

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



MUNZUR
ÜNİVERSİTESİ
2008

**BİSFENOL A'YA MARUZ KALAN *Gammarus pulex*'de ANTİOKSİDAN YANITIN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Yener TÜRKMENOĞLU

Anabilim Dalı: Çevre Mühendisliği

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Şule TATAR

TUNCELİ – 2018

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BİSFENOL A'YA MARUZ KALAN *Gammarus pulex*'de ANTİOKSİDAN YANITIN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Yener TÜRKMENOĞLU
(11881508)

Anabilim Dalı: Çevre Mühendisliği

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Şule TATAR
TUNCELİ – 2018

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİSFENOL A'YA MARUZ KALAN *Gammarus pulex*'de ANTİOKSİDAN YANITIN
ARAŞTIRILMASI

Yener TÜRKMENOĞLU
YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu tez 02/ 07/ 2018 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **oybirliği/oyçokluğu** ile kabul edilmiştir.

İmza:.....

Dr. Öğr. Üyesi Şule
TATAR

(Munzur Üniversitesi)

DANIŞMAN

İmza:.....

Doç. Dr. E. Işıl ARSLAN
TOPAL

(Fırat Üniversitesi)

ÜYE

İmza:.....

Doç. Dr. Nuran
CIKCIKOĞLU YILDIRIM

(Munzur Üniversitesi)

ÜYE

Bu tez, Enstitümüz Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

Doç. Dr. Numan YILDIRIM
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

Bu çalışma, Munzur Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: YLMUB017-17

NOT: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı “Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu”ndaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Mikro kirleticiler dünya üzerindeki en önemli çevresel sorunlardan biridir. Bu çalışmada, endokrin bozucu bir mikro kirletici olan Bisfenol A (BPA)'ya maruz bırakılan *Gammarus pulex*'in antioksidan yanıtlarının araştırılması amaçlanmıştır.

Bu amaçla canlı materyalini oluşturan *G. pulex* örnekleri, Munzur Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Araştırma Laboratuvarında kültüre alınmış canlılardan temin edildi. Farklı konsantrasyonlarda ve 24 ve 96 saat uygulama süresinde BPA uygulanan üç ayrı grup (A, B, C) ve kontrol grubunda enzimatik antioksidanlar süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) ile glutatyon (GSH) ve tiobarbitürik asit reaktif maddesi (TBARS) seviyeleri belirlendi. Biyokimyasal biyobelirteçler, ELISA metodu kullanılarak mikropilaya okuyucuda ölçüldü.

SOD enzim aktivitesini kontrol ile kıyasladığımızda her iki uygulama süresinde de tüm gruplarda artmıştır. Bu artış 24 saat sonrasında istatistiksel olarak anlamlıyken ($p<0.05$), 96 saat sonunda anlamsız ($p>0.05$) bulunmuştur. CAT enzim aktivitesi kontrol ile kıyaslandığında her iki uygulama süresinde de tüm gruplarda azalmıştır ($p<0.05$). GSH düzeyleri kontrol ile kıyaslandığında her iki grupta da 24 ve 96 saatlik uygulama süreleri sonrasında artmıştır ($p<0.05$). TBARS düzeyleri kontrol grubu ile kıyaslandığında tüm gruplarda artış göstermiştir ($p<0.05$).

BPA'ya karşı *Gammarus pulex* dokularında SOD, CAT enzimleri ile GSH ve TBARS düzeylerindeki değişikliklerin yararlı birer biyobelirteç olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. Ayrıca, *G. pulex*'in su kalitesi açısından BPA kirliliğini yansıtacak etkili bir biyoindikatör olduğu da kanıtlanmıştır. Biyokimyasal biyobelirteçlerin farklı sonuçları, olası metabolik süreçlerin bir göstergesi olarak değerlendirilebilir ve *G. pulex*'in biyokimyasal tepkisi, daha çok endüstriyel sulardan kaynaklanan BPA kirliliğinin çevresel sonuçlarını bir dereceye kadar ortaya koyabilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Bisfenol A, Antioksidan Enzimler, *G. pulex*

ABSTRACT

Investigation of Antioxidant Responses in *Gammarus pulex* Exposed to Bisphenol A

Micro pollutants are one of the most important environmental problems in the world. In this study, it was aimed to investigate antioxidant responses of *Gammarus pulex* exposed to an endocrine disrupting substance Bisphenol A (BPA).

For this purpose, individuals of *G. pulex*, which make up living materials, were provided from cultured living beings at Munzur University Faculty of Fisheries Research Laboratory. Enzymatic antioxidants superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) and glutathione (GSH) and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) levels were determined in three different groups (A, B, C) and BPA treated groups at different concentrations and during 24 and 96 hours of application. Biochemical biomarkers were measured in a microplate reader using the ELISA method.

When we compared SOD enzyme activity with control, it increased in all groups during both administration periods. This increase was statistically significant after 24 hours ($p < 0.05$) and was not significant after 96 hours ($p > 0.05$). CAT enzyme activity decreased in all groups when compared with control ($p < 0.05$). GSH levels were increased after 24 and 96 hour treatment periods in both groups when compared to control ($p < 0.05$). TBARS levels increased in all groups when compared to the control group ($p < 0.05$).

Against BPA, changes in the levels of SOD, CAT enzymes and GSH and TBARS in *Gammarus pulex* tissues have been shown to be useful as biomarkers. It has also been proven that *G. pulex* is an effective bioindicator that reflects BPA pollution in terms of water quality. The different results of biochemical biomarkers can be evaluated as a marker of possible metabolic processes, and the biochemical response of *G. pulex* can reveal to some extent the environmental consequences of BPA pollution resulting from industrial waters.

Key Words: Bisphenol A, Antioxidant enzymes, *G. pulex*

TEŞEKKÜRLER

Bu çalışma, Munzur Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliği Anabilim Dalında yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır.

Bu çalışmayı destekleyen Munzur Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimine teşekkür ederim (YLMUB017-17).

Bu çalışmanın planlanması, tezimin yazım ve deney aşamasında yardımlarını gördüğüm danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Şule TATAR’a katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Tez çalışmamın her aşamasında manevi desteklerini benden esirgemeyen Mühendislik Fakültesi öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Nuran CIKCIKOĞLU YILDIRIM’a sonsuz teşekkürlerimi borç bilirim.

Model canlının temininde desteğini benden esirgemeyen Arş. Gör. Osman SERDAR’a teşekkür ederim.

Başta rahmetli annem Nuriye TÜRKMENOĞLU ve kıymetli eşim Ebru TÜRKMENOĞLU olmak üzere yüksek lisans çalışmam süresince maddi ve manevi desteğini esirgemeyen sevgili aileme teşekkür ederim.

YENER TÜRKMENOĞLU

TUNCELİ - 2018

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖZET.....	II
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜRLER.....	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VIII
TABLolar LİSTESİ.....	VII
RESİMLER LİSTESİ.....	IXI
KISALTMALAR	X
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Endokrin Bozucu Maddeler (EBM).....	3
1.1.1. Kimyasal Yapı ve Özellikleri Açısından Endokrin Bozucu Maddelerin Sınıflandırılması.....	4
1.1.2. Endokrin Bozucu Maddelerin İnsan ve Çevre Sağlığı Üzerine Etkileri.....	5
1.1.3. Bisfenol A (BPA).....	8
1.2. Biyoindikatörler	10
1.2.1. Biyoindikatör Bir Tür Olarak <i>Gammarus pulex</i>	11
1.3. Biyobelirteçler.....	12
1.4. Oksidatif Stres.....	13
1.5. Enzimatik Antioksidanlar	14
1.5.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	14
1.5.2. Katalaz (CAT).....	15
1.6. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	16
1.6.1. Glutatyon (GSH)	16
1.7. Lipid Peroksidasyonu (LP)	17
1.7.1. Malondialdehit	19
2. MATERYAL VE YÖNTEM	20
2.1. Model Canlının (<i>G. pulex</i>) Temini.....	20
2.2. <i>G. pulex</i> 'lerin Laboratuvar Koşullarında Kültürlenmesi.....	20

2.3. Bisfenol A'nın LC50 Değerlerinin Belirlenmesi.....	21
2.4. <i>G.pulex</i> 'in Bisfenol A'ya Maruz Bırakılması.....	22
2.5. Diseksiyon İşlemleri ve Dokuların Hazırlanması.....	22
2.6. Biyokimyasal Yanıtın Belirlenmesi	23
2.6.1. Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi	23
2.6.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi.....	23
2.6.3. Glutasyon (GSH) Düzeyinin Belirlenmesi.....	23
2.6.4.TBARS(Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddesi) Düzeylerinin Belirlenmesi.....	24
3. BULGULAR.....	25
3.1.Enzimatik Antioksidanlar	26
3.1.1. SOD Aktivitesi.....	26
3.1.2. CAT Aktivitesi.....	26
3.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	27
3.2.1. GSH Seviyeleri	27
3.2.2. TBARS Seviyeleri.....	28
4. TARTIŞMA.....	30
5. SONUÇLAR.....	33
6. ÖNERİLER	34
7. KAYNAKLAR	35

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1. BPA'nın Yapısı	10
Şekil 1.2. Kirleticinin biyolojik bir sisteme girmesiyle gelişen reaksiyonlar	13
Şekil 1.3. Glutasyonun yapısı	16
Şekil 1.4. Lipid peroksidasyonunun kimyasal yolu	18
Şekil 3.1. Farklı konsantrasyonlarda BPA'ya maruz kalan <i>G. pulex</i> 'de SOD (u/ml) aktivitesindeki değişiklikler	26
Şekil 3.2. Farklı konsantrasyonlarda BPA'ya maruz kalan <i>G. pulex</i> 'de CAT (nmol/dk/ml) aktivitesindeki değişiklikler	27
Şekil 3.3. Farklı konsantrasyonlarda BPA'ya maruz kalan <i>G. pulex</i> 'de GSH (nmol/g doku) düzeylerindeki değişiklikler	28
Şekil 3.4. Farklı konsantrasyonlarda BPA'ya maruz kalan <i>G. pulex</i> 'de TBARS (nmol/g doku) düzeylerindeki değişiklikler	29

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1.1. BPA'nın genel özellikleri	9
Tablo 3.1. Bisfenol A'ya Maruz Bırakılan <i>G. pulex</i> 'de Bazı Antioksidan ve Enzim Aktivitesindeki Değişimler	25



RESİMLER LİSTESİ

Sayfa No

Resim 1.1. <i>Gammarus pulex</i>	12
Resim 2.1. <i>G. pulex</i> örneklerinin doğal ortamına benzer şekilde hazırlanmış akvaryumlar	21
Resim 2.2. Akvaryumlara yeterli hava akımını sağlayan hava motorları bağlanarak <i>G. pulex</i> örnekleri için gerekli oksijen akımı verilmesi	22



