

THIACLOPRİD'İN İNSAN LENFOSİTLERİNDE DNA HASARINA ETKİSİ

EFFECT OF THIACLOPRID ON DNA DAMAGE IN HUMAN LYMPHOCYTES

Vehbi Atahan TOĞAY¹, Dilek AŞCI ÇELİK¹

¹Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Isparta, TÜRKİYE

Cite this article as: Toğay VA, Aşci Çelik D. Thiacloprid'in İnsan Lenfositlerinde DNA Hasarına Etkisi. Med J SDU 2022; 29(4): 597-602.

Öz

Amaç

Thiacloprid neonikotinoid sınıfı bir insektisittir ve DNA hasarına etkisi hakkında yapılan çalışma sayısı oldukça sınırlıdır. Bu araştırma ile Thiacloprid'in insan lenfosit DNA'sı üzerindeki etkisinin farklı dozlar ve farklı maruziyet süreleri için değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

4 erkek ve 4 kadın gönüllünün her birinden 15 mL kan alınmış ve çalışmada yer alan gruplar için tüm katılımcıların kanları ayrı ayrı kullanılmıştır. Thiacloprid, 100, 300 ve 500 µM olmak üzere 3 farklı dozda ve her bir doz için 1, 2 ve 4 saat olmak üzere 3 farklı zamanda uygulanmıştır. Her inkübasyon saati için ayrı ayrı oluşturulan internal pozitif ve negatif kontrol grupları karşılaştırma için kullanılmıştır. DNA hasarının tespiti için comet metodu kullanılmış ve kuyruk DNA yüzdesi parametresi hasarın göstergesi olarak seçilmiştir.

Bulgular

Tüm Thiacloprid uygulamaları DNA hasarında artışa sebep olmuştur. Ancak en düşük doz olan 100 µM Thiacloprid ile inkübasyon uygulanan gruplar 7, 10 ve 13'de meydana gelen artış, internal kontrol gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). 300 veya 500 µM Thiacloprid ile 1, 2 veya 4 s inkübasyon uygulanan gruplar 8, 9, 11, 12, 14 ve

15'de, internal kontrol gruplarına kıyasla DNA hasarında anlamlı artış görülmüştür ($p<0,05$).

Sonuç

DNA hasarında meydana gelen artışlar inkübasyon süresinden ziyade doza bağlı olarak meydana gelmiştir. Inkübasyon süresi ne olursa olsun Thiacloprid dozu arttıkça DNA hasarında artış meydana geldiği görülmektedir. Kesin yargılara varmadan önce çok daha kapsamlı araştırmalar yapmak gerekiyorsa da, literatür taraması sonucunda elde edilen veriler ve araştırmamızın sonucu Thiacloprid'in genotoksik olduğunu ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Comet metodu, Neonikotinoid, Pestisit, Thiacloprid

Abstract

Objective

Thiacloprid is a neonicotinoid insecticide and the number of studies on its effect on DNA damage is very limited. The aim of this study was to evaluate the effect of Thiacloprid on human lymphocyte DNA with different doses and exposure times.

Material and Methods

15 mL of blood was drawn from each of 4 male and 4 female volunteers, and each was used separately for the groups included in the study. Thiacloprid was

Sorumlu yazar ve iletişim adresi /Corresponding author and contact address: V.A.T. / atahantogay@sdu.edu.tr

Müracaat tarihi/Application Date: 07.11.2022 • **Kabul tarihi/Accepted Date:** 28.11.2022

ORCID IDs of the authors: V.A.T: 0000-0003-4722-3845; D.A.Ç: 0000-0002-2914-4695

administered in 3 different doses as 100, 300 and 500 µM, and at 3 different times, 1, 2 and 4 hours for each dose. Internal positive and negative control groups, which created separately for each incubation hour, were used. The comet assay was used for the detection of DNA damage and the tail DNA percentage parameter was chosen as measure of damage.

Results

All Thiacloprid applications caused an increase in DNA damage. However, the increase in groups 7, 10 and 13, which incubated with the 100 µM Thiacloprid, was not statistically significant compared to the internal control groups ($p>0.05$). Groups 8, 9, 11, 12, 14, and 15, which incubated with 300 or 500

µM Thiacloprid for 1, 2, or 4 h, showed a statistically significant increase in DNA damage compared to the internal control groups ($p<0.05$).

