullanılan Organofosfatlı Bileşikler ..... 9
Şekil 2. Organofosfatlı Pestisitlerin Muskarinik ve Nikotinik Toksisite Belirtileri ..... 10
Şekil 3. Oksidatif Desülfürasyon ile Parationun Paraoksona Biyotransformasyonu..... 10
Şekil 4. Klorprifosun Yapısı ..... 13
Şekil 5. Oksidatif Desülfürasyon ile Klorprifosun Klorprifos-oksona Biyotransformasyonu ..... 14
Şekil 6. Klorprifos-oksonun PON1 ile Detoksifikasyonu ..... 14
Şekil 7. Kurkuminin Kimyasal Yapısı ..... 20
Şekil 8. HEK293 Hücreleri ..... 24
Şekil 9. Laminer Akım Kabini ..... 24
Şekil 10. Tetrazolyum tuzu WST-1(4-[3-(4-Iodophenyl)-2-(4-nitro-phenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzene sulfonate)'in formazana dönüşümü. (EC: elektron eşleyici ajan, RS: mitokondriyal suksinat tetrazolyum redüktaz sistemi) ..... 26
Şekil 11. Klorprifosa ait % Canlılık/Konsantrasyon Grafiği ..... 29
Şekil 12. Kurkumine ait % Canlılık/Konsantrasyon Grafiği ..... 30
Şekil 13. Selenyuma ait % Canlılık/Konsantrasyon Grafiği ..... 31

# SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ACh: Asetilkolin

AChE: Asetilkolin esteraz

AI: Yeterli alım miktarı

KP: Klorprifos

CAT: Katalaz

CUR: Kurkumin

DEP: Dietil fosfat

DETP: Dietil tiyofosfat

DMEM: Dulbecco's Modified Eagle Medium

DMSO: Dimetil sülfoksit

DNA: Deoksiribonükleik asit

DIO: İyodotrionin redüktaz

EDTA: Etilendiamin tetraasetik asit

FBS: Fetal sığır serumu (fetal bovine serum)

GSH-Px: Glutatyon peroksidaz

HEK 293: İnsan embriyonik böbrek hücresi

$H_2Se$: Hidrojen selenit

$IC_{50}$: %50 Maksimum İnhibitör Doz

$LD_{50}$: %50 Öldürücü Doz

MDA: Malondialdehit

MsrB1: Metiyonin-R-sulfoksit redüktaz B1

OP: Organofosfat

PBS: Fosfat tampon solüsyonu (Phosphate-buffered saline)

PON1: Paraoksonaz

PS: Penisilin/streptomisin

RDA: Günlük önerilen alım

ROS: Reaktif oksijen türleri

RPM: Dakikadaki devir sayısı (Revolutions per minute)

Se: Selenyum

SSe: Sodyum selenit

SOD: Süperoksit dismutaz

SPS2: Selenofosfat sentetaz 2

T4: Tiroksinin

TCP: 3,5,6-trikloro-2-pridinol

TPN: Total parenteral nütrisyon

TrxR: Tiyoredoksin redüktaz

UL: Tolere edilebilir üst düzey alım miktarı

WST-1: (4-[3-(4-Iodophenyl)-2-(4-nitro-phenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzene sulfonate)

µg: mikrogram

ng: nanogram

ml: mililitre

µl: mikrolitre

# ÖZET

Taşpınar, E. (2019). HEK293 Hücrelerinde Klorprifos, Selenyum ve Kurkumin Uygulanmasının Hücre Canlılığına Olan Etkisi. İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Biyofizik A.D. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Klorprifos (KP; O, O-diethyl O-(3,5,6-trikloro- 2-piridinol) fosforotioat) yaygın olarak kullanılan organofosfatlı insektisittir. Organofosfatlar tarım, ormancılık alanında ve evlerde böceklerle mücadelede en sık kullanılan insektisit grubudur. Organofosfatlı bileşikler vücuda cilt, solunum veya oral yolla giriş yaparlar. Vücutta hızlıca dağılarak yağ dokusu başta olmak üzere böbrek dokusunda birikirler. Organofosfatlar etkilerini asetilkolinesterazın (AChE) inhibisyonu üzerinden göstermekle birlikte diğer nörotransmitterleri, enzimleri ve hücre sinyal yollarını da etkileyebilmektedirler. Ayrıca reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi ve DNA kırıklarına yol açarak apoptoza neden olabilmektedir. Çalışmanın amacı, klorprifosun olası toksik etkisinin ve antioksidan özellikleri olduğu bilinen kurkumin ve selenyumun insan embriyonik böbrek hücresi olan HEK293 hücre hattında hücre canlılığı ve proliferasyonu üzerine etkilerini araştırmaktır. Sonuçlarımız incelendiğinde klorprifosun HEK293 hücre hattında orta derecede toksik etkiye neden olduğu gözlenmiştir. Antioksidan etkiye sahip selenyum ve kurkumin uygulanmasının ise hücre proliferasyonunu artırabildiği görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** HEK 293, Klorprifos, Organofosfat, Kurkumin, Selenyum

## ABSTRACT

Taşpınar, E. (2019). The Effect of Chlorpyrifos, Selenium and Curcumin Application on Cell Viability in HEK293 Cell Line. Istanbul University-Cerrahpasa, Institute of Graduate Studies, Biophysics Department. Master Thesis. Istanbul.

Chlorpyrifos (CPF; O,O-diethyl O-(3, 5, 6-trichloro- 2-pyridinol) phosphorothioate) is a commonly used organophosphate insecticide. Organophosphates are the most frequently used insecticides in agriculture, forestry and domestic control of insects. Organophosphate compounds enter the body through the skin, respiratory or oral route. These chemicals quickly disperse in the body and accumulate in the kidney and especially in adipose tissue. Organophosphates show their toxic effects through inhibition of AChE but can also affect other neurotransmitters, enzymes, and cell signalling pathways. It may also cause apoptosis by producing reactive oxygen species (ROS) and DNA fracture. Purpose of the study is to investigate the possible toxic effects of chlorpyrifos, and effects of selenium and curcumin, known to have antioxidant properties, on cell viability and proliferation in human embryonic kidney cell HEK293. When our results were examined it was observed that chlorpyrifos has moderately toxic effect on the HEK293 cell line and that the application of selenium and curcumin can increase cell proliferation with their antioxidant effects.

**Key Words:** HEK 293, Chlorpyrifos, Organophosphate, Curcumin, Selenium

# 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Organofosfatlar 1940'lardan beri yaygın olarak kullanılmaktadır. Dokularda asetilkolinesteraza (AChE) geri dönüşümsüz olarak bağlanarak inhibisyonuna neden olur ve asetilkolin birikimine yol açarak nörotoksik bir etki oluşturur.[1] Diyabet, doğum kusurları, Parkinson ve Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar, genotoksisite, teratojenisite, nörotoksisite ve gibi çeşitli hastalıkların organofosfatlarla kronik maruziyetle ilişkili olduğu bildirilmiştir.[2,3] Malathionun etkisinin araştırıldığı bir çalışmada hamile ratlarda artan dozla birlikte böbrek dokusu ve serumda bulunan enzimler üzerinde toksik etki gözlenmiş ayrıca yavru ratların böbreklerinde tüm dozlarda teratojenik etki gözlendiği bildirilmiştir.[4]

Oksidatif stresi indükleyerek serbest radikal üretimi sırasında hücreler üzerinde istenmeyen etkilere neden olan ve organofosfatlı bir insektisit olan klorprifos, normal hücresel gelişimi bozarak farklılaşmaya sebep olabilmektedir.[5]

In vitro ve in vivo çalışmalarla düşük konsantrasyonlarda klorprifosun sinir iletimini bozduğu, sinir hücrelerinin replikasyonunu inhibe ettiği, nöronal farklılaşmayı bozduğu ve nörodavranışsal değişiklikleri indüklediği gösterilmiştir. Hayvan çalışmaları klorprifosun farklı organlarda lipid peroksidasyon ürünlerinin üretilmesiyle oksidatif stresin oluşmasına neden olduğunu göstermiştir.[6,7] Klorprifosun ayrıca meyve sineği (*Drosophila melanogaster*)'nde ROS üretimi ile oksidatif strese neden olduğu ve ROS üretimi ile apoptoz ve DNA hasarı arasında pozitif korelasyon olduğu bildirilmiştir.[8]

Selenyum birçok enzimin yapısında bulunan ve antioksidan özellik gösteren esansiyel elementtir. Birçok biyokimyasal ve fizyolojik süreçte önemli rolü olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle canlıların gelişimi ve hücresel fonksiyonların gerçekleştirilmesi için gereklidir. Günlük diyette en çok ekmek, tahıllar, balık, beyaz et ve kırmızı et tüketimi ile birlikte vücuda alınmaktadır. Selenyum, selenosistein olarak Glutatyon peroksidaz gibi selenoproteinlerin yapısına girerek etkisini göstermektedir. Selenoproteinler aktif bölgesine selenosistein halinde selenyum katılmış proteinlerdir.[9] Selenoproteinlerin en önemlileri olan glutatyon peroksidaz, tiyoredoksin redüktaz ve iyodotironin deiyodinaz enzimlerinin yapısında bulunarak antioksidan etki gösterir.[10] Selenoproteinler kanser, enflamatuvar hastalıklar, nörolojik hastalıklar, yaşlanma, infertilite ve enfeksiyonları önleyici rol oynamaktadır.[1] Selenyum ile yapılan

çalışmalarda proteinlerin, DNA ve kromozomların yapı ve işlevlerini oksidasyon hasarına karşı koruduğu gösterilmiştir.[11,12] Hücre proliferasyonunu ve apoptozu düzenlediği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir.[13]

Kurkumin (KUR; 1,7-bis [4-hydroxy-3-methoxyphenyl]-1,6-heptadiene-3,5-dione) zerdeçal (*Curcuma longa* L.) rizomundan izole edilen sarı renkli bir pigmenttir.[14] İlaç, kozmetik ve boya olarak kullanılmaktadır.[15] Antioksidan bir ajan olarak tanımlanmıştır. Farmakolojik özellikler bakımından antitümör, anti-inflamatuar, antiinfeksiyöz, antidiyabetik ve antianjiyojenik aktivite gösterir.[16] Kanser hücrelerinde hücre ölümünü desteklediği bilinen kurkumin, bunu sinyal yolakları, transkripsiyon faktörleri, kinazlar, sitokinler ve membran reseptörlerini hedef alarak gerçekleştirdiği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir.[17]

Çalışmada klorprifosun olası zararlı etkilerinin ve antioksidan özellikleri olduğu bilinen selenyum ve kurkumin maddelerinin insan embriyonik böbrek hücresi olan HEK293 hücre hattında hücre canlılığı ve proliferasyonu üzerine etkilerini araştırmak ve karşılaştırmak amaçlanmıştır.

# 2. GENEL BİLGİLER

## 2.1. PESTİSİTLER

İstenmeyen organizmaların ölmesine, uzaklaşmasına neden olan, çoğalma veya beslenmelerini engelleyen toksik kimyasal madde veya karışımlara pestisit denir.[18] Tarım zararlılarına, yabani otlara, hayvanlarda iç ve dış parazitlere karşı, halk sağlığında sivrisinek ve kara sineğe karşı geniş bir alanda kullanılmaktadırlar. Pestisitler Roma ve eski Yunan'dan beri kullanılmaktadır ancak yaygın kullanımı 19. yüzyılın sonlarındadır. Kükürt, arsenik gibi inorganik maddeler ve nikotin, pyrethrum gibi bitki kaynaklı maddeler ilk pestisitler olarak kullanılmıştır.[19]

Pestisitler kullanılmadığında tarım ürünlerinde %60'a yakın verim ve kalitenin düştüğü bilinmektedir.[20] Ancak ne amaçla ve hangi hedef için kullanılırsa kullanılsın pestisitler tüm canlıları etkilemektedir. Kullanılan pestisitin %0.015-6.0'sı hedef organizmaya ulaşmaktadır. Geri kalan kısım ise kirletici olarak çevreye yayılmakta ve diğer organizmalara, toprağa, suya ulaşmaktadır.[19] Pestisitlerin kontrolsüz ve bilinçsiz kullanımı sonucunda savaşılmak istenen canlı dayanıklılık geliştirebilir, tarım ürünleri üzerinde kalıntı oluşturan pestisitler sağlığı ve çevreyi tehdit edebilir.[21]

Dünya'da her yıl ortalama 2,5 milyon ton pestisit kullanıldığı bilinmektedir.[22] ABD, Çin, Fransa, Brezilya ve Japonya en fazla pestisit kullanan ülkelerdir. Daha az kullanılmalarına rağmen zararlı etkilerinden korunmak için önlem alınmadığından dolayı sağlık üzerine olan etkileri en çok gelişmekte olan ülkelerde görülmektedir.[18] Türkiye'de pestisit kullanımı 1960'larda yaygınlaşmaya başlamıştır.[23] Kullanım miktarında her yıl artış olsa bile kullanılan pestisit miktarı ve gelişmiş ülkelere göre kıyaslandığında halen düşüktür. Ancak kullanılan pestisitlerin büyük çoğunluğu çevre ve insan sağlığı için risk oluşturmaktadır.[24] Dünya Sağlık Örgütüne göre her yıl yaklaşık 3 milyon insan pestisitten zehirlenmekte ve bunların yaklaşık 220 bini ölümle sonuçlanmaktadır. Türkiye'de kullanılan pestisitlerin %30,3'ü herbisit, %18,4'ü insektisit, %16,1'i fungusittir. Coğrafik bölgelere göre pestisit kullanımında ilk sırayı %28'lik oranla Akdeniz bölgesi almaktadır. Onu Ege (%25), İç Anadolu (%16), Marmara (%16), Doğu Anadolu (%6), Güney Doğu Anadolu (%5) ve Karadeniz (%4) bölgeleri takip etmektedir.[23]