KISALTMALAR

BPA:	Bisfenol A
CAT:	Katalaz
DDT:	Dikloro Difenol Trikloroetan
DES:	Dietilstilbestrol
DTNB:	5,5'-ditio-bis-2-nitrobenzoik asit
EBM:	Endokrin Bozucu Madde
ELISA:	Enzyme Linked İmmunosorbebt Asssay
GSH:	Glutasyon
GSSG:	Okside Glutasyon
H₂O₂:	Hidrojen Peroksit
LP:	Lipid Peroksidasyonu
MDA:	Malondialdehit
O₂:	Oksijen
PCB:	Poliklorine Bisfeniller
ROS:	Reaktif Oksijen Türleri
SOD:	Süperoksit Dismutaz
TBARS:	Tiobarbitürik Asit Reaktif Maddesi
µm:	Mikrometre

GİRİŞ

Canlı bir organizma ya da bir topluluğu yaşamı boyunca etkileyen her tür biyotik ve abiyotik faktör çevre olarak tanımlanmaktadır (Yücel ve Morgil, 1998). İnsan ve diğer canlıların yaşamları boyunca ilişki ve karşılıklı etkileşim içinde bulundukları fiziki, biyolojik, sosyal, kültürel ve ekonomik ortam “çevre”dir. Bu tanımdan da anlaşılacağı üzere ilk insanın yeryüzünde ortaya çıkması ile birlikte çevre kavramı da ortaya çıkmıştır. Yani, çevre kavramı insanlık tarihi kadar eskidir. Çevre kirliliği genel olarak; hava, su, toprak, gürültü ve görüntü kirliliği olarak sınıflandırılmaktadır. Bu kirlilikler doğrudan veya dolaylı olarak doğaya zarar vererek doğada yaşamını sürdüren tüm canlı gruplarının zarar görmesine sebep olmaktadır. İnsanlar tarafından oluşturulan görüntü kirliliği ve ışık kirliliği de çevre kirliliği olarak adlandırılmakta, tüm canlı gruplarının zarar görmesine neden olmaktadır. Ekosistemin dengesini bozan çevre kirliliği, iklim değişikliklerine de sebep olmaktadır.

Toprak, hava ve su kirliliği bütün dünyayı ilgilendiren çok önemli sorunların başında gelmektedir. Birçok yerleşim yerinde nüfus yoğunluğunda meydana gelen artış, plansız bir şekilde yapılan sanayi işletmeleri ve çarpık kentleşmenin oluşması gibi faaliyetler sonucunda kaynakların aşırı bir şekilde kullanımıyla meydana gelen atık miktarı artmış, çevre kirliliğinin oluşmasıyla ilgili herhangi bir tedbir alınmamıştır. Bunun yanında çevre kirliliği öyle bir hal almıştır ki, atıklar bilinçsizce direk alıcı ortama bırakılmakta ve doğal yollarla kirliliğin çözümü için herhangi bir önlem alınmamakta ve bu kirlilik artarak devam etmektedir.

Çevreyi oluşturan canlı öğeler arasında insanlar, hayvanlar, bitkiler ve mikroorganizmalar, cansız öğeler arasında ise iklim, hava, su ve yer yuvarlağının yapısı bulunmaktadır. Bu öğeler sürekli olarak birbirleriyle etkileşim halindedirler. İnsanlar, bitkiler, hayvanlar ile bunların yaşadıkları çevre ile olan etkileşimlerinden bir bilim dalı ortaya çıkmıştır. Buna da ekoloji (çevre bilimi) denilmiştir. Bu ekosistem içerisinde karşılıklı etkileşim içinde bulunan bu canlıların her birinin hayatlarını devam ettirebilmeleri için gerekli şartlar mevcuttur. Burada “ekolojik denge” denilen bir

hassasiyet söz konusudur. İşte bu ekolojik denge, ekosistemde bulunan insan faaliyetleri sonucunda bozulmuştur (Sülün, 2002).

Endokrin bozucu madde (EBM)'ler, çevreyi oluşturan canlı öğeler üzerinde geri dönüşü olmayan tahribatlar yapmaktadır. EBM'ler, endokrin sistemin gelişim ve fonksiyonunu değiştiren ekzojen maddeler olarak tanımlanmaktadır. Bu maddeler hormonlar üzerinde (üretimi, salınımı, bağlanması, taşınması, aktivitesi, biyotransformasyonu ve vücuttan atılımı) etkilidirler. Doğal olarak doğada mevcut olan endokrin bozucular, dokularda birikme yapmadan kolaylıkla vücuttan atılırlar. Çünkü yarı ömürleri kısadır. Bu nedenle, yoğun ve çok miktarlarda alınmadıkları sürece önemli bir yan etkiye neden olmazlar. Öte yandan, endüstride, tarımda, ev ve günlük kullanımda yer alan sentetik endokrin bozucular, yağ dokusunda birikebildiklerinden ve vücuttan atılımları yavaş olduğundan ciddi sağlık sorunlarına neden olurlar. EBM'ler, özellikle üreme sistemi ve tiroit fonksiyonlarını etkilemekle birlikte meme, prostat, testis gibi çeşitli kanser oluşumları, trombosit agregasyon bozuklukları ve kemik mineral yoğunluğunun bozulması gibi çok çeşitli sağlık problemlerine yol açabilirler (Desbrow ve ark., 1998; Routledge ve ark., 1998). Avrupa Birliği tarafından EBM'ler ile ilgili 2002 yılında yayınlanan raporda, çok sayıda kimyasal madde içerisinde çevre ve insan sağlığına zararlı olarak gösterilen 60 adet endokrin bozucu madde bulunmaktadır. Önemli EBM'lerin bazıları fitalat, bisfenol A (BPA), pestisitler ve fitoöstrojenler olarak sıralanabilir.

1.1. Endokrin Bozucu Maddeler (EBM)

Endokrin bozucu kimyasallar, ABD Çevre Koruma Ajansına göre, doğal olarak veya insanlardan kaynaklanan, birey veya popülasyon düzeylerinde, geri dönüşümlü yada geri dönüşümsüz etkilere sahip maddeler olarak tanımlanmaktadır (Lintelmann ve ark., 2003).

Son yıllarda yapılan birçok çalışmada, kimyasal maddeler tarafından endokrin sistemin normal fonksiyonlarının etkilendiği görülmüştür. Bu kimyasal maddeler, insan üretimi sonucu ya da doğal yollarla oluşan bitkisel bileşikler olabilir (Göktekin ve Barlas, 2008). Endokrin bozucu kimyasallar geri dönüşümü olmayan etkiler oluşturabilir ve oluşan bu etkiye bir kez bile maruz kalınması ömür boyu sürececek kalıcı izlere neden olabilmektedir. Önemli endokrin bozucu kimyasalların başında Bisfenol A bulunmaktadır. Bisfenol A'nın östrojenik etkisi 1936'dan beri bilinmektedir. Tuvalet kâğıtlarının yapısında yüksek miktarda Bisfenol A tespit edilmiştir. Evsel ve endüstriyel atıksu arıtma tesislerinde yapılan analizlerde de Bisfenol A bulunmuştur (Yamamoto ve ark., 2002). Doğada doğal olarak veya farklı sentetik ve endüstriyel ürünlerin içerisinde de bulunmaktadır (Yeşilkaya, 2008).

Çevre ve insan sağlığı üzerinde risk oluşturabilen plastik katkı maddeleri, küresel atık yönetim sorununa da neden olabilmektedir. Bu nedenle, bünyesinde plastik bulunduran sentetik yapıdaki reçineler, endokrin bozucu olmaları sebebiyle endişe yaratmaktadır. Bazı fitalat türlerinin, endokrin bozucu etkisi sonucu ruhsal bozukluklara ve üreme toksisitesine neden olduğu hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Bang ve ark., 2012). İnsanlar tarafından üretilen bazı kimyasalların, omurgasız canlılar, sürüngenler ve balıklar olmak üzere bazı türler üzerinde üreme fonksiyonlarına zararlı etki yaptığı tespit edilmiştir (Behr ve ark., 2011).

Doğal EBM'ler (fitoöstrojenler), doğal hormon yapısında olduklarından dolayı, kolayca yıkılan, yarı ömürleri kısa, dokularda birikme yapmadan kolaylıkla vücuttan atılan endokrin bozuculardır. Bu sebeplerle de önemli yan etkileri yoktur (Çetinkaya, 2009).

Sentetik EBM'ler ise özellikle tarım ürünleri, gıda maddeleri ve doğum kontrol hapı gibi östrojen ve androjen etkili ilaçlar içerisinde bulunabilirler. Temizlik malzemeleri (deterjanlar gibi), fungusitler, pestisitler, herbisitler ile boyalar, fitalat, BPA, plastik ve

Çözücü maddeler gibi organik kimyasallar EBM'ler arasında sayılabilir (Hachfi ve ark, 2012). İnsanda metabolik faaliyetler sonucunda oluşan ürünler, farmasötikler, biyosidaller, evsel ürünler atıksu arıtma çıkış suları vasıtası ile nehirlerle deşarj olur (Bjorkblom ve ark, 2011).

Endüstriyel alanlarda, tarımsal amaçlı ve evde kullanmak üzere üretilenler ise yapay EBM'lerdir. Temizlik malzemeleri, mantar ilaçları, özellikle pestisitler ve herbisitler olmak üzere üretilen tarım ilaçları, boya maddeleri, plastik malzemeler (fitalatlar, bisfenol A ve vernik) ve çözücüler gibi bazı organik kimyasallar bütün canlılarda endokrin bozucu etki gösterebilmektedirler (Tabb ve Blumberg, 2006). EBM'ler bünyede her zaman aynı etkiye neden olmazlar ve bunun yanında maruz kalınan doz cevap eğrisi her zaman doğrusal olmayabilir (Yeşilkaya, 2008).

Endokrin bozucuların hayvanlar üzerindeki etkisi incelendiğinde: ABD'de yapılan bir çalışmada erkek balıklarda sudaki östrojenin etkisiyle, sadece dişi balıklarda bulunan vitelogenin proteini tespit edilmiştir. Kutup ayılarında çift cinsiyetli yavru doğumları gerçekleşmiştir. Yine ABD'deki bir hayvanat bahçesinde bulunan çitalarda, kısırlık ve karaciğer lenf bezlerinin şişmesine neden oldukları bildirilmiştir (McLachlan ve ark., 2006). Organizmaların EBM'lere sucul ortamlarda maruz kalmaları beslenme, deri ve solunum yolları gibi çeşitli yollarla gerçekleşmektedir.

1.1.1. Kimyasal Yapı ve Özellikleri Açısından Endokrin Bozucu Maddelerin Sınıflandırılması

Kimyasal yapı ve özellikleri açısından endokrin bozucu maddeler şu şekilde sınıflandırılabilir:

- Doğal EBM'ler (fitoöstrojenler): Sentetik veya endüstriyel ürünlerde bulunan EBM'lere oranla yarı ömürleri daha kısadır. Kolayca yıkılarak vücuttan atılmaları nedeniyle canlı organizma için çoğunlukla önemli bir yan etki oluşturmamaktadırlar (Lee, 2007).
- Sentetik EBM'ler: Özellikle tarım ürünleri, gıda maddeleri ve doğum kontrol hapı gibi östrojen ve androjen etkili ilaçlar içerisinde bulunabilirler. İnsanda metabolik faaliyetler sonucunda oluşan ürünler, farmasötikler, biyosidaller, evsel ürünler

atıksu arıtma çıkış suları vasıtası ile nehirlerle deşarj olur, balıklarda kompleks karışımlar halinde biyoakümüle olur (Bjorkblom ve ark., 2011). EBM'lerin dozu ve maruz kalınma süresi, bu maddelerin organizma bünyesinde zararlı etkiler oluşturmada göz önünde bulundurulması gereken önemli bir noktadır. Maruz kalınma süresi uzadıkça yada doz arttıkça organizmada oluşturabileceği olumsuz etkiler daha fazla olacaktır (Barthold ve ark., 1999).