Conclusion

Increases in DNA damage were dose-related rather than incubation time. DNA damage was appeared to increase as the Thiacloprid dose increases. Although much more extensive researches are required before making definite conclusions, the data, which obtained from previous researches and the result of our research, reveal that Thiacloprid is genotoxic.

Keywords: Comet assay, Neonicotinoid, Pesticide, Thiacloprid

Giriş

Pestisitler, verimli bir tarımsal üretim için önemli olsalar da, insanlar ve diğer canlılar için potansiyel toksisiteleri sebebiyle çeşitli sorunlara neden olmaktadır. Deri-göz yaralanmalarına (1) ve akut zehirlenmelere sebep olabilecekleri gibi kronik hastalıklara ve DNA hasarına da (2) yol açabilirler. Pestisit kaynaklı başlıca kronik etkiler kanser, nörotoksosite, üreme ve fertilitate bozuklukları, nörofizyolojik ve nörodavranışsal bozukluklar ile doğum defektleri olarak sıralanabilir (3).

Son yıllarda pestisitler hakkında daha çok araştırma yapılarak bilgi dağarcığı artırılmış olsa da sürekli yeni formülasyonların ve pestisitlerin piyasaya sürülmesi ve pestisit kullanımının artması sebebi ile bu alanda yapılması gereken çalışmalar henüz daha yolun başındadır (3). Bir pestisitinin ekolojik yaşamı ile insanlar ve hayvanlar üzerindeki etkilerini birçok faktör belirlemektedir. Pestisitinin formülasyon tipi, fiziksel özellikleri, uygulama şekli, kimyasal yapısı ile iklim ve tarımsal koşullar bunlar arasında sayılabilir (4). Pestisit kullanımının hızla artması ile birlikte sağlık sorunları da hızla artmıştır (5). Dolayısı ile pestisitlerin her birinin farklı konular için ayrı ayrı araştırılması ve insan sağlığına olası zararlarının ortaya konması gerekmektedir.

Thiacloprid (C₁₀H₉CIN₄S), Dünya'da en sık kullanılan insektisit sınıfı olan neonikotinoid grubundan bir pestisittir (3). Bu grupta yer alan pestisitler, diğer pestisit gruplarına nazaran insanlara daha zararsız olarak görülmektedir. Nikotinik asetilkolin reseptörleri üzerinden işlev gören neonikotinoidlerin memelilerin nikotinik asetilkolin reseptörlerine afinitelerinin düşük olduğu ileri sürülmektedir (6). Ancak son zamanlarda yapılan birçok araştırma, Thiacloprid dahil olmak üzere

neonikotinoidlerin masum olmadığını düşündürmektedir. Akut toksisite dikkate alınarak hazırlanan mevzuatlarda doğada kalan pestisit seviyelerinin ve dolayısı ile muhtemel kronik etkilerinin hafife alındığı ortaya konulmuştur (7).

DNA hasarı; kanser, bağışıklık bozuklukları, kardiyovasküler ve dejeneratif hastalıklar gibi sağlık sorunlarının gelişiminde önemli rol oynayabilir ve dolayısı ile oldukça önemlidir (8). DNA'da meydana gelebilecek hasarların engellenmesi birçok hastalığın önüne geçebilir. Pestisitlerin DNA hasarına sebep olabileceği de gösterilmiştir (9-11). Dolayısı ile her pestisitinin DNA üzerindeki etkisi bilinmelidir.

