



T.C
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANSTEZİ

ORGANOFOSFOR BİLEŞİĞİ OLAN GLİFOSATIN *İN VİTRO*
KORDON KANI ERİTROSİT HÜCRELERİNDEKİ OKSİDATİF STRES
PARAMETRELERİNE ETKİSİ

ISPANDIYAR RUSTAMZADA

Danışman

Prof.Dr. Ayşegül ÇEBİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

GİRESUN-2020

T.C
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ORGANOFOSFOR BİLEŞİĞİ OLAN GLİFOSATIN *İN VİTRO* KORDON KANI ERİTROSİT
HÜCRELERİNDEKİ OKSİDATİF STRES
PARAMETRELERİNE ETKİSİ

ISPANDIYAR RUSTAMZADA

Danışman öğretim üyesi: Prof. Dr. Ayşegül ÇEBİ

Bu araştırma Giresun Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
Tarafından SAĞ-BAP-C-281119-74
Proje numarası ile desteklenmiştir.

GİRESUN-2020

TEZ ONAY SAYFASI



TEZ BİLDİRİMİ

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum “Organofosfor Bileşiğı Olan Glifosatın *In Vitro* Kordon Kanı Eritrosit Hücrelerindeki Oksidatif Stres Parametrelerine Etkisi” adlı çalışmamın, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

Adı ve Soyadı:

Ispandıyar Rustamzada

İmza

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın tüm aşamalarında bana rehberlik ederek ilgi, zaman, sabır ve desteklerini benden esirgemeyen başta değerli tez danışmanım Prof. Dr. Ayşegül Çebi'ye, bilgi birikimleri ve değerli görüşleriyle katkı sağlayan değerli hocalarım Prof. Dr. Sembol Yıldırım ve Doç. Dr. Murat Usta'ya teşekkürlerimi borç bilirim.

Tez çalışmam süresince tüm aşamalarda benden yardımlarını esirgemeyen Biyoloji Bölüm Öğr. Üyesi Fikret Ustaoglu'na, çalışmada kullanılan kordon kanı örneklerinin sağlanmasında Giresun Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi Başhekimi Doç. Dr. Muhammet Bulut'a teşekkür ederim.

Lisans ve yüksek lisans eğitimim süresince yardımlarını esirgemeyen, hiçbir zaman desteğini eksik etmeyen değerli hocam Prof. Dr. A. Yalçın TEPE'ye çok teşekkür ederim.

Ayrıca tez çalışmam sırasında maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen aileme de teşekkür ederim.

SAĞ-BAP-C-281119-74 proje numaralı bu çalışmaya destek veren Giresun Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Ispandıyar Rustamzada

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	i
TEZ BİLDİRİMİ.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER DİZİNİ	vi
KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÖZET	xi
ABSTRACT.....	xiii
1. GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1.Pestisitler	3
2.1.1. Pestisitlerin Sınıflandırılması	4
2.1.1.1. Etkiledikleri Canlı Türlerine Göre Sınıflandırma	4
2.1.1.2. Kimyasal Yapılarına Göre Sınıflandırma	5
2.1.1.2.1. Organoklorürlü Pestisitler	5
2.1.1.2.2. Karbamatlı Pestisitler	5
2.1.1.2.3. Piretroit Grubu Pestisitler	5
2.1.1.2.4. Organofosforlu Pestisitler	6
2.2.Herbisitler.....	6
2.3. Glifosat.....	7
2.3.1. Genel Özellikleri	7
2.3.2. Glifosatın Bitkiler Üzerindeki Etki Mekanizması	8
2.3.3. Glifosatın Toksik Etkileri	9
2.3.3.1. Hayvanlar Üzerindeki Toksik Etkileri	9
2.3.3.2. İnsanlar Üzerindeki Toksik Etkileri.....	12
2.4. Oksidatif Stres	14
2.5. Serbest Radikaller	14
2.6. Antioksidanlar	15
2.7. Antioksidanların Sınıflandırılması	16
2.7.1. Endojen Antioksidanlar	16
2.7.1.1. Enzimatik Antioksidanlar	16
2.7.1.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	16

2.7.1.1.2. Katalaz (CAT).....	17
2.7.1.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx)	17
2.7.1.1.4. Glutasyon Reduktaz (GR)	17
2.7.1.1.5. Glutasyon-S-Transferazlar (GST)	18
2.7.1.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar.....	18
2.7.2. Eksojen Antioksidanlar	22
2.8. Göbek Kordonu	23
2.9. Kordon Kanı Hücrelerinin Özellikleri	24
2.10. Kordon Kanının Toplanması.....	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1. Kit ve Kimyasallar	27
3.2. Cihazlar	27
3.3. Verilerin Toplanması	28
3.4. Eritrosit Hücre Paketlerinin Hazırlanması	28
3.5. Numunelerin Analize Hazırlanması.....	29
3.6. Yapılan Analizler	30
3.6.1. Total Oksidan Kapasitesi.....	30
3.6.2. Total Antioksidan Kapasitesi	30
3.6.3. Oksidatif Stres İndeksi Hesaplaması	31
3.6.4. Lipid Peroksidasyonu	31
3.6.5. Ozmotik Frajilite Tayini	32
4. BULGULAR.....	35
4.1. TOK, TAK, OSİ ve MDA Sonuçları	35
4.2. Ozmotik Frajilite Sonuçları.....	38
5. TARTIŞMA	40
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	45
8. KAYNAKLAR	46
EKLER.....	54
ÖZGEÇMİŞ	55

SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde
α	Alfa
β	Beta
γ	Gamma
δ	Sigma
°C	Santigrat Derece
μ g	Mikrogram
μ l	Mikrolitre
μ M	Mikromolar
cm	Santimetre
Cu	Bakır
Fe	Demir
g	Gram
H ⁻	Hidrür
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
kDa	Kilodalton
L	Litre
ml	mililitre
Mn	Manganez
nm	nonometre
O ₂ ⁻	Süperoksit
OH	Hidroksil
pH	Power of Hydrojen
ppm	Part Per Million
rpm	Revolutions Per Minute (Dakikada Devir Sayısı)
Zn	Çinko

KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS	2. 2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)
AChE	Asetilkolinesteraz
ALT	Alanin Aminotransferaz
AP	Alkalın Fosfataz
AST	Aspartat Aminotransferaz
CFU-GEMM	Granülosit/Eritrosit/Monosit/Makrofaj Progenitör Hücre
CFU-GM	Granülosit/Makrofaj Progenitör Hücre
DDT	Diklorodifeniltri-kloreten
DNA	Deoksiriboz Nükleik Asit
EPSPS	5-Enolpiruvil-Şikimat-3-Fosfat Sentaz
G-CSF	Granülosit Koloni Uyarıcı Faktör
GDO	Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar
GLBH	Glifosat Bazlı Herbisit
GPx	Glutasyon Peroksidaz
GSH	Glutasyon
GST	Glutasyon-S-Transferaz
HbF	Fetal Hemoglobin
IARC	International Agency for Research on Cancer (Uluslararası Kanseri Araştırmaları Ajansı)
IDD	İyodotironin Deiyodinazlar
IL-11	İnterlökin-11
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry (Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği)
MDA	Malondialdehit
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat Hidrojen
NHL	Non-Hodgkin Lenfoma (Hodgkin Dışı Lenfoma)
OF	Ozmotik Frajilite
OP	Organofosforlu Pestisit
OSİ	Oksidatif Stres İndeksi
PABA	Para-Aminobenzoik Asit

PBS	Fosfat Tamponlu Salin
RNS	Reaktif Azot Türleri
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences (Sosyal Bilimler İçin İstatistik Paketi)
TAK	Total Antioksidan Kapasitesi
TNF-�	Tümör Nekroz Faktör Alfa
TOK	Total Oksidan Kapasitesi
TrxR	Tioredoksin Redüktaz
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık �rg�t�)



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Glifosatın fizikokimyasal özellikleri	8
Tablo 2.2. Glifosatın toksik etkileri üzerine yapılan hayvan çalışmaları.....	11
Tablo 3.1. Farklı konsantrasyonlarda NaCl solüsyonunun hazırlanması	33
Tablo 4.1. Glifosatın <i>in vitro</i> kordon kanı eritrosit hücrelerindeki TOK, TAK, OSI ve MDA düzeylerine etkisi.....	36
Tablo 4.2. Glifosatın <i>in vitro</i> kordon kanı eritrosit ozmotik fragilitesine etkisi.....	38



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Glifosatın açık formülü.....	7
Şekil 2.2. Glifosatın EPSPS (5-enolpiruvil-3-fosfat-sentaz) enzimine etki ederek aminoasit sentezini inhibe ettiği şematik yol (Williams ve ark., 2000).	9
Şekil 2.3. Glutatyon	18
Şekil 2.4. Melatonin.....	19
Şekil 2.5. Ürik Asit	19
Şekil 2.6. Bilirubin.....	20
Şekil 2.7. Keonzim Q10.....	20
Şekil 2.8. α -Lipoik Asit	21
Şekil 2.9. İnsan göbek kordonu	24
Şekil 3.1. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan glifosatın ölçüme hazırlık diyagramı..	29
Şekil 4.1. Glifosatın <i>in vitro</i> kordon kanı eritrosit hücrelerindeki total oksidan kapasitesi	36
Şekil 4.2. Glifosatın <i>in vitro</i> kordon kanı eritrosit hücrelerindeki total antioksidan kapasitesi.....	37
Şekil 4.3. Glifosatın <i>in vitro</i> kordon kanı eritrosit hücrelerindeki oksidatif stres indeksi	37
Şekil 4.3. Glifosatın <i>in vitro</i> kordon kanı eritrosit hücrelerindeki malondialdehit seviyeleri.....	38
Şekil 4.4. Glifosatın <i>in vitro</i> kordon kanı eritrosit ozmotik fragilite değerleri.....	39

ÖZET

Organofosfor Bileşiğı Olan Glifosatın *In Vitro* Kordon Kanı Eritrosit Hücrelerindeki Oksidatif Stres Parametrelerine Etkisi

Amaç: Yabani otlara karşı kullanılan geniş spektrumlu ve organofosforlu bir herbisit olan glifosatın hücrenin oksidatif stres üzerindeki rolünü daha fazla tanımlamak ve maruziyetinin etkisini daha iyi anlayabilmek için *in vitro* kordon kanı eritrosit hücrelerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu kapsamda, çeşitli dozlarda glifosat uygulanmış göbek kordon kanı eritrositlerinde total oksidan kapasitesi (TOK), total antioksidan kapasite (TAK), lipid peroksidasyonu (LP) ve ozmotik frajilitenin (OF) tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Gebeliğın üçüncü trimesterindeki sağlıklı, sigara içmeyen, sezaryen doğum yapan 15 kadın çalışmaya dâhil edilip çalışma konusunda bilgilendirilmiş ve onam formu imzalatılmıştır. Çalışmaya katılan gebelerin sezaryen doğumdan sonra kordon kanı numuneleri kesilen göbek kordonunun plasenta tarafında kalan kısmından alındıktan sonrası hızlıca steril enjektör ile heparin içeren tüplere toplandı. Toplanan kordon kanlarından eritrosit hücre paketleri hazırlandı. Eritrosit süspansiyonlarına farklı konsantrasyonlarda (10, 100 ve 500 µM) glifosat uygulanarak 3 saat boyunca 37°C’de glukoz tamponunda inkübe edildi. Hazırlanan numunelerde TOK, TAK, LP ve OF analizleri spektrofotometrik yöntemler kullanılarak yapıldı.

Bulgular: Kordon kanı eritrosit hücrelerine 10, 100 ve 500 µM konsantrasyonlarında glifosat maruziyeti sonrası numune gruplarında eritrosit malondialdehit ve TOK düzeylerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış bulunmuştur ($P<0.05$). Buna karşın, 10, 100 ve 500 µM glifosat konsantrasyonları uygulanan numune gruplarında kordon kanı eritrosit TAK düzeyleri ve OF değerleri kontrol grubuna göre anlamlı farklı değildi ($P>0.05$).

Sonuç: Bu çalışmada, organofosforlu herbisit olan glifosatın *in vitro* kordon kanı eritrosit hücrelerindeki oksidatif stres parametrelerine olan etkisi incelendi. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan bir organofosfor bileşiğı olan glifosatın kordon kanı eritrosit hücrelerindeki oksidatif stres belirteçlerinden olan LP ve TOK seviyesini

yükselttiği, *in vitro* kordon kanı eritrosit OF değeri ve TAK düzeylerini etkilemediği gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Glifosat, kordon kanı, eritrosit hücreleri, *in vitro*, oksidatif stres



ABSTRACT

The Effect of Organophosphorus Compound Glyphosate on Oxidative Stress Parameters in *In Vitro* Cord Blood Erythrocyte Cells

Aim: In order to further define the role of glyphosate, a broad spectrum organophosphorus herbicide used against weeds, on oxidative stress of the cell and to better understand the effect of its exposure, the effect of *in vitro* on cord blood erythrocyte cells was investigated. In this context, it is aimed to determine total oxidant capacity (TOC), total antioxidant capacity (TAC), lipid peroxidation (LP) and osmotic fragility (OF) in umbilical cord blood erythrocytes treated with glyphosate at various doses.

Material and Method: Fifteen healthy, non-smoking, cesarean women in the third trimester of pregnancy were included in the study, informed about the study and signed a consent form. After cesarean delivery, cord blood samples of pregnant women participating in the study were collected from the part of the cut umbilical cord on the placenta side, and quickly collected into tubes containing heparin using a sterile injector. Erythrocyte cell packs were prepared from the collected cord blood. Glyphosate in different concentrations (10, 100 and 500 μM) was applied to the erythrocyte suspensions and incubated for 3 hours at 37°C in glucose buffer. TOC, TAC, LP and OF analyzes of the prepared samples were made using spectrophotometric methods.

Results: A statistically significant increase was found in the erythrocyte malondialdehyde and TOC levels in the sample groups after exposure to the cord blood erythrocyte cells at concentrations of 10, 100 and 500 μM glyphosate ($P < 0.05$). However, cord blood erythrocyte TAC levels and OF values were not significantly different from the control group in the sample groups treated with 10, 100 and 500 μM glyphosate concentrations ($P > 0.05$).

Conclusion: In this study, the effect of glyphosate, an organophosphorus herbicide, on oxidative stress parameters in *in vitro* cord blood erythrocyte cells was investigated. It was observed that glyphosate, an organophosphorus compound applied in different concentrations, increased LP and TOC levels, which are oxidative stress markers in

cord blood erythrocyte cells, but did not affect erythrocyte OF values and TAC levels in *in vitro* cord blood.

Key Words: Glyphosate, cord blood, erythrocyte cells, *in vitro*, oxidative stress



1. GİRİŞ

Glifosat, günümüzde yabancı otlara karşı kullanılan, kullanımı her geçen gün hızla artmakta olan geniş spekturumlu, organofosforlu bir herbisittir. Ucuz ve toksik olmaması gibi nedenlerle uzun yıllar güvenli kabul edilerek genetiği değiştirilmiş soya ve mısır tarımında yabancı otları temizlemek amacıyla kullanılmaktadır. Son yıllarda daha yüksek doz kullanılmasının başlıca sebeplerinden biri, tarımda ortaya çıkan yabancı bitkilerin glifosata duyarlılığının azalmasından kaynaklanmaktadır (Alavanja ve ark., 1996).

İnsanların toprağa temas ederek, glifosatla kirlenmiş su ve besinleri tüketerek devamlı glifosata maruz kaldıkları ve bunun sonucunda istenmeyen toksik etkilerin oluşabileceği bildirilmiştir (Takahashi ve ark. 2001). Bu toksik etkilerin sonucu olarak obozite ve otizm epidemileri, Alzheimer, Parkinson, depresyon ve çeşitli kanser türleri gibi ciddi hastalıklara neden olabileceği belirtilmiştir (Benbrook, 2016).

Anne karnındaki fetus, uzun zamandır gelişimsel süreçleri bozan çevresel ajanların etkilerine ve yaşam boyu olası sonuçlara karşı özellikle savunmasız olarak kabul edilmiştir (Vrijheid ve ark., 2016). Hamilelik sırasında, bu çevresel kirleticiler plasentayı geçerek fetusa ulaşabilir. Pestisitlerin yoğun uygulanan yerlerine yakın ikamet eden gebe kadınların göbek kordon kanı hücrelerinde oksidatif stres ve oksidatif hasar belirteçlerinin değişim gösterdiklerine ilişkin bulgular vardır (Quintana ve ark., 2017). Ayrıca, kordon kanındaki glifosat kalıntı seviyeleri doğum sonuçlarındaki değişiklikler ile ilişkilidir (Bar ve ark., 2010). Pestisit toksisitesinde oksidatif stresin rolü iyi bir şekilde belirlenmiş ve spontan düşükler, embriyopatiler, preeklampsi, fetal büyüme kısıtlaması, erken doğum ve düşük doğum ağırlığı gibi hamilelikle ilgili çeşitli hastalıkların muhtemel bir destekleyicisi olarak ortaya çıkmıştır (Al-Gubory ve ark., 2010).

Kordon kanı hücrelerinin en önemli özelliklerinden biri, çevresel etkenlere maruz kalmamış, temiz ve kullanılmamış hücrelerdir. Kordon kanı toplama işlemi, anne ve bebek bakımından acısız, risksiz ve yaklaşık 5 dakika süren bir işlemidir. Kordon kanının avantajlarından biri de kordon kanı eritrosit hücrelerinin normal yetişkin eritrosit hücrelerinden hemolize daha dirençli olmasıdır.

Bu çalışmada glifosatın göbek kordon kanı eritrosit hücrelerinin oksidatif stres üzerindeki rolünü daha fazla tanımlamak ve maruziyetinin temsil ettiği dozların etkisini *in vitro* olarak araştırmak amacıyla total oksidan kapasitesi (TOK), total antioksidan kapasitesi (TAK), lipid peroksidasyonu (LP) düzeyleri ve ozmotik fragilite (OF) değerlerinin tespit edilmesi amaçlandı.



2.GENEL BİLGİLER

2.1.Pestisitler

Günümüzde hızla artmakta olan dünya nüfusunun en büyük sorunlarından biri gıda ihtiyacının artması, kimyasalların, özellikle gübre ve böcek ilaçlarının yoğun şekilde kullanılmasına yol açmıştır. “Pestisit” adı verilen bu kimyasallar, istenmeyen yaşam formlarını veya zararlı organizmaları yok etmek için kullanılmaktadır. Pestisitler, artan üretim üzerindeki yararlı rolüne rağmen toprakda, suda, meyve ve sebzeler üzerinde uzun süre bozunmadan kalıntı halinde kalarak çevrenin kirlenme riskinin artmasına, biyolojik çeşitlilik, gıda güvenliği ve su kaynakları üzerinde zararlı etkilere yol açmaktadır. Bu kalıntıların kalıcılığının bir sonucu olarak besin zinciri yoluyla insan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri olduğu gösterilmiştir (Kurutaş ve Kılınç, 2003).