Uygulanması gerekenden fazla miktarda kullanılmaları, gerekli olmadığı halde birden fazla pestisitin karıştırılarak kullanılması, son ilaçlamanın yapıldıktan sonra hasat

zamanına kadar bırakılması gereken süreye uyulmaması gibi durumlarda ürünlerin üzerinde kalıntı oluşabilir.[25] 2008 verilerine bakıldığında Avrupa Birliği ülkelerine giden ürünlerdeki kalıntılar sebebiyle uygun görülmeyen parti sayısına bakıldığında ülkemiz 308 parti sayısıyla 125 ülke arasında 2. sırada bulunmaktadır.[24] RASFF (The Rapid Alert System for Food and Feed)'nin en son 2017 yılında yayınladığı yıllık raporunda meyve ve sebzelerdeki pestisit kalıntısı nedeniyle uygun görülmeyen parti sayısına bakıldığında 83 partiyle Türkiye ilk sıradadır.[26]

Pestisitler insan vücuduna gastrointestinal, solunum ve deri yoluyla girebilir. Gözler pestisitlere oldukça duyarlıdır. Pestisit uygulaması yapan kişilerde maruziyet, solunumla değil çoğunlukla deri yoluyla meydana gelmektedir. Kullanılan pestisitler hava, su, toprak ve bitkilerde, canlı dokularında değişik oranlarda bulunduğu tespit edilmiştir.[18] Bunlar direk insan tarafından alınmasa da besin zinciri ile insana ulaşıp yağ dokusunda birikir.[18,27] Yaygın kullanım sonucu akut toksisite görülebileceği gibi, çok düşük dozlarda maruziyet durumunda bile kanser, sinir sistemi bozuklukları, diyabet gibi hastalıklara sebep olabileceği veya bu hastalıkların ortaya çıkışını kolaylaştırabileceği bildirilmektedir.[18]

Akut toksisitenin ölçüsü $LD_{50}$ değeridir. Bu değer popülasyonun yarısını öldürebilecek konsantrasyon miktarı olarak tanımlanabilir (mg/kg). Oral $LD_{50}$ değeri 50 mg/kg'a, dermal $LD_{50}$ değeri 200 mg/kg'a kadar olan pestisitlerin akut zehirliliği yüksektir.[21] Pestisitlerin $LD_{50}$ değerine göre sınıflandırılması Tablo 1'de gösterilmiştir.

**Tablo 1. Pestisitlerin DSÖ LD50 (sıçan) Vücut Ağırlığı (mg/kg)na Göre Sınıflandırılması**[28]

| Sınıf | | Renk Gösterimi | Oral | | Dermal | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Solid | Likit | Solid | Likit |
| 1 | Oldukça tehlikeli | Kırmızı | ≤5 | ≤20 | ≤10 | ≤40 |
| | Çok tehlikeli | Sarı | 5-50 | 20-200 | 10-100 | 40-400 |
| 2 | Orta derecede tehlikeli | Mavi | 50-500 | 200-2000 | 100-1000 | 400-4000 |
| 3 | Az tehlikeli | Yeşil | >500 | >2000 | >1000 | >4000 |

### 2.1.1. PESTİSİTLERİN SINIFLANDIRILMASI

Etkili oldukları canlıya göre:

1. İnsektisit: Böcek öldürücü
2. Herbisit: Bitki öldürücü
3. Fungisit: Mantar ve mantar sporlarını öldürücü
4. Akarisit: Mite (akar) öldürücü
5. Bakterisit: Bakteri öldürücü
6. Virisit: Virüs öldürücü
7. Rodentisit: Kemirgen öldürücü
8. Pisisit: Balık öldürücü
9. Avisit: Kuş Öldürücü
10. Mollusisit: Yumuşakça (salyangoz ve sümüklüböcek gibi) öldürücü
11. Nematisit: Nematod (yuvarlak solucan) öldürücü
12. Afisit: Yaprak bitlerini öldürücü
13. Algisit: Alg öldürücü
14. Termitisit: Karınca öldürücü
15. Pedikülosit: Bit öldürücü

İşlevlerine göre:

1. Defoliant: Bitkilerde yaprak dökücü etki gösterenler
2. Desilkant: Yaşayan bitki dokusunda kurutucu etki gösterenler
3. Dezenfektan: Bakteri ve virüs gibi mikroorganizmaları etkisiz hale getirenler
4. Repellent: Pestler üzerinde koku veya tat gibi etkilerle uzaklaştırıcı etki gösterenler.
5. Feromon: Böcekleri çeken ya da çiftleşme davranışlarını bozarak etki gösterenler
6. Kemosterilant: Kısırlaştırıcı etki gösterenler.
7. Büyüme düzenleyici: Böcek veya bitkilerin büyümelerini geciktirerek ya da hızlandırarak etki gösterenler.

Kimyasal tiplerine göre:

1. Organofosfatlar
2. N-metil karbamatlar
3. Klorlu hidrokarbonlar

4. Bitkisel kaynaklı maddeler
5. Fenoksi alifatik asitler
6. Arsenikliler
7. Ditiyokarbamatlar
8. Organotinler
9. Piretroidler
10. Fenol türevleri
11. Mikrobiyaller

Dayanıklılık sürelerine göre:

1. Kalıcı olmayan (1-2 hafta)
2. Orta kalıcı (1-18 ay)
3. Kalıcı (2-20 yıl)
4. Sürekli kalıcı

Halk sağlığı için önemli olan dayanıklılık sürelerine göre yapılan sınıflandırmadır.[18]

Etki ettikleri gelişim evrelerine göre:

1. Ovisit:Yumurtaları öldürenler
2. Larvisit: Larvaları öldürenler
3. Adultisit: Erginleri öldürenler

Kullanıldıkları yerlere göre:

1. Halk sağlığında kullanılan pestisitler
2. Yapısal pestisitler
3. Endüstriyel pestisitler
4. Bahçe pestisitleri

Zararlılara etki yollarına göre:

1. Bitkide sistemik, yarı sistemik ve sistemik olmayan,
2. Zararlıda ise mide zehirleri, böceğe temas ile bulaşarak vücut duvarından geçip etkisini gösteren kontakt zehirler, stigma denilen trake solunumunun gerçekleştiği

deliklerden böceğin vücuduna giren fumigantlar ve dış iskeleti kurutup parçalayarak vücuda giren desilkantlar olarak sınıflandırılabilir.

Pestisitlerin formülünde aktif bileşenin yanında eklenen bazı bileşikler bulunur. Bunlar:

1. Solventler: çözücü madde. Çoğu pestisitte solvent olarak su kullanılır hale gelinmiştir.
2. Sürfaktanlar: sıvı yüzey gerilimini azaltan maddelerdir. Sıvıların yapışma ve yayılma özelliklerini artırırlar.
3. Taşıyıcılar: pestisitin kullanımını kolaylaştırmak için içerisine konulan sıvı veya katı maddelerdir.
4. Güvenlik maddeleri (safener): ürünü pestisitin zararından korumak için kullanılan maddelerdir.
5. Adjuvant: pestisitlerin etkisini artırmak için kullanılan çeşitli kimyasallardır. [27,29]

Formülasyonlarına göre:

1. Toz ilaçlar (Dust)
2. Islanabilir toz ilaçlar
3. Suda çözünebilir toz ilaçlar
4. Emülsiyon konsantre ilaçlar
5. Solüsyon konsantre ilaçlar
6. Yazlık ve kışlık yağlar
7. Granüller
8. Pelletler
9. Tabletler
10. Toz tohum ilaçları
11. Sıvı tohum ilaçları
12. Aerosoller
13. Zehirli yemler
14. Kapsül şekli verilmiş formulasyonlar
15. Akıcı konsantreler
16. Kuru akışkanlar [30]

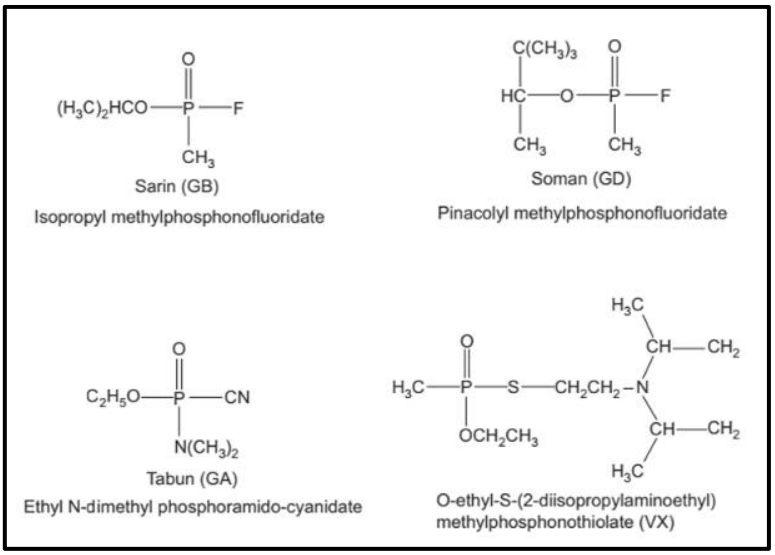
Pestisitler tarım, bahçecilik, ormancılık, böcek kontrolü, hayvancılık, inşaat gibi alanlarda kullanılmaktadır. Hastalık taşıyan faktörlerin ortadan kaldırılması için halk sağlığında da kullanılırlar. Halk sağlığında kullanılacak pestisit sadece kontrol edilmek istenen canlıya toksik olmalı, insanlara zarar vermemeli, kolay uygulanabilmeli, yanıcı, patlayıcı veya boyayıcı etkisi olmamalıdır.

### 2.1.2. ORGANOFOSFATLI PESTİSİTLER

Organofosfatlar triester yapısında olup fosforik asit türevleridir ve etken maddeleri fosfor atomu içerirler. Triester yapıda olduklarından dolayı ester gruplarının özelliklerine göre bu grupta bulunan pestisitlerin kimyasal yapıları oldukça farklıdır. Bu nedenle neredeyse her zararlıya spesifik bir organofosfatlı bir etken madde bulunabilir.[25] İlk organofosfatlı bileşik olan tetraetil pirofosfat 1854 yılında Philipe de Clermont tarafından sentezlenmiştir. İlk kullanılan organofosfatlı pestisit ise 1932'de Schrader tarafından bulunan parationdur ve hala dünya çapında kullanılmaktadır.

Organofosfatlı pestisitler ilk olarak 2. Dünya Savaşında silah olarak kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Alman Savunma Bakanlığı G serisi (Sarin, Tabun, Soman, Cyclosarin gibi) organofosfatlı bileşikleri ve diizopropil fosforofluoridatı sentezlemiştir.[28] Bu bileşikler sinir gazı olarak da bilinirler. Savaş sonrasında tarımda kullanılabilecek olan organik fosforlu bileşikler bulunmuştur ve nikotinin yerine kullanılmaya başlanmıştır.[31]

Klorprifos, diazinon, malation gibi pestisitler, sarin, soman gibi sinir gazları organofosfatlara örnektir. Organoklorlu pestisitlerin yasaklanmasıyla organofosfatlı pestisitlerin kullanımı artmıştır.[32] Organofosfatlı pestisitler tüm dünyadaki pestisit tüketiminin yaklaşık %45'ini oluşturur.[30] ABD'de her yıl yaklaşık olarak 20 bin kişi organofosfatlardan zehirlenmektedir.[33] Ülkemizdeki pestisit zehirlenmeleri en sık organofosfatlar nedeniyle olmaktadır.[22,32] Vücuda inhalasyon, transdermal, transkonjonktival ve gastrointestinal yollarla girer.[33]




**Şekil 1. Savaş Ajanı Olarak Kullanılan Organofosfatlı Bileşikler**[28]

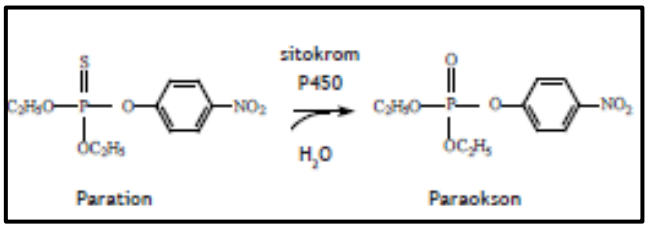
Organofosfatlı pestisitler toksik etkisini asetilkolinesterazın (AChE) inhibisyonu ile göstermektedir.[27] Asetilkolinesteraz, görevini tamamlayan asetilkolini asetik asit ve koline parçalar.[31] Organofosfatlar, nöromusküler kavşak, sinir sistemi ve eritrositlerde AChE enziminin aktif bölgesinde bulunan serin aminoasitinin hidroksil grubunu fosforilleyerek inaktive eder. Bunun sonucunda sinir sisteminde ACh birikir, nikotinik ve muskarinik reseptörlerde aşırı uyarılır.[32] Nikotinik reseptörlerin uyarılması sonucu taşikardi, hipertansiyon, solgunluk ve midriyazis oluşur. Muskarinik reseptörlerin uyarılması sonucu ise salivasyon, diyare, bradikardi, lakrimasyon ve terleme oluşur.[33]