1.1.2. Endokrin Bozucu Maddelerin İnsan ve Çevre Sağlığı Üzerine Etkileri

EBM'lerin insan sağlığı üzerindeki etkileri; bu madde ile karşılaştığı yaşa, maruz kalma süresine, dozuna, tek başına veya karışım halinde karşılaşma durumlarına göre değişmektedir (Çetinkaya, 2009).

Bu maddelerin insan vücudundaki en büyük etkileri üreme sistemi üzerinedir. Ancak bundan başka da birçok olumsuz etkileri vardır. Bu etkiler, kanserojenik, teratojenik, tiroid fonksiyonları, kardiyovasküler, kemiklerdeki mineral yoğunluğu üzerine pozitif ve negatif etkiler, vücut ağırlığının azalması, erkek veya dişi yavru oranlarında bozulma olarak belirtilmektedir (Kelce ve Wilson, 2001).

EBM'ler, düşük konsantrasyonlarda dahi hormonal olarak aktif olabilmektedir. Yapılan son çalışmalarda atıksularda, yüzey sularında, yeraltı sularında ve içme sularında bile yüksek konsantrasyonlarda EBM bulunması endişe verici olmaktadır. EBM'ler insan bünyesine gıdalar, su ve çevre yoluyla katılmaktadır. Kız çocuklarında ergenlik yaşının aşağılara çekilmesi, erkeklerde sperm sayısının azalması, üreme organlarında fonksiyon bozuklukları, meme, yumurtalık, testis ve prostat kanserlerinde artış görülmesi endokrin bozucuların ciddi etkileri arasındadır (Bach ve ark., 2012).

EBM'ler önceden planlanmamış ve elde olmayan nedenlerle üretilmiş ekzojen sinyallerdir. Hormonlar tarafından kontrol edilen fizyolojik süreçleri bozma potansiyeline sahiptirler. Canlılar için önemli olan bu süreçler: büyüme, gelişme, bağışıklık, eşeysel farklılaşma ve üremedir. Son yıllarda yapılan laboratuvar ve arazi çalışmalarından elde edilen verilere göre EBM'lerin, biyolojik kaynakların azalması ve biyoçeşitlilik kaybında potansiyel anahtar faktörler olduğu belirtilmiştir. EBM'ler sadece tatlı sulardaki biotayı

etkilemez, ayrıca deltalar, kıyısız bölgeler ve okyanuslarda yaşayan canlılar için de potansiyel tehlike oluşturmaktadırlar (Zhou ve ark., 2009).

EBM'ler, hormonun biyolojik olarak sentezi, vücutta taşınması, parçalanması ve vücuttan atılma şeklini değiştirebildikleri gibi, hedef hücredeki fizyolojik etki biçimini ve şeklini de değiştirebilmektedirler. Yani EBM'ler hormon sisteminin normal işleyişini birkaç farklı şekilde etkilerler. Reseptöre bağlanarak taklit etme, reseptöre endojen hormonun bağlanmasını engelleme ve doğal hormonların metabolizma ve işleyişlerini değiştirme etkisi göstermektedirler (Brown ve ark., 2004).

Endüstriyel kimyasal yan ürünler ile birlikte kontaminasyonun gerçekleştiği alanlarda balık, kuş ve kabuklu deniz hayvanlarında fertilizasyon azalmakta, ürogenital ve somatik anomaliler artmaktadır.

Literatürde EBM'lerin erkek üreme fonksiyonları üzerine etkileri ile ilgili yapılan çalışmalarda özellikle testiküler dokularda apoptozise yol açtığı gösterilmiştir (El-Gohary ve ark., 1999). ABD başta olmak üzere bazı ülkelerde büyükbaş hayvanlar üzerinde östrojenik etki yapan maddelerin kullanılması serbesttir. Bu nedenle aşırı yüksek doza maruz kaldıkları zaman bu hayvanların et ve sütleri ile beslenen çocuklarda erken meme büyümeleri gözlenmiştir. İtalya'da da aynı kantinden tavuklu sandviç yiyen çocuklarda benzer sorunlar tespit edilmiştir (Yeşilkaya, 2008).

Polikarbonat içerikli plastiklerin içerisinde ve özellikle de gıda kaplarında ve dış malzemelerinde mevcut bir madde olan bisfenol-A, östrojen reseptörlerine bağlanma yoluyla östrojenik bir tesir göstermektedir (Vom Saal ve ark., 1998). Bisfenol-A'ya maruz bırakılan erkek farelerde prostatta büyüme, epididim ağırlığında azalma ve anogenital bozukluklarda artış ve dişi farelerin overlerinde yumurta sayısında azalma gözlenmiştir. Dişi farelerde ayrıca endometrium epitel hücrelerinde çoğalma, overlerde farklılaşmalar ve uterus ağırlığında artma tespit edilmiştir (Maffini ve ark., 2006).

Birçok EBM, organik yapıda olmaları nedeniyle biyolojik yaşam zinciri ve sedimentlerde birikme potansiyelindedir. Oldukça kararlı ve kalıcı bileşikler olduklarından, zaman içerisinde farklı taşınım sonucunda çevrede dağılırlar. Ancak EBM'lerden en fazla etkilenen ortamlar sucul ortamlardır. Sedimentlerde biriken bu maddeler, o ortamlarda yaşamını sürdüren bentik organizmalar ve balıklar için olumsuz etkiye sahiptirler (Roefler ve ark., 2000).

EBM'ler havaya hava emisyonu ile geçmekte ve yağmur yoluyla yeryüzüne dönmekten önce atmosferde kilometrelerce taşınabilmektedir (Allsop ve ark., 1997).

EBM'lerin hayvanlar üzerindeki tesirleri şu şekildedir:

- Üremede zayıflık, yumurta açılımında düşme ve iskeletlerde anormallikler;
- Imposeks;
- Feminizasyon;
- Üreme gelişiminde zayıflama;
- Kandaki anormal hormon seviyeleri neticesinde; bağışıklık sisteminde çökme, nörolojik sorunlar, üreme dokularındaki kanser ve kemik densitesi ve yapısında görülen anormallikler.

Endokrin bozucuların insan sağlığı üzerinde zararlı etkilere sebep olması ile bazı kimyasalların üretimi ve kullanılması yasaklanmaya başlanmıştır. Östrojenik etkili bir madde olan DES (dietilstilbestrol'in) nadir olarak görülen vajina kanseri ile ilişkili olduğu ortaya çıkınca ABD Gıda ve İlaç Komisyonu 1971 yılında DES'in ilaçlarda kullanılmaması için uyarıda bulunmuştur. Ayrıca, 1979 yılında PCB'lerin (poliklorine bisfeniller), 1972 yılında DDT'nin (dikloro difenol trikloroetan) genel kullanımı yasaklanmıştır (Kabir ve ark., 2015).

EBM'lerin etkilerine karşı alınabilecek önlemler (Url-1 ve Url-2):

- İlkokul yıllarından başlayarak bu maddelere karşı bilinçlendirme eğitimleri yapılmalıdır.
- Doğal ortamlarının bozulmadan korunmasına özen gösterilmelidir.
- Çocuk sahibi olmak isteyen çiftlere, hamile ve yeni anne olanlara eğitim verilmelidir.
- Tüm dayanıklı tüketim malzemeleri, evde kullanılan ürünleri alırken bilinçli davranılmalıdır.
- Sebze ve meyvelerin tarımsal ilaçlardan temizlenmiş olmasına özen gösterilmeli ve gerekirse musluklara filtre takılmalıdır.
- Bilhassa işlenmişler olmak üzere tüm gıda maddeleri ile temas halinde olan plastik ve benzeri petrokimyasallardan üretilmiş kapların ve ambalajların seçiminde dikkatli olunmalıdır.
- Hazır sularda cam şişeler tercih edilmelidir.

- Kaynağı ve içeriği belli olmayan bitkisel karışımlar sağlık uzmanlarına danışılmadan tüketilmemelidir ve bilinmedik mantarlar yenmemelidir.
- Bebek ve çocukların gelişimleri izlenmeli ve normal olup olmadıkları mutlaka izlenmelidir.
- Erken ya da geç ergenlik belirtileri olan, hızlı ve aşırı kilo alan çocuklar doktor kontrolünden geçirilmelidir.
- Şüpheli gölet ve su birikintilerine hiçbir amaçla girilmemelidir.
- Kullanılmayan deterjan ve ilaçlar lavabo, klozet gibi yerlere dökülmemelidir.
- Sinek ve sivrisinek kovucu olarak doğal uçucu yağlar tercih edilmelidir.
- Topla oynanan oyunlar gibi oyunlardan sonra, olası pestisit türü maddelere maruz kalmış olabilecekleri göz önünde bulundurularak ellerin yıkanmasına özen gösterilmelidir.
- Plastik maddelerle sarılı ve plastik kaplarda muhafaza edilen ürünlerin, özellikle mikrodalga fırınlarda ısıtılmaması gerekmektedir. Bunların yerine seramik kaplar tercih edilmelidir.
- Plastik şişede muhafaza edilen anne sütü ve mamaların mikrodalga fırınlar ile temasının önlenmesi gerekmektedir.

1.1.3. Bisfenol A (BPA)

İlk olarak 1891 yılında sentezlenen BPA, en çok kullanılan endüstriyel kimyasallardan biridir (Dodds ve Lawson, 1938). BPA, polikarbonatlı plastiklerin ve epoksi reçinelerin üretiminde kullanılan başlıca monomerdur. Polikarbonatlı plastikler; biberonlar, gıda saklama kapları, su şişeleri ve şişe kapakları, gözlük camları, CD, DVD ve elektronik cihazların yapımında kullanılır. BPA, dişlerin çürümesine karşı koruma amacıyla pedodontide ve kompozit dolgu malzemelerinin yapısında bulunur (Fleisch ve ark., 2010).

BPA'nın çok geniş alanlarda kullanıldığı için insanlar ömürleri boyunca BPA'ya maruz kalabilmektedir. Maruz kalmada en sık karşılaşılan yol, polikarbonat şişeler ve epoksi reçine ile kaplanmış ambalajlarda bulunan gıda maddelerinin tüketimi ile gerçekleşmektedir (Michałowicz, 2014). Yapılan bir çalışmada 40-95 °C sıcaklık

aralığında ısıtılan ve ilk kez kullanılan plastik bir şişeden suya 0.03- 0.13 µg/dm³ BPA geçişi olduğu ölçülmüştür. Şişelerin 6 aylık kullanımından sonra yine 40-95 °C sıcaklık aralığında ısıtılması sonucunda ise bu rakamın 0.18-18.47 µg/dm³'e kadar arttığı tespit edilmiştir (Nam ve ark., 2010).