Pimentel tarafından yapılan bir araştırmada, uygulanan pestisitlerin sadece %0,3’ü hedef organizmaya ulaşırken %99,7’sinin çevreye yayıldığını göstermiştir (Pimentel, 1995). Zararlıların hızlı çoğalmasına elverişli olan yüksek sıcaklık ve nem nedeniyle mahsul kaybının şiddetli olduğu tropik ülkelerde çok çeşitli pestisitlerin uygulanması tavsiye edilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü’nün (WHO) araştırmasına göre, tüm pestisitlerin %80’i gelişmekte olan ülkeler tarafından kullanılmaktadır. Uygun mevzuat, uygun olmayan piyasa düzenlemeleri ve bilinçsiz kullanımdan dolayı, bu ülkelerde tarım işçileri yüksek düzeyde tarım kimyasalları deneyimleme eğilimindedir. Gelişmekte olan ülkelerin tarım işçileri arasında pestisit maruziyeti birincil mesleki tehlikedir. Çiftçiler ana risk grubu olarak kabul edilmekle birlikte, formülatörler, yükleyiciler, karıştırıcılar, üretim işçileri son derece duyarlı gruplardır. Mesleki olmayan tehlikeler, bir bütün olarak ekosistemin kirlenmesinden kaynaklanabilir. Pestisit zehirlenmesine bağlı ölümlerin ve kronik hastalıkların dünya çapında yılda yaklaşık bir milyon civarında olduğu gösterilmektedir (Jayaraj ve ark., 2016).

Pestisitler, tarımla ilgili ürünlere ve hayvanlara zarar verebilecek ve çiftlik verimliliğini azaltabilecek çeşitli zararlıları ortadan kaldırmak veya kontrol etmek için kullanılan kimyasallardır. WHO tarafından belirli esaslara dayanarak toksik özellik gösteren bir maddenin pestisit olabilmesi için aşağıdaki bazı özelliklere sahip olması gerekmektedir (Öğreten, 2017).

- ✓ Etkili
- ✓ Ucuz
- ✓ Kullanıcılar, tüketiciler ve besi hayvanları açısından güvenilir
- ✓ Hedef canlıya toksik
- ✓ Yeteri kadar stabil (kararlı)
- ✓ Kolay uygulanabilen
- ✓ Toksik olmayan maddelere dönüşebilmeli
- ✓ Çevre için kabul edilebilir olmalı
- ✓ Yanıcı, patlayıcı, boyayıcı etkisi, yaban hayatına ve faydalı organizmalara zararlı olmamalıdır.

2.1.1. Pestisitlerin Sınıflandırılması

Pestisitler, etkiledikleri canlı türlerine, kimyasal yapılarına, işlevlerine ve kalıcılıklarına göre değişken şekillerde sınıflandırılmaktadır. Genel olarak pestisitlerin sınıflandırılmasında etkiledikleri canlı türlerine ve kimyasal yapılarına göre sınıflandırma daha yaygın olarak kullanılmaktadır (Erdoğan, 2010).

2.1.1.1. Etkiledikleri Canlı Türlerine Göre Sınıflandırma

İnsektisitler:	Böcek öldürücüler
Fungusitler:	Mantar öldürücüler
Herbisitler:	Yabani ot öldürücüler
Rodendisitler:	Kemirgen öldürücüler
Bakterisitler:	Bakteri öldürücüler
Nematositler:	Solucan öldürücüler
Mollusitler:	Salyangoz öldürücüler
Mitisitler:	Kene öldürücüler
Larvasitler:	Larva öldürücüler
Akarisitler:	Örümcek öldürücüler

2.1.1.2. Kimyasal Yapılarına Göre Sınıflandırma

Kimyasal özelliklerine göre sınıflandırılmada organoklorürlü, organofosforlu, karbamat ve piretroidler gibi yaygın olarak bilinen dört temel pestisit grubu vardır.

2.1.1.2.1. Organoklorürlü Pestisitler

Organoklorürlü pestisitler, yapılarında beş veya daha fazla klor atomu içeren ve tarımda kullanılan ilk sentetik organik bileşiklerdir. Diklorodifeniltrikloretan (DDT), dicofol, aldrin, endrin, heptaklor, endosülfan, klordan, dieldrin, lindan bu gruba örnek verilebilir. Organoklorürlü pestisitler, balıklarda, kuşlarda ve memelilerde ciddi endokrin bozukluklara neden olabilen sinir sistemi bozucuları olarak işlev görür. En yaygın olarak bilinen organoklor pestisit, kontrolsüz kullanımı birçok çevre ve insan sağlığı sorununa neden olan, insektisit DDT'dir. Temas ve solunum yoluyla etki gösterirler. Bu sınıf pestisitlerin insan sağlığı ve çevreye olan zararlı etkilerinden dolayı kullanımı kısıtlanmış veya yasaklanmıştır (Genuis ve ark., 2016).

2.1.1.2.2. Karbamatlı Pestisitler

Karbamatlar, asetilkolinesteraz (AChE) önleyici maddeler olarak bilinen N-metil karbamik asit esterleridirler. Aldikarb, karbofuran, karbaril, metomil, oksamil, pirimikarb, fenobukarb bu grupta yer almaktadır. Karbamatlı pestisitler AChE enziminin aktivitesini bozarak sinir sistemine etki gösterirler. Bu nedenle AChE inhibitörüdürler (Fukuto, 1990).

2.1.1.2.3. Piretroit Grubu Pestisitler

Piretroitler, piretrum çiçekleri (*Krizantem cinerariaefolium* ve *C.coccineum*) tarafından üretilen doğal piretrinlere benzer organik bileşiklerdir. Piretroitler, suda zayıf çözünen, ışığa maruz kaldığında hızla bozunan, doğada kolayca parçalanabilen pestisit grubudur. Piretroitler, yapılarına ve istenmeyen toksik etkilerine bağlı olarak Tip1 ve Tip2 olmak üzere iki gruba ayrılır. Tip1 piretroitlerin etki mekanizması, nöronal membranların açılıp ve kapanması sırasında sodyum kanallarının uyumunu değiştirmektir. Bunun sonucu olarak, vücut titremeleri, saldırgan davranış, aşırı duyarlılık ve ataksi ile sonuçlanan belirtiler görülmektedir. Tip2 piretroitlerin etki mekanizması, sodyum kanalları üzerindeki etkilerine ek olarak, klorür kanallarını da etkilediği bilinmekte ve memelilerde tükürük salgılanmasına neden olmaktadır.

Piretroitler, böcekler için diğer sıcakkanlı hayvanlara göre 2250 kat daha toksiktir. Bu, daha hassas sodyum kanallarına, daha küçük yapıya ve daha düşük vücut sıcaklığına sahip böceklerden kaynaklanmaktadır. Dünyada kullanılan insektisitlerin %17'den fazlasını piretroitler oluşturmaktadırlar (Chrutek ve ark., 2018).

2.1.1.2.4. Organofosforlu Pestisitler

Organofosfor bileşikleri fosforik asit ve fosfotyonik asit türevleridir. Parathion, malathion, diazinon, klorpirifos, metil parathion, dichlorvos yaygın olarak kullanılan organofosforlu bileşiklerdir. Bu kimyasal pestisit sınıfı, 1970'lerden beri ABD'de yasaklanmış olan organoklorürlü pestisitlerin yerini almak için kullanılmıştır. Bununla birlikte, OP'ler insanlarda dâhil olmak üzere maruz kalan organizmaların sinir sistemi üzerinde derin bir etkiye sahip olan güçlü ve geri dönüşümsüz AChE inhibitörleri oldukları için son derece toksik pestisitlerdir. Organoklorürlerden daha kolay ayrıştırılsalar da organofosfor pestisit kalıntıları, akut toksisiteyi geri dönüşümsüz olduğundan çevre kirliliği ve insan sağlığı için büyük tehditlerden biridir. Dünyada kullanılan pestisitlerin %50'ni organofosforlu pestisitler oluşturmaktadır (Edwards ve Tchounwou, 2005).

2.2. Herbisitler

Yabani otlar, küresel olarak insanlığın gıda, lif ve yakıt üretme kabiliyetini azaltması bakımından önemli engeller olarak nitelendirilebilir. Bu canlılar, dünya çapında ortalama %34 ürün verimi kaybına neden olmaktadır. Yabani otlarla savaşta yakma işleminden sonra en etkili ve ucuz yöntem herbisit kullanımıdır. Herbisitler yabani otların kontrolü için geliştirilen, hedeflenen yabani otların %90- 99'unu öldüren en etkili kimyasallardır (Pacanowski, 2017).

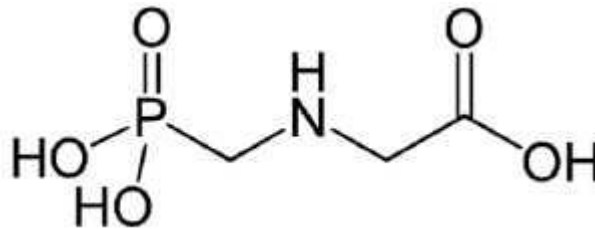
Dünyadaki herbisit kullanımı, tarım ilaçları arasında ilk sırada yer almaktadır. Bunun sonucu olarak, küresel tarım ilacı satışlarının %47,6'sını herbisitler oluşturmakta ve bunu insektisit (%29,4), fungusit (%17,5) ve diğerleri (%5,5) izlemektedir. Kimyasal ilaçlama her ne kadar iyi bir yöntemmiş gibi bilinsede zararlı yan etkilere sahiptir. Herbisit formülasyonları, özellikle bitkileri etkileyecek şekilde tasarlanmış olsada, yapılan çalışmalarda bu tür kimyasalların sucul organizmalarda dâhil olmak üzere hayvanlar gibi hedef olmayan organizmaları da etkiledikleri bilinmektedir (Mengüç, 2018).

2.3. Glifosat

2.3.1. Genel Özellikleri

Glifosat, N-fosfonometil glisin yapısında, geniş spektrumlu, selektif olmayan, sistemik etkili bir organofosforlu herbisittir. İlk kez Dr. Henri Martin tarafından 1950 yılında sentezlenmiştir (Szekacs ve Darvas, 2012). Ancak, glifosatın herbisidal aktivitesi 1970 yılında bir Monsanto kimyacı olan Dr. John Franz tarafından tanımlandı ve Monsanto şirketi 1974'te glifosatu Roundup ticari formu adı altında satışa çıkardı (Duke ve Powles, 2008).

Glifosat, suda yüksek çözünürlüğe sahiptir (25°C'de 12 g/L) ve diğer çözücülerde çözünmez. Glifosat içerikli ticari ürünler, genellikle glifosatın tuzları ile formüle edilerek ve membran geçirgenliğini arttırmak için yüzey aktif maddeler eklenerek piyasaya sürülmektedir. Tuz formundaki glifosat formülasyonları arasında monoamonyum tuzu, diamonyum tuzu, izopropilamin tuzu, potasyum tuzu, sodyum ve trimetilsülfonyum tuzları bulunur. Bunlardan izopropilamin, sodyum ve monoamonyum tuzu formları, formüle edilmiş glifosat ürünlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Tu ve ark., 2001). Glifosatın açık formülü **Şekil 2.1'de** gösterilmektedir. Glifosatın bazı fizikokimyasal özellikleri **Tablo 2.1'de** gösterilmektedir.



Şekil 2.1. Glifosatın açık formülü(PubChem Compound Database, 18.02.2020).

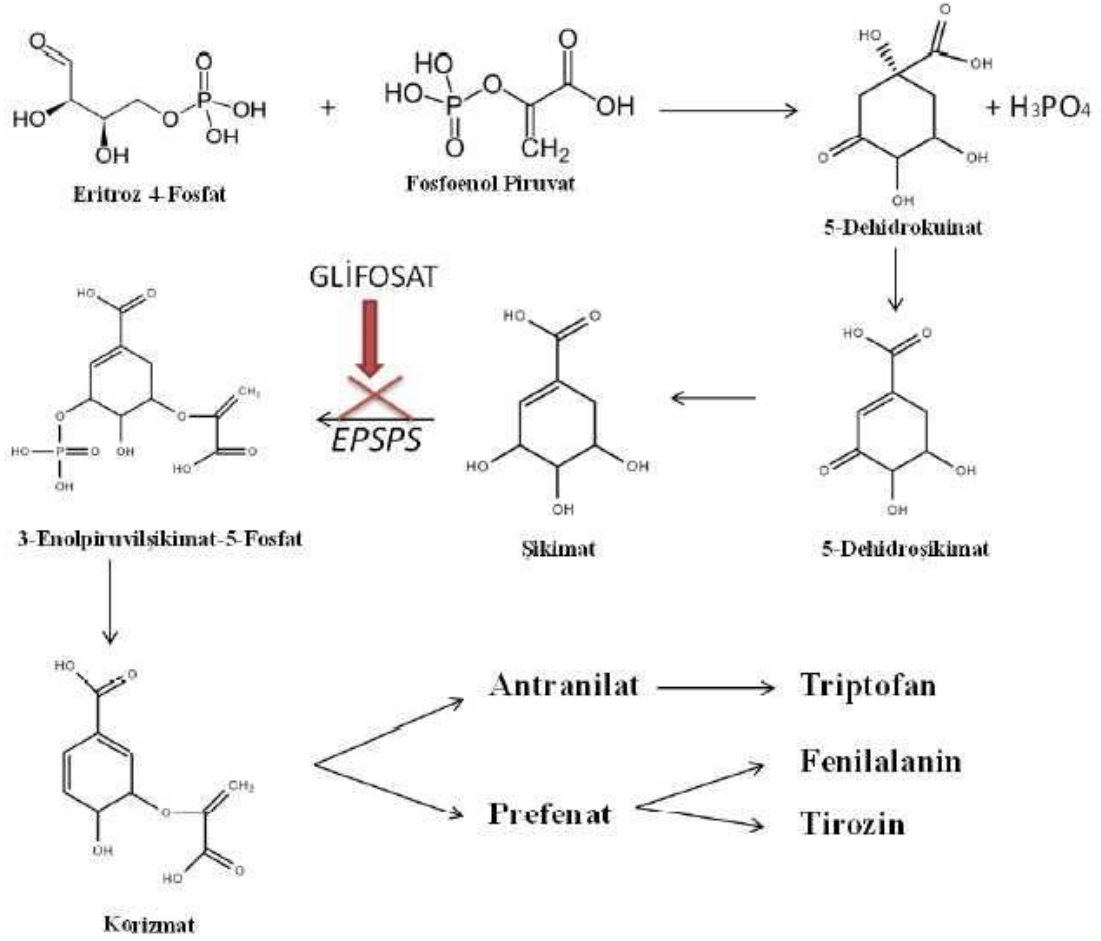
Tablo 2.1. Glifosatın fizikokimyasal özellikleri (PubChem Compound Database, 18.02.2020).

Kimyasal İsmi	N- (Fosfonometil) glisin
Molekül Formülü	C ₃ H ₈ NO ₅ P
Molekül Ağırlığı	169.073 g/mol
IUPAC İsmi	2-(fosfonometilamino) asetik asit
Fiziksel Özellikler	Kokusuz beyaz kristaller halinde
Erime Noktası	200 °C
pH (su içinde %1 çözelti)	2.5
Çözünürlük (su)	12000 mg/L (25 °C)

Glifosat dünyada en yaygın kullanılan herbisittir. Kullanım alanları arasında tarımda yabancı ot kontrolü, tarım dışı alanlarda bitki örtüsü kontrolü, ürün kurutucu ve hasat yardımcısı olarak kullanılmaktadır. Tarımda kullanımı, glifosata dayanıklı genetiği değiştirilmiş (GDO) mahsul çeşitlerinin gelişmesi nedeniyle önemli ölçüde artmıştır (Solomon ve ark., 2007). Glifosat ürünleri, geleneksel tarım ürünlerinin ekilmesinden önce ve genetiği değiştirilmiş glifosata dirençli ürünlerin ekilmesinden sonra rekabetçi yabancı otlarla mücadele etmek için kullanılmaktadır (Duke ve Powles, 2009).

2.3.2. Glifosatın Bitkiler Üzerindeki Etki Mekanizması

Glifosat bitkilere etkisini aromatik amino asitlerin sentezi için şart olan, şikimat yolağında 5-enolpiruvil-şikimat-3-fosfat sentaz (EPSPS) enzimini inhibe ederek göstermektedir (**Şekil 2.2**). Aromatik amino asitlerden triptofan, fenilalanin ve tirozin hem proteinlerin sentezi için kullanılmaktadır hem de bitkilerde pigment, alkaloid, hormon ve hücre duvarı bileşenleri gibi çok sayıda doğal ürünün de öncüsü olarak işlev görmektedir. Bitkiler için hayati önem taşıyan aromatik amino asitlerin eksikliği, protein sentezi, bitkinin büyümesi ve fotosentez gibi olayların durmasına neden olmaktadır (Maeda ve Dudareva, 2012).



Şekil 2.2. Glifosatın EPSPS (5-enolpiruvil-şikimat-3-fosfat sentaz) enzimine etki ederek amino asit sentezini inhibe ettiği şematik yol (Williams ve ark., 2000).

Sistemik bir herbisit olan glifosat, floem yoluyla bitkinin tüm kısımlarına kolayca taşınır. Glifosat molekülleri yaprak yüzeyinden bitki hücrelerine emilir, bitki boyunca yer değiştirerek meristem dokusunda yoğunlaşırlar. Glifosatın fitotoksik belirtileri genellikle yavaş yavaş başlar, bitki türüne bağlı olarak 4-20 gün arasında görülmektedir. Fiziksel fitotoksik belirtiler arasında bodur büyüme, yeşil renk kaybı, yaprak kırışması ve doku ölümü yer almaktadır (Laerke, 1995).

2.3.3. Glifosatın Toksik Etkileri

2.3.3.1. Hayvanlar Üzerindeki Toksik Etkileri

Glifosatın etki şekli sadece bitkileri etkileyecek şekilde tasarlanmış olsada, yapılan çeşitli çalışmalar bal arıları gibi faydalı böcek türlerinin, solucanların,

balıkların, kuşların ve bazı memelilerin de içinde bulunduğu hayvan popülasyonlarına zarar verdiği ve tür sayısının azalmasına neden olduğu belirtilmektedir (Cox, 1995).