Fazla miktarda ACh, parasempatik sinir sisteminin aşırı çalışmasına, çizgili ve düz kaslarda kasılmaya, akciğer salgılarının artmasına, kan basıncının artmasına ve felce neden olabilir.[30] Organofosfatların ayrıca nörotoksisite, hepatotoksisite, teratojenite, böbrek yetmezliği, akut solunum yetmezliği, akciğer ödemi, oligospermi gibi etkilere neden olabileceği bildirilmiştir.[22,34]

| | Etki Alanı | Fizyolojik Etkiler |
|---|---|---|
| Muskarinik (parasempatik etkiler) | Ter bezleri | Aşırı terleme sonucu hipotermi ve elektrolit dengesinde bozukluk |
| | Göz bebeği | Daralma |
| | Salgı bezleri | Lakrimasyon |
| | Tükürük bezleri | Aşırı tükürük |
| | Bronş ve bronşioller | Hırıltı |
| | Gastrointestinal sistem | Kramp, kusma, diyare, tenesmus |
| | Kardiyovasküler | Bradikardi, kan basıncında azalma |
| | Kirpiksi cisim | Bulanık görme |
| | İdrar torbası | İdrar tutamama |
| Nikotinik etkiler | Çizgili kaslar | Fasikülasyon, kramp, güçsüzlük, seyirme, paraliz, solunum zorluğu, siyanoz |
| | Sempatik ganglia | Taşikardi, kan basıncının artması |
| | Merkezi sinir sistemi etkileri | Anksiyete, huzursuzluk, ataksiya, kasılmalar |

**Şekil 2. Organofosfatlı Pestisitlerin Muskarinik ve Nikotinik Toksisite Belirtileri**[28]

Organofosfatların AChE'ı inhibe edip toksik etkilerini göstermeleri için oksidatif desülfürasyon ile oksonlara dönüşmeleri gerekmektedir. Bu da karaciğerde sitokrom p450 enzimleri ile gerçekleştirilir. Sinir gazları yapılarında okson grubu içerdiğinden dolayı oksidatif desülfürasyona gerek duymadan AChE'ı inhibe ederler.[35]




**Şekil 3. Oksidatif Desülfürasyon ile Parationun Paraoksona Biyotransformasyonu**[32]

Organofosfatlar paraoksonaz (PON1) gibi A-esterazlar tarafından hidrolize edilerek ve butirilkolinesteraz, AChE ve karboksilesterazlara sitokiyometrik bağlanarak detoksifiye olurlar. PON1 serumda bulunan glikoprotein yapıda bir enzimdir. Memelilerde kan, karaciğer, beyin, böbrek gibi dokularda PON1 aktivitesi bulunmasına

rağmen organofosfatlı pestisitlere duyarlı olan kuş, böcek ve balıklarda aktivitesi yok denecek kadar azdır.[32]

Organofosfat maruziyeti sonucu oluşan oksidatif stres antioksidan enzimlerin aktivitesini değiştirdiği, çok fazla miktarda nitrik oksit oluşumunu tetiklediği, insan ve hayvanlarda lipit peroksidasyonunu artırdığı gösterilmiştir.[36]

Organofosfat uygulanan beyin, tiroid, karaciğer gibi çeşitli dokularda MDA seviyesinde artış SOD, CAT, GSH-Px aktivitelerinde ise farklılıklar gözlenmiştir.[35] Başka bir çalışmada ise in vitro ve in vivo olarak uygulanan organofosfatların hepatositlerde SOD'un inhibisyonuna, GSH-Px aktivitesinde azalmaya ve MDH seviyesinde artışa neden olduğu saptanmıştır.[37]

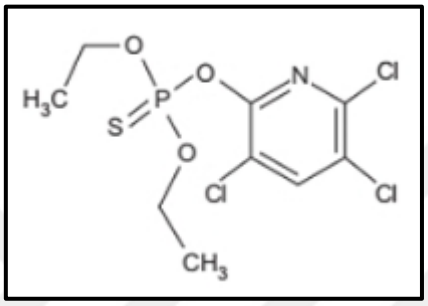
Sıçanlar üzerine yapılan çalışmada bir organofosfatlı insektisit olan malathionun, uygulama dozuyla doğru orantılı şekilde gebe sıçanlarda böbrek ve serum enzimleri üzerine toksik etki oluşturduğu ve yavru sıçanların böbrekleri üzerinde teratojeniteye neden olduğu gösterilmiştir.[22]

**Tablo 2. Organofosfatlı Pestisitlerin DSÖ Risk Sınıflaması**

| ORGANOFOSFATLI PESTİSİTLERİN DSÖ RİSK SINIFLAMASI | | | |
|---|---|---|---|
| **İleri düzeyde riskli (Sınıf 1A)** | **$LD_{50}$(mg/kg)** | **Yüksek riskli (Sınıf 1B)** | **$LD_{50}$(mg/kg)** |
| Chlorfenvinghos | 10 | Bromophosethyl | 71 |
| Chlormepohos | 7 | Causafos | 37 |
| Demephlon-O ve -S | 15 | Crotoxyphos | 74 |
| Dimekfox | 1 | DPUP | 56 |
| Disulpaton | 2.6 | Demeton | 40 |
| EPN | 14 | Isazofos | 60 |
| Leptefhos | 50 | Omethoate | 50 |
| TEPD | 1.1 | | |
| Thionazid | 11 | | |
| **Orta düzeyde riskli (Sınıf 2)** | | **Hafif düzeyde riskli (Sınıf 3)** | |
| Chlorpyrifos | 135 | Acephate | 945 |
| Cyanophos | 610 | Bromophos | 1600 |
| Dialifos | 142 | Malathion | 2100 |
| ECP | 270 | Menazon | 1950 |
| Fenthion | 586 | | |
| Farmathion | 365 | | |
| Phosmet | 230 | | |
| **Normal kullanımda akut zarar vermesi beklenilmeyen maddeler** | | | |
| Chlorphoxim | +2500 | | |
| Chlerphyrifosmethyl | +3000 | | |
| Ditalmifes | 5660 | | |
| Fenoxycarb | +10000 | | |
| Jonfenphos | 2100 | | |
| Temephos | 8600 | | |
| Tetachlorinphes | 4000 | | |

### 2.1.2.1. KLORPRİFOS

Klorprifos [O,O-dietil O-(3,5,6-trikloro-2-piridil) fosforotiyonat] insektisit, akarisit ve mitisit olarak tarım alanlarında kullanılan organofosfatlı bir pestisittir. Diğer Organofosfatlı insektisitler gibi böcek ve insanda AChE inhibe ederek etki eder. İlk olarak 1965 yılında satışa çıkmıştır ve 1990'larda Organoklorların yerini alıp dünya çapında en çok kullanılan pestisit olmuştur.



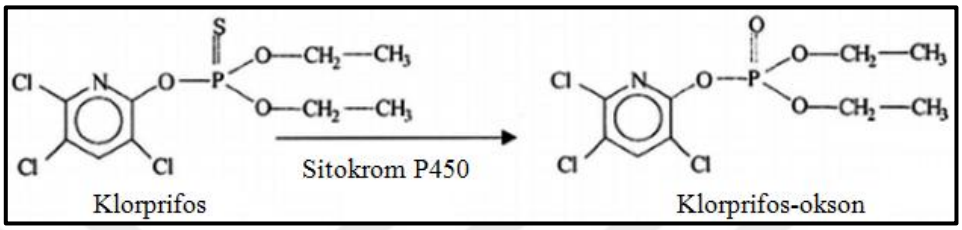

**Şekil 4. Klorprifosun Yapısı**[28]

Brodan, Detmol UA, Dowco 179, Dursban, Empire, Eradex, Killmaster, Lorsban, Paqeant, Piridane, Pyrinex, Scout, Stipend ticari isimleriyle bilinir.[38,39]

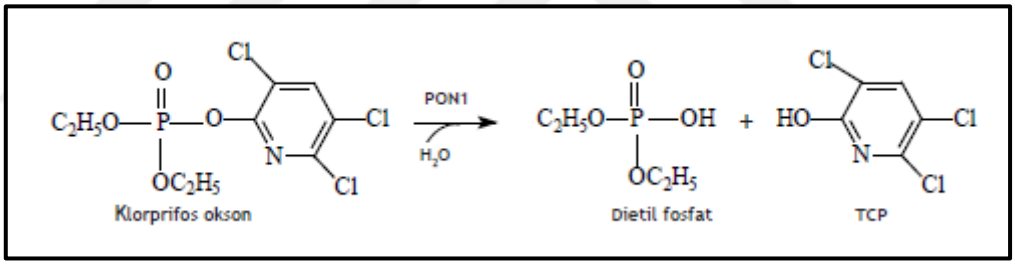
Klorprifos, methanol ve izooktan gibi organik solventlerde çözülebilir. Ancak sudaki çözünürlüğü düşüktür. (25°C'de <2 mg $l^{-1}$) Toprak ve suda abiyotik hidroliz, fotodegradasyon ve biyotik degradasyona uğrar. Toprak türüne ve iklime bağlı olarak topraktaki kalıcılığı 2 haftadan 1 yıla kadar değişir.

Hayvanlarda klorprifos en çok yağ dokusunda bulunur. Ayrıca albümin gibi plazma proteinlerine de bağlanır. Yutma, solunum ya da deri yoluyla emilerek vücuda girebilir. Sitokrom p450 enzimiyle oksidatif desülfürasyon sonucu klorprifos-okson oluşur. (Şekil 5) Klorprifos ve klorprifos-oksonun sitokrom p450 tarafından dearilasyonu sonucu 3,5,6-trikloro-2-pridinol (TCP) ve dietil tiyofosfat (DETP) oluşur. TCP ya da konjuge hali idrarla atılır. Klorprifos-okson A-esteraz ile hidrolizi sonucu TCP ve dietil fosfat (DEP) oluşur. (Şekil 6) A-esteraz aktivitesi en yüksek karaciğerde görülmektedir. Akciğer ve böbrekte ise daha düşük miktardadır.[35,39]

AChE'ın yanı sıra nörogenez, sinir sistemi gelişimi, sitotoksisite, makromolekül sentezi, nörotransmitter reseptörleri, oksidatif stres, nükleer transkripsiyon faktörleri ve nöronal-glial hücre etkileşimleri üzerinde de etkileri bulunur. Sıçanlarda fetal karaciğer, beyin, plasenta, göbek kordonu ve amniyon sıvısında kolinesteraz enziminin inhibisyonu, Klorprifos'un fetüse transplasental olarak geçtiğini göstermektedir.[39]




**Şekil 5. Oksidatif Desülfürasyon ile Klorprifosun Klorprifos-oksona Biyotransformasyonu**[40]




**Şekil 6. Klorprifos-oksonun PON1 ile Detoksifikasyonu**[32]

Maruziyet diyet yoluyla, buharının solunmasıyla ve deriye temasla gerçekleşebilir. Yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarda akut ve kronik organofosfat maruziyeti sonucu oluşan toksik etkilerde oksidatif stresin neden olduğu doku hasarının önemli rol oynadığı gösterilmiştir.[35]

Klorprifos sıçanlara 8 hafta boyunca uygulandığında karaciğer enzimlerinin arttığı, AChE enziminin inhibe olduğu ancak diyetle çinko verildiğinde AChE enziminin normale döndüğü bildirilmiştir.[41]

Klorprifos arı, kuş, balık, ipek böceği gibi hedef olmayan canlılar için de oldukça toksiktir. Fare pnömonositlerinde, kemik iliği hücrelerinde, embriyonik hücrelerde fetal

malformasyonlara, mikronükleus oluşumunu tetikleyebilir. Embriyonik dönemde cinsel organların farklılaşmasını etkileyebilir.[36]

## 2.2. SELENYUM

Selenyum canlılar için gerekli olan bir eser elementtir. İsmini Yunan mitolojisindeki ay tanrıçası Selènè'den almıştır. İlk kez 1817'de modern kimyanın kurucularından biri olarak kabul edilen İsveçli bilim insanı Jons Jacob Berzelius tarafından bulunmuştur. Sülfürik asit hazırlarken başta tellür olduğunu düşündüğü tortunun yeni bir element olduğunu farketmiştir. Kalkojen grubu elementidir. Kütle numarası 74, 76, 77, 78, 80 ve 82 olan altı izotopu bulunur. Bunlardan en yaygınları $^{80}$Se and $^{78}$Se'dir.