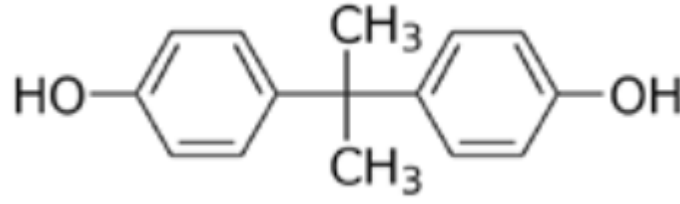
BPA endokrin bozucu bir kimyasaldır ve kullanım alanının geniş olması insanların bu kimyasal ile maruz kalma sıklığını artırmaktadır (Kang ve ark., 2006).

BPA'nın yüksek üretim kapasitesi ve farklı kullanım alanları göz önünde bulundurulduğunda, çevreye önemli miktarlarda BPA girişi olduğu tahmin edilmektedir. Üretim işlemi kapalı sistemlerde gerçekleştiği için bu maddenin üretimi sırasında çevreye verilen miktarı minimum düzeyde olarak kabul edilmektedir. Çevrede bulunan BPA'nın en büyük kaynağı, epoksi, polikarbonat/polisülfon sertleştirici ve kauçuk üretim proseslerinde meydana gelen yüksek hacimlerdeki endüstriyel atıksulardır (Yıldız, 2009). BPA'nın çevresel konsantrasyonu ile ilgili yapılan çalışmalarda, yüzey sularında BPA derişimlerinin farklılıklara sahip olduğu belirtilmektedir (Wenzel ve ark., 2003). Su içerisindeki yarı ömrü 3-5 gün arasındadır ve bu suda yaşayan organizmaları etkilemek için yeterli bir süredir (Führacker ve ark., 2000).

BPA katı kıvamda, beyaz-krem renkte ve kristal yapıda bir maddedir (Şekil 1.1). Sudaki çözünürlüğü düşük olmasına rağmen yağlarda çözünürlüğü oldukça iyidir. BPA'nın fiziksel ve kimyasal özellikleri Tablo 1.1'de gösterilmiştir (Staples ve ark., 1998).

Tablo 1.1. BPA'nın genel özellikleri

IUPAC tarafından adlandırması	2,2-bis(4-hidroksifenil) propan
CAS numarası	80-05-7
Kimyasal formülü	C ₁₅ H ₁₆ O ₂
Yapısal formülü	(CH ₃) ₂ -C- (C ₆ H ₄ -OH) ₂
Molekül ağırlığı	228 g/mol
Erime sıcaklığı	150-155 °C
Kaynama sıcaklığı	220 °C (4 mm Hg)
Alevlenme sıcaklığı	270 °C
Uçuculuğu	193 °C (1 atm basınçta)
Sudaki çözünürlüğü	120 mg/L (25 °C)



Şekil 1.1. BPA'nın yapısı (Dodds ve Lawson, 1936)

1.2. Biyoindikatörler

Herhangi bir habitat içerisinde bazı türler sayısal büyüklükleriyle bazı türler ise vücut ölçülerinin büyüklükleriyle dikkat çekerler. Bazıları baskın türdür. Bazıları ise baskın tür olmamasına rağmen belirli çevre şartlarının veya tür topluluklarının göstergesi olarak kullanılabilirler. Bunlara biyolojik olarak “İndikatör (=Gösterge) Tür” adı verilir. Bazı araştırmacılar biyoindikatör türleri “doğal dengenin bozulduğunu gösteren ve belirli koşullarda gelişebilen türler” olarak tarif etmişlerdir. Bir başka tanım ise “belirli çevresel etkilere karşı aşırı duyarlı olan ve bu etkilere reaksiyon gösteren bitki ve hayvan türleri”dir (Özdemir ve Gürkan, 2006).

Biyoinikatör türler, farklı stres koşulları altında biyomarkır olan parametrelerdeki değişimleri yüksek seviyelerde açığa çıkaran belirleyici canlılardır (Adams, 2002). Bu canlılar, toksik maddeleri bünyelerinde biriktirme potansiyeline sahiptirler (Alexopoulos ve ark., 2003). Ayrıca ortamdaki toksik maddenin türüne göre biriktirdikleri toksik madde miktarlarında da farklılık görülebilmektedir (BriggsReed ve Heagler, 1997). Biyoindikatörler, baskılayıcı ajanların neden olduğu etkilerin belirlenmesinde sıklıkla kullanılırlar ve ekolojik risk değerlendirmelerinde ve etkilenen türlerin korunmasında katkıda bulunurlar (Tejeda- Vera ve ark., 2007).

Biyoinikatör olarak kullanılacak organizma grupları bazı özelliklere göre belirlenmektedir. Bu organizma grupları öncelikle kolay teşhis edilebilmeli, kolaylıkla toplanabilmeli, kozmopolit bir dağılım göstermeli, indikatör olarak seçilecek organizmanın hakkında otoekolojik veri zengin olmalı, kirlilik etmeni olan zararlı maddeyi vücudunda biriktirmiş olmalı, laboratuvarında kolayca üretilbilmeli, genetik yönden ve biyolojik kmmünitedeki rolleri açısından düşük değişim özellikleri göstermelidir. Biyolojik indikatör olarak kullanılabilecek organizmalar; bakteriler, protozoalar, bentik algler, taban

büyük omurgasızları, makrofitler çift kabuklu yumuşakçalar ve balıklardır (Kazancı ve ark., 1997).

Farklılıklarına göre 3 tür biyoindikatör varlığından bahsedilebilmektedir (Gerhardt, 2009).

- Çevresel İndikatörler
- Ekolojik İndikatör
- Biyoçeşitlilik İndikatörü

1.2.1. Biyoindikatör Bir Tür Olarak *Gammarus pulex*

Gammaridae familyası, Amphipoda ordosu içinde yaşamını sürdüren en ilkel üyeleri de içine alan büyük bir gruptur. Bu grup, 210'dan fazla cins ve 1350'den fazla türe sahiptir ve bu türler genellikle tatlı sularda görülmektedirler (Barnard ve Barnard, 1983). *Gammarus* cinsine ait olan türlerin çoğu yüzey sularında yaşamaktadır ancak birkaçı kuyu, mağara ve diğer yeraltı habitatlarında görülmüştür.

Amphipoda'ya ait cinslere bakıldığında, *Gammarus* cinsi, yüzey sularında yaşayan en fazla tür sayısına sahiptir (Karaman ve Pinkster, 1977). *Gammarus* cinsi, Güney Avrupa ve Türkiye'deki tatlı sularda oldukça yüksek bir tür çeşitliliğine sahiptir (Karaman, 1973). Çoğunlukla sulardaki verimli bölgelerde ve bitkiler arasında, taşların altında, kum, çakıl ve ölü canlıların arasında yaşarlar. Genellikle parçalanmış hayvan ve bitkiler ile beslenirler. Başta balık ve su kuşları olmak üzere sudaki etçil canlıların besin kaynağını oluşturmaktadırlar (Barnard ve Barnard, 1983).

Gammaridaeeler, su kalitesi çalışmalarında biyoindikatör organizmalar olarak kullanılmaktadırlar. Çoğunlukla kimyasal madde ve metal içerikli su kirliliği çalışmalarında Gammaridae familyasına ait türlerden faydalanılır (Džeroski ve ark., 2000; Gazea ve ark., 1999; Rindergehan ve ark., 2000). Yapılan bir çalışmada, kireç madenlerinin bulunduğu bir bölgede iki derenin sedimentinde biriken ağır metal düzeylerini tespit etmek için *Gammarus* türlerinin dokularında bulunan metal akümüasyonu araştırılmıştır (Gazea ve ark. 1999). Sıcaklık ile çinko, bakır ve kurşun toksisitesi arasındaki ilişkinin incelendiği bir çalışmada *Gammarus pulex* biyoindikatör olarak kullanılmıştır (Bat ve ark., 2000) (Resim 1.1).



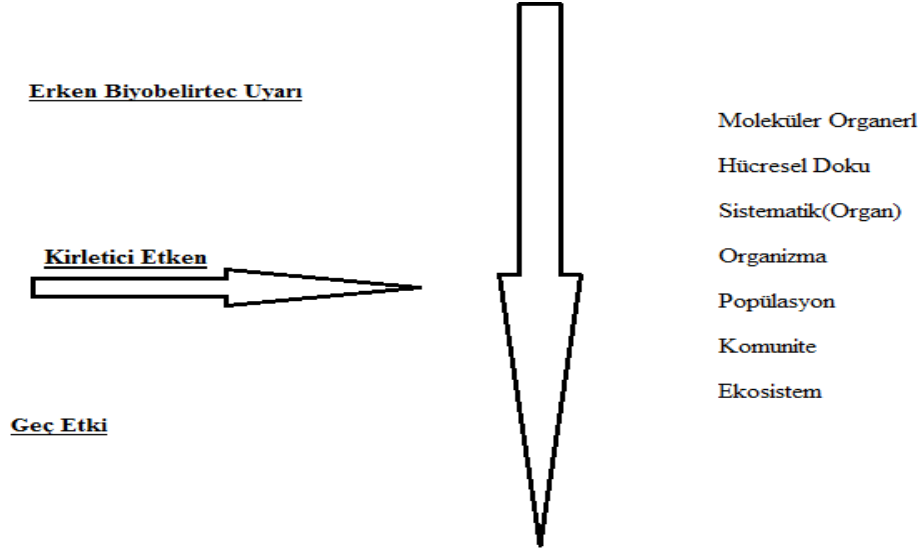
Resim 1.1. *Gammurus pulex*

1.3. Biyobelirteçler

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) biyobelirteç terimini, canlı organizmalarda ortaya çıkan hastalıkların etkilerinin veya sonuçlarının tahmini için vücutta ölçülebilir olan her bir madde, yapı veya süreçler olarak tanımlamaktadır. Biyobelirteçler, belirli çevresel baskıların neden oldukları, fizyolojik, biyokimyasal, immünolojik ve histopatolojik etkiler gibi çoklu toksik etkileşimlerin göstergesidirler (Sanchez-Hernandez, 2007). Biyobelirteçler, kan, vücut sıvıları veya dokularda bulunan, normal veya anormal bir durumun göstergesi olan biyolojik moleküllerdir (Poste, 2011).

Biyobelirteç terimi, başlangıçta tıp alanlarında kullanılmıştır. Sucul ortamlarda ise oluşan kirliliğinin belirlenmesinde tercih edilmiştir. Çoğunlukla omurgasız ve çift kabuklu yumuşakça türü canlılardan sağlanan parametreler için de kullanılır olmuştur (Hamza-Chaffai, 2014). Biyobelirteçler biyolojik analiz yöntemleri olarak da tanımlanabilirler, ekosistemlerde yaşayan canlı organizmalarda kirlenmenin etkilerini iyi yansıtabilirler (Maggioni ve ark., 2012).

Kirleticinin biyolojik bir sisteme girmesiyle, su ortamına girdiği andan itibaren moleküler düzeyden başlayarak ekolojik düzeye varan değişiklikler Şekil 1.2’de gösterilmektedir (Kuniyoshi ve Braga, 2010).



Şekil 1.2. Kirleticinin biyolojik bir sisteme girmesiyle gelişen reaksiyonlar (Kuniyoshi ve Braga, 2010).