Thiacloprid'in insan hücrelerindeki DNA hasarına etkisi üzerine yapılan araştırma sayısı ise oldukça sınırlıdır. Dolayısı ile bu araştırma ile, ülkemizde dahil bazı ülkelerde yakın zamanda yasaklansa da halen yaygın olarak kullanılan Thiacloprid'in, insan lenfosit DNA'sı üzerindeki etkisinin farklı dozlar ve farklı maruziyet süreleri için değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, hem in vivo hem de in vitro olarak farklı hücre tiplerinde DNA hasarını hızlı ve güvenilir bir şekilde ölçülebilen (12, 13) comet metodu kullanılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışma Dizayını

Araştırma için Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan onam alınmıştır (10.10.2022-20/287). Gönüllüler için katı dışlama kriterleri uygulanmıştır. Son 6 ayda radyolojik muayene geçirmemiş, sürekli ilaç kullanımı ve bilinen hastalığı olmayan, 18-45 yaş aralığında ve sigara içmeyen 4 kadın ve 4 erkek gönüllü katılımcı olarak yer almıştır. Çalışmada "Helsinki Deklarasyonu"

nu" kurallarına uyulmuş ve gönüllülere bilgilendirme yapılarak onam alınmıştır. Gönüllü katılımcıların her birinden 15 mL kan alınmış ve tüm katılımcıların kanları 15 grup için ayrı ayrı kullanılmıştır. Gruplar Tablo 1'de görülmektedir. Araştırmada kullanılan Thiacloprid (saf, CAS No: 111988-49-9, MA: 252,72, Acros Organics, New Jersey, ABD) yerel satıcılar aracılığı ile temin edilmiştir. Dozlar ve uygulama saatleri literatür taraması ve daha önceki araştırmamızdan (3) elde ettiğimiz veriler doğrultusunda seçilmiştir (Tablo 1).

Comet Metodu

DNA hasar tespiti için comet metodu "OECD İn Vivo Memeli Alkalin Comet Metodu Kılavuzu" (14) uyarınca in vitro olarak yürütülmüştür. Kullanılan tüm kimyasallar aksi belirtilmediği sürece Merck (Darmstadt, Almanya) veya Sigma (St. Louis, MO, US) firmalarından yerel satıcılar aracılığı ile temin edilmiştir.

Gönüllü katılımcılardan kan alınmasının ardından comet prosedürüne geçilmiştir. Lenfosit ayırıcı olarak histopak-1077 kullanılmış ve kanlar ile 1:1 oranında karıştırılarak 2000 devirde (RPM, dakikadaki devir sayısı) 20 dk santrifüj işlemi uygulanmıştır. Lenfositler ayrı bir tüpe alınarak 1:1 oranında tampon çözeltide (PBS) ile karıştırılmış ve tekrar 2500 RPM'de 10 dk santrifüj edilmiştir. PBS ile yıkamanın ardından lenfositlere %10 fetal sığır serumu (FBS) içeren besiyeri (RPMI 1640) eklenerek son hacim 1 mL olacak şekilde Thiacloprid uygulamasına geçilmiştir. 3 farklı dozda (100, 300 ve 500 µM) ve her bir doz için 3 farklı saatte (1, 2 ve 4 saat, s) Thiacloprid uygulanmış, inkübasyon 37 °C'de etüvde yapılmıştır. Her inkübasyon saati için ayrı ayrı internal kontrol grupları oluşturularak hiçbir uygulama yapılmayan negatif kontrol ve 100 µM hidrojen peroksit (H₂O₂) uygulaması yapılan pozitif kontrol grupları karşılaştırma için kullanılmıştır. Inkübasyon sonrasında hücreler santrifüj ile dibe çöktürülerek ayrılmış ve PBS ile 2500 RPM'de 10 dk santrifüj edilerek tekrar yıkama yapılmıştır. Ardından tüm gruplar 37 °C'de 1 s daha inkübe edilmiştir. Daha sonra 20 µL hücre süspansiyonu 100 µL %0,7'lik düşük erime noktalı agaroz (LMA, Fisher Scientific, Massachusetts, ABD) ile karıştırılmış ve daha önceden %1'lik normal erime noktalı agaroz (NMA, Serva Electrophoresis, Almanya) ile kaplanmış lamlara yayılmıştır. Lamlar soğuk lizis solüsyonunda (pH: 10, 2,5 M NaCl, 100 mM Na₂-EDTA, 10 mM Tris, %10 DMSO ve %1 Triton X-100) karanlıkta ve +4 °C'de 90 dk bekletilmiştir. Ardından lamlar taze, buz soğukluğunda elektroforez solüsyonunda (pH: 13, 300 M NaOH, 1 mM EDTA) karanlıkta ve +4 °C'de 30 dk bekletilmiştir. Daha sonra 25 V (1,02 V/cm) ve + 4 °C 25 dk elektroforez işlemi uygulanmıştır. 25 dk sonunda elektroforez tankından dik-