Selenyumun keşfedilmesinden sonra çoğu memelide hücresel fonksiyonlar için esansiyel olduğunun farkedilmesi 140 yıl sürmüştür.[42]

Selenyumun biyolojik sistemlerdeki ve özellikle hücresel redoks (prooksidan/antioksidan) dengesi için önemi selenoproteinlerin katalitik bölgelerinde selenosistein olarak bulunmasından kaynaklanmaktadır. Selenyum antioksidan vitaminler olan C (askorbik asit) ve E (α tokoferol) vitaminleri ile sinerjik hareket ederek onları okside formlarından yeniden üretir ve maksimum oksidan korumayı teşvik eder.[43]

Selenyum iki formda bulunur:

1. Organik (selenometiyonin ve selenosistein)
2. İnorganik (sodyum selenat ve sodyum selenit)

Hayvanlar selenyumu selenoamino asitler ve metile/nonmetile olarak besin yoluyla alırlar. Nonmetile formlar mono, di ve trimetile türlere dönüştürülür. Trimetil selenyum idrarla, dimetil form solunumla ve monometile form ise genellikle selenometiyonin metabolizmasıyla atılır. Selenoglutatyon ise glutatyon redüktaz ile karaciğer ve eritrositlerde hidrojen selenit ($H_2Se$)'e iki aşamalı şekilde indirgenir. $H_2Se$ oldukça toksiktir.[42] Sonunda $H_2Se$ metillenir ve idrarla atılır.[44]

Sodyum selenat'ın neredeyse tamamı absorbe edilir fakat önemli bir kısmı proteinlere katılmadan önce idrarla atılır. Sodyum selenitin ise yalnızca %50'si absorbe edilir fakat absorbe edildikten sonra daha iyi tutulur. Selenometiyonin'in yaklaşık %90'ı absorbe

edilir ancak %34'ü serbest selenometiyonine dönüştürülür. Selenyumun hem organik hem inorganik formu vücut tarafından selenometiyonine metabolize edilebilmesine ve selenoenzimlerin yapısında katılabilmesine rağmen, yeterli selenyum miktarının korunmasına eşit derecede katkı sağlamayabilirler. Selenyumun organik formlarıyla yapılan takviyelerin inorganik formla yapılan takviyeden daha etkili şekilde kan selenyum konstantrasyonunu artırdığı görülmüştür. Ancak, inorganik formlar plazma glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesini artırmada organik forma göre daha etkilidir.[43]

Vücutta selenyum homojen olarak bulunmaz. Miktarı, serum, plazma ve idrarda konstantrasyonlarının ölçümüyle ve eritrositlerde glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enziminin aktivitesiyle gösterilir. GSH-Px aktivitesi uzun süreli Se miktarı hakkında bilgi verir. Serumdaki ve idrardaki selenyum konsantrasyonları ise son zamanlarda alınan kısa süreli selenyum miktarını gösterir.[45]

Yüksek miktarda A vitamini, beslenme açısından yeterli seviyede metiyonin ve/veya total protein ve antioksidanların (C ve E vitamini gibi) alımı selenyumun biyoyararlılığını artırırken; cıva, kadmiyum, arsenik gibi ağır metallerin varlığı, bazı vitaminlerinin eksikliği (B1, B6 ve E), metiyonin ve bazı sülfür bileşiklerin (merkaptanlar) varlığı ise azaltır.[44,46]

Tanımlanmış 30'dan fazla selenoprotein bulunmaktadır. Selenyum selenoproteinlerin aktif bölgesine selenosistein olarak katılır ve redoks merkezi olarak çalışır. Antioksidan glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimi önemli bir selenoproteindir. Diğer önemli selenoproteinler tiyoredoksin redüktaz (TrxR), iyodotrionin deiyodinaz (DIO) ve selenofosfat sentetaz 2 (SPS2) dir. Hepsinin oksidoredüktaz fonksiyonları bulunmaktadır.[47]

Selenyumun GSH-Px'daki rolü 1973 yılında tanımlanmıştır, öncesinde E vitamini eksikliği olan sıçanlarda karaciğer nekrozunun önlenmesindeki gerekliliğinin farkedilmesiyle besinsel önemi anlaşılmıştır.[44]

Selenoproteinler tiroid hormon metabolizması, antioksidan savunma sistemi ya da immun fonksiyon gibi birçok metabolik yolak için esansiyeldir. Selenoproteinlerin oksijen metabolizmasının yan ürünleri olarak oluşturulan radikallerin hücresel hasarını engelleyerek kanser riskini azalttığına dair birçok kanıt bulunmaktadır. Ayrıca immün hücre aktivitesini artırarak tümör büyümesini yavaşlatabilir ya da engelleyebilir.[42]

DNA sentezinde nükleotidleri redükler ve intraselüler redoks durumunu kontrol eder. Selenyumun enzim fonksiyonlarının haricinde önemli sağlık etkileri de bulunmaktadır.

Bunlar:

- Bağışıklık siteminin düzgün çalışması için gereklidir,
- Virüs gelişiminin önlenmesi ve HIV'in AIDS'e gelişiminin engellenmesinde anahtar bileşendir,
- Sperm hareketliliği için gereklidir
- Düşük riskini azaltabilir.[46]

İyot, tiroid hormonlarının esansiyel komponentidir. Selenyum içeren iyodotironin deiyodinazlar (DIO) tiroksinin (T4) biyolojik olarak aktif tiroid hormonu olan triiyodotironine dönüşmesi için gerekli olan enzimdir. DIO1 aktivitesi iyot homeostazını düzenlemede rol oynayabilir. Selenoenzim olan glutatyon peroksidaz, tiroid hormon sentezi sırasında oluşturulan peroksidazların degradasyonunu katalizleyerek tiroid fonksiyonunda kritik rol oynar.[43]

Se eksikliğine ciddi iyot eksikliği eşlik ettiğinde, tiroid hormonlarının sentezi için kofaktör olarak yüksek miktarlarda üretilen $H_2O_2$ tiroid dokusunda hasarı artırabilir.[46]

Selenyum besin zincirine bitkiler yoluyla girer. Selenyum toprak, su, *Brassicaceae* (turpgiller: lahana, brokoli ve karnabahar gibi) ve *Allium* (sarımsak, soğan gibi) familyası üyeleri, soya fasulyesi, tahıllar, fındık ve ceviz gibi besinler selenometiyonin açısından zengindir ayrıca az miktarda selenosistein ve selenat içerir.[43] Ayrıca hayvansal kaynaklı deniz mahsülleri, et, yumurta, tereyağı, karaciğerde bulunur. Hayvansal kaynaklı besinlerde selenosistein, bitkisel kaynaklı besinlerde ise selenometiyonin olarak bulunur.[43,48]

Topraktaki selenyum miktarı bölgeye göre değişmektedir, bu da bitkilerin sahip olduğu selenyum miktarını belirler. Selenyum toprakta zor tutulur. Toprak pH'sı yüksek olduğunda, presipitasyon (çökelme, yağış) ve süzülme az olduğunda bitkiler tarafından kullanımı yüksek olur. Ancak yüksek asitlik, sülfür, demir ve alüminyum gibi elementlerin varlığı selenyumun bitkiler tarafından alınabilmesini negatif olarak etkiler.[47]

Türkiye'deki topraklar incelendiğinde diğer ülkelere göre selenyum konsantrasyonunun bir miktar düşük olduğu tespit edilmiştir. Türkiye popülasyonu

üzerinde yapılan araştırmada 7 farklı coğrafi bölgeden orta ve orta üstü gelir düzeyine sahip rastgele seçilen 274 kişide kordon kanı, kan ve serum Se düzeyleri incelenmiştir. Hiçbir bölgede eksiklik görülmemiştir ve en düşük selenyum seviyesine sahip bölgenin Karadeniz bölgesi olduğu saptanmıştır.[46]

Selenyum eksikliği kalp hastalığı ya da immun sistem yetmezliğine neden olurken, fazla alınması selenosis (selenyum zehirlenmesi) ile sonuçlanır. Selenosis akut veya kronik olabilir. Çin'in belirli bölgeleri dışında selenyum zehirlenmesinin görülmesi oldukça nadirdir. İlk semptomlar bulantı, diyare ve kusmadır. Daha sonra saç dökülmesi, tırnaklarda renk değişikliği, periferal nöropati, nefeste sarımsak kokusudur.[48] Günlük 5 mg'dan fazla alınması öldürücüdür. Amerikan Ulusal Tıp Akademisine göre tolere edilebilir üst düzey alım miktarı yetişkinler için günlük 400 µg olarak belirlenmiştir. Bu nedenle birçok besin takviyesi günlük doz başına 50-200 µg selenyum içerir.[42]

Yetersiz selenyum alımı glutatyon peroksidaz (GSH-Px1 ve GSH-Px3), iyodotironin deiyodinaz, selenoproetin W ve metiyonin-R-sulfoksit redüktaz B1 (MsrB1) gibi selenyuma duyarlı enzimlerin aktivitesini olumsuz etkileyebilir. Yeme alışkanlıkları, vejeteryan beslenme, mide salgısını etkileyen patolojik durumlar selenyum eksikliğine neden olabilir. Selenyum eksikliği uzun süre selenyum eklenmemiş total parenteral nütrisyon (TPN) alan kronik hastalarda rapor edilmiştir. Bu hastalarda kas zayıflığı, kas erimesi, kardiyomiyopati görülmüştür. TPN çözeltilerinde rutin olarak selenyum takviyesi yapılmaktadır. Selenyum eksikliği riski bariatrik cerrahi olan ya da Krohn hastalığı gibi gastrointestinal hastalığı bulunan veya özel tıbbi diyet uygulayan hastalarda görülmektedir.[43]

**Tablo 3. Bazı Besinlerin Bir Porsiyonlarında Bulunan Selenyum Miktarı**[49]

| | |
|---|---|
| Tavuk eti, derisiz: 90 g | 26 mcg |
| Esmer pirinç: 120 g | 13 mcg |
| Yumurta: 1 adet | 12 mcg |
| Tam tahıl unlu ekmek: 1 dilim | 11 mcg |
| Yer fıstığı: 60 g | 3 mcg |

**Tablo 4. 7-24 ay Çocuklarda Selenyum İçin Önerilen Yeterli Alım (RDA/AI) ve Tolere Edilebilir Üst Düzey (AI) Alım Miktarları[49]**

| | | |
|---|---|---|
| 7-11ay | RDA/AI | 15 |
| | UL | - |
| 1 yaş | RDA/AI | 15 |
| | UL | 60 |

RDA/AI: günlük önerilen alım/yeterli alım miktarı

UL: tolere edilebilir üst düzey alım miktarı

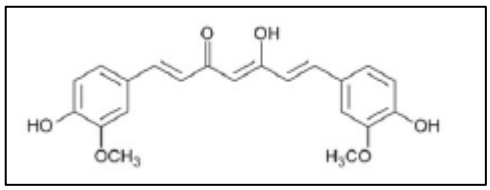
**Tablo 5. Selenyum İçin Yeterli Alım (AI) ve Tolere Edilebilir Üst Düzey (UL) Alım Miktarları[49]**

| Yaş | AI (mcg/gün) | UL (mcg/gün) |
|---|---|---|
| 2-3 yaş | 15 | 60 |
| 4-6 yaş | 20 | 90 |
| 7-10 yaş | 35 | 130 |
| 11-14 yaş | 55 | 200 |
| 15-17 yaş | 70 | 250 |
| ≥70 yaş | 70 | 300 |
| Gebelik | 70 | 300 |
| Emziklik | 85 | 300 |

## 2.3. KURKUMİN

Zerdeçal (*Curcuma longa*), *Zingiberaceae* familyasına ait, anavatanı Güney Asya, Endonezya ve Hindistan olan, yer altı rizomları kurutularak baharat olarak kullanılan bir bitkidir. Zerdeçalın temel aktif bileşeni diferuloilmetan olarak da bilinen kurkumin (1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione) temel aktif flavonoiddir.[50]

Zerdeçalın aktif içeriği ilk kez 1842 yılında Vogel tarafından izole edilmiştir. İnsan çalışmalarında kurkuminin günlük 10 g'a kadar toksik etkisinin olmadığı gösterilmiştir.




**Şekil 7. Kurkuminin Kimyasal Yapısı**[51]

Geleneksel Çin ve Hint Ayurveda tıbbında mide-bağırsak, solunum yolu ve cilt hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Kurkumin iyi bir antioksidandır ve sıçan karaciğer mikrozomları, eritrosit membranı ve beyin homojenatlarında lipit peroksidasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Ayrıca toksik metalleri (kadmiyum ve kurşun gibi) şelatladığı ve sıçan beyin homojenatında potansiyel nörotoksisite ve doku hasarını azalttığı bildirilmiştir.[52]

Bilimsel araştırmalar kurkuminin antibakteriyel, antiviral, antifungal, antioksidan ve antikanser aktivitelere sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca artrit, Alzheimer ve romatoid artrit gibi diğer kronik hastalıkların riskini azaltma potansiyeline sahiptir. In vivo bazı çalışmalarda tümor oluşmasını engellediği ve in vitro tümör hücrelerinde antiproliferatif etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.[53] Kurkumin peroksil, superoksit ve hidroksil radikallerini temizlemede oldukça etkilidir.[53,54] Bazı hayvan çalışmaları hipokolesterolemik, antiaterojenik ve antiplatelet aktivitesine sahip olduğu rapor edilmiştir. Son zamanlar yapılan bir klinik çalışmada, kurkumin tüketiminin metabolik hastalıklar, cilt hastalıkları, kanser, bağırsak inflamasyonu, depresyon, artrit, karaciğer yağlanması ve premenstrual sendrom üzerine olumlu etkiler gösterdiği anlaşılmıştır.[55] Bir çok çalışma zerdeçal ve onun aktif bileşiklerinin inflamatuvar sitokinlerin azaltılması yoluyla, antioksidan ve antiapoptotik etkileriyle nefrotoksisite, hepatotoksisite, kardiyotoksisite, nörotoksisite ve akciğer toksisitesini azalttığını göstermiştir.[56]

Kurkuminin lipit peroksidasyonuna karşı antioksidan etkisinin olduğu ve $OH^{\bullet}$ radikalinin neden olduğu MDA oluşumunu önemli ölçüde önlediği gösterilmiştir.[57]