Glifosat toksisitesinin başlıca nedenlerinden biri herbisit formülasyonlarında glifosatın tek başına bulunmaması ve çeşitli yardımcı maddeler içermesidir. Glifosat bazlı herbisit (GIBH) formülasyonları genellikle %36-48 glifosat, su, tuz ve etoksialkilaminler gibi yardımcı maddelerden oluşmaktadır. Bu yardımcı maddeler glifosatın toksisitesini artırmakla birlikte herbisidal aktivitesinde değiştirebilmektedir (Sarıaltın ve Çoban, 2017).

Glifosat formülasyonlarına eklenen bazı sürfaktanlar, memeliler, suda yaşayan böcekler ve balıklar da dâhil olmak üzere çok çeşitli hedef dışı organizmalar için tek başına glifosattan daha toksiktir. Balıklarda toksik etkileri, balık türlerine ve duyarlılıklarına göre değişmekte olup glifosat formülasyonlarının saf glifosata göre 30 kata kadar daha toksik olduğu bilinmektedir (Servizi ve ark., 1987).

Glifosatın nörotoksik etkileriyle ilgili olarak balıklarda yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır. *Cyprinus carpio* (sazan balığı) türünde glifosat maruziyeti ile AChE'nin inhibe olduğu gösterilmiştir (Cattaneo ve ark., 2011).

Glifosat içeren herbisitler balıklarda genetik hasara neden olabilir ve ayrıca bağışıklık sistemlerini bozabilir. Brezilyada yapılan bir araştırmada, *Tilapia* 'da (Tatlı su Çipurası) Roundup herbisit enjeksiyonunun kırmızı kan hücrelerinde hasar görmüş kromozomlarını artırdığını gösterdi (Grisolia, 2002).

Yeni Zelanda'daki tarım topraklarında bulunan en yaygın solucan üzerinde yapılan bir araştırmada, tekrarlanan glifosat uygulamalarının solucanların büyümesini ve hayatta kalmasını önemli ölçüde etkilediğini gösterilmiştir. 100 gün boyunca, 14 gün aralıklarla uygulanan düşük glifosat oranları büyümede azalmaya, olgunlaşma süresinde artışa neden olmuştur (Springett ve Gray, 1992).

Glifosat kullanımı ile öldürülen bitkiler, kuşların yiyecek veya barınak için kullandığı bitkiler olduğunda kuşları olumsuz etkileyebilir. British Columbia Üniversitesi ve Kanada Yaban Hayatı Servisi araştırmacılarının yaptığı bir çalışmada, glifosat maruziyetinin ötücü kuşların yuvalama başarısını ve popülasyon sayısını azalttığı gösterilmiştir (Easton ve Martin, 2002).

Tablo 2.2'de glifosatın toksik etkileri üzerine yapılan hayvan çalışmaları özetlenmiştir.

Tablo 2.2.Glifosatın toksik etkileri üzerine yapılan hayvan çalışmaları

Kullanılan kimyasal	Tür (Cinsiyet)	Süre	Doz mg/kg/gün	Sonuç	Kaynak
Glifosat	CD-1 fareleri (Erkek)	24 ay	0, 1000, 5000, 30000 ppm	Kronik Toksisite: Yüksek doz seviyesinde mikroskopik olarak karaciğer hipertrofisi ve nekroz insidansında artış, orta ve yüksek dozda idrar kesesinin epitelyal hiperplazisinin ortaya çıkmasında artış.	Knezevich, 1983
Glifosat	Sprague Dawley sıçanları (Erkek/Dişi)	26 ay	0, 60, 200, 600 ppm	Onkojenik etki: Tedaviyle ilişkili kronik etkiler gözlenmedi.	Lankas, 1981
Glifosat	Sprague Dawley sıçanları (Erkek/Dişi)	2 yıl	0, 2000, 8000, 20000 ppm	Onkojenik etki: Yüksek doz seviyesinde erkeklerde dejeneratif oküler lens değişikliği, Karaciğer ağırlığında artış, yüksek idrar pH/özellik ağırlık. Dişilerde vücut ağırlığında düşüş gözlenmiştir.	Stout ve Ruecker, 1990
Glifosat	Sprague-Dawley sıçanları (Erkek/Dişi)	26 hafta	3, 10, 32	Kronik toksisite: testiste tümör oluşum oranı anlamlı şekilde artmıştır.	JMPR, 2004
Glifosat	Wistar sıçanlar (Dişi)	5 saat	15, 30, 60, 120	Karaciğer: Mitokondri oksijen tüketimi oranında artış (> 60) ATP-az dâhil dehidrojenaz aktivitelerinde artış (>15).	Olorunsogo ve ark., 1979
Glifosat	İsviçre fareleri (Erkek/Dişi)	24-72 saat	25 – 50	Genotoksisite (>25 mg/kg): Kromozomal aberasyonlarda artış; Mitotik indeks oranında düşüş, Mikronükleus oranında artış.	Prasad ve ark., 2009
Roundup®	Wistar sıçanlar (Erkek)	30 gün	5- 250	Endokrin bozucu etki: testis ve adrenal ağırlıkta artış (250 mg/kg); seminifer epitel yüksekliğinde azalma ve luminal çaplarda büyüme (>5 mg/kg); testosteron seviyesinde azalma (>5); östradiol ve kortikosteroide etki gözlenmemiş.	Romano ve ark., 2010
Roundup®/ Glifosat	Albino (E)	2 hafta	135 2 günde bir	Hepatotoksisite: Karaciğer/vücut ağırlığı oranında artış; lipid peroksidasyonu, ALT, AST ve AP aktiviteleri, ürik asit, üre, nitrik oksit, TNF- α , trigliserid ve kolesterol seviyelerinde artış; total protein ve albumin değerlerideğişmedi; kreatinin ve GSH aktivitesinde azalma.	El-Shenawy, 2009

2.3.3.2. İnsanlar Üzerindeki Toksik Etkileri

1970’lerde ticari bir herbisit olarak glifosatın piyasaya sürülmesinden bu yana, insanlar için toksik olmadığına inanılmaktaydı. Fakat son zamanlarda yapılan laboratuvar ve epidemiyolojik çalışmalar, glifosatın olası endokrin (hormon) bozucu, hücre ölümü, DNA hasarı, kanser, doğum kusurları ve nörolojik bozukluklar da dâhil olmak üzere ciddi sağlık ve çevre tehlikeleri oluşturduğu bildirilmektedir. İnsanlar hem mesleki hem de çevresel ortamlarda gıda ve içme suyu gibi çeşitli yollardan glifosata maruz kalabilirler. 2013 yılında Avrupa Topluluğu tarafından görevlendirilen 18 farklı Avrupa ülkesinden 182 idrar örneğindeki glifosat kalıntıları hakkındaki raporda, kütle spektrometrisi ile glifosata maruz kalmayı belgelemiştir. Analiz edilen idrar örneklerinde %44 glifosat kalıntıları saptanmıştır (MLHB, 2013).

Acquavella ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, glifosat uygulanan arazilerde çiftçilerin %60’ının idrarında yüksek konsantrasyonlarda glifosat gözlenmiştir. Eldiven kullanmayan çiftçilerin idrarında, eldiven kullananlara göre daha yüksek konsantrasyonlarda glifosat tespit edilmiştir. Bu da deriden emilimin önemli bir maruziyet yolağı olduğunu göstermektedir (Acquavella ve ark., 2004).

Genotoksik etki

Genotoksisite, hücredeki genetik bilgiye zarar veren ve kansere yol açabilecek mutasyonlara neden olan kimyasal ajanların özelliğini tanımlar.

Glifosat ve glifosat formülasyonlarının, beyaz kan hücrelerinin bir alt tipi olan insan lenfositlerinde kromozomal aberasyona ve mikronükleus frekanslarının artmasına neden olduğu belirtilmiştir (santavito ve ark., 2018). Ayrıca, insan periferik kan mononükleer hücrelerinde DNA’nın tek ve çift zincir kırıklarını indüklediği ve pürin-pirimidin oksidasyonuna neden olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Wozniak ve ark., 2018).

Böbrek ve Karaciğer Üzerine Etkileri

Glifosat kalıntıları, böbrekler ve karaciğer için daha yüksek risk oluşturabilir. Yapılan metabolik çalışmalar, böbrek ve karaciğer dokularındaki glifosat seviyelerinin yağ, kas ve diğer birçok dokuda bulunan seviyelerden 10-100 kat daha yüksek olduğunu göstermektedir. Ağır glifosat kullanımı ve sertsu kombinasyonu olan bazı bölgelerde

erkek tarım işçileri arasında ciddi, kronik böbrek hastalığı sıklığında artışlar gözlenmiştir (Jayasumana ve ark., 2014).

Deney hayvanları üzerine yapılan çalışmalarda, glifosat maruziyetinin karaciğerde oksidatif fosforilasyonu bozduğu, alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) düzeylerini arttırdığı, karaciğer kan akımını indüklediği, hepatositlerde geri dönüşümsüz hasarlar ve karaciğerde fibroz meydana geldiği gözlenmiştir (Sarıaltın ve Çoban, 2017).

Hepatositlere glifosat maruziyetinden sonra elektron mikroskopu ile yapılan çalışma sonucunda solunum ve transkripsiyon aktivitelerinde azalma olduğu tespit edilmiştir (Malatesta ve ark., 2008).

Üreme Sistemi Üzerine Etkileri

Orta İndiana’da yaşayan singleton gebelikleri olan 71 kadın üzerinde yapılan bir araştırmada, idrar örnekleri alınan gebe kadınların %90’ının saptanabilir glifosat maruziyeti düzeylerine sahip olduğu ve bu düzeylerin kısalmış gebelik uzunlukları ile anlamlı derecede ilişkili olduğu bulunmuştur (Parvez ve ark., 2018). Benzer başka bir çalışmada, Ontario (Kanada) çiftlik aileleri üzerinde yapılan araştırmada, gebe kalmadan önceki üç ay içinde glifosat maruziyeti, gebe kadınların 12-19. gebelik haftaları arasında düşük yapma durumunun olduğu görülmüştür (Arbuckle ve ark., 2001).

Glifosata dayanıklı genetiği değiştirilmiş mahsullerin yaygın olarak yetiştirildiği Arjantin ve Paraguay’da ciddi doğum kusurlarının görülme sıklığının artması, glifosatin fetal gelişim sırasında retinoik asit aktivitesini artırma yeteneğine bağlanabilir (Paganelli ve ark., 2010).

Glifosat maruziyeti, gelişmekte olan fetus, bebek ve çocuklar için en fazla risk oluşturmaktadır. Glifosat maruziyetini izleyen etkiler hemen görülmeyebilir. Erken yaşta maruz kalmanın neden olduğu bazı olumsuz durumlar sadece gelişimin ilerleyen aşamalarında veya yetişkinlikte ortaya çıkar. Bunlar hem akut hastalıkları hem de kronik sorunları içermektedir (Myers ve ark., 2016).

Karsinogenik Etkileri

Son yıllarda, glifosatın karsinogen potansiyeli, çok sayıda yetkili ve düzenleyici kurumlar tarafından incelenmekte ve tartışılmaktadır. Hodgkin dışı Lenfoma (NHL) insidansı 1975-2006 yılları arasında ABD’de neredeyse iki katına çıkmıştır. Mesleki olarak glifosata maruz kalan insan popülasyonları arasında veya herbisitlere rutin maruz kalan bir bölgede ikamet etmeleri nedeniyle NHL geliştirme riskinde artışa neden olmaktadır (Schinasi ve Leon, 2014).

Glifosatın insanlarda kromozomal hasar ve oksidatif stresi indükleyerek çeşitli kanser türlerine neden olabileceği bildirilmektedir. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı olan IARC, glifosatu hayvanlarda yeterli karsinogenik, insanlarda sınırlı karsinogenik olması ve iki karsinogen mekanizma için güçlü kanıtları nedeniyle glifosatın insanlar için “muhtemelen kanserojen” olduğu sonucuna varmış ve karsinogenik etki olasılığı bulunan ajanların yer aldığı Grup 2A’da sınıflandırmıştır (IARC, 2015).

2.4. Oksidatif Stres

Vücudumuz reaktif oksijen türlerine (ROS) karşı sürekli saldırı altındadır. Genellikle bu saldırıyı dengede tutan karmaşık bir antioksidan savunma sistemi gelişmiştir. Bununla birlikte, bazen bu denge bozulabilir ve oksidatif strese yol açabilir. Oksidatif stres, reaktif oksijen/azot türlerinin (ROS/RNS) üretimi ile antioksidan koruma sistemlerinin bunlara karşı koyma kapasitesi arasındaki dengesizliğin bir sonucudur. Ayrıca oksidatif stres oksidanlara maruziyetteki artıştan, oksidanlara karşı korunmanın azalmasından veya her iki olayın aynı anda gerçekleşmesinden kaynaklanabilir. Oksidatif stres, hücreleri yaşlandıran, hastalandıran ve hücre ölümüne neden olan biyokimyasal bir süreçtir (Davies, 2000; Özcan ve ark., 2006).

2.5. Serbest Radikaller

Atomik veya moleküler orbitallerinde bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron içeren moleküller serbest radikal olarak bilinmektedir. Bu radikaller oldukça reaktiftirler. Diğer moleküllere bir elektron bağışlayabilir veya bir elektron kabul edebilirler, bu nedenle oksidan veya indirgeyici gibi davranabilirler. Serbest radikaller

yüksek reaksiyona girebilme özelliklerine sahip olsada, çok kısa yarılanma ömrüne sahiptirler.

Oksijen içeren başlıca serbest radikaller hidroksil radikali (OH), süperoksit radikali (O_2^-), hidrojen peroksit radikali (H_2O_2), hipoklorit radikali (HClO), singlet oksijen radikali (1O_2), nitrik oksit radikali (NO) ve peroksinitrit ($ONOO^-$) radikalidir. Bu radikallerin hedefleri, vücuttaki her türlü molekülü içerir. Bunlar arasında lipitler, nükleik asitler ve proteinler başlıca hedeflerdir (Young ve Woodside, 2001).

Organizmadaki serbest radikaller endojen (solunum zincirinde yer alan reaksiyonlar, sitokrom P450 sistemi, mitokondrial elektron transportu, peroksizomlar, fagositoz ve prostaglandin sentezi), eksojen (sigara dumanı, alkol, radyasyonlar, ozon, ultraviyole ışın, böcek ilaçları, endüstriyel çözücüler) ve fizyolojik (zihinsel durum veya stres, duygu, yaşlanma, diyet faktörleri) kaynaklar tarafından meydana getirilebilir (Engwa, 2018).

2.6. Antioksidanlar

Antioksidanlar, ROS ve RNS'den kaynaklanan oksidatif hasara karşı hücrel savunmayı arttıran yapısal olarak çeşitli küçük organik moleküller ve büyük enzimlerdir. Antioksidanlar radikal temizleyici, hidrojen verici, elektron verici, peroksit ayrıştırıcı, tekli oksijen süpürücü, enzim inhibitörü, sinerjist ve metal şelatlayıcı ajanlar olarak işlev görmektedirler (Frie ve ark., 1988).

Her antioksidan spesifik ROS tiplerini hedefler ve farklı ortamlarda koruma sağlar. Antioksidanlar, serbest radikal oluşturabilen DNA, proteinler, karbonhidratlar ve lipitler gibi hücrel bileşenlere zarar verebilecek oksidasyon reaksiyonlarına katılan oksijen türlerini azaltır. Bununla birlikte, ROS'nin redoks sinyali ve gen ekspresyonu gibi bazı hücrel fonksiyonlara aracılık ettiği ve patojenlere karşı koruduğu belirtilmektedir. Böylece, antioksidan sistemlerin rolü oksidanları tamamen ortadan kaldırmak değil, onları optimum seviyede tutmaktır (Moussa ve ark., 2019).

Antioksidan sistemlerin iki temel etki mekanizması bildirilmiştir. Birincisi, antioksidan sistemlerde bulunan serbest radikale bir elektron bağışladığı zincir kırma mekanizmasıdır. İkinci mekanizma ise ROS ve RNS başlatıcılarının zincir başlatma

katalizörünü engellemek suretiyle uzaklaştırılmasını içermektedir (Rice-Evans ve ark., 1993).

2.7. Antioksidanların Sınıflandırılması

Antioksidanlar, endojen ve eksojen olmak üzere iki grup altında toplanabilir. Endojen ve eksojen antioksidanlar, oksidan/antioksidan dengesini sağlamak için serbest radikallerden vücudu korur ve serbest radikalleri etkisizleştirmek için kullanılırlar.

2.7.1. Endojen Antioksidanlar

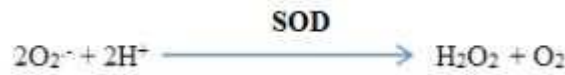
Aktivitelerine dayanarak endojen kaynaklı antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak sınıflandırılır.

2.7.1.1. Enzimatik Antioksidanlar

Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR) ve glutatyon-s-transferazlar (GST) enzimatik savunma hattını oluşturan antioksidanlardır.

2.7.1.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

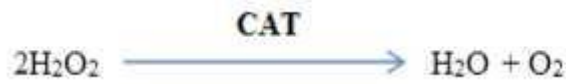
Süperoksit dismutaz, reaktif oksijen türlerine karşı ilk savunma sisteminin bir bileşeni olarak hareket eden önemli bir endojen antioksidan enzimdir. SOD, süperoksit anyonunu daha az toksik olan hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) dönüşümünü sağlar.



SOD bir metaloenzimdir ve bu nedenle aktivitesi için bir metal kofaktör gerektirir. SOD ile bağlanan metal iyonları demir (Fe), çinko (Zn), bakır (Cu) ve manganezdır (Mn). Bu bağlamda SOD'lar üç biçimde sınıflandırılır: Fe-SOD, bitkilerin kloroplastlarında, Mn-SOD, mitokondride, Cu/Zn-SOD, temel olarak sitozolde ve peroksizomlarda bulunur (Perry ve ark., 2010).

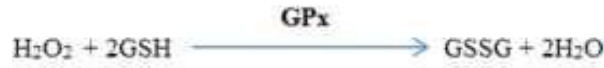
2.7.1.1.2. Katalaz (CAT)

Katalaz, peroksisomlarda bulunan, her biriminin aktif merkezinde bir hem grubu ve NADPH içeren, dört alt birimden oluşan tetramerik bir enzimdir. Hidrojen peroksit, birçok normal metabolik sürecin zararlı bir yan ürünüdür ve hidroksil radikalının öncülü olarak davranarak hücrede kalıcı hasara neden olabilir. Bu amaçla katalazın başlıca görevi, hidrojen peroksitin suya ve oksijene ayrışmasını katalize etmektir (Chelikani ve ark., 2004).