katlice çıkarılan lamlar nötralizasyon solüsyonu ile 3 kez 5 dk yıkanmış ve kurumaya bırakılmıştır. Kuruma sürecinin ardından örnekler preparat başına 20 µL etidyum bromür ile boyanmış ve karanlık odada floresan mikroskop (Zeiss Imager A1) altında görüntülenmiştir. Preparat başına 50 hücrenin fotoğrafı rastgele çekilmiştir (Axiocam Icc 1). Fotoğraflar OpenComet (15) programı aracılığı ile DNA hasarının tespit edilebilmesi için analiz edilmiştir. Kuyruk DNA Yüzdesi (TDNAP) parametresi DNA hasarının göstergesi olarak seçilmiştir.

İstatistik Analiz

Elde edilen sonuçlar SPSS v20 (16) programında tek-yönlü ANOVA (post-hoc Tukey) kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar ortalaması±standart hata olarak sunulmuş ve p<0,05 anlamlı kabul edilmiştir.

Bulgular

Thiacloprid ve pozitif kontrol grupları DNA hasarında internal negatif kontrol gruplarına kıyasla artışa sebep olmuştur (Tablo 1) ve istatistiksel olarak karşılaştırıldığında bazı gruplar için anlamlı sonuçlar elde edilmiştir.

Pozitif kontrol grupları beklendiği gibi aynı inkübasyon süresine sahip tüm gruplardan anlamlı şekilde daha yüksek DNA hasarına sebep olmuştur (p<0,05).

Tüm Thiacloprid uygulamaları DNA hasarında artışa sebep olmuştur. Ancak bu artışlar, internal kontrol grupları ile kıyaslandığında, inkübasyon süresinden ziyade doza bağlı meydana gelmiştir. Inkübasyon süresi ne olursa olsun Thiacloprid dozu arttıkça DNA hasarında artış meydana geldiği görülmektedir. Ancak en düşük doz olan 100 µM Thiacloprid ile inkübasyon uygulanan gruplar 7, 10 ve 13'de meydana gelen artış, internal kontrol gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p>0,05). 300 veya 500 µM Thiacloprid ile 1, 2 veya 4 s inkübasyon uygulanan gruplar 8, 9, 11, 12, 14 ve 15'de, internal kontrol gruplarına kıyasla DNA hasarında anlamlı artış görülmüştür (p<0,05).

Aynı inkübasyon süresi ve farklı doz uygulanmış gruplar kendi içerisinde kıyaslandığında, 1 s inkübasyon uygulanan grup 9, grup 7'den anlamlı seviyede daha fazla DNA hasarına sebep olmuştur (p<0,05). 2 ve 4 s inkübasyon uygulanan gruplar kendi içerisinde kıyaslandığında doza bağlı artışlar meydana gelmiş, ancak bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p>0,05).

Bunun yanı sıra, aynı doza ve farklı inkübasyon süre-

Tablo 1 Ortalama Kuyruk DNA Yüzdesi Değerleri

Grup	Uygulama	Uygulama Süresi (Saat)	Doz	Kuyruk DNA Yüzdesi (Ortalama ± Standart Hata)
1	Negatif Kontrol	1	-	2,23±0,15
2		2	-	2,52±0,14
3		4	-	2,55±0,17
4	Pozitif Kontrol (H ₂ O ₂)	1	100 µM	47,99±1,45 *
5		2	100 µM	47,29±1,41 **
6		4	100 µM	44,55±1,36 ***
7	Thiacloprid	1	100 µM	4,65±0,40
8		1	300 µM	7,99±0,58 #
9		1	500 µM	8,58±0,70 #,##
10		2	100 µM	4,33±0,37
11		2	300 µM	7,53±0,53 ###
12		2	500 µM	7,81±0,51 ####
13		4	100 µM	4,54±0,52
14		4	300 µM	6,82±0,57 **
15		4	500 µM	6,99±0,82 **