Klorprifosun neden olduğu serbest radikal, lipit peroksidasyonu oluşumu ve antioksidan enzimleri azaltma gibi etkilerine karşı kurkuminin E vitamini ile birlikte

uygulanması reaktif oksijen türlerinin ortadan kaldırılmasına ve antioksidan enzim seviyelerinin yükselmesine neden olduğu bildirilmiştir.[14]

# 3. GEREÇ VE YÖNTEM

## 3.1. GEREÇLER

### 3.1.1. Kitler ve kimyasallar:

HEK293 Hücre hattı
Fetal Bovine Serum (FBS) (PAN Biotech)
Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (PAN Biotech)
Phosphate Buffered Saline (PBS) (PAN Biotech)
Tripsin-EDTA (PAN Biotech)
Penicillin-Streptomycin (PAN Biotech)
Dimetyhl Sulfoxide (DMSO) (NEOFROXX)
WST-1 Hücre Proliferasyon Kiti (CAYMAN)
Klorprifos-etil (Safban 25 WP) (Safa Tarım A.Ş.)
Sodyum Selenite (Sigma)
Curcumin (Sigma)
Steril bidistile su

**Sarf Malzemeleri:**

2 ml Kriyotüp (Nest)
25 $cm^2$'lik kültür kabı (TPP)
75 $cm^2$'lik kültür kabı (TPP)
96 well cell culture plate (Nest)
1,5 ml'lik ependorf (CAPP)
15'lik falkon tüp (CAPP)
50'lik falkon tüp (CAPP)
Thoma lamı (ISOLAB)
Corning Sterile Syringe Filter 0.20 μm

### 3.1.2. Cihazlar:

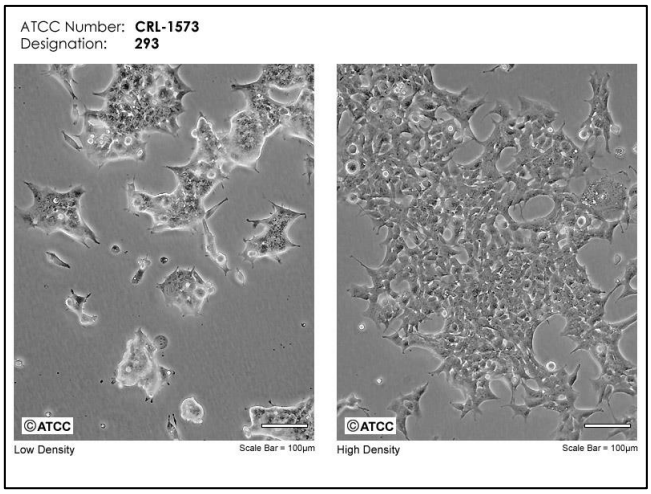
Mikroplate okuyucu (Epoch™ Microplate Spectrophotometer)
Laminer Akım Kabini (Heraus EL 2448)
Işık mikroskobu (Olympus IM Inverted Microscope)
Santrifüj (Hettich Universal 32R Centrifuges)
Vorteks (Velp Zx3 Vortex)
$CO_2$ inkübatörü (Sanyo MCO-18AIC Copper Alloy Incubator)
Hassas terazi (Scaltec SBC 31)
Buzdolabı (+4°C) (Arçelik)
Derin dondurucu (-80°C) (Nüve Direct Freeze DF 490)
Sıvı azot tankı (Lab Systems Taylor-Wharton)
Su banyosu (Nüve BM302)
Otoklav (Nüve Steam A- OT 40L)

## 3.2. YÖNTEMLER

### 3.2.1. Hücre Kültürü

İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı Hücre Kültürü laboratuvarında gerçekleştirdiğimiz çalışmada HEK293 embriyonik böbrek hücre hattı (ATCC® CRL1573™) kullanıldı.

Hücreler %10 FBS ve %1 penisilin/streptomisin içeren besiyeri (DMEM) ortamında, 37°C'de %5 $CO_2$ içeren inkübatör içerisinde inkübe edildi. Hücrelerin içerisinde bulundukları besiyeri 3-4 günde bir yenilendi ya da hücreler pasajlandı.




**Şekil 8. HEK293 Hücreleri**




**Şekil 9. Laminer Akım Kabini**

### 3.2.1.1. Hücrelerin Çözdürülmesi

Hücreler deneyde kullanılmak üzere -196°C'de sıvı azot tankından çıkartılarak 37°C'de su banyosunda çözdürüldü. Kriyotüp içeriği, toplam hacim 6 ml olacak şekilde %10 FBS, %1 penisilin/streptomisin içeren besiyerinden 5 ml konulan santrifüj tüpüne aktarıldı. 5 dakika boyunca 3000 RPM'de santrifüj edildikten sonra süpernatant uzaklaştırıldı ve bu yıkama işlemi iki kez tekrarlandı. En son süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra hücre peleti üzerine 500 µl besiyeri eklenip hücreler pipetaj yapılarak süspanse edildikten sonra 25 $cm^2$ flasklara aktarıldı ve üzerine besiyeri eklenerek inkübatörde inkübasyona bırakıldı.

### 3.2.1.2. Hücrelerin Pasaj İşlemi

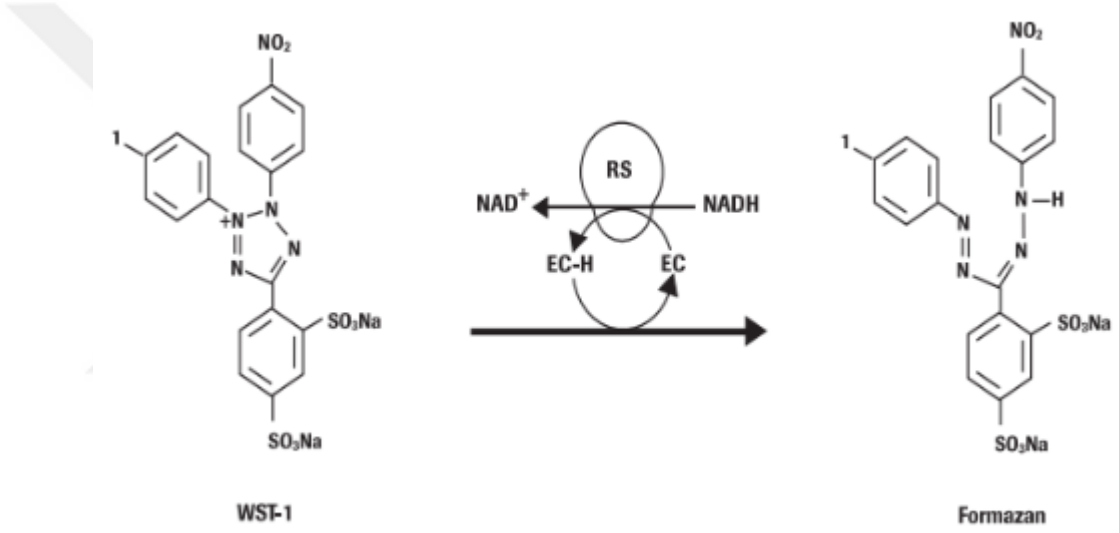
Hücreler bulundukları flaskın %80-90'ını kapladıklarında flask içerisinde bulunan besiyeri uzaklaştırıldı. Daha sonra serumun ortamdan uzaklaştırılması için PBS ile yıkandı. Adherent özelliğe sahip olan hücrelerin tutundukları flask zemininden kaldırılması için 2 ml %0.25'lik Tripsin-EDTA çözeltisi eklendi ve inkübatörde 2 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra üzerine 10 ml besiyeri (DMEM, %10 FBS, %1 PS) eklendi ve hücre süspansiyonu falkon tüplere aktarılarak 3000 RPM'de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatan uzaklaştırıldı, pelete besiyeri ilave edildi ve pipetaj yapılarak oluşan süspansiyon 75 $cm^2$'lik flasklara bölündü. Hücreler 37°C'de %5 $CO_2$ içeren inkübatörde inkübe edildi.

### 3.2.1.3. Hücrelerin Dondurularak Saklanması

Pasajlama yapılırken santrifüj sonrası oluşan hücre peletinin bir kısmı dondurularak saklandı. Hücreler %10 DMSO ve %90 besiyeri içerisinde süspanse edilerek kriyotüpe aktarıldı. Hücreler önce -20°C'de daha sonra -80°C'de bekletildi ve 1 gün sonra sıvı azot tankına yerleştirildi.

### 3.2.1.4. Hücre Sayısı ve Canlılığının Belirlenmesi

Çalışmada WST-1 hücre proliferasyon testi (Cayman, ABD) kullanıldı. WST-1 hücre proliferasyon testi in vitro olarak hücre proliferasyonunun indüksiyon ve/veya inhibisyonu çalışmalarında kullanılır. Tetrazolyum tuzu olan WST-1'in canlı hücreler tarafından mitokondrial dehidrogenaz enzimleri aracılığıyla formazana dönüşmesi prensibini kullanır. Spektrofotometrik ölçüm yapılarak metabolik olarak aktif hücrelerin miktarı belirlenir. Diğer proliferasyon testlerinden suda çözünebilir olması ve daha hassas sonuçlar vermesi yönleriyle ayrılmaktadır.




**Şekil 10. Tetrazolyum tuzu WST-1(4-[3-(4-Iodophenyl)-2-(4-nitro-phenyl)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzene sulfonate)'in formazana dönüşümü. (EC: elektron eşleyici ajan, RS: mitokondriyal suksinat tetrazolyum redüktaz sistemi)**[58]

Absorbans değeri, yaşayan hücre sayısıyla doğrudan bağlantılıdır. Hücreler 96'lık kültür plaklarına her kuyucukta 100 µl kültür medyumu içinde $10^4$ hücre olacak şekilde ekildi ve 24 saat inkübe edildi. Klorprifos ve kurkumin %10 DMSO, %90 besiyeri, selenyum ise bidistile suda çözdürüldü. Daha sonra filtreden geçirilerek steril hale getirildi. Farklı konsantrasyonlarda klorprifos (0, 10, 30, 60, 90 µg/ml), sodyum selenit (0.1, 0.5, 1, 2, 10 ng/ml) ve kurkuminden (5, 10, 20, 30, 40 µg/ml) 1 µl hücrelerin üzerine eklendi. 37°C, %5 $CO_2$ inkübatöründe 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon tamamlandıktan

sonra 10 µl WST-1 karışımı ortama eklendi ve 2 saat inkübe edildi. Mikroplate okuyucuda 450 nm dalga boyunda absorbans ölçüldü. Canlı hücrelerin varlığıyla doğru orantılı olarak sarı renk oluşumu gözlenirken, ölü hücrelerde renk oluşumu gözlenmez.

### 3.2.2. İstatistiksel Analiz

Örneklerin WST-1 absorbans değerleri kullanılarak % canlılık değerleri hesaplandı. Analizlerden elde edilen tüm sonuçlar IBM SPSS 21 (Statistical Package for the Social Sciences) programı ile değerlendirildi. Grup içi istatistiksel karşılaştırmada parametrik gruplara One-Way ANOVA; parametrik olmayan gruplara ise Kruskal Wallis testleri uygulandı. Sonuçlar ortalama ± SD (standart sapma) olarak verildi. Anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak kabul edildi. Sonuçlar tablo ve grafik halinde gösterildi.

# 4. BULGULAR

## 4.1. Hücre Canlılığı Analizi

Spektrofotometre ile ölçüm sonucunda elde edilen absorbans değerleri hücrelerin mitokondriyal aktivitelerini gösterir yani bu değer canlı hücre sayısıyla ilişkilidir. Kontrol grubunun absorbans değeri %100 olarak kabul edilmiş ve diğer absorbans değerleri ile canlılık değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen absorbans değerlerinden blank'den elde edilen absorbans değeri çıkartılarak gerçek absorbans değeri hesaplanmıştır. Daha sonra her bir örneğin tekrarlı ölçümlerinin ortalaması alınmıştır. Hücre % canlılık değerleri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

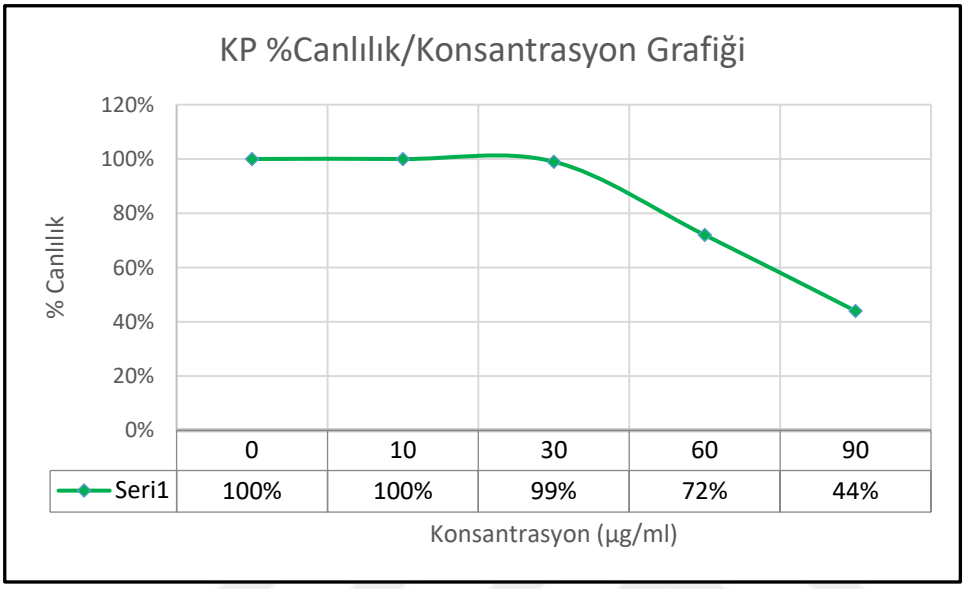
$$\%\ Canlılık = \frac{Örneğin\ ortalama\ absorbans\ değeri}{Kontrolün\ ortalama\ absorbans\ değeri} \times 100$$

### 4.1.1. Klorprifosun Hücre Canlılığı Üzerine Doza Bağımlı Etkisi

10, 30, 60 ve 90 µg/ml klorprifos ile 24 saat inkübe edilen HEK293 insan embriyonik böbrek hücreleri 96'lık platelere kuyu başına $10^4$ hücre olacak şekilde 6'şar kez ekilmelerinin ardından hücrelerin yapışması için 24 saatlik inkübasyon süresi sona erdikten sonra ölçüm gerçekleştirilmiştir.