Biyobelirteçler çoğunlukla sucul kirliliğin olduğu ortamlarda prognoz veri sağlamak amacıyla kullanılmaktadır. Bu veriler moleküler, hücresel, genetik, immünolojik ve fizyolojik ölçümleri içermektedir. Örneğin enzimler gibi biyokimyasal ve fizyolojik belirteçler, sucul organizmaları etkileyecek su kalitesi parametre değişimlerine neden olan çevresel kirleticilerin belirlenmesinde kullanılabilir (Osman ve ark., 2010). Kullanılan biyobelirteçlerden başlıcaları; kondisyon faktörü, sitokrom P450 enzimleri, DNA hasarı, asetilkolinesteraz enzim aktivitesi, metallothionein sentezi, antioksidan enzimler, lipid peroksidasyonu, vitellogenin düzeyleri (endokrin bozucu kimyasallar) ve histopatolojidir (Valvanidis ve Vlachogianni, 2010).

1.4. Oksidatif Stres

Oksijen yaşam için önemli bir moleküldür. O_2 molekülü şeklindeyken az aktif bir maddedir ama normal metabolizma sırasında, çeşitli çevre şartlarında ve kirleticilerin bulunduğu ortamlarda (radyasyon, kuraklık, hava kirliliği sigara dumanı, sıcaklık stresi herbisitler vs.) yüksek derecede toksik ara moleküller meydana getirir.

Antioksidan sistemleri, aerobik canlılarda serbest radikal oluşumunu kontrol etmek ve bu moleküllerin vereceği zararlara engel olmak için gelişmiştir. Bazı durumlarda

mevcut antioksidan savunma sistemi bu radikallerin etkisini tamamen engelleyemez ve oksidatif stres olarak tanımlanan durum meydana gelir. Tüm organizmalarda olduğu gibi sucul canlılarda da çevresel koşullar nedeniyle oluşan stres etkileri, oksidatif stres ile ilişkilendirilebilir. Bu canlılarda oksidatif strese sebep olan çevresel şartlar çoğunlukla; sıcaklık, oksijen düzeyi, salinite, mevsim değişiklikleri, geçiş metal iyonları, pestisitler ve petrol türevleridir.

Basit bir tanımla oksidatif stres, vücudun antioksidan savunma mekanizması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna sebep olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizliktir (Mercan, 2004). Süperoksit anyon radikali ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türleri tarafından başlatılır. Her ikisi de güçlü oksidanlar olmakla birlikte dokularda meydana gelen zararlı reaksiyonlar sonucunda daha tehlikeli hale dönüşebilmektedirler (Jain, 2006). Oksidasyon tepkimelerinde rol alması sebebiyle oksijen, hücreler için vital bir fonksiyona sahiptir (Kavas, 1989). Yüksek derişimlerdeki oksijenin hücresel yapılar için toksik olması hücreyi riske sokmaktadır (Halliwell, 1994). Ancak toksik etkiye sahip olan moleküler oksijen değildir. Tam indirgenmemiş oksijen metabolitleri ve elektromanyetik dalga oluşumuna neden olan oksijen radikalleri toksik etkiye sahiptir ve bu durum anaerobik canlılarda da böyledir (Sies, 1991).

Bir biyobelirteç olarak enzimler genelde ilk organizasyon düzeyi ile ilgili olup, bir “erken uyarı” işareti olarak değerlendirilebilir. Bu kapsamda da biyobelirteç olarak ele alınacak enzimler antioksidan enzimlerdir.

1.5. Enzimatik Antioksidanlar

1.5.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

SOD, oksijen ve hidrojen peroksit içine süperoksit anyonun parçalanması katalize eden bir enzim sınıfıdır. Bu enzimler, hemen hemen bütün hücrelerde aerobik ve hücre dışı sıvılarda mevcut bulunmaktadır. SOD ilk olarak 1968’de oksijenli solunum yapan canlılarda tespit edilmiştir. Süperoksitin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizlemektedir. Daha sonra hidrojen peroksit, glutatyon peroksidaz ve katalaz enzimi ile etkisiz hale getirilmektedir. SOD, hücre bölünmesinde süperoksit

seviyelerini kontrolde önemli bir rol oynar (Fridovich, 1983). Antioksidan etkisi ilk defa 1969 yılında tespit edilmiştir (Mccord ve Fridovich, 1969).

Aktif merkezinde bulunan metale göre üç çeşittir: bakır-çinko (CuZnSOD), mangan (MnSOD) ve demir (FeSOD). Omurgasızlarda SOD aktivitesi omurgalılara göre daha düşük aktivite göstermekle birlikte, büyük ölçüde farklılıklar gösterir. Omurgasız CuZnSOD formu memelilerdekine benzer bir özelliktedir. Amfibilerdeki SOD, beyinde en yüksek ve akciğerde en düşük aktiviteyi gösterirken yüksek omurgalıların karaciğerlerinde çoğunlukla en yüksek düzeydedir (Ahmad, 1995).

1.5.2. Katalaz (CAT)

19. yüzyılın başlarından itibaren katalaz ile ilgili araştırmalar başlamıştır. Thenard 1811'de H_2O_2 'i keşfetmiş ve canlıda kendi kendine parçalandığını belirtmiştir (Zamocky ve Koller, 1999). Bu enzim tüm hayvan ve bitkilerde ve bazı bakterilerde bulunur. Katalaz (CAT: EC 1.11.1.6) çeşitli canlı organizmalarında bulunan ve yapısında dört tane hem grubu ihtiva eden bir çeşit hemoproteindir. Bu enzim canlı hücrelerin peroksizomlarında bulunur ve hidrojen peroksidi substrat olarak kullanarak suya dönüşümü reaksiyonunu katalizler (Çimen ve ark., 2005).

CAT daha önce de belirtildiği üzere H_2O_2 'nin katabolizmasında, etanol, metanol ve elementel civa gibi maddelerin peroksidatik oksidasyonunda görev alan önemli bir antioksidan enzimdir (Aebi, 1984). CAT, hidrojen peroksitin su ve oksijene dönüştürülmesini katalizlemektedir. Böylelikle hidrojen peroksit tarafından hücrel bileşiklerin zarar görmesini engellemektedir (Wu ve Cederbaum, 2003).

CAT'ın ana fonksiyonu, moleküler oksijenin varlığında metabolizmanın bazı kademelerinde sentezlenen hidrojen peroksit ve ROOH gibi bir peroksidi gidererek, bunların özellikle membranlarda oluşturabilecekleri geri dönüşümü olmayan hasarları önlemektir (Keha ve Küfrevioğlu, 2001). Çünkü H_2O_2 , singlet oksijen ve hidroksil radikalının kaynağıdır (Huang ve ark, 1983).

CAT, H_2O_2 'in parçalanmasına neden olan bir enzim olduğu için, H_2O_2 'in kullanıldığı ve aşırı miktarlarının ortamdaki uzaklaştırılmasının gerektiği tüm proseslerde kullanılabilir. Bunu yapabilmesi için bu proses şartları altında aktivite gösterebilmesi

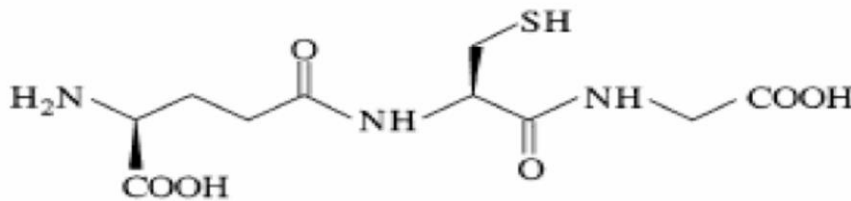
gereklidir (Başak, 2011). H_2O_2 , reçine ve plastik imalatında oksidasyon ve köpükleştirme amacıyla ya da gıda sanayinde sterilizasyon amacıyla kullanılabilir. H_2O_2 'in fazlası CAT ile parçalanabilir (Seriner, 2010).

1.6. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

Glutasyon, melatonin, ürik asit, bilirubin, albümin, koenzim Q, selenyum, α -lipoik asit, seruloplazmin ve transferrin, enzimatik olmayan antioksidanlardan bazılarıdır (Ünal, 2007). Serbest radikallere karşı, hücrenin en önemli savunma aracı glutatyondur. En toksik serbest oksijen radikali olan hidroksil radikalının kaynağı olan H_2O_2 glutasyon peroksidaz ile suya yıkılırken; diğer organik hidroperoksitler alkollere redüklenmektedirler (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

1.6.1. Glutasyon (GSH)

GSH; glutamik asit, sistein ve glisinden oluşmaktadır. Düşük molekül ağırlığına rağmen fonksiyonu büyük bir tripeptiddir (Kidd, 1997). İlk kez 1890 yılında “philothion” olarak adlandırılan glutasyon (gamma-glutamilsisteinil glisin) RH_2 formülü ile gösterilmiştir (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Glutasyonun yapısı (Antmen, 2005)

Mikroorganizmalardan insanlara kadar birçok hücrede sentezlenen, intrasellüler konsantrasyonda çok yüksek oranda bulunan, düşük molekül ağırlıklı, non-protein tiyol yapısında olan önemli bir antioksidandır (Meister ve Anderson, 1983).

Glutasyon metabolizmada meydana gelen serbest oksijen türlerinin yıkıcı etkilerine karşı hücreleri koruyan en önemli antioksidan maddelerden birisidir. Glutasyon hücrelerde okside (GSSG) ve redükte (GSH) formda bulunur ve antioksidan etkisini bu iki form arasındaki döngüsü sırasında gerçekleştirmektedir. GSH'ın esas reaktif grubu SH grubu, serbest radikallerin ortaklanmamış elektronu ile bağlanarak radikal oluşumunu azaltmaktadır. Lipit peroksidasyonunun oluşumu ile GSH konsantrasyonu azalırken, GSSG konsantrasyonu yükselir. Çevre, metabolizma ve bireye bağlı birçok faktörün etkisiyle organizmada oksidatif stres artabilir ve buna bağlı olarak da serbest radikal oluşumu artar. Dolayısıyla hücreleri bu serbest radikallerin yıkıcı etkilerine karşı korumakla görevli GSH düzeyleri de değişmektedir. Hücrelerde oksidatif stres artarken genellikle GSH düzeyleri düşer, bununla birlikte GSSG seviyeleri yükselir (Meister ve Anderson, 1983).

Glutasyonun organizmadaki biyolojik görevlerini aşağıdaki gibi sıralaya biliriz (Kamiloğlu, 2002).