2.7.1.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx)

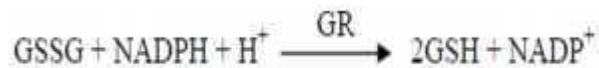
Glutasyon peroksidaz, enzim aktivitesi için gerekli olan dört protein alt birimin her birinde tek bir selenosistein (Sec) kalıntısı içerir. GPx, glutasyon (GSH) kullanarak hidroperoksitlerin indirgenmesini katalize eder ve böylece hücreleri oksidatif hasara karşı korur.



GPx, membrana bağlı bir antioksidan olan E vitaminin yetersiz olduğu durumlarda membranın peroksidasyonuna karşı koruma sağlar (Mates, 2000).

2.7.1.1.4. Glutasyon Reduktaz (GR)

Glutasyon redüktaz, hücre içindeki oksidatif hasarın önlenmesinde önemli rol oynayan homodimerik bir flavoprotein disülfür oksidoredüktazdır. GR, kırmızı kan hücrelerinin normal yapısını korumak ve hemoglobini demir halinde tutmak için gerekli olan uygun hücre içi azaltılmış glutasyon seviyelerinin korunmasına yardımcı olur. GR, kofaktörü NADPH ile birlikte oksitlenmiş glutasyonun (GSSG) glutatona (GSH) indirgenmesini katalize eder (Fagan ve Palfey, 2010).



2.7.1.1.5. Glutatyon-S-Transferazlar (GST)

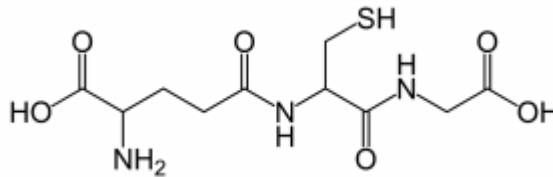
Glutatyon-s-transferazlar (GST), sitozolde bulunan, her biri iki polipeptit alt biriminden oluşan yaklaşık 50 kDa'lık tipik moleküler kütlelere sahip, faz II detoksifikasyon reaksiyonlarındaki rolleri ile bilinen önemli bir enzim ailesidir. GST'lerin başlıca görevi, glutatyonun (GSH) çok çeşitli endojen ve eksojen elektrofilik bileşiklere konjugasyonunu katalize etmektir. Ayrıca GST'ler, hem normal hücrel metabolizmada hem de çok çeşitli ksenobiyotik bileşiklerin detoksifikasyonunda önemli rollere sahiptir (Kumar ve Trivedi, 2018).



2.7.1.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

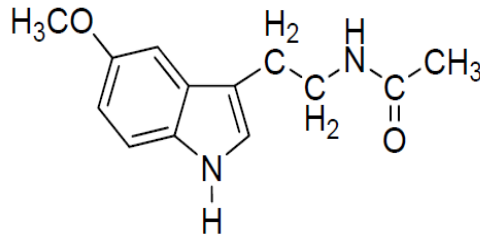
Enzimatik olmayan antioksidanlar arasında glutatyon, melatonin, ürik asit, bilirubin, albümin, koenzim Q10, selenyum, α -lipoik asit, seruloplazmin ve transferin sayılabilir.

Glutatyon (GSH): Glutatyon, suda çözünebilen, sistein, glutamik asit ve glisinden oluşan bir tripeptittir. Hücrelerde hem indirgenmiş (GSH) hem de oksitlenmiş (GSSG) formlarında bulunur. Hücre içi ortamın en önemli antioksidan molekülü olan GSH, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu, amino asitlerin taşınması, sülfidril gruplarının proteinlerde indirgenmiş halde tutulması ve antioksidan içermeyen bazı enzimatik reaksiyonlarda koenzim gibi davranması gibi pekçok fizyolojik fonksiyona sahiptir. GSH, antioksidan savunmasının ve serbest radikal süpürmenin yanı sıra E vitamini radikalinin indirgenmesinde rol oynar (Sarıkaya ve Doğan, 2020).



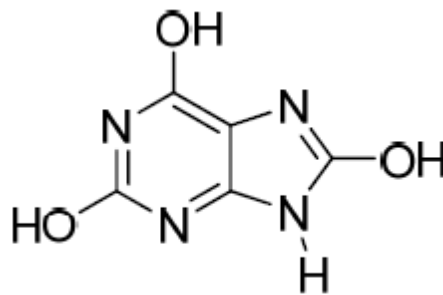
Şekil 2.3. Glutatyon

Melatonin: Melatonin (N-asetil 5-metoksitriptamin), özellikle geceleri epifiz bezinden üretilen amino asit triptofandan sentezlenir. Karanlık tarafından uyarılan ve ışık tarafından inhibe edilen melatonin, vücudun hormon salgılarını senkronize etmek ve seviyelerini düzenlemek, beynin iç biyolojik saatini ayarlamak ve böylece sirkadien ritimleri (günlük biyoritmler) kontrol etmede rol oynar. Melatonin, mitokondri içindeki nitrik oksit oluşumunu azaltarak doğrudan serbest radikal temizleyici ve antioksidan enzim aktivitelerini dolaylı olarak düzenleyerek güçlü antioksidan özellik göstermektedir. Ayrıca, hücre zarlarını E vitamini kadar lipid peroksidasyonundan korumada iki kat, hidroksil radikallerini nötralize etmek için glutatyondan beş kat daha etkilidir (Cardinali ve ark., 2013; Aly ve Rizk, 2018).



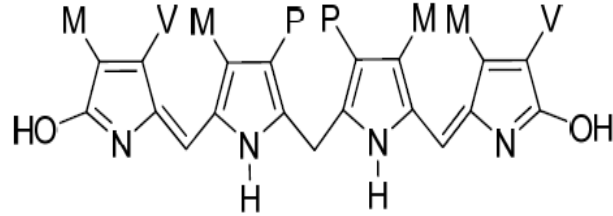
Şekil 2.4. Melatonin

Ürik Asit: Adenin ve guanin gibi pürinlerin metabolizmasının son ürünüdür. İnsanlarda en bol bulunan sulu antioksidandır ve plazmada serbest radikal süpürme kapasitesinin üçte ikisine kadar katkıda bulunur. Özellikle hidroksil, süperoksit ve peroksinitrit radikallerini giderir. Lipid peroksidasyonunu önleyerek koruma görevi yapar (Waring, 2002).



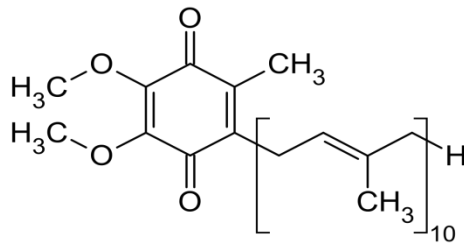
Şekil 2.5. Ürik Asit

Bilirubin: Bilirubin, hemoglobin ve hem proteinlerin enzimatik bozunmasından üretilen endojen bir antioksidandır. Dolaşımında, karaciğer tarafından işlenir, bir kısmı kan dolaşımına geri emilirken, geri kalan kısmı safra ve idrarla atılır. Biyolojik sistemlerde bilirubin, peroksil radikallerine karşı güçlü antioksidan özellikler gösterir (Hinds ve Stec, 2018).



Şekil 2.6. Bilirubin

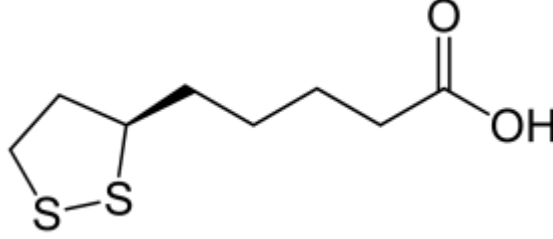
Keonzim Q10: Keonzim Q10, yan zincirinde 10 izoprenil birimine sahip olan ve adenozin trifosfat sentezi için mitokondriyal solunum zincirinin önemli bir bileşeni olan, lipitte çözünür bir benzokinondur. Keonzim Q10 güçlü bir lipofilik antioksidan görevi görerek reaktif oksijen türlerini temizler, lipidleri, proteini, hücresel DNA'yı korur ve plazmatik membranlarda elektron transferi gibi hayati hücresel metabolizmanın birçok adımında yer alır. Antioksidan işlevini doğrudan süperoksit radikalleri üzerinde veya dolaylı olarak hem tek başına hem de E vitamini ile işbirliği içinde yerine getirir (Sun ve ark., 1992; Liu ve ark., 2016).



Şekil 2.7. Keonzim Q10

α -Lipoik Asit: α -Lipoik asit, yağda çözünen, kükürt içeren, vitamin benzeri bir antioksidandır. Mitokondriyal dehidrojenaz reaksiyonlarında önemli bir rola sahiptir. α -Lipoik asit, serbest radikal temizleyici, glutatyon, C ve E vitaminleri gibi endojen

antioksidanları yenileme kapasitesi, metal şelatlama ve oksitlenmiş hasarın onarımı gibi dört farklı antioksidan özelliği göstermektedir (Packer ve ark., 1995).



Şekil 2.8. α-Lipoik Asit

Albumin: Karaciğer tarafından sentezlenen ve kanda en fazla bulunan protein (585 aminoasit içerir) türüdür. Albumin plazmadaki en önemli ve en etkili antioksidanlardan biridir. Antioksidan özelliği, ligand bağlama kapasitelerinden kaynaklanmaktadır. Albumin, vücudun ozmotik basıncın düzenlenmesi ve sıvının farklı bölmeler arasında dağılımında anahtar bir unsurdur. Ayrıca, metal iyonları, yağ asitleri, ilaçlar ve hormonlar gibi molekülleri bağlama yeteneğine sahiptir (Roche ve ark., 2008).

Selenyum: Selenyum, bir antioksidan olarak, insan vücudundaki gerekli eser elementlerden biridir. Selenoproteinlerin sentezini düzenleyerek önemli biyolojik fonksiyona sahiptir. Selenyum, GPx, tioredoksin redüktaz (TrxR) ve iyodotironin deiyodinazlar (IDD) gibi antioksidan enzimlerin önemli bir bileşeni olarak, hücrelerin süperoksit, hidrojen peroksit, hidroksil radikalleri, nitrik oksit ve peroksinitrit içeren reaktif oksijen türlerinden ve reaktif azot türlerinden oksidatif hasara karşı korunmasında önemli bir rol oynamaktadır (Tinggi, 2008).

Seruloplazmin: Seruloplazmin, 1046 amino asit dizili tek bir zincirden oluşan ve çok bakırlı oksidaz ailesinin bir üyesidir. Bu protein, serumun α-2 globulin fraksiyonunun bir glikoproteinidir ve plazmada bakırın %95'ini içerir. Antioksidan savunmada süperoksitlerin ve oksijen radikallerinin hücre dışı temizleyicisi olarak işlev görmektedir. Ayrıca, demir iyonlarını daha az toksik olan demir formuna oksitlemektedir (Kono, 2012).

Transferrin: Seruloplazmin gibi beyin dâhil birçok dokuda sentezlenir. Transferrin hücrelere Fe^{+3} taşınmasından sorumlu bir taşıyıcı proteindir ve serbest demir iyon konsantrasyonunu azaltarak antioksidan etki gösterir (Karabulut ve Gülay, 2016).

2.7.2. Eksojen Antioksidanlar

Eksojen antioksidanlar; ilaçlar, vitaminler ve gıda antioksidanlar olarak 3 grupta sınıflandırılabilirler. E vitamini (α -tokoferol), A vitamini (β -karoten), C vitamini (askorbik asit) ve B vitamini (folik asit) dışarıdan alınan vitamin kaynaklı eksojen antioksidanlardır.

α -tokoferol: E vitamini, antioksidan özelliklere sahip yağda çözünen vitaminler olan tokoferollar ve tokotrienoller ile ilgili sekiz farklı formun (α , β , γ , δ tokoferoller ve tokotrienoller) genel adıdır. Bunlardan en iyi bilineni α -tokoferoldur. α -tokoferol formunun lipitte çözünür antioksidan olduğu ve lipid peroksidasyon zincir reaksiyonunda üretilen lipid radikalleri ile reaksiyona girerek zarları oksidasyondan koruduğu bilinmektedir. Ayrıca, serbest radikal ara maddelerini giderir ve yayılma reaksiyonunun devam etmesini önler (Lobo ve ark., 2010).

β -karoten: Karotenoidler, bitkilerde yaygın şekilde bulunan reng pigmentleridir. Yaklaşık 600'den fazla karotenoid türü tanımlanmış ve en iyi bilineni yağda çözünen pro A vitamini öncüsü olan β -karotendir. Karotenoidlerde bulunan konjuge çift bağ yapısı, fotosentez sırasında ışığın emilmesi, enerji transferi ve ışığın fotosentez sırasında hücreler üzerindeki zararlı etkilerinden korunma gibi biyolojik fonksiyonları belirler. Ayrıca, β -karoten yapısında bulunan konjuge çift bağ sayesinde singlet oksijeni ve peroksil radikalleri gidererek antioksidan özellik gösterirler (Baysal ve Ersus, 1999).

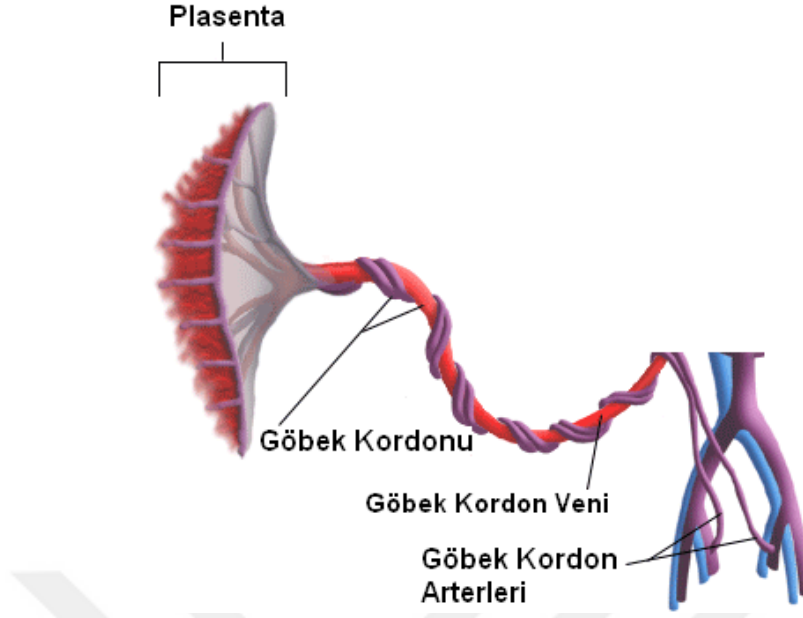
Askorbik Asit: C vitamini veya askorbik asit suda çözünebilen, hayvanlarda ve bitkilerde bulunan, antioksidan özelliklere sahip doğal olarak oluşan bir organik bileşiktir. Hücre bölünmesini ve büyümesini düzenleyen, sinyal transdüksiyonunda yer alır. Bağışıklık uyarımı, kollajen sentezi, hormonlar, nörotransmitterler ve demir emilimi gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde rolleri vardır. Ayrıca, ağır metallerin detoksifikasyonunda önemli rola sahiptir. Askorbik asit, hidrojen peroksit, hipoklorit, hidroksil, süperoksit, singlet oksijen ve peroksil radikallerini kolaylıkla temizleyerek

antioksidan görevi yapabilir hem de radikal bir promotör gibi davranabilir (Pehlivan, 2017).

Folik Asit: Folik asit suda çözünebilen, insan vücudunda sentezlenemeyen önemli bir B grubu vitamindir. Kimyasal yapı olarak PABA, pteridin ve glutamik asitten oluşmuştur. DNA sentezi, onarımı ve metilasyonunda folik asitin rolü iyi bilinmektedir. Ayrıca, nükleik asitlerin ve proteinlerin metabolizması ile ilgili reaksiyonları katalize etmektedir. Folik asidin serbest radikal süpürücü özellikleri ve olası antioksidan aktivitesi bildirilmiştir. Folik asit, birçok vücut fonksiyonu için, özellikle yeni hücreler yaratmada ve onları muhafaza etmede önemli rola sahiptir. Folik asit eksikliği, fetüste nöral tüp defektleri de dâhil olmak üzere kronik hastalıklara ve gelişim bozukluklarına yol açabilen metabolik anormalliklere neden olmaktadır (Joshi, 2001).

2.8. Göbek Kordonu

Gebelik boyunca anne ile fetus arasında bağlantıyı sağlayan göbek kordonu, (**Şekil 2.9.**); yaklaşık 40 g ağırlığında, ortalama 60-65 cm uzunluğunda ve 1,5 cm çapında, göbek kordon epiteli olarak adlandırılan tabakalar ile sarılı bir bağıdır. Dış kısmı amniyotik bir zarla çevrili olan göbek kordonu iki arter ve bir ven içerir. Göbek kordonunda kılcıl damar ve lenfatikler bulunmaz. Umbilikal damarların göbek bağından uzun olması nedeniyle saat yönünde sol spiral dönüşlüdür. Damarlar ve dış zar arasında Warton jeli adı verilen proteoglikan zengin özel embriyonik bağ dokusu bulunur. Warton jeli, göbek damarlarını burulma, sıkışma veya bükülmeye karşı koruyan, gömülü stromal hücrelerden oluşur. Böylece fetus ve plasenta arasında sabit bir kan akışı sağlar (Malgieri ve ark., 2010; Fan ve ark., 2011).



Şekil 2.9. İnsan göbek kordonu (Öztel, 2010).

2.9. Kordon Kanı Hücrelerinin Özellikleri

Göbek kordon kanı plasentada kalan kandır. İçerisinde normal kan hücrelerine ilaveten yoğun olarak hematopoietik kök hücreler, endotel progenitör hücreler, mezenkimal stromal hücreler, T düzenleyici hücreler, dendritik hücreler ve doğal öldürücü hücreler bulunmaktadır (Butler ve Menitove, 2011).

Kordon kanı pediatrik ve yetişkin hastalarda hematopoietik kök hücre nakli için alternatif bir greft kaynağı olarak tanınmaktadır. Kanseri, kan hastalıkları, immün yetmezlik ve konjenital metabolik bozukluklar da dâhil 80’den fazla hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (McKenna ve Sheth, 2011).

Nakillerde göbek kordon kanından elde edilen kök hücrelerin kemik iliği kök hücrelerine göre reddedilme olasılığı daha düşüktür. İmmünolojik olarak olgunlaşmamış olduğu düşünülen göbek kordon kanı kök hücreleri, önemli ölçüde daha az doğal öldürücü hücre üretir ve bu da reddedilmede önemli bir azalma sağlar. Sonuç olarak, kordon kanı kök hücreleri, kemik iliği kök hücrelerine göre nakiller için daha az titiz antijen doku eşleşmesi gerektirmektedir (Sullivan, 2008).