Klorprifos eklenilmeyen kontrol grubunda canlılık %100 kabul edilmiş diğer değerler kontrol grubuna göre hesaplanmıştır. Klorprifos uygulanan gruplarda konsantrasyon arttıkça absorbans ve canlı hücre sayısında azalma saptanmıştır. Absorbans değerlerini incelediğimizde klorprifosun maksimum konsantrasyon değeri olan 90µg/ml (0,097±0,02) uygulanan grubun absorbans değerinin kontrol grubu (0,224±0,07) ve klorprifosun 10 (0,223±0,08) ve 30 µg/ml (0,22±0,08) uygulandığı gruplara göre anlamlı olarak azaldığı (p**<0,01) tespit edilmiştir. Blank olarak belirlediğimiz grubun absorbans değeri ise klorprifosun 60 (0,162±0,01) ve 90 µg/ml uygulandığı gruplara göre anlamlı artmıştır (sırasıyla **p<0,01; ***p<0,001).

% canlılık değerleri blank, 0 ve 10 µg/ml klorprifos uygulanan gruplarda, klorprifosun 60µg/ml uygulandığı gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (sırasıyla **p<0,01; **p<0,01; *p<0,05). Veriler Şekil 11'de gösterilmiştir.

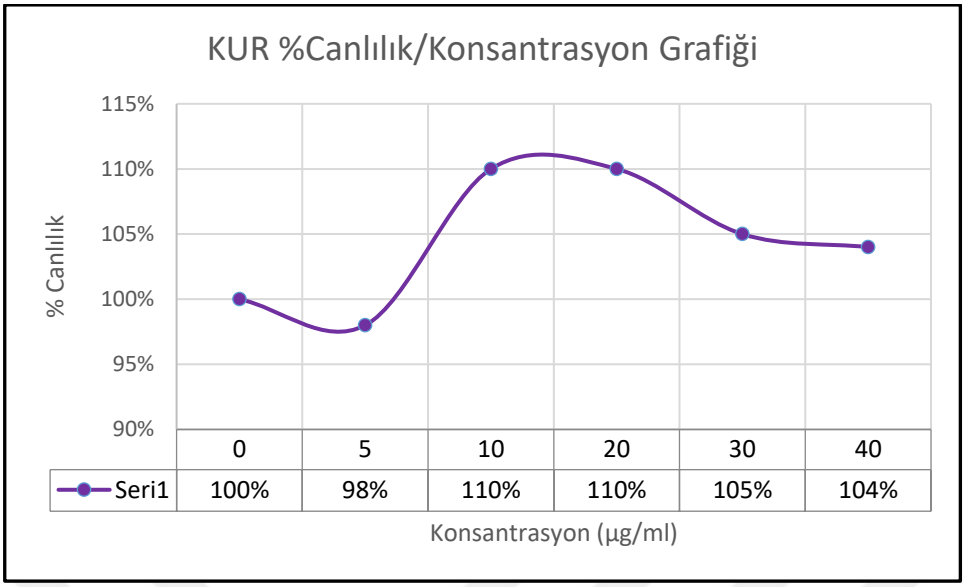



**Şekil 11. Klorprifosa ait % Canlılık/Konsantrasyon Grafiği**

### 4.1.2. Kurkuminin Hücre Canlılığı Üzerine Doza Bağımlı Etkisi

5, 10, 20, 30, 40 µg/ml kurkumin ile 24 saat inkübe edilen HEK293 insan embriyonik böbrek hücreleri 96'lık platelere kuyu başına $10^4$ hücre olacak şekilde 6'şar kez ekilmelerinin ardından hücrelerin yapışması için 24 saatlik inkübasyon süresi sona erdikten sonra ölçüm gerçekleştirilmiştir.

Kurkumin eklenilmeyen kontrol grubunda canlılık %100 kabul edilmiş diğer değerler kontrol grubuna göre hesaplanmıştır. Kurkumin uygulanan grupların absorbsiyon ve % canlılık verilerini incelediğimizde değişen konsantrasyon değerlerine bağlı olarak herhangi bir istatistiksel anlamlılık saptanmamıştır. Veriler Şekil 12'de gösterilmiştir.




**Şekil 12. Kurkumine ait % Canlılık/Konsantrasyon Grafiği**

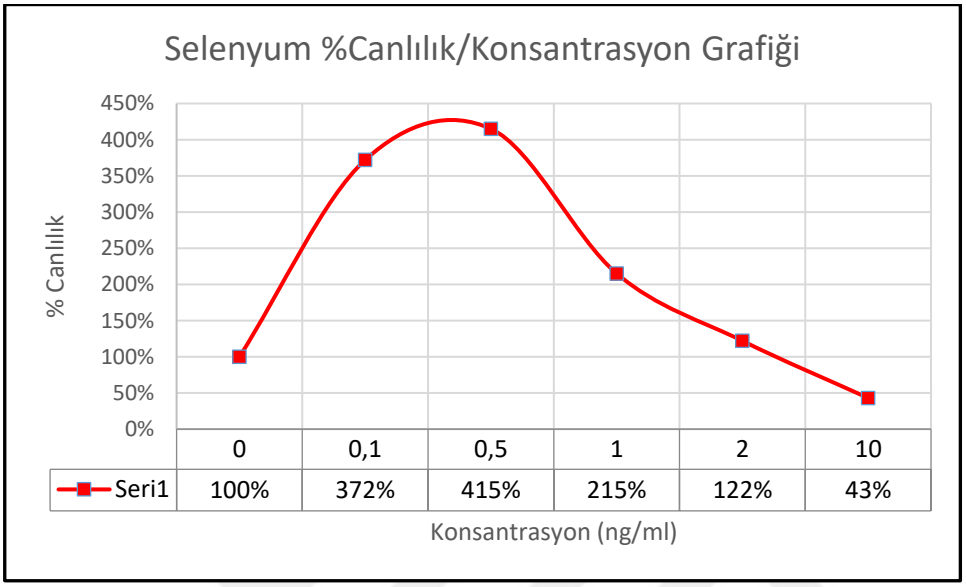
### 4.1.3. Selenyumun Hücre Canlılığı Üzerine Doza Bağımlı Etkisi

0.1, 0.5, 1, 2 ve 10 ng/ml selenyum ile 24 saat inkübe edilen HEK293 insan embriyonik böbrek hücreleri 96'lık platelere kuyu başına $10^4$ hücre olacak şekilde 6'şar kez ekilmelerinin ardından hücrelerin yapışması için 24 saatlik inkübasyon süresi sona erdikten sonra ölçüm gerçekleştirilmiştir.

Selenyum eklenilmeyen kontrol grubunda canlılık %100 kabul edilmiş diğer değerler kontrol grubuna göre hesaplanmıştır. 0,5 ng/ml (0,93±0,66) selenyum kullanılarak oluşturulan grubun absorbans değeri, blank, kontrol ve selenyumun 0,1 ng/ml (0,83±0,53) uygulandığı gruplara göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur (*p<0,05). 10 ng/ml (0,096±0,02) selenyum ile oluşturulan grubun absorbans değeri ise 0,1 ve 0,5 ng/ml selenyum gruplarına göre anlamlı olarak azdır (**p<0,01).

Selenyum grubu için % canlılık değerlerini incelediğimizde ise 0,5 ng/ml selenyum grubunda canlılığının kontrol ve 10 ng/ml selenyum uygulanan gruplara göre istatistiksel olarak arttığı tespit edilmiştir (*p<0,05). 10 ng/ml selenyum uygulanan

grupta % canlılık değeri 0,1 ng/ml selenyum uygulanan gruba göre de anlamlı olarak düşük tespit edilmiştir (**p<0,01). Veriler Şekil 13'te gösterilmiştir.




**Şekil 13. Selenyuma ait % Canlılık/Konsantrasyon Grafiği**

# 5. TARTIŞMA

Organofosfatlı insektisitlerin tarım zararlılarına karşı yaygın olarak kullanımının insanlarda nörotoksisite, aritmi, böbrek yetmezliği, pulmoner ödem ve oligospermi gibi pek çok sağlık problemine neden olduğu gösterilmiştir.[34] Ayrıca ROS üretimindeki artışa bağlı olarak mitokondrial hasar ve fonksiyon bozukluklarına, hücre ölümü ve proteolitik enzimlerin indüksiyonuna neden olduğu gösterilmiştir.[59] Klorprifos etki mekanizmasına benzer etkiler gösteren malathion ve diazinon gibi organofosfatlarla yapılan çalışmalar da mevcuttur.

Sıçanlarda oluşturulan akut malathion (organofosfat) zehirlenmesi sonucu MDA ve nitrik oksit (NO) seviyelerinin böbrek ve karaciğerde arttığı, sulforafhan ve kurkumin uygulanmasının Mmalathionun neden olduğu oksidatif stresi engellediği ve toksik etkileri azalttığı bildirilmiştir.[60]

Yine sıçanlarda yapılan başka bir çalışmada bir organofosfat olan diazinonun AChE enzim aktivitesini azaltıcı yönde etkilediği, ayrıca γ-glutamil transferaz (GGT) ve amilaz enzim aktivitelerini de artırdığı gösterilmiştir. Kafeik asit fenetil ester (CAPE), elajik asit (EA), kurkumin ve sulforafhanın birlikte kullanımında GGT ve amilaz enzim aktivitelerini azaltıcı, AChE enzim aktivitesini artırıcı etki oluşturup diazinonun toksik etkilerini hem biyokimyasal hem de histopatolojik olarak azalttığı gösterilmiştir.[61] Aynı antioksidanların sıçanlarda malathionun toksik etkileri üzerine aynı şekilde etkili olduğu belirtilmiştir.[62]

Klorprifos lipofilik organofosfatlı insektisittir. Bu özelliği nedeniyle hücre membranını kolayca geçerek yüksek seviyede hasara neden olabilir. Klorprifos vücuda alındığında karaciğer, böbrek, ovaryum ve uterus gibi birçok organda depolanır. Uzun süreli maruziyet sonucu hepatositik vakuolasyon, sinüzoidal dilatasyon ve fokal nekroz gibi histopatolojik değişiklikler gerçekleşir.[63] Yapılan bir hayvan çalışmasında klorprifos uygulamasının karaciğerde portal alanda makrofajların infiltrasyonuyla sonuçlanan ciddi hasara neden olduğunu göstermektedir.[64]

Klorprifos tarımda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle organ hasarı, nörolojik hastalıklar ve kanser gibi olası ciddi ve kronik sağlık problemlerinden korunmak için uzun süreli ve akut maruziyetten kaçınmak ve kalıntı seviyesini azaltmak insanlar için öncelikli olmalıdır.[36] Hematolojik ve immünolojik anormallikler, genotoksisite, teratojenite, nörotoksisite ve hepatik fonksiyon bozukluğu gibi etkilere

neden olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Hayvan çalışmaları klorprifosun farklı organlarda lipit peroksidasyon ürünleri üretimiyle sonuçlanan oksidatif stresin indüklenmesine neden olduğunu göstermiştir.[14]

HEK293 hücreleri üzerine klorprifosun toksik ya da non-toksik etkileriyle ilgili az sayıda çalışma mevcuttur.[36,65] Klorprifosun $IC_{50}$ dozundan daha düşük dozda uygulanmasına rağmen HeLa hücrelerinin %56,4'ünde, HEK293 hücrelerinin %50,5'inde apoptoz görülmüştür. Doz arttıkça hücre yaşayabilirliği azalmıştır.[36] Klorprifos-etil'in GSH-Px, CAT aktivitelerinde anlamlı azalma, SOD aktivitesinde ise anlamsız düşüşler görülmüştür.[35]

Lenfosit hücreleri üzerine yapılan bir çalışmada $CeO_2$ nanoparçacığı ve SSe'in, klorprifosun neden olduğu hücre ölümünü azalttığı ve AChE inhibisyonunu antioksidan özellikleri sebebiyle onardığı gösterilmiştir.[59]

Çalışmalar klorprifosun zarar verici etkisinin oksidatif stres oluşumundan kaynaklı olarak ortaya çıktığını göstermektedir.[66] Antioksidan terapinin oksidatif stresin azaltılması için iyi bir yol olduğu düşünülmektedir. Antioksidan kaynağı olarak bitkisel ürünlere yönelimin olması bu ürünlerin tıbbi özelliklerinin değerlendirilmesini gerektirmektedir.[14]

Kurkumin zerdeçal (*Curcuma longa L.*)'dan elde edilen antioksidan, antiinflamatuar ve antiseptik özellikler gösteren polifenolik ve hidrofobik bir bileşiktir. Bu özelliklerinin yanında kurkumin kanser terapisinde bir ilaç olarak ya da geleneksel kemoterapinin bir adjuvanı olarak da kullanılabileceğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır.[16] Süperoksit, hidroksit radikali ve hidrojen peroksiti temizler ve güçlü bir demir şelatlayıcıdır. Ayrıca siklooksijenaz-2, lipoksijenaz, indüklenebilir nitrik oksit sentaz indüksiyonu, sitokin üretimi ve tümör nekroz faktörü ve NF-κB gibi transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunun inhibisyonunda rol oynayan bir ajandır.[67] Kanser, diyabet ve nörodejeneratif hastalıklar gibi çeşitli hastalıklar için tedavi edici potansiyeli olduğu ortaya konmuştur. Yapılan bir çalışmada etanole maruz bırakılan sıçanlarda kurkumin varlığında ROS seviyesinin düştüğü gözlenmiştir.[67] Kurkumin düşük dozlarda antioksidan etki gösterse de yüksek dozlarının hücre ölümüne neden olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. HEK293 hücrelerinde hERG kanallarının yüksek doz kurkumin ile inaktivasyonlarının hızlandığı gösterilmiştir.[68] Kurkumin ve E vitamininin klorprifos uygulanan sıçanlarda akciğer MDA seviyesini düşürdüğü gösterilmiştir.