- Endojen peroksitler ve serbest radikallerin yıkımı
- Zararlı bazı bileşiklerin detoksifikasyonunu sağlaması
- Aminoasitlerin membran transportunda yer alması
- Proteinlerdeki –SH grubunu koruması
- Bazı enzimler için koenzim görevi yapması
- Disülfid değişim reaksiyonlarına katılması

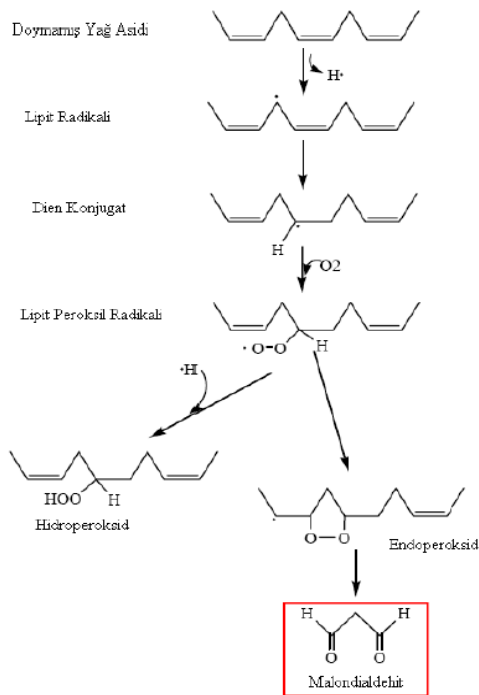
1.7. Lipid Peroksidasyonu (LP)

Çok iyi tanımlanmış bir hücresel hasar mekanizması olmakla birlikte doku ve hücrelerde oksidatif stresin bir indikatörü olarak kullanılmaktadır (Dorval ve ark., 2003). LP reaksiyonu, hücre membranında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin, serbest radikaller ile peroksitler, alkoller, aldehidler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi farklı ürünlere yıkılmasına neden olmaktadır. Böylelikle hücre zarının lipid yapısı, hücre yapısı ve fonksiyonları bozulmaktadır. LP'nda yer alan en önemli serbest oksijen radikali, hidroksil radikalidir (Yagi, 1987).

LP üç aşamada gerçekleşmektedir:

- Başlangıç basamağı
- İlerleme basamağı
- Sonlanma basamağı

LP, enzim gerektirmeyen ve ileri safhalarında yeni serbest radikal oluşumunu ve/veya ara lipid hidroperoksit ürünlerinin meydana gelmesi ile karakterizedir. Malondialdehid (MDA), lipid peroksidasyonunun bir ürünüdür. Tiobarbiturik asit ile birlikte in vitro reaksiyonu, lipid peroksidasyonunun ölçülmesinde en sık kullanılan test yöntemidir. Birçok LP sırasında az miktarda MDA oluşmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1999). Lipid peroksidasyonunun kimyasal yolu Şekil 1.4'te gösterilmiştir (Deveci, 2007; Çetin, 2011).



Şekil 1.4. Lipid peroksidasyonunun kimyasal yolu (Deveci, 2007; Çetin, 2011)

1.7.1. Malondialdehit (MDA)

Serbest radikallerin seviyeleri arttığında ve hücrelerin antioksidan kapasitesini aştığı zaman lipit peroksidasyonu oluşur. Lipit peroksidasyonu, lipit hidroperoksitin aldehitlere ve diğer karbonil bileşimlerine dönüşümü yoluyla sonlanır. Bu bileşimlerden biri malondialdehit (MDA)'dır ve lipit peroksitlerin seviyesini tespit etmek için kullanılabilir (Khoshsorur ve ark., 2000).

MDA, lipid peroksidasyonu ve prostaglandin biyosentezinde doğal olarak meydana gelen, mutajenik ve karsinojenik bir üründür (Dix ve Aikens. 1993). Malondialdehit [MDA; $\text{CH}_2(\text{CHO})_2$] lipit peroksidasyonun son ürünlerinden birisidir ve bir oksidatif stres belirtecidir. MDA, serbest radikaller tarafından gerçekleştirilen membran çoklu doymamış yağ asitlerinin lipit peroksidasyonunun son ürünüdür ve bir oksidatif hasar belirtecidir. Aldehit yapılı bileşimler uzun bir yaşam süresine sahiptir; böylelikle hücre membranlarına doğru geçebilirler ve bu sayede lipit peroksidasyonunun etkileri kan, organ ve dokularda belirebilir (Çobanoğlu ve ark., 2011).

Lipid peroksidasyonu (LP) tepkimeleri sonucunda başta aldehitler ve diğer karbonil bileşikler ile etan, pentan gibi çok sayıda ürün oluşmaktadır. MDA, LP'nin bir göstergesidir. MDA, kan plazmasında kolaylıkla teşhis edilebilen, doku hasarı genel mekanizması ile serbest radikallerce meydana getirilen ve oksidatif stres ölçümlerinde kullanılan bir moleküldür. MDA, üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu neticesinde meydana gelmektedir. LP'nun başlıca ürünü olan MDA, uzun ömürlüdür ve yüksek reaktivitesi sayesinde hücre içi ve hücre dışındaki birçok biyomoleküle etkiyerek geri dönüşümsüz hücre hasarlarına neden olur. Ayrıca MDA, membran akıcılığında azalmaya, membran fonksiyonlarında yavaşlamaya, membran reseptör ve enzimlerinin inaktive olmasına ve Ca^{+2} iyonlarında membran geçişlerinin artmasına yol açmaktadır (Özşahin ve ark., 2004).

2. MATERYAL METOD

2.1. Model Canlının (*G. pulex*) Temini

Çalışmanın canlı materyalini oluşturan *G. pulex* (L., 1758) örnekleri, Munzur Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Araştırma Laboratuvarında kültüre alınmış canlılardan temin edilmiştir.

2.2. *G.pulex*'lerin Laboratuvar Koşullarında Kültürlenmesi

Yaşam ortamından getirilen sedimentler distile su ile yıkanarak 80x40x25 cm ebatlarındaki stok akvaryumlarına ilave edilmiştir. *G. pulex* örnekleri doğal ortamına benzer şekilde hazırlanmış akvaryumlarda kültüre alınmıştır. Laboratuvar aydınlatmasında, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde fotoperyot uygulanmıştır (Welton ve Clarke, 1980). Ortam sıcaklığı termostatlı klima sayesinde hem adaptasyon hem de test aşamalarında $18^{\circ}\text{C}\pm 0,5$ 'ye ayarlanarak sabit tutulmuştur. *G. pulex*'lerin doğal ortamlarından toplanan salkım söğüt ve çayır söğüdü ağaç yaprakları cam bir kapta, suyun içinde çürütülerek *G. pulex*'lerin beslenmesinde kullanılmıştır (Cold ve Forbes, 2004). Çalışmamızda bu amaçla kurulmuş akvaryumlar Resim 2.1'de gösterilmiştir.

Stok akvaryumlarında su sirkülasyonu için harici filtre, *G. pulex*'lerin oksijen ihtiyacını karşılamak için hava motoru kullanılmıştır. Akvaryumlardaki suların %70'i canlıların doğal ortamından temin edilen dinlenmiş suyla haftada bir değiştirilerek yenilenmiştir. Adaptasyon süresince canlıların beslenmesi ve hareketliliği gözlemlenmiştir.



Resim 2.1. *G. pulex* örneklerinin doğal ortamına benzer şekilde hazırlanmış akvaryumlar

2.3. Bisfenol A'nın LC₅₀ Değerlerinin Belirlenmesi

LC₅₀ değeri, 18 °C sıcaklıkta deneysel olarak belirlenmiştir. Bu amaçla yapılan aralık belirleme çalışmasından sonra litrede µg düzeyinde Bisfenol A konsantrasyonları hazırlanmıştır. LC₅₀ değerini belirlemede statik test uygulanmıştır (APHA, 1998).

18 °C sıcaklık için uygulama ortamı sıcaklığı $\pm 0,5$ °C olacak şekilde ayarlanmıştır. Sıcaklık faktörü sabitlendikten sonra cam akvaryumlara canlı ortamından temin edilen ve belirlenen konsantrasyonlarda BPA içeren bir litre su konulmuştur. Akvaryumlara yeterli hava akımını sağlayan hava motorları bağlanarak *G. pulex* örnekleri için gerekli oksijen akımı verilmiştir (Resim 2.2). Hazırlanan konsantrasyonlarda *G. pulex* bireyleri 96 saat BPA'nın etkisinde bırakılmıştır. Denemenin 24, 48, 72 ve 96. saatlerinde gözlemlenmiş, ölen *G. pulex* sayıları tespit edilmiştir. Ölen bireyler deneme ortamından uzaklaştırılmış ve not edilmiştir. Bu süre içinde *G. pulex*'lere besleme yapılmamıştır. LC₅₀ deneyleri her bir sıcaklık için üç defa tekrarlanmıştır. Elde edilen veriler probit analizi ile hesaplanarak 96 saat için LC₅₀ değerleri tespit edilmiştir.



Resim 2.2. Akvaryumlara yeterli hava akımını sağlayan hava motorları bağlanarak *G. pulex* örnekleri için gerekli oksijen akımının verilmesi

2.4. *G. pulex*'in Bisfenol A'ya Maruz Bırakılması

Bisfenol A'nın (BPA) LC_{50} değeri ($249,97 \pm 1,4$) $\mu\text{g/l}$ BPA olarak tespit edilmiş ve sonra üç subletal dozda BPA 24 ve 96 saat boyunca *G. pulex*'e uygulanmıştır. *G. pulex* (her grup için n: 10), 24 saat ve 96 saat boyunca BPA içeren sentetik solüsyonlara maruz bırakılmıştır. Dört deney grubu aşağıdaki şekilde tasarlanmıştır: A (25 μg BPA içeren grup); B (12,5 μg BPA içeren grup); C (6,25 μg BPA içeren grup) ve kontrol grubu.

2.5. Diseksiyon İşlemleri ve Dokuların Hazırlanması

Bu kısımdaki tüm çalışmalar Munzur Üniversitesi Merkezi ARGE Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda kullanılan model canlı *G. pulex* dokuları tartılmış ve 1/5 w/v oranında PBS tamponu (fosfat ile tamponlanmış tuz çözeltisi) eklenerek, buz ile birlikte homojenizatör kullanılarak homojenize edilmiştir. Homojenize edilen bu örnekler soğutmalı santrifüjde 17000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiş ve elde edilen süpernatantlar $-86\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'deki derin dondurucuda ölçüm işlemleri tamamlanıncaya kadar muhafaza edilmiştir.

2.6. Biyokimyasal Yanıtın Belirlenmesi

Çalışmamızda biyokimyasal yanıtın belirlenmesi için, Süperoksit Dismutaz (SOD) ve Katalaz (CAT) aktiviteleri ile Glutasyon (GSH) ve Tiobarbitürik Asit Reaktif Maddesi (TBARS) seviyeleri belirlenmiştir.

Çalışmada kullanılan SOD, CAT, GSH ve TBARS ELISA kitleri Cayman firmasından satın alınmıştır. Katalog numaraları: (CAT: 707002, SOD: 706002, GSH: 703002, TBARS: 10009055).

2.6.1. Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan kit, enzim aktivitesinin belirlenmesi için CAT'ın peroksidatik fonksiyonunu kullanmaktadır. Yöntem, enzimin optimal bir H_2O_2 konsantrasyonunun varlığında metanol ile reaksiyona girmesine dayanmaktadır. Üretilen formaldehit, 4-amino-3-hidrazino-5-merkapt-1,2,4-triazol (purpald) ile kromojen olarak spektrofotometrik olarak ölçülmektedir. 1,2 Purpald, özellikle aldehitlerle bisiklik bir heterosikl oluşturmakta; oksidasyon değişimine bağlı olarak renksizden mor renge doğru bir değişim gözlenmektedir.