Yapılan elektron mikroskop çalışmalarında, kordon kanı hücrelerinin periferik kan hücrelerinden farklı morfolojik özellikler gösterdiği saptanmıştır. Kordon kanı, periferik kanda bulunamayan miyelosit evresi ve promiyelosit gibi immatür hücreler içermektedir. Ayrıca yonca yaprağı şekliyle kendini gösteren, defarmasyon sürecine girmiş, derin bir yarığa sahip çekirdekli bazı atipik lenfosit hücreler içermektedir. Ayrıca ekirdekiğe sahip çok sayıda immatür lenfosit hücrelerde bulunmaktadır. Kordon kanı, hematopoezin çok aktif olduğu duruma işaret eden eritroblastlar, mitokondri bulunduran retikülositler gibi olgunlaşmamış eritrositlerin kordon kanında çok sayıda olduğunu göstermektedir (Mikami ve ark., 2002).

Hem term hem de preterm kordon kanı, yetişkin kanından daha fazla öncül kök hücre içermekte ve bu özelliği ile bulundukları çevreye daha kolay uyum sağlamaktadır. Term kanınının içerdiği Granülosit/Makrofaj Progenitör (CFU-GM) ve Granülosit/Eritrosit/Monosit/Makrofaj Progenitör hücre (CFU-GEMM) sayı ve çoğalma hızlarının, yetişkin kanına göre çok daha fazla olduğu belirlenmiştir.

Yapılan kültür çalışmalarında, kordon kanı kök hücreleri kemik iliği kök hücrelerinden farklı özellikler göstermektedir. Kordon kanı kök hücrelerinin daha öncül yapıda olmasını sağlayan CD34+CD38- hücrelerin oranı kemik iliğine göre daha fazladır. Bu hücreler sitokin uyarılarında daha hızlı prolifer olmaktadırlar. Kordon kanı CD34+ hücreleri interlökin-11 (IL-11) ve Granülosit Koloni Uyarıcı Faktör (G-CSF) ile uyarılarak yapılan 14 günlük kültür sonucunda, kemik iliği CD34+ hücrelerine oranla 80 kat daha fazla çoğaldıkları görülmüştür. Uzun süreli kültürlerde ise CD34+CD38- hücrelerinin çoğalma oranı, kemik iliğine göre 7 kat daha fazladır. Bu durum kordon kanı kök hücreleri kemik iliği kök hücreleri ile kıyaslandığında daha uzun telomere, daha yüksek proliferasyon kapasitesine sahip olması, immun yapılanma yönünden henüz timus eğitimini tamamlamaması, başka bir insanda daha kolay uyum gösterme nitelikleriyle önemli avantajlara sahiptir (Mitchell ve ark., 1997).

2.10. Kordon Kanının Toplanması

Kordon kanı toplama işleminden önce aileye işlem ile ilgili bilgi verilmeli ve yazılı onay formu alınmalıdır. Kordon kanı alımı, doğumu yapan doktor ya da doğumda bulunan sağlık personeli tarafından yapılmaktadır. Bebek doğduktan hemen sonra göbek kordonunun ortasına klemp (mandal) takılır ve umbilikal venden iğne

aspirasyonu ile yaklaşık 90 ml civarında kordon kanı toplanarak, kan pıhtılaşmayı önleyici madde içeren özel torbaya alınır. Kordon kanı toplama işlemi, anne ve bebek bakımından acısız, risksiz ve yaklaşık 5 dakika süren bir işlemdir. Toplanan kanlar en geç 24-36 saat içinde laboratuvara ulaştırılmalıdır. Bu süre içerisinde +4°C’de muhafaza edilmek zorundadır ve kesinlikle derin dondurucuya konmamalıdır.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Tez çalışması, Giresun Üniversitesi, Tıp Fakültesi Araştırma Laboratuvarı ve Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü Öğrenci Laboratuvarında yapıldı.

3.1. Kit ve Kimyasallar

Bütil Hidroksi Toluen (BHT)	Tekkim210715298001
Dimetil Sülfoksit (DMSO)	Isolab 914.036.2500
Di-Sodyum Hidrojen Fosfat (Na_2HPO_4)	Isolab 969.096.1000
Etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)	Isolab 920.026.2501
Etilendiamin Tetra Asetik Asid (EDTA)	Sigma E5134
Glifosat	Sigma 44690-U
Glukoz ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$)	Isolab 927.013.1000
Magnezyum Sulfat (MgSO_4)	Isolab 946.016.1000
Potasyum Dihidrojen Fosfat (KH_2PO_4)	Isolab 960.066.1000
Potasyum Hidroksit (KOH)	Isolab 960.082.1000
Potasyum Klorür (KCl)	Isolab 960.036.1000
Sodyum Dihidrojen Fosfat (NaH_2PO_4)	Isolab 969.053.1000
Sodyum Hidroksit (NaOH)	Sigma-Aldrich 71690
Sodyum Klorür (NaCl)	Sigma-Life Science 71376
Tiyobarbütirik Asit (TBA)	Emsure1081800025
Total Antioksidan Kapasitesi (TAK) kiti	Rel Assay Diagnostics RL002
Total Oksidan Kapasitesi (TAK) kiti	Rel Assay Diagnostics RL002
Triklorasetik Asit (TCA)	Emsure1008070250

3.2. Cihazlar

Ayarlanabilir otomatik pipetler

(0,5-2 μL , 2-20 μL , 20-200 μL , 100-1000 μL)	Eppendorf
Buzdolabı (+ 4°C)	Arçelik 5231 NFY
Derin dondurucu (- 20°C)	Uğur UCF 410 SSL
Vorteks	Dragon Lab MX-F
Magnetis karıştırıcı	Daihan MSH-20A

Su banyosu	Wise Bath
pH metre	Jenco 6173KA
Etüv	Nüve FN 055
Hassas terazi	AND GX-600
Soğutmalı santrifüj	Hermle Z-326 K
Spektrofotometre	Shimadzu UV-1280

3.3. Verilerin Toplanması

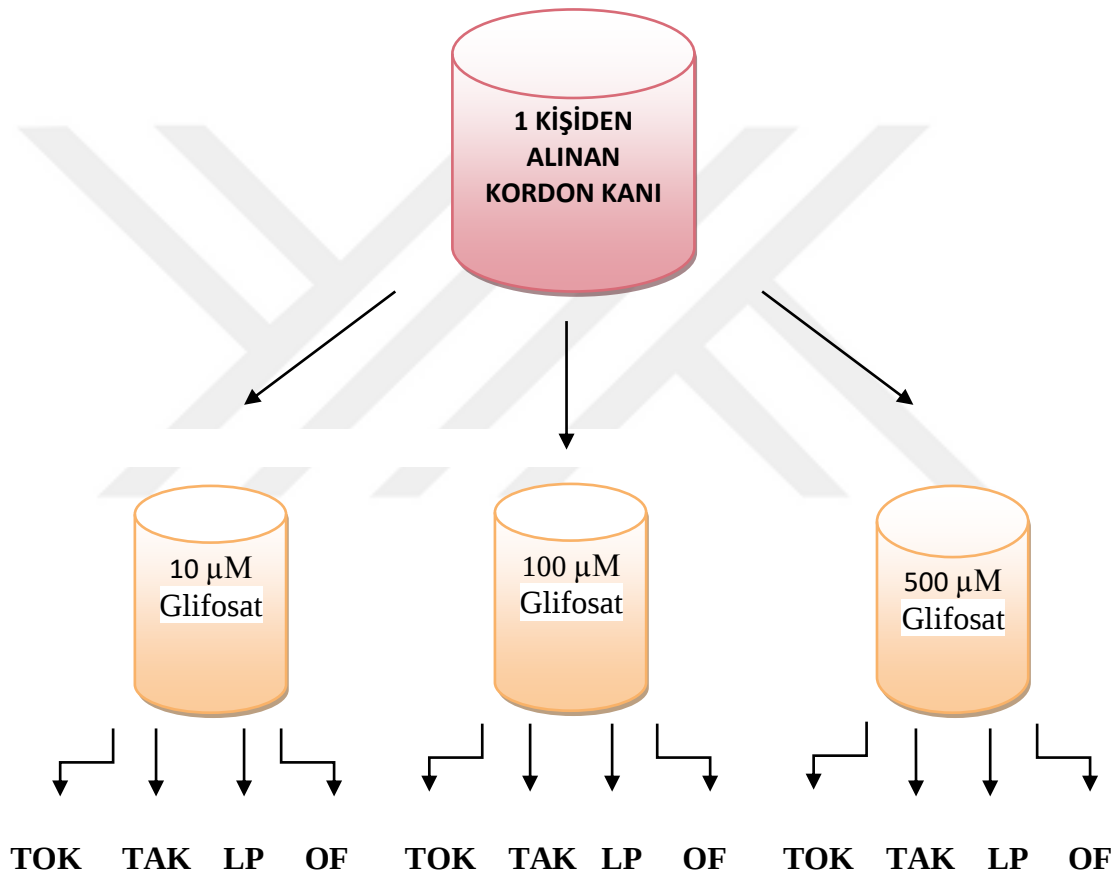
Araştırmanın etik onayı 07.11.2019/02 karar numaralı ve 17.11.2019 tarihli, Giresun Üniversitesi, Klinik Araştırmaları Etik Kurulu'ndan alındı. Adı geçen etik kurul belgesi Ek 1'de verilmiştir. Kordon kanları, Giresun Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi'nde Aralık 2019 - Temmuz 2020 döneminde doğum yapan gebeliğin üçüncü trimesterindeki sağlıklı, sigara içmeyen ve sezaryen doğum yapan 15 kadından toplandı. Anneler çalışma konusunda bilgilendirildi ve onam formu imzalatıldı. Çalışmaya katılan gebelerin sezaryen doğumdan sonra kordon kanı numuneleri kesilen göbek kordonunun plasenta tarafında kalan kısmından alındıktan sonrası hızlıca steril enjektör ile heparin içeren tüplere toplandı. 10 ml göbek kordon kanı elde edilerek, analize kadar 4°C'de bekletildi.

3.4. Eritrosit Hücre Paketlerinin Hazırlanması

Heparinli tüplere alınan kanlar, 5 dakika 4°C'de 3000 rpm'de santrifüj edildi. Plazma ve beyaz küre tabakası (Buffy coat) aspire edilip atıldı. Kırmızı kan hücreleri üç kez izotonik fosfat tamponlu salinle (PBS) yıkandı ve her yıkamadan sonra 5 dakika süreyle 1000 rpm'de santrifüjlendi. Her santrifüj sonrası süpernatant aspire edilerek atıldı. Son yıkamadan sonra, kırmızı kan hücreleri %24'lük hematokrit elde edilene kadar glukoz tamponunda süspanse edildi. (Glukoz tamponu: 2,2g NaCl, 0,08 g KCl, 0,28 gNa₂HPO₄.2H₂O, 0,048 g NaH₂PO₄, 0,03 g MgSO₄, 0,22 g glukoz son hacim 250 ml'ye tamamlanarak ve pH 7,4 ayarlanmıştır).

3.5. Numunelerin Analize Hazırlanması

Elde edilen 15 kadına ait eritrosit süspansiyonları kontrol ve 10 μ M, 100 μ M, 500 μ M glifosat ile muamele edilecek gruplar olmak üzere 4 eşit parçaya bölündü. Eritrosit süspansiyonlarına farklı konsantrasyonlarda (10, 100, 500 μ M) glifosat uygulandı ve 3 saat boyunca 37°C’de glikoz tamponunda inkübe edildi. Detaylı **Şekil 3.1**’de gösterilmiştir.



TOK: Total Oksidan Kapasitesi

TAK: Total Antioksidan Kapasitesi

LP: Lipit Peroksidasyonu

OF: Ozmotik Frajilite

Şekil 3.1. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan glifosatın ölçüme hazırlık diyagramı

3.6. Yapılan Analizler

3.6.1. Total Oksidan Kapasitesi

TOK Rel Assay marka ticari kiti (Rel Assay Kit Diagnostics, Türkiye) kullanılarak belirlendi (Erel, 2005). Numunede bulunan oksidanlar, demir içeren iyon-o-dianisidin komplekslerini demir iyonlarına oksitler. Oksidasyon reaksiyonu, reaksiyon ortamında bol miktarda bulunan gliserol molekülleri ile güçlendirilir. Ferrik iyonlar, asidik bir ortamda ksilenol turuncuyla renkli bir kompleks oluşturur. Bu nedenle, spektrofotometrik olarak ölçülen renk yoğunluğu, numunede bulunan oksidan moleküllerin toplam sayısı ile ilgilidir. Tahlil, hidrojen peroksit ile kalibre edilir ve sonuçlar, litre başına mikromolar hidrojen peroksit eşdeğeri ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eşdeğeri/L) cinsinden ifade edilir.

Deneyin Yapılışı:

Küvete Reagent 1'den 300 μl alınıp üzerine 45 μl örnek eklendi. 30 saniye bekletildikten sonra 530 nm dalga boyunda spektrofotometrede ilk absorbansları okutuldu. Aynı küvete 15 μl Reagent 2 eklendi ve 37°C'ye ayarlanan etüvde 5 dakika veya oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi. 530 nm dalga boyunda ikinci kez absorbanslar okutuldu. Aynı prosedürler standart için de yapılarak aşağıdaki formüle göre hesaplamalar yapıldı. Sonuçlar litre başına mikromolar hidrojen peroksit eşdeğeri ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eşdeğeri/L) cinsinden ifade edildi.

$$\text{TOK } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ eşdeğeri/L}) = \frac{\Delta\text{Abs Örnekle}}{\Delta\text{Abs Standart}} \times 10$$

$\Delta\text{Abs Örnekle} = \text{örneğin ikinci absorbansı} - \text{örneğin birinci absorbansı}$

$\Delta\text{Abs Standart} = \text{standartın ikinci absorbansı} - \text{standartın birinci absorbansı}$

Standartın konsantrasyonu = 10 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eşdeğeri/L

3.6.2. Total Antioksidan Kapasitesi

Toplam antioksidan durumu (TAK) Rel Assay marka ticari kiti (Rel Assay Kit Diagnostics, Türkiye) ile çalışıldı (Erel, 2004). Koyu mavi-yeşil renkli 2. 2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) radikalinin numunede bulunan

antioksidanlarla renksiz ABTS formuna indirgenmesine dayanmaktadır. Absorbans değışikliğı 660 nm’de ölçölür. Deney, kararlı bir antioksidan standart çözelti, E vitamini analogu – Trolox Eşdeğeri ile kalibre edilir. Sonuçlar µmol/L (µmol Trolox Eşdeğeri/L) olarak ifade edilir.

Deneyin Yapılışı:

Küvete, 400 µl Reagent 1’den alınıp üzerine 25 µl Standart 1 eklenerek Standart 1 hazırlandı. Yine 400 µl Reagent 1 küvete alınıp üzerine 25 µl Standart 2 eklenerek Standart 2 hazırlandı. Aynı işlemler örnek için de yapıldı. 400 µl Reagent 1 küvete konuldu ve üzerine 25 µl örnek eklendi. Karışımların başlangıç absorbansları 660 nm dalga boyunda spektrofotometrede okutuldu. Aynı küvetlere 62,5 µl Reagent 2 eklendi ve 37°C’ye ayarlanan etüvde 5 dakika veya oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi. 660 nm dalga boyunda ikinci kez absorbanslar okunup aşağıdaki formüle göre hesaplamalar yapıldı. Sonuçlar µmol/L (µmol Trolox Eşdeğeri / L) olarak ifade edildi.

$$\text{TAK } (\mu\text{mol Trolox Eşdeğeri / L}) = \frac{\Delta\text{Abs Std 1} - \Delta\text{Abs Örnek}}{\Delta\text{Abs Std 1} - \Delta\text{Abs Std 2}}$$

$$\Delta\text{Abs Std 1} = (\text{Std 1’in ikinci absorbansı} - \text{Std 1’in birinci absorbansı})$$

$$\Delta\text{Abs Std 2} = (\text{Std 2’nin ikinci absorbansı} - \text{Std 2’nin birinci absorbansı})$$

$$\Delta\text{Abs Örnek} = (\text{örneğin ikinci absorbansı} - \text{örneğin birinci absorbansı})$$

3.6.3. Oksidatif Stres İndeksi Hesaplaması

OSİ’nin hesaplanması için TAK’ın birimi µmol’e çevrildi. Daha sonra, OSİ (Arbitrary unit)=[(TOK µmol/L) / (TAK µmol/L)] x100 formülüne göre hesaplandı.

3.6.4. Lipid Peroksidasyonu

Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit analizi, Draper ve Hadley’in geliştirdiğı çift ısıtma yöntemi kullanılarak yapıldı. Yöntemin prensibi, tiyobarbitürik asidin (TBA) MDA ile reaksiyon sırasında oluşan rengin 532 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümde maksimum absorbans vermesi prensibine dayanmaktadır (Draper ve Hadley, 1990).

Ayırıştırıcılar:

- ✓ %10'luk trikloroasetik asit (TCA) çözeltisi: 10 g TCA, 100 ml distile suda eritildi.
- ✓ 0.05 N Sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisi: 1 g NaOH, 500 ml distile suda eritildi.
- ✓ %67'lik tiyobarbitürik asit çözeltisi: 0.67 g TBA 100 ml'ye 0,05 N NaOH ile tamamlandı.

Deneyin Yapılışı:

Deney tüplerine kan numunesinden 0,25 ml alınarak üzerine 1,25 ml %10'luk TCA çözeltisi eklendi ve kapakları kapatılarak karıştırıldı. Tüpler sıcak su banyosuna alınarak 95°C'de 15 dakika boyunca bekletildi. Daha sonra tüpler soğuk su bulunan kaba daldırılıp soğuması bekletildi. Bunu takiben tüpler, 4°C'ye ayarlanmış soğutmalı santrifüjde 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Sonrasında tüplerden, başka kapaklı deney tüplerine 1 ml süpernatant alındı ve üzerlerine 0,5 ml %67'lik TBA eklenip, tüplerin kapakları sıkıca kapatılarak vorteks yardımıyla karıştırıldı. Ardından yine ısıtma ve soğutma işlemi yapıldı. Son olarak da, örnekler küvete alınarak 532 nm dalga boyunda distile suya karşı absorpsiyon değeri okunarak, elde edilen değerler dilüsyon katsayısı ile çarpılmış ve nmol/ml biriminde MDA miktarı belirlenmiştir.

3.6.5. Ozmotik Frajlite Tayini

Eritrositlerin ozmotik frajlitesi Suess yöntemi kullanılarak değerlendirildi (Suess ve ark., 1954). Ozmotik frajlite yönteminin prensibi, sulu NaCl çözeltisi içeren bir dizi tüpe eşit miktarlarda ilave edilen kan numunelerinde oluşan hemolizin kolorimetrik yöntemle ölçülüp hesaplanmasına dayanmaktadır.