*Grup 4, Grup 1, 7, 8 ve 9 ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı (p < 0,05);

**Grup 5, Grup 2, 10, 11 ve 12 ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı (p < 0,05);

***Grup 6, Grup 3, 13, 14 ve 15 ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı (p < 0,05);

#Grup 8 ve 9, Grup 1 ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı (p < 0,05);

##Grup 9, Grup 7 ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı (p < 0,05);

###Grup 11 ve 12, Grup 2 ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı (p < 0,05);

*#Grup 14 ve 15, Grup 3 ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı (p < 0,05);

sine sahip gruplar karşılaştırıldığında, inkübasyon süresi arttıkça DNA hasarında az da olsa düşüş olduğu ancak bu düşüşün anlamlı olmadığı tespit edilmiştir (p>0,05). Buna göre inkübasyon süresi arttıkça DNA hasarında istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir iyileşme meydana geldiği görülmektedir.

Tartışma

Zararlı kimyasallar her yıl binlerce insanın hayatını kaybetmesine sebep olmaktadır (17). Sık kullanılan bir pestisit insanlara düşük dozlarda olsa da çeşitli şekillerde ulaşabilir. Başta elma, elma sosu ve elma suyu olmak üzere çeşitli meyvelerde ve meyve ürünlerinde yüksek oranda Thiacloprid tespit edilmiştir (18). Amerika'da 2015 – 2016 yılı verileri ve yüksek performanslı likit kromatografi kullanılarak yapılan bir çalışmada üç yaş ve üzeri ABD nüfusunun yaklaşık yarısının neonikotinoidlere maruz kaldığı bildirilmiştir

(19). Japonya'da 46 çocuğun idrar örneklerinde neonikotinoid pestisitlerin var olup olmadığı araştırılmış ve Thiacloprid dahil neonikotinoid insektisit varlığı tespit edilmiştir. Benzer bir çalışma ile yine Japonya'da bu kez 52 yetişkin idrar örneğinde Thiacloprid'in varlığı ortaya konmuştur (20). Bu çalışmalarda tespit edilen pestisitlerin miktarları genel olarak günlük kabul edilebilir limitlerin altında olsa da (21) sürekli pestisite maruz kalındığı anlamına gelmektedir. Bu durum beklenmeyen kümülatif bir etkinin oluşabileceğini düşündürmektedir. Keza Wang vd., neonikotinoid pestisitler kaynaklı oluşan toksisitenin düşünüldüğü kadar az olmadığını vurgulamış ve yakın zamanda yapılan araştırmalar ile buna yönelik kanıtların arttığını bildirmiştir (22). Dolayısı ile potansiyel olarak insanlarda meydana gelebilecek DNA hasarının ortaya konması önem taşımaktadır. Lenfositler tüm dokularda dolaşan, kolay elde edilebilen, uzun ömürlü ve in vitro DNA hasarını tespit etmede sıklıkla kullanılan hücrelerdir (23, 24).

2,5, 5 ve 10 mg/kg Thiachloprid'in farelerde in vivo etkisinin değerlendirildiği bir başka çalışmamızda elde ettiğimiz verilere göre 3 farklı doz grubunda da Thiachloprid, lenfosit DNA hasarında istatistiksel olarak anlamlı artışa sebep olmuştur. Ancak bu DNA hasarının doza göre değişmediği, her üç grupta da benzer seviyede olduğu tespit edilmiştir (3). Bu çalışmamızda ise Thiachloprid, insan lenfositlerine in vitro olarak farklı inkübasyon süresi ve dozlarda doğrudan uygulanmış ve istatistiksel olarak anlamlı bir DNA hasar artışı saptanmıştır. DNA hasarı doz arttıkça artmaktadır ancak bu artış sadece 1 saatlik inkübasyon grubunda istatistiksel olarak anlamlı seviyededir. Bir önceki çalışmamız ile mevcut çalışmamız arasındaki en önemli fark Thiachloprid uygulamalarının in vivo/in vitro olarak yapılmış olmasıdır. İn vivo çalışmamızda Thiachloprid'in farenin sistemine verilmiş olması hasarın doz bağımlı/bağımsız olması durumunu etkilemiş olabilir.