Birlikte kullanımlarının kurkuminin tek başına kullanıldığı duruma göre daha etkili bir şekilde oksidatif stres parametrelerini düşürdüğü gözlenmiştir.[14]

Selenyum insanlar ve hayvanlar için eser elementtir. Selenyumun çoklu yağ asidi ve proteinleri peroksitler ve lipit hidroperoksidazların zararlarından koruyan antioksidan sistemin bir parçası olan GSH-Px enziminin önemli bir bileşeni olduğu bilinmektedir. Selenyumun tavsiye edilen günlük alınması gereken dozun üzerinde alım gerçekleştiğinde bazı kanser türlerine karşı koruyuculuk göstermektedir.[13,69] Selenyum eksikliği hücre içerisinde lipit hidroperoksitler gibi reaktif oksijen türlerinin artışına neden olur. Selenyum eksikliğine bağlı en önemli hastalık Keshan hastalığıdır. Ayrıca selenyum desteği olmayan parenteral beslenen hastalarda da selenyum eksikliği görülmektedir. Fenilketonurili çocuklar da selenyum eksikliği konusunda risk altındadır. Yapılan çalışmada fenilketonurili çocuklarda sağlıklı kontrol grubuna göre plazma ve eritrosit selenyumunun ve GSH-Px aktivitesinin düşük olduğu ve MDA seviyesinin yüksek olduğu saptanmıştır. Selenyum desteği ile kontrol ve hasta çocukların seviyelerinde herhangi bir farklılık olmadığı gözlenmiştir.[69]

Yağda çözünebilen radikal temizleyici antioksidan (E vitamini) selenyum bağımlı enzim aktivitesini onaramasa da selenyum eksikliğine bağlı oluşan hücre ölümünü engellemiştir. İnsan hücreleri, eser element olmasından dolayı selenyum eksikliğini tolere edemezken çoğu hepatosellüler karsinom hücre hatları selenyum eksikliğini tolere edebilmekte ve indüklenen hücre ölümünden kurtulabilmektedir.[13]

Çalışmamızda farklı dozlarda klorprifosa maruz bırakılan HEK 293 hücrelerinin canlılığını WST-1 analiz yöntemi uygulayarak gözlemledik. Ayrıca antioksidan etkisi olduğu bilinen kurkumin ve selenyum maddelerinin uygulanması sonucu hücre proliferasyonu üzerine etkisini inceledik. Yaptığımız çalışmalara göre klorprifosun HEK293 hücre hattında doz artışına bağlı olarak hücre canlılığını azalttığı, kurkuminin uygulanan bütün dozlarda hücre canlılığı ve proliferasyonunu artırdığı, selenyumun ise belirli dozlarda hücre proliferasyonunu artırırken yüksek dozlarda hücre canlılığını azalttığı saptanmıştır.

Daha sonra yapmayı planladığımız çalışmalarda klorprifosun hücre içerisinde hangi oksidatif stres parametrelerini etkileyebileceği incelenecektir. Ayrıca antioksidan madde uygulanmasının klorprifosun olası zararları üzerine etkisi, hangi antioksidan maddenin daha etkili olduğu ve bu maddelerin etki mekanizmasını araştırmanın gerekli olduğu anlaşılmıştır.

# KAYNAKLAR


1. Kaur R, Sandhu HS. In vivo changes in antioxidant system and protective role of selenium in chlorpyrifos-induced subchronic toxicity in bubalus bubalis. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2008;26(1):45–48. doi:10.1016/j.etap.2008.01.004
2. Mehta A, Verma RS, Srivastava N. Chlorpyrifos induced alterations in the levels of hydrogen peroxide, nitrate and nitrite in rat brain and liver. *Pestic Biochem Physiol*. 2009;94(2–3):55–59. doi:10.1016/J.PESTBP.2009.04.001
3. Rahman MF, Mahboob M, Danadevi K, Saleha Banu B, Grover P. Assessment of genotoxic effects of chloropyriphos and acephate by the comet assay in mice leucocytes. *Mutat Res*. 2002;516(1–2):139–147. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11943619. Erişim Mayıs 18, 2019.
4. ALP H, SAK ME, EVSEN MS, vd. Gebe Ratlara Farklı Dozlarda Uygulanan Malathionun Fetüs Böbrek Dokusu Üzerine Teratojenik Etkileri. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*. 2009;18(2). doi:10.9775/kvfd.2011.5301
5. Bebe FN, Panemangalore M. Exposure to Low Doses of Endosulfan and Chlorpyrifos Modifies Endogenous Antioxidants in Tissues of Rats. *J Environ Sci Heal Part B*. 2003;38(3):349–363. doi:10.1081/PFC-120019901
6. Mansour SA, Mossa A-TH. Lipid peroxidation and oxidative stress in rat erythrocytes induced by chlorpyrifos and the protective effect of zinc. *Pestic Biochem Physiol*. 2009;93(1):34–39. doi:10.1016/J.PESTBP.2008.09.004
7. Yu F, Wang Z, Ju B, Wang Y, Wang J, Bai D. Apoptotic effect of organophosphorus insecticide chlorpyrifos on mouse retina in vivo via oxidative stress and protection of combination of vitamins C and E. *Exp Toxicol Pathol*. 2008;59(6):415–423. doi:10.1016/j.etp.2007.11.007
8. Gupta SC, Mishra M, Sharma A, vd. Chlorpyrifos induces apoptosis and DNA damage in Drosophila through generation of reactive oxygen species. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2010;73(6):1415–1423. doi:10.1016/j.ecoenv.2010.05.013
9. Yang G, Ge K, Chen J, Chen X. Selenium-Related Endemic Diseases and the Daily Selenium Requirement of Humans. Içinde: C 55. Karger Publishers; 1988:98–152. doi:10.1159/000415560
10. Bal C, Büyükşekerci M, Ercan M, vd. Effect of different selenium levels on thyroid hormone synthesis. *Turk Hij Den Biyol Derg*. 2015;72(4):311–316.

doi:10.5505/TurkHijyen.2015.17037

11. Behne D, Kyriakopoulos A. Mammalian seleinum-containing proteins. *Annu Rev Nutr*. 2001;21(1):453–473. doi:10.1146/annurev.nutr.21.1.453
12. Mossa A-TH, Heikal TM, Mohafrash SMM. Lipid peroxidation and oxidative stress in rat erythrocytes induced by aspirin and diazinon: the protective role of selenium. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2014;4:S603–S609. doi:10.12980/APJTB.4.2014APJTB-2013-0038
13. Zeng H. Selenium as an Essential Micronutrient: Roles in Cell Cycle and Apoptosis. *Molecules*. 2009;14(3):1263–1278. doi:10.3390/molecules14031263
14. Hassani S, Sepand MR, Jafari A, vd. Protective effects of curcumin and vitamin E against chlorpyrifos-induced lung oxidative damage. *Hum Exp Toxicol*. 2015;34(6):668–676. doi:10.1177/0960327114550888
15. Okada K, Wangpoengtrakul C, Tanaka T, Toyokuni S, Uchida K, Osawa T. Curcumin and Especially Tetrahydrocurcumin Ameliorate Oxidative Stress-Induced Renal Injury in Mice. *J Nutr*. 2001;131(8):2090–2095. doi:10.1093/jn/131.8.2090
16. Duvoix A, Blasius R, Delhalle S, vd. Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. *Cancer Lett*. 2005;223(2):181–190. doi:10.1016/j.canlet.2004.09.041
17. Marjaneh RM, Rahmani F, Hassanian SM, vd. Phytosomal curcumin inhibits tumor growth in colitis-associated colorectal cancer. *J Cell Physiol*. 2018. doi:10.1002/jcp.26538
18. Babayiğit MA, Tekbaş ÖF, Çetin H. Public health effects of pesticides used in pest management and precautions for the protection. *TAF Prev Med Bull*. 2014;13(5):405–412. doi:10.5455/pmb.1-1394688402
19. Yildiz M, Gürkan MO, Turgut C, Kaya Ü, Ünal G. *Tarımsal Savaşımda Kullanılan Pestisitlerin Yol Açtığı Çevre Sorunları*. http://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/dd7a04804967197_ek.pdf. Erişim Nisan 14, 2019.
20. Tiryaki O, Canhilal R, Horuz S, Seyrani EÜ, Fakültesi Z, Koruma Bölümü B. *Tarım ilaçları kullanımı ve riskleri*. C 26.; 2010. http://dergipark.gov.tr/download/article-file/236259. Erişim Nisan 8, 2019.
21. Delen N, Durmuşoğlu E, Güncan A, Güngör N, Turgut C, Burçak A. Türkiye'de Pestisit Kullanımı, Kalıntı ve Organizmalarda Duyarlılık Azalışı Sorunları.

Içinde: *Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongre*. ; 2005:629–648.

22. Alp H, Karakuş A, Çelik MM, Başarslan SK. Organofosfat Zehirlenmesinde Yeni Bir Tedavi Yaklaşımı:Fitoterapi. *Mustafa Kemal ÜnivTıp Derg*. 2012;3(9):8–16. http://dergipark.gov.tr/download/article-file/183729. Erişim Nisan 18, 2019.
23. Arslan S, Çiçekgil Z. *Türkiye'de Tarım İlacı Kullanım Durumu ve Kullanım Öngörüsü*. C 4.; 2018. http://dergipark.gov.tr/download/article-file/498433. Erişim Nisan 13, 2019.
24. Durmuşoğlu E, Tiryaki O, Canhilal R. *Türkiye'de Pestisit Kullanımı, Kalıntı ve Dayanıklılık Sorunları*. http://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/52cf38361a20908_ek.pdf. Erişim Nisan 8, 2019.
25. Çetinkaya Açar Ö. *Pestisit Analizleri*.; 2015. https://gidalab.tarimorman.gov.tr/gidareferans/Belgeler/Bölümler/Pestisit-Egitim-Notu2015.pdf. Erişim Nisan 8, 2019.
26. Rapid Alert System for Food and Feed. *The Rapid Alert System for Food and Feed 2017 Annual Report*.; 2018. doi:10.2307/3395557
27. Güler Ç, Çobanoğlu Z. *Pestisitler*. Ankara: Sağlık Bakanlığı; 1997. https://sbu.saglik.gov.tr/Ekutuphane/kitaplar/css52.pdf. Erişim Nisan 8, 2019.
28. Gupta PK (Pawan K. *Fundamentals of toxicology : essential concepts and applications*.
29. Topuz H, Durmuġoğlu E, Balci H. *Bitki koruma alanında kullanılan adjuvantlar*. C 1.; 2011. http://dergipark.gov.tr/download/article-file/64098. Erişim Nisan 8, 2019.
30. *Pestisitler*. Ankara; 2012. http://megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Pestisitler.pdf. Erişim Nisan 15, 2019.
31. Aksoy S. *Bazı organik sentetik insektisitierin etki mekanizmaları*. C 6.; 1982. http://dergipark.gov.tr/download/article-file/64320. Erişim Nisan 14, 2019.
32. Can Demirdöğen B. Organofosfatlı Pestisit Zehirlenmeleri ve Serum Paraoksonaz 1 (PON1) Enziminin Organofosfat Metabolizmasındaki Rolü. *Türk Hij ve Deney Biyol Derg*. 2010;67(2):97–112. https://www.journalagent.com/turkhijyen/pdfs/THDBD-92499-REVIEW-

CAN_DEMIRDOGEN.pdf. Erişim Nisan 14, 2019.