%10'luk NaCl Tamponunun Hazırlanması: 88 g NaCl, 14,2 g Na₂HPO₄ ve 2,5 g NaH₂PO₄ hassas terazide tartılarak bir miktar distile suda çözündürüldü 1 L'ye tamamlandı.

Farklı Konsantrasyonlarda NaCl Solüsyonunun Hazırlanması: %10' luk NaCl tamponu kullanılarak hazırlanan 14 farklı konsantrasyonlardaki NaCl solüsyonları **Tablo 3.1'de** gösterilmektedir.

Tablo 3.1. Farklı konsantrasyonlarda NaCl solüsyonunun hazırlanması

Tüp No	%10'luk NaCl (ml)	Distile Su (ml)	Konsantrasyon (%NaCl)
1	0	100	0
2	15	85	0,15
3	20	80	0,20
4	25	75	0,25
5	30	70	0,30
6	35	65	0,35
7	40	60	0,40
8	45	55	0,45
9	50	50	0,50
10	55	45	0,55
11	60	40	0,60
12	65	35	0,65
13	75	25	0,75
14	90	10	0,90

Deneyin Yapılışı:

Farklı konsantrasyonlarda glifosat uygulanmış kordon kanı 37°C'de 3 saat boyunca inkübe edildi. Çalışma basamakları aşağıda gösterilmektedir.

- ✓ 14 adet tüp alındı ve 1'den 14'e kadar numaralandırıldı.
- ✓ Hazırlanan tüplere NaCl solüsyonundan (**Tablo 3.1**'de NaCl solüsyonlarının hazırlanması gösterilmiştir) 2 ml konuldu.
- ✓ Üzerlerine 10 µl kan numunesi ilave edildi.
- ✓ Tüpler yavaşça sallanarak 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
- ✓ 30 dakikanın sonunda tüpler 10 dakika süre ile 1000 rpm'de santrifüj edildi.
- ✓ Santrifüjden sonra süpernatantlar dikkatlice cam küvet içine aktarıldı ve spektrofotometrede (Shimadzu 1601) 540 nm dalga boyunda absorbans okutuldu.
- ✓ Her numune için hemoliz yüzdesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı ve (%NaCl-% Hemoliz) grafiği oluşturuldu.

$$\text{Hemoliz yüzdesi} = \frac{\text{Test çözeltisinin optik yoğunluğu}}{\text{Standart çözeltinin optik yoğunluğu}} \times 100$$

İstatistiksel analizler

Çalışmada elde edilen bulguların analizi SPSS 22,0 (Statistical Package for Social Sciences) programı yardımıyla gerçekleştirildi. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile araştırıldı. Gaussian dağılım gösteren değişkenler ortalama $\pm$ SD olarak gösterildi. Dağılımı normal olan değişkenlerin gruplar arası karşılaştırmalarında one-way ANOVA analizi, post hoc karşılaştırmalarda Tukey HSD veya Tamhane's T2 testi kullanıldı. Dağılımı normal olmayan değişkenlerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal-Wallis H testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık $p<0.05$ (two-tailed-çift yönlü) düzeyinde değerlendirildi.



4. BULGULAR

İn vitro göbek kordon kanı eritrosit hücrelerine farklı konsantrasyonlarda (10, 100, 500 μ M) uygulanan glifosatın TOK, TAK, MDA ve OF'ye etkisi tespit edildi. Yapılan test sonuçları ve grafikleri **Tablo 4.1, 4.2, Şekil 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5**'de gösterilmiştir.

4.1. TOK, TAK, OSİ ve MDA Sonuçları

İn vitro kordon kanı eritrosit hücrelerine 10, 100, 500 μ M konsantrasyonlardaki glifosat maruziyeti sonrası konsantrasyon artışına bağlı olarak TOK, TAK, OSİ ve MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre karşılaştırma sonuçları **Tablo 4.1**'de gösterilmiştir.

TOK, OSİ ve MDA düzeylerinin gruplar arasında ileri düzeyde istatistiksel olarak anlamlı farklı olduğu, ancak TAK düzeylerinin gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık sergilemediği saptandı.

Çoklu karşılaştırma sonrası yapılan post hoc karşılaştırmalarla, TOK düzeyleri kontrol grubuna göre 10, 100, 500 μ M konsantrasyonlardaki glifosat gruplarının her birinde ve ek olarak 10 μ M ve 100 μ M konsantrasyon gruplarına göre 500 μ M konsantrasyon grubunda istatistiksel olarak anlamlı yüksek idi. Ancak TOK düzeyleri 10 μ M ve 100 μ M konsantrasyon gruplarında anlamlı farklı değildi (**Tablo 4.1**).

Çoklu karşılaştırma sonrası yapılan post hoc karşılaştırmalarla, OSI düzeyleri 500 μ M konsantrasyon grubunda kontrol ve 10 μ M konsantrasyon gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek idi. Ancak diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu (**Tablo 4.1**).

Çoklu karşılaştırma sonrası yapılan post hoc karşılaştırmalarla, MDA düzeyleri kontrol grubuna göre 10, 100, 500 μ M konsantrasyonlardaki glifosat gruplarının her birinde, 10 μ M ve 100 μ M konsantrasyon gruplarına göre 500 μ M konsantrasyon grubunda ve ek olarak 10 μ M konsantrasyon grubuna göre 100 μ M konsantrasyon grubunda istatistiksel olarak anlamlı yüksek idi (**Tablo 4.1**).

Tablo 4.1. Glifosatın *in vitro* kordon kanı eritrosit hücrelerindeki TOK, TAK, OSİ ve MDA düzeylerine etkisi

	GRUP _{KONTROL}	GRUP _{10 µM}	GRUP _{100 µM}	GRUP _{500 µM}	P
TOK (µmolH ₂ O ₂ Eq/L)	48,17±25,42	95,79±24,14 ^a	114,96±19,35 ^a	145,85±25,47 ^{a,b,c}	<0,0001
TAK (mmolTroloxEq/L)	0,49±0,21	0,58±0,26	0,46±0,21	0,44±0,22	= 0,349
OSİ (sabit birim)	0,121±0,079	0,191±0,086	0,329±0,227	0,542±0,607 ^{d,e}	= 0,005
MDA (nmol/mL)	0,064±0,007	0,075±0,005 ^d	0,082±0,006 ^{a,e}	0,090±0,007 ^{a,b,c}	<0,0001

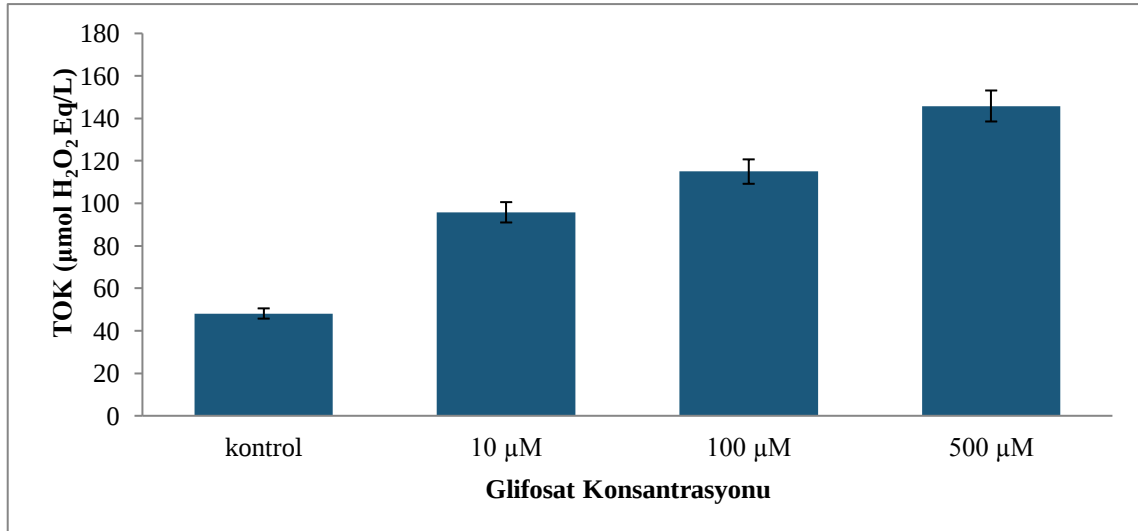
^aP<0,001, kontrol grubuna göre

^bP<0,0001, GRUP_{10 µM} grubuna göre

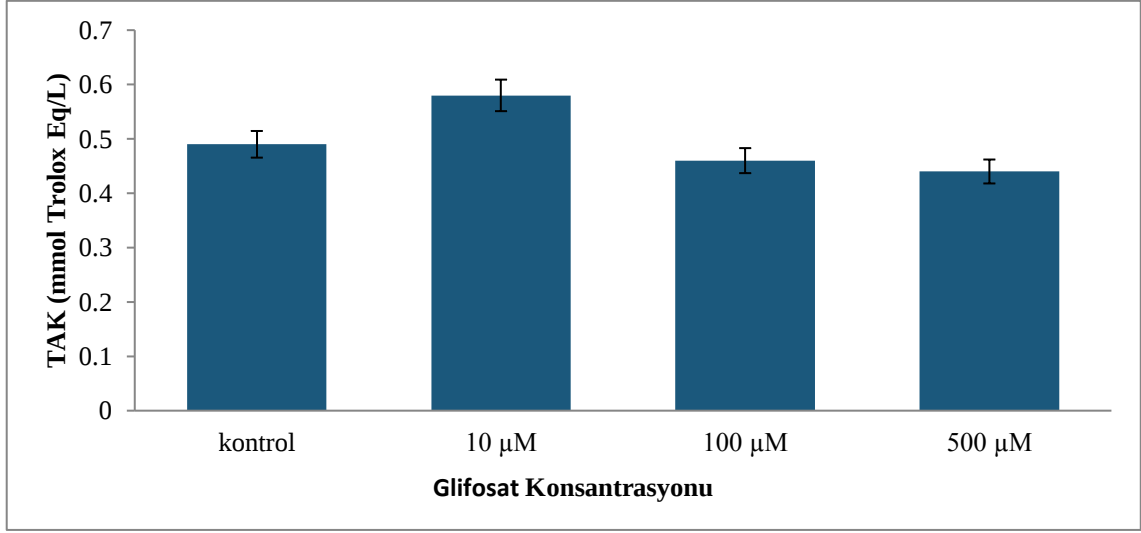
^cP<0,001, GRUP_{100 µM} grubuna göre

^dP<0,01, kontrol grubuna göre

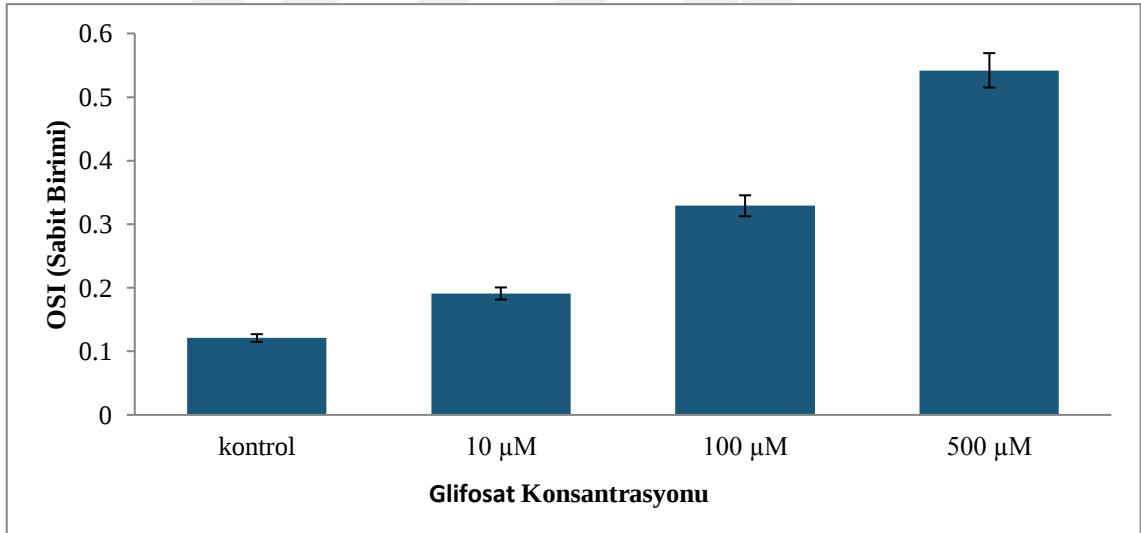
^eP<0,05, GRUP_{10 µM} grubuna göre



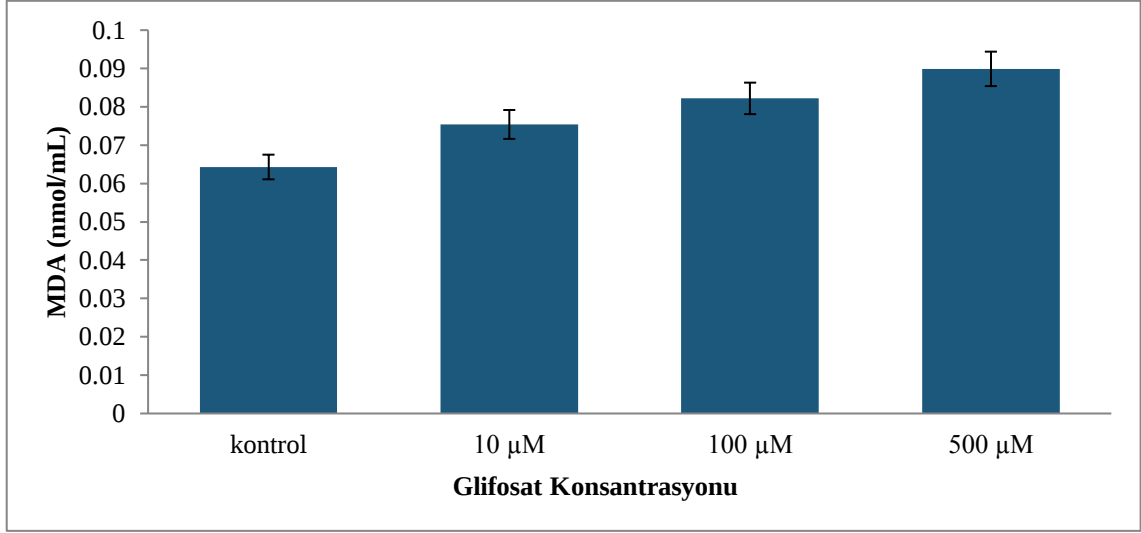
Şekil 4.1. Glifosatın *in vitro* kordon kanı eritrosit hücrelerindeki total oksidan kapasitesi



Şekil 4.2. Glifosatın *in vitro* kordon kanı eritrosit hücrelerindeki total antioksidan kapasitesi



Şekil 4.3. Glifosatın *in vitro* kordon kanı eritrosit hücrelerindeki oksidatif stres indeksi



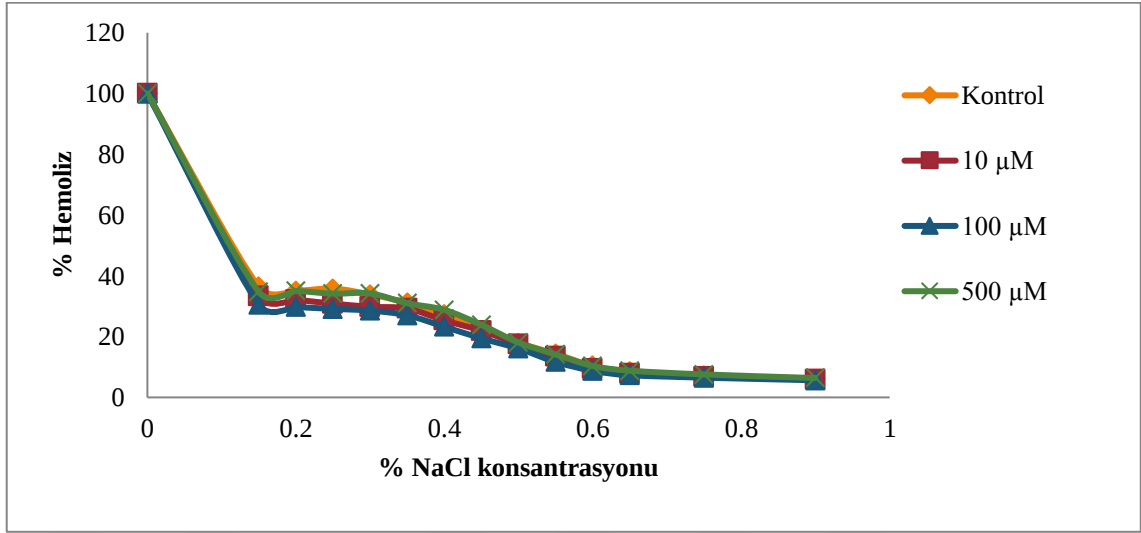
Şekil 4.4. Glifosatın *in vitro* kordon kanı eritrosit hücrelerindeki malondialdehit seviyeleri

4.2. Ozmotik Frajilite Sonuçları

İn vitro kordon kanı eritrosit hücrelerine 10, 100, 500 µM konsantrasyonlarda glifosat maruziyeti sonrası %0-0,9 arası NaCl yoğunluklarına tabi tutulan eritrositlerin %hemoliz miktarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişim olmadığı tespit edildi ($P>0.05$).

Tablo 4.2. Glifosatın *in vitro* kordon kanı eritrosit ozmotik frajilitesine etkisi

	GRUP _{KONTROL}	GRUP _{10 µM}	GRUP _{100 µM}	GRUP _{500 µM}	P
Ozmotik frajilite (%hemoliz)	0,3020±0,1182	0,2767±0,0715	0,2531±0,0627	0,2979±0,0798	P>0,05



Şekil 4.5. Glifosatın *in vitro* kordon kanı eritrosit ozmotik fragilite değerleri

5. TARTIŞMA

Geniş spektrumlu, non-selektif, sistemik etkili bir organofosforlu herbisit olan glifosat, genellikle tuzları ile formüle edilerek ve bitki membran geçirgenliğini arttırmak için yüzey aktif maddeler eklenerek piyasaya sürülmüştür. Glifosat yapısal olarak sadece bitkileri etkileyecek şekilde tasarlanmış olsada, yapılan araştırmalarda bal arıları gibi faydalı böcek türlerinin, solucanların, balıkların, kuşların ve bazı memelilerin de içinde bulunduğu hayvan popülasyonlarına zarar verdiği belirtilmektedir (Cox, 1995). Balıklarda toksik etkileri, balık türlerine ve duyarlılıklarına göre değişmekte olup glifosat formülasyonlarının saf glifosata göre 30 kata kadar daha toksik olduğu bilinmektedir (Servizi ve ark., 1987). İçeriğinde bulunan yardımcı maddeler glifosatın toksisitesini artırmakla birlikte herbisidal aktivitesini de değiştirebilmektedir (Sarıaltın ve Çoban, 2017). Yapılan bazı çalışmalarda glifosat kullanımı ile öldürülen bitkiler ile beslenen veya barınak için kullanan hayvanların olumsuz etkilendiği gösterilmiştir (Easton ve Martin, 2002).