Çalışmamız ile benzer bir şekilde insan lenfositlerinde in vitro olarak Thiachloprid içeren bir tarım ilacının (Calypso) genotoksisitesinin araştırıldığı bir çalışmada, formülasyonun 5 farklı dozu ile hücrelere 2 saatlik inkübasyon uygulanmıştır. Tüm dozlarda istatistiksel olarak anlamlı yüksek DNA hasarı olduğu ve çalışmamızda olduğu gibi doz bağımlı olarak hasarda artış meydana geldiği bildirilmiştir (25). Bu sonuçlar da çalışmamız ile benzerdir. Ancak bu çalışmada kullanılan Thiachloprid'in, araştırmamızın aksine saf olmaması önemli bir farktır. Çalışmada Thiachloprid'in tarım ilacı olarak kullanılan ticari formülasyonu (Calypso) kullanılmıştır. Bu da uygulanan dozların farklı olduğu anlamına gelmektedir. Benzer bir diğer çalışmada Thiachloprid'in genotoksisitesi mikronükleus oluşumu, kromozom aberasyonu ve kardeş kromatit değişimi analiz edilerek araştırılmıştır. 75, 150 ve 300 µg/mL dozlarında kardeş kromatit değişiminde ve DNA/Kromozom hasarında artış, proliferasyon, mitotik ve nükleer bölünme indekslerinde azalış bildirilmiştir (26). Benzer sonuçlar sığır lenfositlerinde de tespit edilmiştir. 30, 60, 120, 240 ve 480 µg/L Thiachloprid'in 2, 24 veya 48 saat inkübasyon sonucunda doz ve zamana bağlı olarak kromozom kırıklarında, DNA hasarında ve kardeş kromatit değişim sayısında artışa sebep olduğu bildirilmiştir (27). SH-SY5Y ve HepG2 hücre hatlarında Thiachloprid kaynaklı DNA hasarı tespit edilmiştir (28). Benzer bir çalışma ile akciğer fibroblast hücre hattında Thiachloprid ve deltamethrin pestisitlerinin kombine etkisi incelenmiş ve maruziyetinin oksidatif stresi tetikleyebileceği ileri sürülmüştür (29). Bu veriler doz bağımlı olarak oksidatif stres kaynaklı genotoksik bir etkiye işaret etmektedir (3). Rat kemik iliği hücrelerinde in vivo Thiachloprid uygulamasının akut (112,5 mg/kg'lık tek) ve 30 günlük sub-kronik (22,5 mg/kg/gün) olarak mitotik indeksi azalttığı ve kromo-

zom aberasyonunu arttırdığı tespit edilmiştir. Mikronükleus sıklığı yani DNA hasarı ise sub-kronik uygulama sonucunda anlamlı olarak artmıştır (30). Benzer bir çalışma dizaynı ile Thiachloprid'in tek ve başka bir pestisit ile kombine, akut (112,5 mg/kg'lık tek) ve sub-kronik (22,5 mg/kg/gün) oksidatif etkileri değerlendirilmiş ve antioksidan enzimlerde anlamlı düşme, lipid peroksidasyonunda ise anlamlı yükselme tespit edilmiştir (31). Bu veriler oksidatif stres oluşumu aracılığı ile Thiachloprid'in DNA hasarına sebep olabileceğini göstermektedir.

Sonuç

Pestisit kullanımı sonucunda oluşan kalıntıların ne kadarının insanlara ulaştığının tespitine yönelik çalışmalar görece olarak yeni yapılmaktadır. Dolayısı ile pestisitlerin genotoksisitesinin ortaya konması gerekmektedir. Kesin yargılara varmadan önce çok daha kapsamlı araştırmalar yapmak gerekiyorsa da, literatür taraması sonucunda elde edilen veriler ve araştırmamızın sonucu Thiachloprid'in genotoksik olduğunu ortaya koymaktadır. Daha detaylı çalışmalar ile bu genotoksisitenin moleküler temeli araştırılarak hasarın etki mekanizması ortaya konmalıdır.