2.6.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Kit içeriğinin belirlediği bu yöntem, ksantin oksidaz ve hipoksantin tarafından üretilen süperoksit radikallerinin belirlenmesi için tetrazolium tuzunu kullanmaktadır. Bir ünite SOD, süperoksit radikalının % 50'sinin dismutasyonunu gösteren enzim miktarı olarak tanımlanmaktadır. Bu yöntem üç tip SOD aktivitesini de belirlemektedir (Cu/Zn, Mn, Fe-SOD).

2.6.3. Glutasyon (GSH) Düzeyinin Belirlenmesi

Cayman marka GSH analiz kiti, GSH miktarının belirlenmesi için glutasyon redüktazı kullanan özenle optimize edilmiş bir enzimatik geri dönüşüm yöntemini

kullanılmaktadır. GSH'ın sülfhidril grubu, DTNB (5,5'-ditio-bis-2-nitrobenzoik asit, Ellman's reaktif) ile reaksiyona girerek sarı renkli 5-tio-2-nitrobenzoik asit (TNB) üretilmektedir. Eşzamanlı olarak üretilen karışık disülfür, GSSTNB (GSH ve TNB arasında) GSH'ı geri dönüştürmek ve daha fazla TNB üretmek için glutatyon redüktazı ile indirgenmektedir. TNB üretim oranı doğrudan bu örnekte GSH konsantrasyonu ile orantılı olan bu geri dönüşüm reaksiyonu ile orantılıdır. TNB'nin 405 veya 412 nm'de absorbanasının ölçülmesi, numunede GSH miktarının belirlenmesi için kullanılmaktadır.

2.6.4. TBARS (Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddesi) Düzeylerinin Belirlenmesi

Lipid peroksidasyonu, bitkilerde hücresel hasarın iyi bilinen bir mekanizması olup, hücrelerdeki ve dokulardaki oksidatif stresin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. Poli doymamış yağ asitlerinden türetilen lipid peroksitler dengesizdir ve malondialdehit (MDA) gibi reaktif karbonil bileşiklerini içeren kompleks bir dizi bileşik oluşturmak üzere ayrışmaktadırlar. MDA, tiyobarbitürik asit ile kontrollü bir reaksiyon vasıtasıyla nicelleştirilebilir ve 'Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeleri' (TBARS) üretilir. Cayman firmasının TBARS kiti yüksek sıcaklık (90-100 °C) ve asidik koşullar altında MDA ve TBA reaksiyonu sonucu oluşan MDA-TBA adüktünün 530-540 nm'de kolorimetrik olarak ölçülmesi esasına dayanmaktadır.

3. BULGULAR

Bu çalışmada Bisfenol A maddesinin farklı dozlarına maruz kalan *G. pulex*'de Süperoksit Dismutaz (SOD) ve Katalaz (CAT) aktiviteleri ile Glutatyon (GSH) ve Tiobarbitürik Asit Reaktif Maddesi (TBARS) seviyeleri belirlenmiş olup elde edilen sonuçlar Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Bisfenol A'ya Maruz Bırakılan *G. pulex*'de Bazı Antioksidan ve Enzim Aktivitesindeki Değişimler

	Antioksidan parametreler	24.SAAT	96.SAAT
SOD (U/ml)	Kontrol	0,11±0,036 ^a	0,02±0,004 ^a
	A	0,32±0,004 ^b	0,030±0,005 ^a
	B	0,24±0,004 ^b	0,021±0,006 ^a
	C	0,29±0,006 ^b	0,020±0,006 ^a
CAT (nmol/dk/ml)	Kontrol	19,94±1,15 ^a	20,6±3,52 ^{ab}
	A	16,16±1,6 ^a	16,49±0,86 ^{bc}
	B	7,6±0,64 ^b	7,6±0,19 ^c
	C	8,86±1,03 ^{b*}	9,01±0,75 ^a
GSH (µM)	Kontrol	0,77±0,15 ^b	1,01±0,07 ^b
	A	3,32±0,99 ^{ab*}	7,38±0,57 ^{a*}
	B	3,81±0,71 ^{a*}	8,48±0,47 ^{a*}
	C	3,35±1,03 ^{ab}	6,74±1,17 ^a
TBARS (µM)	Kontrol	2,50±0,69 ^b	2,7±0,13 ^b
	A	5,6±1,39 ^{ab*}	12,65±0,15 ^{a*}
	B	7,3±1,90 ^a	9,77±2,09 ^a
	C	7,2±0,39 ^{a*}	5,75±0,27 ^{b*}

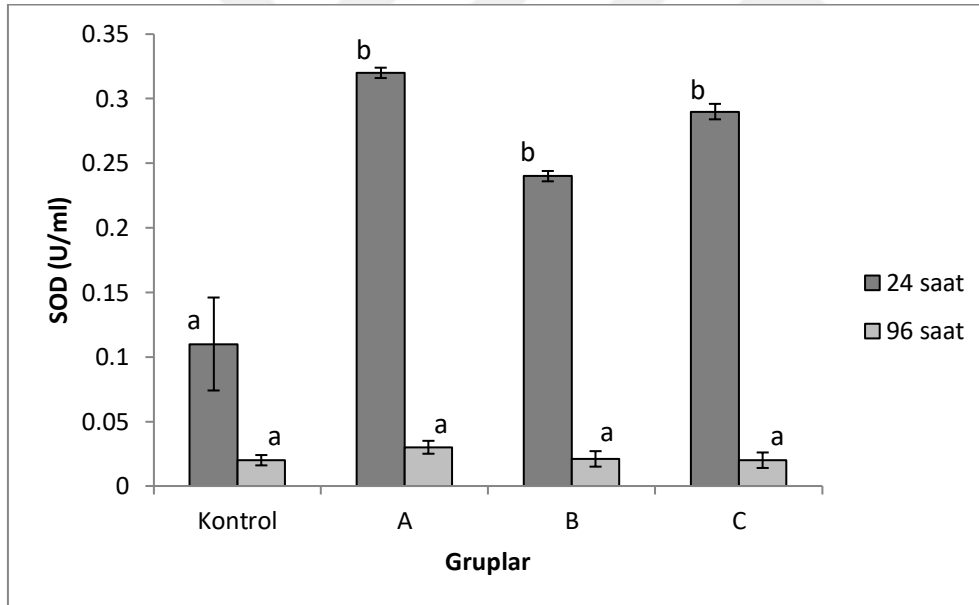
*Üst simgedeki a, b ve c harfleri aynı saatteki farklı gruplar arasındaki ve * işareti ise aynı grubun farklı saatleri (24. ve 96. saatler) arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir.

3.1. Enzimatik Antioksidanlar

3.1.1. SOD Aktivitesi

Farklı konsantrasyonlarda BPA maddesine maruz kalan *G.pulex*'de SOD aktivitesi araştırılmış olup sonuçlar Tablo 3.1'de gösterilmiştir. SOD aktivitesinin kontrol ile kıyaslandığında 24. saatte tüm gruplarda arttığı gözlenmiştir ($p<0.05$). Yine kontrol grubu ile kıyaslandığında 96. saatte A grubunda kısmi bir artış, B ve C gruplarında ise değişim olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$).

Maruz kalma süreleri karşılaştırıldığında ise; istatistiksel olarak gruplar arasında önemli farklılıklar olmadığı bulunmuştur ($p>0.05$) (Şekil 3.1).



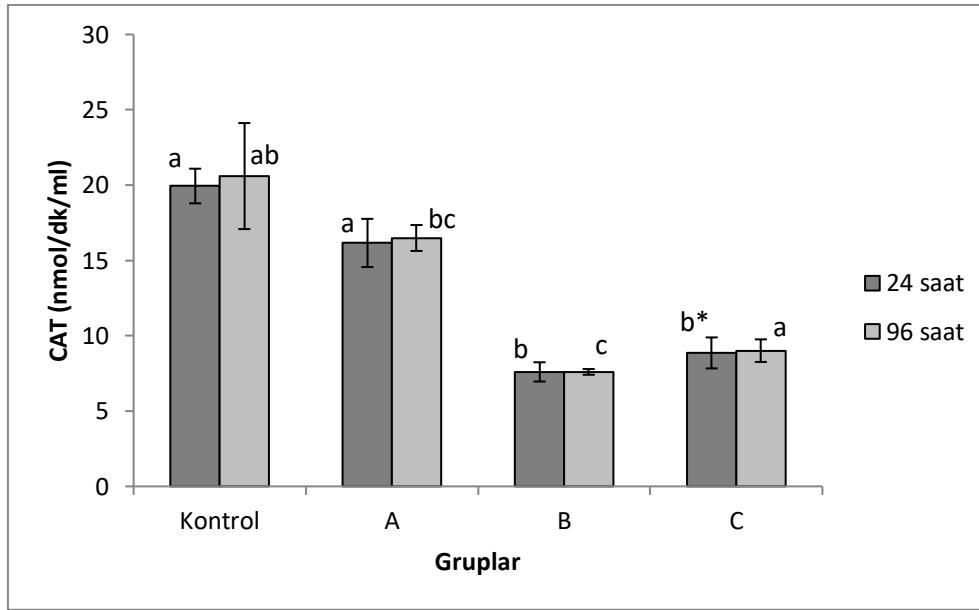
Şekil 3.1. Farklı konsantrasyonlarda BPA'ya maruz kalan *G. pulex*'de SOD (u/ml) aktivitesindeki değişiklikler

3.1.2. CAT Aktivitesi

Farklı konsantrasyonlarda BPA'ya maruz kalan *G. pulex*'de CAT aktivitesi araştırılmış olup sonuçlar Tablo 3.1'de gösterilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında CAT aktiviteleri tüm gruplarda 24. saatte azalmıştır. Bu azalma A grubunda istatistiksel

olarak anlamsız ($p>0.05$), B ve C gruplarında ise anlamlı olarak gözlenmiştir ($p<0.05$). 96. saate bakıldığında CAT aktivitesi tüm gruplarda azalmıştır ($p<0.05$).

Farklı uygulama sürelerinin CAT aktivitesinde istatistiksel olarak önemli bir farklılığa neden olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$). Sadece 24. saatte C grubundaki azalış maruz kalma süresine göre anlamlı olarak bulunmuştur ($p<0.05$) (Şekil 3.2).