33. Saritas A, Cakir Z, Aslan S. Organofosfat ve Karbamat Zehirlenmeleri. *Eurasian J Med*. 2007;39:55–59. http://eajm.org/sayilar/171/buyuk/pdf_EAJM_179.pdf. Erişim Nisan 29, 2019.
34. Kallel H, Charfeddine A, Khlaf-Bouaziz N, vd. Curious fatal intentional poisoning case with organophosphate pesticide. *Med Sci Monit*. 2007;13(1):CS1-3. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17179912. Erişim Nisan 28, 2019.
35. Öncü M, Gültekin F, Karaöz E, Altuntaş İ, Delibaş N. Klorprifos-Etil Tarafından Oluşturulan Oksidatif Hasarın Sıçan Karaciğerine Etkileri. *Turkiye Klin J Med Sci*. 2002;22(1):50–55.
36. Li D, Huang Q, Lu M, vd. The organophosphate insecticide chlorpyrifos confers its genotoxic effects by inducing DNA damage and cell apoptosis. *Chemosphere*. 2015;135:387–393. doi:10.1016/j.chemosphere.2015.05.024
37. Bagchi D, Bagchi M, Hassoun EA, Stohs SJ. In vitro and in vivo generation of reactive oxygen species, DNA damage and lactate dehydrogenase leakage by selected pesticides. *Toxicology*. 1995;104(1–3):129–140. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8560491.
38. Smith G. *Pesticide Use and Toxicology in Relation to Wildlife: Organophosphorus and Carbamate, Compounds*.; 1987. https://digitalcommons.usu.edu/govdocs. Erişim Nisan 27, 2019.
39. Koshlukova S, Reed N. Chlorpyrifos. *Encycl Toxicol*. 2014;1:930–934. doi:10.1016/B978-0-12-386454-3.00115-9
40. Varó I, Serrano R, Pitarch E, Amat F, López FJ, Navarro JC. Bioaccumulation of chlorpyrifos through an experimental food chain: study of protein HSP70 as biomarker of sublethal stress in fish. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2002;42(2):229–235. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11815815. Erişim Nisan 26, 2019.
41. Goel A, Chauhan D, Dhawan D. Protective effects of zinc in chlorpyrifos induced hepatotoxicity: a biochemical and trace elemental study. *Biol Trace Elem Res*. 2000;74(2):171–174.
42. Boyd R. Selenium stories. *Nat Chem*. 2011;3:570.
43. Higdon J, Drake VJ, Delage B, Tsuji PA. Selenium. Linus Pauling Institute at Oregon State University. https://lpi.oregonstate.edu/mic/minerals/selenium.

Published 2017.

44. Foster LH, Sumar S. Selenium in Health and Disease: A Review. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 1997;37(3):211–228. doi:10.1080/10408399709527773
45. Orak E, Yanardag R, Orak H. Selenyum ve Kalp Hastalıkları ile ilişkisi. *Türk Kardiyol Dern Arş*. 2000;28:230–238.
46. Giray B, Hincal F. Selenium status in Turkey: Possible link between status of selenium, iodine, antioxidant enzymes and oxidative DNA damage. *J Radioanal Nucl Chem*. 2004;259(3):447–451. doi:10.1023/B:JRNC.0000020916.24769.41
47. Papp LV, Lu J, Holmgren A, Khanna KK. From Selenium to Selenoproteins: Synthesis, Identity, and Their Role in Human Health. *Antioxid Redox Signal*. 2007;9(7):775–806. doi:10.1089/ars.2007.1528
48. Kangalgil M, Yardimci H. Effects of Selenium on Human Health and its Relationship With Diabetes Mellitus. *Bozok Tıp Derg*. 2017;7(4):66–71.
49. Türkiye Beslenme Rehberi TÜBER 2015. *TC Sağlık Bakanl Yayın No 1031*. 2016.
50. Sarkar B, Dhiman M, Mittal S, Mantha AK. Curcumin revitalizes Amyloid beta (25-35)-induced and organophosphate pesticides pestered neurotoxicity in SH-SY5Y and IMR-32 cells via activation of APE1 and Nrf2. *Metab Brain Dis*. 2017;32(6):2045–2061. doi:10.1007/s11011-017-0093-2
51. Soleimani V, Sahebkar A, Hosseinzadeh H. Turmeric (Curcuma longa) and its major constituent (curcumin) as nontoxic and safe substances: Review. *Phyther Res*. 2018;32(6):985–995. doi:10.1002/ptr.6054
52. Jayaprakasha GK, Jagan Mohan Rao L, Sakariah KK. Chemistry and biological activities of C. longa. *Trends Food Sci Technol*. 2005;16(12):533–548. doi:10.1016/J.TIFS.2005.08.006
53. Das KC, Das CK. Curcumin (diferuloylmethane), a singlet oxygen (1O2) quencher. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002;295(1):62–66. doi:10.1016/S0006-291X(02)00633-2
54. Dasgupta A, Klein K. *Antioxidants in food, vitamins and supplements : prevention and treatment of disease*. Elsevier Science; 2014.
55. Giaginis C, Vasios G, Mantzorou M, Pavlidou E, Tsagalioti E. Effects of curcumin consumption on human chronic diseases: A narrative review of the most recent clinical data. *Phyther Res*. 2018;32(6):957–975.

doi:10.1002/ptr.6037

56. Hosseini A, Hosseinzadeh H. Antidotal or protective effects of Curcuma longa (turmeric) and its active ingredient, curcumin, against natural and chemical toxicities: A review. *Biomed Pharmacother*. 2018;99:411–421. doi:10.1016/j.biopha.2018.01.072
57. Effect of Curcumin Against Oxidation of Biomolecules by Hydroxyl Radicals. *J Clin Diagnostic Res*. 2014;8(10). doi:10.7860/JCDR/2014/8517.4967
58. Protocol Guide: WST-1 Assay for Cell Proliferation and Viability | Sigma-Aldrich. https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/protocols/biology/roche/cell-proliferation-reagent-wst-1.html. Erişim Temmuz 28, 2019.
59. Pedram S, Mohammadirad A, Rezvanfar MA, Navaei-Nigjeh M, Baeeri M, Abdollahi M. On The Protection by The Combination of CeO2 Nanoparticles and Sodium Selenite on Human Lymphocytes against Chlorpyrifos-Induced Apoptosis In Vitro. *Cell J*. 2015;17(2):361–371. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26199915.
60. Alp H, Aytekin I, Hatipoglu NK, Alp A, Ogun M. Effects of sulforophane and curcumin on oxidative stress created by acute malathion toxicity in rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2012;16 Suppl 3:144–148. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22957429. Erişim Nisan 29, 2019.
61. Alp H, Aytekin İ, Esen H, Basaralı K, Kul S. Effects of Caffeic Acid Phenethyl Ester, Ellagic Acid, Sulforaphane and Curcumin on Diazinon Induced Damage to the Lungs, Liver and Kidneys in An Acute Toxicity Rat Model. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*. 2009;17(6). doi:10.9775/kvfd.2011.4722
62. Alp H, Aytekin I, Esen H, vd. Protective effects of caffeic acid phenethyl ester, ellagic acid, sulforaphan and curcuma on malathion induced damage in lungs, liver and kidneys in an acute toxicity rat model. *Rev Méd Vét*. 2011;162(7):333–340.
63. Sun L, Zhang S, Guo W, vd. Sublethal exposure of organophosphate pesticide chlorpyrifos alters cellular iron metabolism in hepatocytes and macrophages. *Int J Mol Med*. 2014;34(5):1395–1400. doi:10.3892/ijmm.2014.1902
64. Ojha A, Yaduvanshi SK, Pant SC, Lomash V, Srivastava N. Evaluation of DNA damage and cytotoxicity induced by three commonly used organophosphate

pesticides individually and in mixture, in rat tissues. *Environ Toxicol*. 2013;28(10):543–552. doi:10.1002/tox.20748

65. Van Emon JM, Pan P, van Breukelen F. Effects of chlorpyrifos and trichloropyridinol on HEK 293 human embryonic kidney cells. *Chemosphere*. 2018;191:537–547. doi:10.1016/j.chemosphere.2017.10.039
66. Khalaf HA, El-Mansy AAER. The possible alleviating effect of saffron on chlorpyrifos experimentally induced cardiotoxicity: Histological, immunohistochemical and biochemical study. *Acta Histochem*. 2019;121(4):472–483. doi:10.1016/j.acthis.2019.03.003
67. Morales I, Cerda-Troncoso C, Andrade V, Maccioni RB. The Natural Product Curcumin as a Potential Coadjuvant in Alzheimer's Treatment. *J Alzheimer's Dis*. 2017;60(2):451–460. doi:10.3233/JAD-170354
68. Hu C-W, Sheng Y, Zhang Q, vd. Curcumin inhibits hERG potassium channels in vitro. *Toxicol Lett*. 2012;208(2):192–196. doi:10.1016/j.toxlet.2011.11.005
69. Wilke BC, Vidailhet M, Favier A, vd. Selenium, glutathione peroxidase (GSH-Px) and lipid peroxidation products before and after selenium supplementation. *Clin Chim Acta*. 1992;207(1–2):137–142. doi:10.1016/0009-8981(92)90157-l

# KLORPRİFOS UYGULANAN HEK 293 HÜCRELERİNDE ANTİOKSİDAN KULLANIMININ APOPTOZ VE OKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

ORIJINALLIK RAPORU

| %14 | %9 | %3 | %12 |
|---|---|---|---|
| BENZERLIK ENDEKSI | İNTERNET KAYNAKLARI | YAYINLAR | ÖĞRENCI ÖDEVLERI |

BIRINCIL KAYNAKLAR

| | | |
|---|---|---|
| 1 | Submitted to Istanbul University<br>Öğrenci Ödevi | %3 |
| 2 | Submitted to Akdeniz University<br>Öğrenci Ödevi | %1 |
| 3 | cdn.istanbul.edu.tr<br>İnternet Kaynağı | %1 |
| 4 | opus.bibliothek.uni-wuerzburg.de<br>İnternet Kaynağı | %1 |
| 5 | Submitted to TechKnowledge Turkey<br>Öğrenci Ödevi | %1 |
| 6 | toad.halileksi.net<br>İnternet Kaynağı | %1 |
| 7 | dosyasb.saglik.gov.tr<br>İnternet Kaynağı | <%1 |
| 8 | Submitted to Anadolu University<br>Öğrenci Ödevi | <%1 |

# ÖZGEÇMİŞ

## Kişisel Bilgiler

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Adı** | Elif | **Soyadı** | Taşpınar |
| **Doğ.Yeri** | Eminönü | **Doğ.Tar.** | 09.01.1994 |
| **Uyruğu** | T.C. | **TC Kim No** | |
| **Email** | elift94@gmail.com | **Tel** | |

## Eğitim Düzeyi

| | **Mezun Olduğu Kurumun Adı** | **Mez. Yılı** |
|---|---|---|
| **Lisans** | Hacettepe Üniversitesi | 2016 |
| **Lise** | Atatürk Anadolu Teknik Lisesi | 2011 |

## İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

| | **Görevi** | **Kurum** | **Süre (Yıl - Yıl)** |
|---|---|---|---|
| **1.** | | | - |
| **2.** | | | - |
| **3.** | | | - |

| **Yabancı Dilleri** | **Okuduğunu Anlama*** | **Konuşma*** | **Yazma*** | **KPDS/ÜDS Puanı** | **YÖKDİL Puanı** |
|---|---|---|---|---|---|
| **İngilizce** | İyi | İyi | İyi | | 78,75 |
| **Fransızca** | Zayıf | Zayıf | Zayıf | | |

***Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

| | **Sayısal** | **Eşit Ağırlık** | **Sözel** |
|---|---|---|---|
| **ALES Puanı** | 70,33 | 77,05 | 84,58 |

## Bilgisayar Bilgisi

| **Program** | **Kullanma becerisi** |
|---|---|
| MS Office | İyi |
| SPSS | Orta |

**Katıldığı Kurslar:**

Moleküler Biyolojide Kullanılan Teknikler Hücre Kültürü, İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, 16-17 Ağustos 2018, İstanbul.

Learning How to Learn: Powerful mental tools to help you master tough subjects, University of California San Diego and McMaster University edX

Human Biology: Cells and Tissues, Adelaide University edX Essentails

Fundamentals of Neuroscience, Harvard edX

Suluboya Bilimsel Bitki Çizimi, Ankara Üniversitesi

**Katıldığı Sempozyum ve Bilimsel Toplantılar:**

3rd Stem Cell and Applications Symposium, İstanbul Üniversitesi, 28-29 Nisan 2018, İstanbul

İntihal ve Yayın Etiği Çalıştayı, İstanbul Üniversitesi, 10 Nisan 2018, İstanbul

Araştırma Yöntembilimi ve Biyoistatistiksel Değerlendirmeye Giriş Çalıştayı, İstanbul Üniversitesi, 4 Nisan 2018, İstanbul

XV. Molecular Biology and Genetics Students Winter School, İstanbul Üniversitesi, 9-11 Mart 2018, İstanbul

Klinik Araştırmalar Etik Kurulları ve Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulları Çalıştayı, İstanbul Üniversitesi, 11 Aralık 2017, İstanbul

Bilimsel Proje Hazırlama Çalıştayı, İstanbul Üniversitesi, 30 Kasım 2017, İstanbul

EndNote Eğitim Semineri, İstanbul Üniversitesi, 19 Ocak 2017, İstanbul

2. ODTÜ Sinirbilim Günü, Ortadoğu Teknik Üniversitesi, 24 Nisan 2016, Ankara

3. Ulusal Biyologlar Kongresi, 16 Nisan 2016, Ankara

Adli Bilimler Kongresi, Hacettepe Üniversitesi, 12-13 Aralık 2015, Ankara

**Özel İlgi Alanları (Hobileri):**

Bilimsel bitki illustrasyonu, postcrossing