Çıkar Çatışması Beyanı

Herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

Etik Kurul Onayı

Çalışma için Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan onay alınmıştır (10.10.2022 tarih ve 20/287 sayılı karar). Çalışma Helsinki Deklarasyonuna uygun olarak yürütülmüştür.

Bilgilendirilmiş Onam

Çalışmada yer alan tüm bireylerden bilgilendirilmiş onam ve verilerin yayınlaması için yazılı izin alınmıştır.

Finansman

Bu araştırma, kamu, ticari veya kar amacı gütmeyen sektörlerdeki finansman kuruluşlarından herhangi bir finansal destek almamıştır.

Verilerin Ulaşılabilirliği

Tüm veriler makalede mevcuttur.

Yazar Katkıları

VAT: Çalışmanın planlanması; Metodoloji; Araştırma; Formal Analizler; Makalenin Yazımı.

DAÇ: Çalışmanın planlanması; Metodoloji; Araştırma; Validasyon; Makalenin düzenlenmesi.

Editöryal

Makalenin yazarlarından VAT dergi sekretaryasında görev almakla birlikte bu makalenin yayım süreçlerinin hiç bir aşamasında görev almamıştır.

Kaynaklar

- Sanborn M, Kerr K, Sanin L, Cole D, Bassil K, Vakıl C. Non-cancer health effects of pesticides Systematic review and implications for family doctors. *Canadian Family Physician*. 2007;53(10):1712-20.
- Araoud M. Biological Markers of human exposure to pesticides. Pesticides in the Modern World-Pests Control and Pesticides Exposure and Toxicity Assessment: IntechOpen; London, 2011.
- Toğay VA. Pestisit Thiacloprid'in Parkinson Hastalığı ile Bağlantısının Araştırılması [Doktora Tezi]. Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi; 2021.
- Altıkat A, Turan T, Torun FE, Bingül Z. Türkiye'de pestisit kullanımını ve çevreye olan etkileri. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. 2009;40(2):87-92.
- Qian L, Cui F, Yang Y, Liu Y, Qi S, Wang C. Mechanisms of developmental toxicity in zebrafish embryos (*Danio rerio*) induced by boscalid. *Science of The Total Environment*. 2018;634:478-87.
- Tomizawa M, Casida JE. Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2005;45:247-68.
- Morrissey CA, Mineau P, Devries JH, Sanchez-Bayo F, Liess M, Cavallaro MC, et al. Neonicotinoid contamination of global surface waters and associated risk to aquatic invertebrates: A review. *Environment International*. 2015;74:291-303.
- Toğay VA, Baş FY, Çelik DA, Özçelik N, Türel GY, Calapoğlu M, et al. Increased DNA Damage of Radiology Personnel Chronically Exposed to Low Levels of Ionizing Radiations. *Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2020;11(2):212-6.
- Çelik DA, Toğay VA, Türel GY, Tuluçoğlu EE, Kosar PA. DNA Damages of Widely Used Pesticides; A Comet Assay Report for Chlorothalonil and Glyphosate Potassium Salt. *Fresenius Environ Bull*. 2021;30(4 A):4170-6.
- Toğay VA, Yavuz Türel G, Aşçı Çelik D, Özgöçmen M, Evgen Tülüçoğlu E, Şen İ, et al. DNA damage effect of cyprodinil and thiacloprid in adult zebrafish gills. *Environmental Science and Pollution Research*. 2021;28(12):14482-7.
- Yavuz Türel G, Toğay VA, Aşçı Çelik D. Genotoxicity of thiacloprid in zebrafish liver. *Archives of Environmental & Occupational Health*. 2022;1-6. doi: 10.1080/19338244.2022.2118212.
- Aşçı Çelik D, Toğay VA, Karabacak P. DNA damage assessment in pneumonia patients treated in the intensive care unit. *Biologia (Bratisl)*. 2022;77(7):1909-1913.
- Karabacak P, Toğay VA, Çelik DA. Lymphocyte DNA damage in sepsis and septic-shock intensive-care patients: Damage is greater in non-intubated patients. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2022;879:503516.
- OECD. Test No. 489: In Vivo Mammalian Alkaline Comet Assay. Paris: OECD Publishing; 2016.