CD-1 erkek fareler üzerinde yapılan bir çalışmada 2 yıl glifosata maruz bırakılmanın mikroskopik olarak karaciğer hipertrofisine ve nekrozuna neden olduğu gösterildi (Knezevich, 1983). Sprague Dawley sıçanları üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise 0-600 ppm seviyesinde glifosat maruziyetinin kronik bir etkisi gözlenmedi (Lankas, 1981). Buna karşın Sprague Dawley sıçanlarında daha yüksek doz glifosat maruziyetinin (0-20000 ppm) 2 yıl süre içerisinde uygulanması erkeklerde dejeneratif oküler lens değişikliği, karaciğer ağırlığında artış ve dişilerde vücut ağırlığında düşüşe neden olduğu rapor edilmiştir (Stout ve Ruecker, 1990). Farelerde yapılan başka bir çalışmada 2 hafta süre ile yüksek doz glifosat (roundup) uygulamasının karaciğer ağırlığında artış, lipid peroksidasyonu, alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz, alkalın fosfataz aktiviteleri, ürik asit, üre, nitrik oksit, tümör nekroz faktör (TNF- α), trigliserid ve kolesterol seviyelerinde artışa ve glutatyon seviyesinde azalmaya neden olmuştur (El-Shenawy, 2009).

Son zamanlarda yapılan laboratuvar ve epidemiyolojik çalışmalar, glifosatın insanlar üzerinde endokrin sistemi olumsuz yönde etkilemesi, hücre ölümü, DNA hasarı, kanser, doğum kusurları ve nörolojik bozukluklar gibi çeşitli sağlık problemlerine neden olduğu bildirilmektedir. İnsanlar glifosata hem tarımsal faaliyetler

ile hem de çevresel faktörlerle maruz kalabilirler. Bremen Tıbbi Laboratuvarlarının 2013 yılında yaptığı çalışmada 18 farklı Avrupa ülkesinden 182 idrar örneğinde %44 oranında glifosat kalıntıları belgelenmiştir (MLHB, 2013). Başka bir çalışmada ise glifosat uygulanan arazilerdeki çiftçilerin idrarında %60 oranında kalıntı bulunmuştur (Acquavella ve ark.,2004). Glifosatın insan lenfositlerinde kromozomal sapma, mikronükleus frekanslarında ve nükleoplazmik köprülerde artışa neden olduğu bildirilmiştir (santavito ve ark., 2018). Ayrıca glifosatın insan periferik kan mononükleer hücrelerinde DNA'nın tek ve çift iplik kopmasını indüklediği ve pürin-pirimidin oksidasyonuna neden olduğu gösterilmiştir (Wozniak ve ark., 2018).

Glifosatın kordon kanı eritrosit hücreleri üzerine toksisitesine ilişkin çalışmalar oldukça sınırlı olup, özellikle *in vitro* kordon kanı eritrosit hücrelerine etkisine dair araştırma literatürde bulunmamaktadır. Yapılan bu tez çalışmasında 10, 100, 500 μ M konsantrasyonlardaki glifosatın *in vitro* kordon kanı eritrosit hücrelerine maruziyetinin oksidatif stres parametreleri üzerine etkilerini incelemek için, TOK, lipid peroksidasyonu, TAK ölçümleri ve osmotik fragilite değerlendirmeleri yapıldı. *İn vitro* kordon kanı eritrosit hücrelerine glifosat maruziyetinin, konsantrasyon artışına bağlı olarak TOK düzeylerini kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede arttırdığı bulundu. Yapılan bir çalışmada, klorpirifos ve asetamiprid pestisitlerinin maruziyeti sonucu kordon kanı eritrosit hücrelerinde ROS üretiminin arttığı, antioksidan enzim aktivitelerinde ise azalma olduğu tespit edilmiştir. Pestisitler tarafından tetiklenen ROS artışının, ROS'un bir yan ürün olarak üretilmesi durumunda, ksenobiyotik metabolizmasının (sitokrom P450'lerin) bir sonucu olabileceği varsayılmıştır. Ek olarak, ROS artışı antioksidan homeostaz değişikliklerine yol açarak antioksidan tükenmesine neden olabilir (Quintana ve ark., 2018). Organofosfor pestisitler de dâhil olmak üzere birçok pestisit, insan ve hayvan modellerinde oksidatif stresin indüklenmesi ile ilişkilendirilmiştir. Oksidan dengedeki değişiklikler, örneğin reaktif türlerde artış, radikal süpürme sisteminde bir azalma veya her ikisi de eritrosit bütünlüğünü etkileyebilir. Oksidatif stres aynı zamanda membran stabilitesindeki azalmayla ilişkili önemli bir faktördür (Paraiso ve ark., 2014). Uchendu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada yüksek konsantrasyonlarda uygulanan organofosforlu pestisitlerin, eritrosit ozmotik fragilitesinde redoks dengesini etkilediği bildirilmiştir (Uchendu ve ark., 2014). Yapılan bu tez çalışmasında kordon kanı eritrositlerindeki

oksidatif stresin doza bağılı olarak yükseldiği tespit edilmiş olup, literatürdeki diğer pestisitlerin reaktif oksijen türlerini tetikleyerek oksidatif stresi artırdığına dair sonuçlarıyla uyumludur.

İn vitro kordon kanı eritrosit hücrelerine 10, 100, 500 μ M konsantrasyonlarda uygulanan glifosat, TAK düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik göstermedi. Yapılan bazı çalışmalarda pestisitler tarafından oluşan toksik etkilerin, reaktif oksijen türlerinin yüksek miktarda üretimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Gultekin ve ark., 2000). Serbest radikallerin ve ROS üretiminin artması ve antioksidan savunmanın azalmasından kaynaklanan oksidatif stres, biyolojik makromoleküllerin hasar görmesine, normal metabolizma ve fizyolojinin bozulmasına yol açmaktadır (Deeba ve ark., 2017). Bununla birlikte, çok az çalışma, kordon kanı eritrositlerinin pestisit toksisitesine duyarlılığını analiz etmektedir. Bizim çalışmamızda düşük doz glifosat maruziyetinin *in vitro* kordon kanı eritrosit hücrelerinde toplam antioksidan dengesini etkilemediğini tespit edilmektedir. *İn vitro* kordon kanı eritrosit hücrelerine sadece 3 saat süre ile glifosat uygulaması yapıldığından, hücrelerdeki antioksidan dengesini etkileyecek güce sahip olamadığı düşünülebilir. Çalışmamıza paralel olarak Quintana ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada klorpirifos ve asetamiprid pestisitlerinin (4, 40 ve 400 nM) *in vitro* eritrosit kordon kanı hücrelerindeki katalaz aktivitesini düşürdüğü ve SOD aktivitesini ise değiştirmedikleri gösterilmiştir (Quintana ve ark., 2018).

İn vitro kordon kanı eritrosit hücrelerine glifosat (10, 100, 500 μ M) maruziyeti sonrası konsantrasyon artışına bağılı olarak eritrosit MDA düzeyinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış tespit edildi. MDA seviyesinin yükselmesi lipid peroksidasyonunun arttığını göstermektedir. Membran lipidleri, hücresel bütünlüğün korunması ve hayatta kalması için hayati öneme sahiptir (Jain ve ark., 1989). Her ne kadar kordon kanı eritrosit hücreleri, hücre içi oksidatif strese karşı savunma yapmak için çeşitli biyolojik mekanizmalarla iyi bir şekilde donatılmış olsa da, toksik kimyasallar ve çevresel kirleticiler nedeniyle oksidatif olarak zarar görebilirler. MDA, peroksidize çoklu doymamış yağ asitlerinin önemli bir oksidatif ürünüdür ve MDA konsantrasyonunun yükselmesi lipid peroksidasyonunun bir göstergesidir (Freeman ve Crapo, 1981). Bu tez çalışmasında glifosatın lipid peroksidasyonu yoluyla eritrosit hücrelerinin biyokimyasal ve fizyolojik işlevlerini bozabileceği gösterildi. Daha önce

yapılan bir araştırmada organofosforlu pestisit olan bromfenvinfos'un 250µM ve 500µM konsantrasyonlarda eritrosit hücrelerinde lipid peroksidasyonuna neden olduğu, insan eritrosit hücrelerinde önemli oksidatif değişiklikler gösterdiği bildirilmiştir (Sosnowska ve ark., 2015).

In vitro kordon kanı eritrosit hücrelerine 10, 100, 500 µM konsantrasyonlarda glifosat maruziyeti sonrası %0-90 arası NaCl yoğunluklarına tabi tutulan eritrositlerin % hemoliz miktarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişiklik olmadığı tespit edildi. OF testi eritrositlerin hipotonik ortamlarda ozmotik strese karşı direncini yani eritrositlerin dayanıklılığını ölçmeye yarayan bir yöntemdir. Eritrositlerin yüzey alanı-hacim ilişkisini değerlendirir. Yüzey alanının hacime oranı azalmışsa ozmotik frajilite artmış, hipotonik solüsyonlara direnç azalmıştır. Eritrosit membranının lipid içeriği membran geçirgenliğini etkiler. Membran geçirgenliğinin artışı ozmotik direnci azaltır. Diğer bir deyişle ozmotik frajiliteyi artırır (Seymen, 1990). Çalışmamızda kordon kanı eritrosit hücrelerine uygulanan farklı konsantrasyonlarda glifosatin, kontrol grubuna göre eritrosit ozmotik frajilitesinde bir farklılık kaydedilmedi. Bununla birlikte, analiz edilen konsantrasyonların dozunun eritrosit ozmotik frajilitesini değiştirmek için yeterli olmadığını düşündürmektedir.

Kordon kanı ve yetişkin kırmızı kan hücrelerinin ozmotik frajilitesi hakkında çelişkili raporlar vardır. Yapılan bir araştırmada kordon kanı eritrosit hücrelerinin yetişkin kırmızı kan hücrelerine göre hemolize daha dirençli olduğu ve kordon kanında ozmotik olarak dirençli hücrelerin bir alt popülasyonunun varlığı vurgulanmaktadır (Bautista ve ark.,2003). Ayrıca, kordon kanı eritrositleri yetişkin eritrositlerinden membran kompozisyonu, biyofiziksel özellikler, hemoglobin yapısı, metabolizması ve enzimatik görünüş bakımından farklılık gösteren hücrelerdir. En önemli fizyolojik farklılıkları ise kordon kanı eritrositlerinde fetal hemoglobinin yüksek konsantrasyonda olmasıdır. Bu özellik yetişkin eritrositlerinde yoktur (normal yetişkin fetal hemoglobini HbF < %1). HbF yetişkin hemoglobinle kıyaslandığında, daha yüksek derecede oksijene afinite gösterir. Bu da HbF'nin oksijene daha kolay bağlanmasını sağlar. Zira ilaç kullanımının potansiyel olarak insan sağlığına olumsuz etkileri bilinmektedir. Ayrıca gebelik sırasında pestisit maruziyetinin maternal ve fetal hassasiyetden dolayı önemli bir halk sağlığı problemi ortaya çıkartabileceğine dair görüşler bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada, yoğun pestisit uygulaması olan bölgelerde yaşayan gebe kadınların,

pestisit maruziyetinin kordon kanı eritrosit hücrelerinde ozmotik fragilite ve plazma zarındaki lipid peroksidatif değışiklikleri arttırdığı gösterilmiştir. Ayrıca, azalan antioksidan savunma kapasitesinin, lipidler, proteinler, DNA dahil olmak üzere diğer hücre bileşenleri için bir risk faktörü olduğunu göstermektedir (Quintana ve ark., 2017).



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, bu çalışma, organofosforlu herbisit olan glifosatın kordon kanı eritrosit hücrelerinde lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit ve total oksidan kapasitesinin arttırma yeteneğini göstermektedir. Fakat eritrosit ozmotik frajilitesi ve total antioksidan kapasitesinde anlamlı bir değişiklik kaydedilmedi.

Pestisit maruziyeti ile kronik hastalıklar arasındaki nedensel ilişkileri doğrulamak için ileriye dönük çalışmalara ihtiyaç vardır. Ek olarak, pestisitlerin uygulama ve maruziyet özelliklerini dikkate almak ve önceki pestisit maruziyetlerini tam olarak yeniden üretmek gereklidir. Dahası, istatistiksel gücü sağlamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Pestisit maruziyeti ölçümlerinde ve sağlık üzerindeki etkilerinin ölçümlerinde yanlış sınıflandırma yanlışlıklarını azaltmak için biyobelirteçlerin doğru bir şekilde ölçülmesi gerekir.

Pestisit kullanımı çiftçiler ve genel olarak nüfus için kontrol altına alınmalıdır. Ek olarak, pestisitlere erişimi sıkı bir şekilde kontrol etmek, kullanımlarını en aza indirmek ve yüksek derecede toksik pestisitleri düşük toksisiteli olanlarla değiştirmek gerekmektedir. Bunun yanında halk sağlığı açısından, özellikle de gebe ve fetüs sağlığı dikkate alınarak pestisit kullanımı sınırlandırılmalıdır.

8. KAYNAKLAR

- Acquavella, J.F., Alexander, B.H., Mandel, J.S., Gustin, C., Baker, B., Chapman, P. (2004). Glyphosate biomonitoring for farmers and their families: results from the Farm Family Exposure Study. *Environ Health Perspect.* **112** (3), 321-326.
- Alavanja, M.C., Sandler, D.P., McMaster, S.B., Zahm, S.H., McDonnell, C.J., Lynch, C.F., Pennybacker, M., Rothman, N., Döşemeci, M., Bond, A.E., Blair. (1996). The Agricultural Health Study. *Environ Health Perspect.* **104** (4), 362-9.
- Al-Gubory, K.H., Fowler, P.A., Garrel, C. (2010). Thre roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* **42**, 1634-1650.
- Aly, H.F., Rizk, M.Z. (2018). Melatonin and Its Indisputable Effects on the Health State. <https://www.intechopen.com/books/melatonin-molecular-biology-clinical-and-pharmaceutical-approaches/melatonin-and-its-indisputable-effects-on-the-health-state> (Erişim tarihi 25 Şubat 2020).
- Arbuckle, T.E., Lin, Z., Mery, L.S. (2001). An exploratory analysis of the effect of pesticide exposure on the risk spontaneous abortion in an Ontario farm population. *Environ Health Perspect.* **109** (8), 851-857.
- Barr, D.B., Ananth, C.V., Yan, X., Lashley, S., Smulian, J.C., Ledoux, T.A., Hore, P., Robson, M.G. (2010). Pesticide concentrations in maternal and umbilical cord sera and their relation to birth outcomes in a population of pregnant women newborns in New Jersey. *Sci. Total. Environ.* **408**, 790-795.
- Bautista, M.L., Altaf, W., Lall, R., Wapnir, R.A. (2003). Cord blood red cell osmotic fragility: a comparison between preterm and full-term newborn infants. *Early Hum Dev.* **72** (1), 37-46.
- Baysal, T., Ersus. S. (1999). Karotenoidler ve İnsan Sağlığı. *GIDA.* **24** (3), 177-185.
- Benbrook C.M. (2016). Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. *Environmental sciences Europe*, **28** (1), 3.
- Butler, M.G., Menitove, J.E. (2011). Umbilical cord blood banking: an update. *J Assist Reprod Genet.* **28** (8), 669-676.
- Cardinali, D.P., Pagano, E.S., Scacchi Bernasconi, P.A., Reynoso, R., Scacchi, P. (2013). Melatonin and mitochondrial dysfunction in the central nervous system. *Hormones and Behavior.* **63** (2), 322-330.
- Cattaneo, R., Clasen, B., Loro, V.L., Menezes, C.C., Pretto, A., Baldisserotto, B., Santi, A, Avila L.A. (2011). Toxicological responses of Cyprinus carpio exposed to a commercial formulation containing glyphosate. *Bull Environ Contam Toxicol.* **87** (6), 597-602.
- Chelikani, P., Fita, I., Loewen, P.C. (2004). Diversity of structures and properties among catalases. *Cell Mol Life Sci.* **61** (2), 192-208.

- Chrutek, A., Iwan, I.H., Dziembowska, I., Bogusiewicz, J., Wroblewski, M., Cwynar, A., Slonina, D.O. (2018). Current Research on the Safety of Pyrethroids Used as Insecticides. *Medicina (Kaunas)*. **54** (4), 61.
- Cox, C. (1995). Glyphosate, Part 2: Human Exposure and Ecological Effects. *Journal of Pesticide Reform*. **15**, 14-20.
- Davies, K.J. (2000). Oxidative stress, antioxidant defenses and damage removal, repair and replacement systems. *IUBMB Life*. **50**, 279-289.
- Deeba, F., Raza, I., Muhammad, N., Rahman, H., Rehman, Z., Azizullah, A., Daud, M. (2017). Chlorpyrifos and lambda cyhalothrin-induced oxidative stress in human erythrocytes: in vitro studies. *Toxicol. Ind. Health*. **33**, 297-307.
- Draper, H.H., Hadley, M. (1990). Malondialdehyde determinations as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol*. **186**, 421-430.
- Duke, S.O., Powles, S.B. (2008). Glyphosate: A once-in-a-century herbicide. *Past Manag Sci*. **64**, 319-325.
- Duke, S.O., Powles, S.B. (2009). Glyphosate-Resistant Crops and Weeds: now and in the future. *AgBioforum*. **12** (3,4), 346-357.
- Easton, W.E., Martin, K. (2002). Effect of thinning and herbicide treatments on nest-site selection by songbirds in young managed forests. *The Auk*. **119**, 685-694.
- Edwards, F.L., Tchounwou, P.B. (2005). Environmental toxicology and health effects associated with methyl parathion exposure - A scientific review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. **2**, 430-441.
- El-Shenawy, N.S. (2009). Oxidative stress responses of rats exposed to Roundup and its active ingredient glyphosate. *Environ. Toxicol. Pharmacol*. **28**, 379-385.
- Engwa, G. A. (2018). Free Radicals and the Role of Plant Phytochemicals as Antioxidants Against Oxidative Stress-Related Diseases. In *Phytochemicals - Source of Antioxidants and Role in Disease Prevention*. InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.76719> (Erişim tarihi 20 Ocak 2020)
- Erdoğan, B.Y. (2010). The Health and Environmental Effects Of The Pesticides Commonly Used In Samsun. *Alinteri Journal of Agriculture Science*. **19** (2), 28-35.
- Erel, O. (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem*. **37** (4), 277-285.
- Erel, O. (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*. **38** (12), 1103-1111.
- Fagan, R.L., Palfey, B.A. (2010). 7.03- Flavin-dependent enzymes. Liu, W.B., Mander, L. (Eds), *Comprehensive natural productsII*. **7**, 37-113. Oxford: Elsevier.