- Gyori BM, Venkatachalam G, Thiagarajan P, Hsu D, Clement M-V. OpenComet: An automated tool for comet assay image analysis. *Redox biology*. 2014;2:457-65.
- IBM. SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp.; 2012.
- Azmi MA, Naqvi S. Pesticide pollution, resistance and health hazards. In: *Pesticides-The Impacts of Pesticides Exposure*. Croatia: IntechOpen; 2011.
- Chen M, Tao L, McLean J, Lu C. Quantitative analysis of neonicotinoid insecticide residues in foods: implication for dietary exposures. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2014;62(26):6082-90.
- Ospina M, Wong LY, Baker SE, Serafim AB, Morales-Agudelo P, Calafat AM. Exposure to neonicotinoid insecticides in the US general population: Data from the 2015-2016 national health and nutrition examination survey. *Environmental Research*. 2019;176: 108555. doi:10.1016/j.envres.2019.108555.
- Ueyama J, Nomura H, Kondo T, Saito I, Ito Y, Osaka A, et al. Biological monitoring method for urinary neonicotinoid insecticides using LC-MS/MS and its application to Japanese adults. *Journal of occupational health*. 2014;56(6):461-8.
- Ikenaka Y, Miyabara Y, Ichise T, Nakayama S, Nimako C, Ishizuka M, et al. Exposures of children to neonicotinoids in pine wilt disease control areas. *Environmental toxicology and chemistry*. 2019;38(1):71-9.
- Wang X, Anadón A, Wu Q, Qiao F, Ares I, Martínez-Larrañaga M-R, et al. Mechanism of neonicotinoid toxicity: Impact on oxidative stress and metabolism. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2018;58:471-507.
- Lerda D, Bistoni MB, Peralta N, Ychari S, Vazquez M, Bosio G. Fumonisins in foods from Cordoba (Argentina), presence and genotoxicity. *Food and Chemical Toxicology*. 2005;43(5):691-8.
- Çelik DA, Toğay VA, Türel GY, Özçelik N. Gıda Katkı Maddesi Olarak Kullanılan Sitrik Asit, Askorbik Asit ve Sodyum Sitratin İnsan Lenfosit Hücrelerinde Genotoksitesinin Değerlendirilmesi. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*. 2022;29(3):486-92.
- Calderón-Segura ME, Gómez-Arroyo S, Villalobos-Pietrini R, Martínez-Valenzuela C, Carbajal-López Y, Calderón-Ezquerro MdC, et al. Evaluation of genotoxic and cytotoxic effects in human peripheral blood lymphocytes exposed in vitro to neonicotinoid insecticides news. *Journal of toxicology*. 2012;2012:612647. doi: 10.1155/2012/612647.
- Kocaman AY, Rencuzogullari E, Topaktas M. In vitro investigation of the genotoxic and cytotoxic effects of thiacloprid in cultured human peripheral blood lymphocytes. *Environmental Toxicology*. 2014;29(6):631-41.
- Galdíková M, Šivíková K, Holečková B, Dianovský J, Drážovská M, Schwarzbacherová V. The effect of thiacloprid formulation on DNA/chromosome damage and changes in GST activity in bovine peripheral lymphocytes. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*. 2015;50(10):698-707.
- Şenyıldız M, Kilinc A, Ozden S. Investigation of the genotoxic and cytotoxic effects of widely used neonicotinoid insecticides in HepG2 and SH-SY5Y cells. *Toxicology and industrial health*. 2018;34(6):375-83.
- Sekeroglu V, Karabiyik A, Sekeroglu ZA. Co-exposure to deltamethrin and thiacloprid induces cytotoxicity and oxidative stress in human lung cells. *Toxicology and Industrial Health*. 2020;36(11):916-24.
- Sekeroglu V, Sekeroglu ZA, Kefelioglu H. Cytogenetic effects of commercial formulations of deltamethrin and/or thiacloprid on wistar rat bone marrow cells. *Environmental Toxicology*. 2013;28(9):524-31.
- Aydin B. Effects of thiacloprid, deltamethrin and their combination on oxidative stress in lymphoid organs, polymorphonuclear leukocytes and plasma of rats. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2011;100(2):165-71.