- Fan, C.G., Zhang, Q.J., Zhou, J.R. (2011). Therapeutic Potentials of Mesenchymal Stem Cells Derived from Human Umbilical Cord. *Stem Cell Rev and Rep.* **7** (1), 195-207.
- Freeman, B.A., Crapo, J.D. (1981). Hyperoxia increases oxygen radical production in rat lung and lung mitochondrial. *J. Biol. Chem.* **256**, 10986-10992.
- Frie, B., Stocker, R., Ames, B.N. (1988). Antioxidant defences and lipid peroxidation in human blood plasma. *Proc Natl Acad Sci.* **37**, 569-571.
- Fukuto, T.R. (1990). Mechanism of Action of Organophosphorus and Carbamate Insecticides. *Environmental Health Perspectives.* **87**, 245-254.
- Genuis, S. J., Lane, K., & Birkholz, D. (2016). Human Elimination of Organochlorine Pesticides: Blood, Urine, and Sweat Study. *BioMed research international.* **2016**, 1624643. <https://doi.org/10.1155/2016/1624643>
- Grisolia, C.K. (2002). A comparison between Mouse and fish micronucleus test using cyclophosphamide mitomycin C and various pesticides. *Mutat Res.* **518**, 145-150.
- Gültekin, F., Öztürk, M., Akdoğan, M. (2000). The effect of organophosphate insecticide chlorpyrifos-ethyl on lipid peroxidation and antioxidant enzymes (*in vitro*). *Arch. Toxicol.* **74**, 533-538.
- Hinds, T.D., Stec, D.E. (2018). Bilirubin, a Cardiometabolic Signaling Molecule. *Hypertension.* **72** (4), 788-795.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). (2015). Some Organophosphate Insecticides and Herbicides: Diazinon, Glyphosate, Malathion, Parathion, and Tetrachlorvinphos. Vol **112**. Lyon, Fransa.
- Jain, S.K., McVie, R., Duett, J., Herbst, J.J. (1989). Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycolylated hemoglobin in diabetes. *Diabetes.* **38**, 1539-1543.
- Jayaraj, R., Megha, P., Sreedev, P. (2016). Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment. *Interdiscip Toxicol.* **9** (3,4), 90-100.
- Jayasumana, C., Gunatilake, S., Senanayake, P. (2014). Glyphosate, Hard Water and Nephrotoxic Metals: Are They the Culprits Behind the Epidemic of Chronic Kidney Disease of Unknown Etiology in Sri Lanka? *Int. J. Environ. Res. Public Health.* **11**, 2125-2147.
- Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues (JMPR). (2004). Pesticide residues in food. http://www.who.int/ipcs/publications/jmpr/draft_jmpr_2004_monograph.pdf (Erişim tarihi 10 Şubat 2020)
- Joshi, R., Adhikari, S., Patro, B.S., Chattopadhyay, S., Mukherjee, T. (2001). Radical Scavenging Behavior of Folic Acid: Evidence for Possible Antioxidant Activity. *Free Radical Biology and Medicine.* **30** (12), 1390-1399.
- Karabulut, H., Gülay, M.Ş. (2016). Antioksidanlar. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Dergisi.* **1** (1), 65-76.

- Knezevich, A.L. ve G. Hogan.(1983). A Chronic Feeding Study of Glyphosate (Roundup Technical) in Mice. *Unpublished report, Bio/Dynamics, Inc.* East Millstone, NJ.
- Kono, S. (2012). Aceruloplasminemia. *Current Drug Targets.* **13 (9)**, 1190-1199
- Kumar, S., Trivedi, P.K. (2018). Glutathione S-Transferases: Role in Combating Abiotic Stresses Including Arsenic Detoxification in Plants. *Front. Plant. Sci.* **9**, 751.
- Kurutaş, E.B., Kılınç, M. (2003). Pestisitlerin Biyolojik Sistemler Üzerine Etkisi. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi.* **12 (3)**, 215
- Laerke, P.E. (1995). Foliar absorption of some glyphosate formulation and their efficacy on plants. *Pesticide Science.* **44**, 107-116.
- Lankas, G.R. (1981). A Lifetime Feeding Study of Glyphosate (Roundup Technical) in Rats. *Unpublished report, Bio/Dynamics, Inc.,* East Millstone, NJ.
- Liu, H.T., Huang, Y.C., Cheng, S.B., Huang, Y.T., Lin, P.T. (2016). Effects of coenzyme Q10 supplementation on antioxidant capacity and inflammation in hepatocellular carcinoma patients after surgery: a randomized, placebo-controlled trial. *Nutrition Journal.* **15 (1)**, 85.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Review.* **4 (8)**, 118-126
- Maeda, H., Dudareva, N. 2012. The Shikimate Patway and Aromatic Amino Acid Biosynthesis in Plants. *Annual Review of Plant Biology.* **63**, 73-105.
- Malatesta, M., Perdoni, F., Santin, G., Battistelli, S., Muller, S., Biggiogera, M. (2008). Hepatoma tissue culture (HTC) cells as a model for investigating the effects of low concentrations of herbicide on cell structure and function. *Toxicol In Vitro.* **22**, 1853-1860.
- Malgieri, A., Kantzari, E., Patrizi, M.P, Gambardella, S. (2010). Bone marrow and umbilical cord blood human mesenchymal stem cells: state of the art. *Int J Clin Exp Med.* **3 (4)**, 248-269.
- Mates, J.M. (2000). Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology.* **153**, 83-104.
- McKenna, D., Sheth, J. (2011). Umbilical cord blood: Current status and promise for the future. *Indian J Med Res.* **134 (3)**, 261-269.
- Mengüç, Ç. (2018). Herbisit Toksisitesi ve Yabancı Otlara Karşı Alternatif Mücadele Stratejileri. *Turkish Journal of Weed Science.* **21 (1)**, 61-73.
- Mikami, T., Equchi, M., Kurosawa, H., Sato, Y., Suqita, K., Suzumura, H., Tadokoro, N., Inaba, N. (2002). Ultrastructural and cytochemical characterization of human cord blood cells. *Medical Electron Microscopy.* **35 (2)**, 96-101.

- Mitchell, S.C., John, E., Wagner. (1997). Placental and/or Umbilical Cord Blood: An Alternative Source of Hematopoietic Stem Cells for Transplantation. *Blood*. **90** (12), 4665-4678.
- MLHB. (2013). Determination of Glyphosate residues in human urine samples from 18 European countries. *Medical Laboratory Bremen, Haferwende*. **12**, 28357 Bremen, Almanya.
- Moussa, Z., Judeh, Z.M.A., Ahmed, S.A. (2019). Nonenzymatic Exogenous and Endogenous Antioxidants. IntechOpen, DOI:10.5772/intechopen.87778.
- Myers, J.P., Antoniou, M.N., Blumberg, B., Carroll, L., Colborn, T., Everett, L.G., Hansen, M., Landrigan, P.J., Lanphear, B.P., Mesnage, R., Vandenberg, L.N., Saal, F.S., Welshons, W.V., Benbrook, C.M. (2016). Concerns over use of glyphosate-based herbicides and risks associated with exposures: a consensus statement. *Environ Health*. **15**, 19.
- Olorunsogo, O.O., Bababunmi, E.A., Bassir, O. (1979). Effect of glyphosate on rat liver mitochondria *in vivo*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*. **22**, 357-364.
- Öğreten, A. (2017). Pestisitler. Zirai Mucadele Araştırma İstasyonu Müdürlüğü/Diyarbakır. <https://docplayer.biz.tr/48846374-Pestisitler-ayhan-ogreten-nisan-zirai-mucadele-arastirma-istasyonu-mudurlugu-diyarbakir.html> (Erişim tarihi: 12 şubat 2020).
- Öznel, O.N. (2010). *İnsan göbek kordon kanı ve periferik kan kaynaklı mezenkimal kök hücrelerinin in vitro kültür ortamına adaptasyonuna etki eden faktörlerin incelenmesi*. Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- Pacanoski, Z. (2017). Introductory Chapter: Actual Issues (Moments) in Herbicide Resistance Weeds and Crops. Herbicide Resistance in Weeds and Crops. <https://www.intechopen.com/books/herbicide-resistance-in-weeds-and-crops/introductory-chapter-actual-issues-moments-in-herbicide-resistance-weeds-and-crops>. (Erişim tarihi: 12 mart 2020).
- Packer, L., Witt, E.H., Tritschler, H.J. (1995). Alpha-Lipoic acid a biological antioxidant. *Free Radic Bio Med*. **19** (2), 227-250.
- Paganelli, A., Gnazzo, V., Acosta, H., Lopez, S.L., Carrasco, A.E. (2010). Glyphosate-based herbicides produce teratogenic effects on vertebrates by impairing retinoic acid signaling. *Chem Res Toxicol*. **23** (10), 1586-1595.
- Paraíso, L.F., de Freitas M.V., Goncalves EOAF., de Almeida Neto OP., Pereira, E.A., Mascarenhas Netto, R.C., et al. (2014). Influence of acute exercise on the osmotic stability of the human erythrocyte membrane. *Int. Sport Med*. **35** (13), 1072-1077.
- Parvez, S., Gerona, R.R., Proctor, C., Friesen, M., Ashby, J.L., Reiter, J.L., Lui, Z., Winchester, P.D. (2018). Glyphosate exposure in pregnancy and shortened gestational length: a prospective Indiana birth cohort study. *Environ Health*. **17** (1), 23

- Pehlivan, F.E. (2017). Vitamin C: An Antioxidant Agent. IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.69660.<https://www.intechopen.com/books/vitamin-c/vitamin-c-an-antioxidant-agent>. (Erişim tarihi 5 Mart 2020).
- Perry, J.J.P., Shin, D.S., Getzoff, E.D., Tainer, J.A. (2010). The structural biochemistry of the superoxide dismutases. *Biochim Biophys Acta*. **1804** (2), 245-262.
- Pimentel, D. (1995). Amounts of pesticides reaching target pests: Environmental impacts and ethics. *J Agric Environ Ethics*. **8** (1), 17-29.
- Prasad, S., Srivastava, S., Singh, M., Shukla, Y. (2009). Clastogenic effects of glyphosate in bone marrow cells of swiss albino mice. *J. Toxicol*. **5**, 308-985.
- PubChem Compound Database, National Center for Biotechnology Information. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3496>. (Erişim tarihi: 18 şubat 2020).
- Quintana, M., Vera, B., Magnarelli, G., Guinazu, N., Rovedatti, G. (2017). Neonatal, placental and umbilical cord blood parameters in pregnant women residing in areas with intensive pesticide application. *Environ. Sci. Pollut. Res*. **24**, 20736-20746.
- Quintana, M.M., Osimani, V.R., Magnarelli, G., Rovedatti, M.G., Guinazu, N. (2018). The insecticides chlorpyrifos and acetamiprid induce redox imbalance in umbilical cord blood erythrocytes in vitro. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. **148**, 87-92.
- Rice-Evans, C.A., Diplock, A.T. (1993). Current status of antioxidant therapy. *Free Radic Biol Med*. **15** (1), 77-96.
- Roche, M., Rondeau, P., Singh, N.R., Tarnus, E., Bourdon, E. (2008). The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS Letters*. **582** (13), 1783-1787.
- Romano, R.M., Romano, M.A., Bernardi, M.M., Furtado, P.V., Oliveira, C.A. (2010). Prepubertal exposure to commercial formulation of the herbicide glyphosate alters testosterone levels and testicular morphology. *Arch. Toxicol*. **84**, 309-317.
- Santavito, A., Ruberto, S., Gendusa, C., Cervella, P. (2018). In vitro evaluation of genomic damage induced by glyphosate on human lymphocytes. *Environ Sci Pollut Res*. **25**, 34693-34700.
- Sarıaltın, S.Y., Çoban, T. (2017). Glifosat ve Glifosat Bazlı Herbisit Kullanımının İnsan Sağlığı Açısından Riskleri. *Türkiye Klinikleri J Pharm Sci*. **6** (1), 1-14.
- Sarıkaya, E., Doğan, S. (2020). Glutathione Peroxidase in Health and Diseases. DOI:10.5772/intechopen.91009.<https://www.intechopen.com/online-first/glutathione-peroxidase-in-health-and-diseases>. (Erişim tarihi 23 Şubat 2020).
- Schinasi, L., Leon, M.E. (2014). Non-Hodgkin lymphoma and occupational exposure to agricultural pesticide chemical groups and active ingredients: a systematic review and meta-analysis. *Int J Environ Res Public Health*. **11** (4), 4449-4527.

- Servizi, J.A., Gordon, R.W., Martens, D.W. (1987). Acute toxicity of Garlon 4 and Roundup herbicides to salmon, Daphnia and trout. *Bull Environ Contam Toxicol.* **39**, 15-22.
- Seymen, H.O. (1990). *Splenektomize organizmada, eritrositer parametreler, ozmotik fragilite, viskozite ve eritrosit membran proteinlerinin incelenmesi*. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Fizyoloji A.D, Tıpta uzmanlık Tezi, İstanbul.
- Solomon, K.R., Anadon, A., Carrasquilla, G., Cerdeira, A.L., Marshall, J., Sanin L.H. (2007). Coca and poppy eradication in Colombia: environmental and human health assessment of aerially applied glyphosate. *Rev Environ Contam Toxicol.* **190**, 43-125.
- Sosnowka, B., Huras, B., Bukowska, B. (2015). Oxidative stress in human erythrocytes treated with bromfenvinphos and its impurities. *Pestic Biochem Physiol.* **118**, 43-49.
- Springett, J.A., Gray, R.A.J. (1992). Effect of repeated low doses of biocides on the earthworm *Aporrectodea caliginosa* in laboratory culture. *Soil Biology and Biochemistry.* **24 (12)**, 1739-1744.
- Stout, L.D., ve F.A.Ruecker. (1990). Chronic Study of Glyphosate Administered in Feed to Albino Rats. *Unpublished report, Monsanto Environmental Health Laboratory*, St. Louis, MO.
- Suess J., Limentan D., Damashek W., Dolloft J.M. (1954) A quantitative method for determination and charting of erythrocyte hypotonic fragility. *Blood.* **3**, 1290-1303.
- Sullivan, M.J. (2008). Banking on cord blood stem cells. *Nat Rev Cancer.* **8 (7)**, 555-63.
- Sun, I.L., Sun, E.E., Crane, F.L., Morre, D.J., Lindgren, A., Low, H. (1992). Requirement for coenzyme Q10 in plasma membrane electron transport. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* **89**, 11126-11130.
- Szekacs, A., Darvas, B. (2012). Forty Years with Glyphosate. In: *Herbicides- Properties, Synthesis and Control of Weeds* (Hasaneen, M. N. A. E.- G.,Ed.), InTech, Rijeka, Croatia: 247-284.
- Takahashi, M., Horie, M., Aoba, N. (2001). Analysis of Glyphosate and Its Metabolite, Aminomethylphosphonic Acid, in Agricultural Products By HPLC. *Shokuhin Eiseigaku Zassh.* **42**, 304-308.
- Tinggi, U. (2008). Selenium: its role as antioxidant in human health. *Environ Health Prev Med.* **13 (2)**, 102-108.
- Tu, M., Hurd, C., Randall, J.M. (2001). *Weed Control Methods Handbook: Toals and Tech-niques for Use in Natural Areas*, The Nature Conservancy.
- Uchendu, C., Ambali, S.F., Ayo, J.O., Esievo, K., Umosen, A. J. (2014). Erythrocyte osmotic fragility and lipid peroxidation following chronic co-exposure of rats to

- chlorpyrifos and deltamethrin, and the beneficial effect of alpha-lipoic acid. *Toxicology reports*. **1**, 373–378.
- Vrijheid, M., Casas, M., Gascon, M., Valvi, D., Nieuwenhuijsen, M. (2016). Environmental pollutants and child health – a review of recent concerns. *Int. J. Hyg. Environ. Health*. **219**, 331-342.
- Waring, W.S. (2002). Uric acid: an important antioxidant in acute ischaemic stroke. *QJM An International Journal Of Medicine*. **95 (10)**, 691-693.
- Williams, G.M., Kroes, R., Munro, I.C. (2000). Safety evaluation and risk assessment of the herbicide Roundup and its active ingredient, glyphosate, for humans. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **31**, 117-165.
- Wozniak, E., Sicinska, P., Michalowicz, J., Wozniak, K., Reszka, E., Huras, B., Zakrzewski, J., Bukowska, B. (2018). The mechanism of DNA damage induced by Roundup 360 PLUS, glyphosate and AMPA in human peripheral blood mononuclear cells-genotoxic risk assessment. *Food and Chemical Toxicology*. **120**, 510-522.
- Young, I.S., Woodside, J.V. (2001). Antioxidant in health and diseases. *Journal of Clinical Pathology*. **54**, 176-186.

EKLER

Ek 1: Etik Kurul Onayı



T.C.
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı

Sayı : 90139838-000-E.61586

12.11.2019

Konu : Etik Kurul Kararı (Prof. Dr. Ayşegül ÇEBİ)

Sayın Prof.Dr. Ayşegül ÇEBİ

"Organofosfat Bileşiği Olan Glifosatın in Vitro Kordon Kanı Eritrosit Hücrelerindeki Oksidatif Stres Parametrelerine Etkisi" başlıklı KAEK-76 Nolu başvurunuz 07.11.2019 tarihli toplantımızda değerlendirilmiştir. Etik ilke ve kurallara uygunluk açısından yapılabilirliğine toplantıya katılanların oy birliğiyle karar verilmiş ve 07.11.2019/02 karar numarası ile karara bağlanmıştır.

Bilgilerinize rica ederim.



e-imzalıdır
Doç. Dr. Selçuk TAKIR
Kurul Başkanı

Not: 5070 sayılı elektronik imza kanunu gereği bu belge elektronik imza ile imzalanmıştır.

Gazipaşa Yerleşkesi Debboy Mevkii 28100 Merkez/Giresun
Tel: 0454 310 16 22 Faks: 0454 310 16 99

Bilgi için:Ömer BALCI
Sekreter
Telefon No:(454) 310 16 00-1622

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : İspandiyar Rustamzada

Doğum Yeri/Tarih : Azerbaycan/10.07.1991

Yabancı Dili : Rusca

E-mail : ispendiyar.rustemzade@gmail.com

İletişim Bilgileri : 0 (536) 876 80 28

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Biyoloji	Giresun Üniversitesi	2017
Lise	Sayısal	Mingeçevir Lisesi	2008