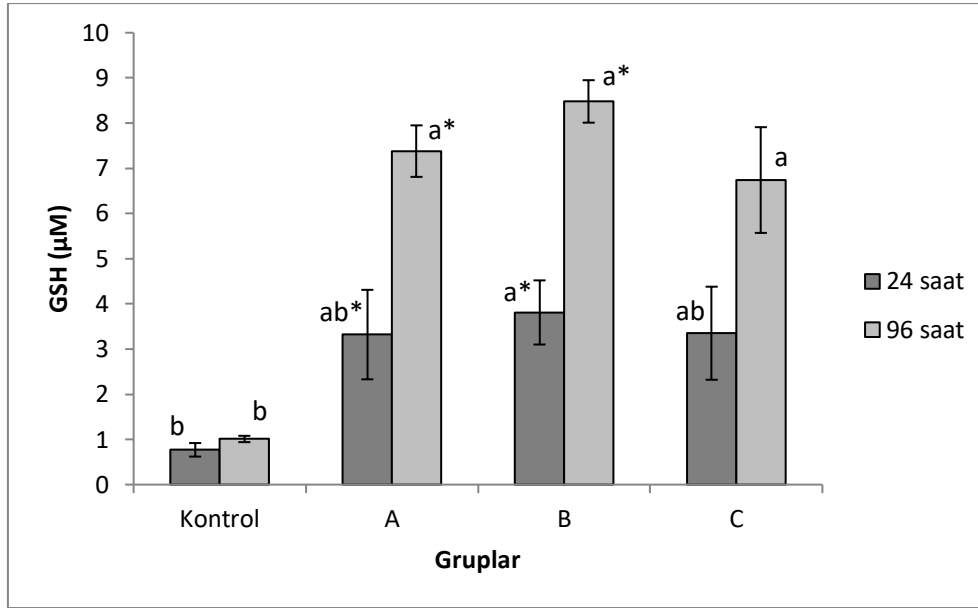
Şekil 3.2. Farklı konsantrasyonlarda BPA'ya maruz kalan *G. pulex*'de CAT (nmol/dk/ml) aktivitesindeki değişiklikler

3.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

3.2.1. GSH Seviyeleri

Farklı konsantrasyonlarda BPA'ya maruz kalan *G. pulex*'de GSH seviyeleri araştırılmış olup sonuçlar Tablo 3.1'de gösterilmiştir. GSH düzeyleri kontrol ile kıyaslandığında 24. ve 96. saat sonrasında tüm gruplarda artmıştır ($p<0.05$).

Maruz kalma süreleri kıyaslandığında ise; A ve B gruplarında 24 ve 96. saat sonrasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır ($p<0.05$), C grubunda ise bu artış istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p>0.05$) (Şekil 3.3).

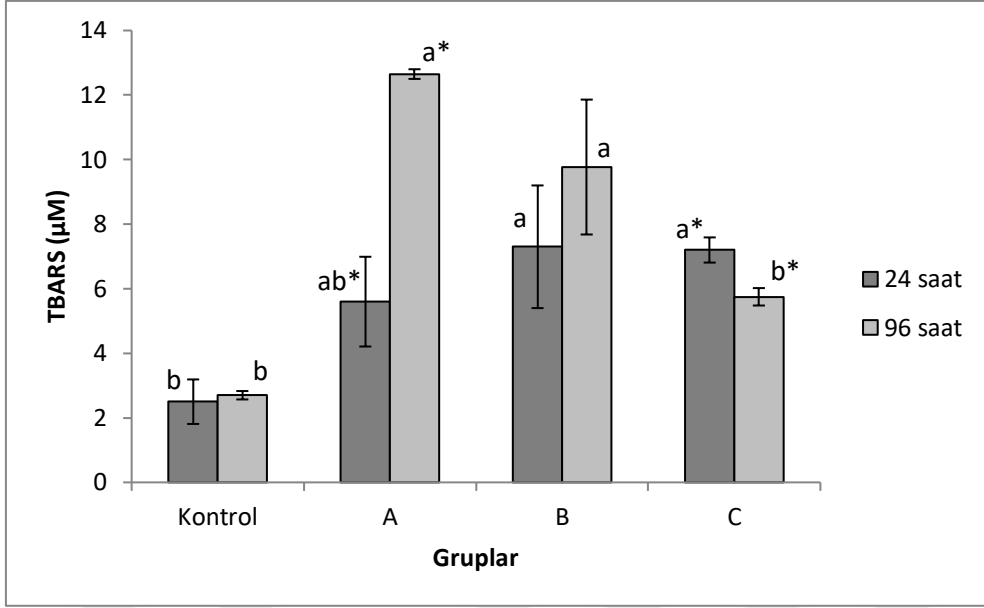


Şekil 3.3. Farklı konsantrasyonlarda BPA'ya maruz kalan *G. pulex*'de GSH (nmol/g doku) düzeylerindeki değişiklikler

3.2.2. TBARS Seviyeleri

Farklı konsantrasyonlarda BPA'ya maruz kalan *G.pulex*'de TBARS seviyeleri araştırılmış olup sonuçlar Tablo 3.1'de gösterilmiştir. TBARS düzeyleri 24 ve 96. saat sonrasında kontrol grubuna kıyasla A, B ve C gruplarında artmıştır ($p < 0.05$).

Farklı maruz kalma zamanlarında ise kontrol ve B gruplarında TBARS düzeylerinde anlamlı farklılıklar bulunamamıştır ($p > 0.05$), ancak A ve C gruplarında anlamlı farklılıklar saptanmıştır ($p < 0.05$) (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Farklı konsantrasyonlarda BPA'ya maruz kalan *G. pulex*'de TBARS (nmol/g doku) düzeylerindeki değişiklikler

4. TARTIŞMA

Endokrin bozucu olan Bisfenol A (BPA), plastik endüstrisinde önemli bir hammaddedir. BPA, sektördeki yaygın kullanımı nedeniyle ciddi bir çevre sorunu haline gelmiştir. Son tahminlere göre, küresel yıllık BPA üretimi 6,8 milyon tondur (Jandegian ve ark., 2015). Avrupa'da, BPA'nın üretimi ve tüketimi oldukça istikrarlıdır, ancak Asya'da, özellikle Çin'de üretim ve tüketimde sürekli bir artış söz konusudur (Huang ve ark., 2012). Hayvanlar üzerinde yapılan toksikolojik çalışmalar, BPA'nın östrojenik aktivitesini defalarca doğrulamıştır. Bu aktivite özellikle üreme organlarında ve endokrin sistemde fizyolojik fonksiyonları bozabilmektedir (Crain ve ark., 2007; Zhang ve ark., 2016).

Bu çalışmada; çeşitli konsantrasyonlarda BPA maddesine maruz bırakılan *G. pulex*'de enzimatik ve enzimatik olmayan bazı antioksidan parametreler araştırılmış olup, kirlетici etkilerini değerlendirmek üzere gammaridlerin bir çok ekotoksikolojik çalışmada kullanıldığı görülmüştür (Watts ve ark., 2001; Schirling ve ark., 2006) Çalışmamızda, antioksidan enzimlerinden SOD ve CAT ile enzimatik olmayan antioksidanlardan TBARS ve GSH seviyeleri, BPA uygulamasının etkilerini öngörmede biyolojik belirteç olarak kullanılmıştır.

Oksijen toksisitesine karşı ilk savunma sistemi SOD ve CAT enzimleridir (Zagal ve Mazmancı, 2011). SOD, oksijen türevi serbest radikallere karşı, reaktif ve toksik süperoksit radikallerini hidrojen peroksit (H_2O_2) haline dönüştüren ilk savunma yoludur (Duman ve Kar, 2015). CAT, H_2O_2 'i toksik olmayan ve hücrelere zararsız olan H_2O ve O_2 'e indirgemektedir (Li ve ark., 2012). Bu enzimlerin aktiviteleri, oksidatif strese neden olan ksenobiyotiklere maruz kalmanın erken göstergeleri olarak kullanılabilir. Çalışmamızda, maruz kalma süresinin SOD aktivitesini etkilemediği bulunmuştur. En yüksek SOD aktivitesi, A uygulama grubunda bulunmuş olup, B ve C gruplarında SOD aktiviteleri 24 saat sonrasında kontrol grubuna göre artmıştır ($p<0.05$). 96 saat uygulama sonrasında ise sadece A grubunda kontrole kıyasla bir artış gözlenmiş, B ve C gruplarında değişim görülmemiştir ($p>0.05$). SOD aktivitesindeki artışın H_2O_2

birikimine yol açabileceği bunun da CAT'ın işlevini sınırlayacağı düşünülmektedir (Li ve ark., 2012). Daha önce yapılan çalışmalar ROS türlerinin CAT aktivitesini inhibe edebileceği bildirilmiştir (Kono ve Fridovich 1982; Escobar ve ark., 1996). BPA'nın *Arabidopsis thaliana*'nın antioksidan savunma sistemi üzerindeki etkisi araştırılmış ve SOD aktivitesinde artış tespit edilmiştir (Imran ve ark., 2017). Çalışmamızda, CAT aktivitesi 24 ve 96 saat uygulama sonrasında kontrol grubuna göre azalmıştır. BPA'nın neden olduğu oksidatif stres SOD ve CAT enzimlerinin tükenmesine yol açmış olabilir ve bu tükeniş antioksidan sistemin zayıfladığının bir göstergesi olabilir (Li ve ark., 2012). Özaydın ve ark. (2018) yaptıkları çalışmada BPA'nın sıçanlardaki antioksidan savunma sistemi üzerine etkisini araştırmış ve uygulama sonunda SOD ve CAT aktivitesinin önemli ölçüde düştüğünü bulmuşlardır. Faheem ve Parvez Lone (2017), *Ctenopharyngodon idella* üzerinde yaptıkları çalışmada BPA'nın CAT aktivitesini düşürdüğünü bildirmişlerdir. Tavuk embriyolarına BPA uygulanan başka bir çalışmada SOD aktivitesinin arttığı tespit edilmiştir (Sravani ve ark., 2015).

Hücrel işlevlerin korunmasında önemli bir role sahip olan GSH düzeyindeki artışın artan strese karşı gelişen adaptasyonun bir yanıtı olabileceği bildirilmiştir (Moreno ve ark., 2010; Serbes, 2011). GSH düzeyindeki azalmanın ise lipid peroksidasyonu yoluyla üretilen detoksifiye peroksit ürünlerinin eliminasyonunda GSH'ın kullanımını (El-Gendy ve ark., 2010) ve GSH sentezinde meydana gelen bozulmanın (Li ve ark., 2010; Serbes, 2011) GSH ile metabolit veya pyrene bileşenlerinin birleşmesinden ya da oksidatif stresin neden olduğu adaptif mekanizmaların kaybından (Sun ve ark., 2008) kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür. Çalışmamızda, maruz kalma süresinin A ve B gruplarında GSH seviyesini etkilediği bulunmuştur ($p<0.05$). En yüksek GSH seviyesi, 96 saat uygulama sonrasında B grubunda bulunmuş olup, A ve C gruplarında GSH seviyeleri 24 ve 96 saat sonrasında kontrol grubuna göre artmıştır ($p<0.05$). Dolayısıyla çalışma materyalimiz *G. pulex*'de gözlenen artışların, strese karşı geliştirilen adaptasyon mekanizmalarından kaynaklanabileceğini söyleyebiliriz. Özaydın ve ark. (2018) sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada BPA uygulamasının sonunda GSH seviyelerinin önemli ölçüde düştüğünü bulmuşlardır. *Ctenopharyngodon idella* üzerinde yapılan bir çalışmada BPA'nın GSH seviyesini önemli ölçüde düşürdüğü bulunmuştur (Faheem ve Parvez Lone, 2017).

Lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA miktarlarındaki artış, BPA'nın *G. pulex*'de oksidatif strese neden olduğunu düşündürmektedir. Ksenobiyotikler serbest

radikal oluşumunu arttırarak ya da hücrenin peroksidasyon reaksiyonlarına karşı savunma kapasitesini azaltarak MDA miktarını arttırabilirler (Lackner, 1998). Çalışmamızda, maruz kalma süresinin A ve C gruplarında TBARS seviyesini etkilediği bulunmuştur ($p<0.05$). En yüksek TBARS seviyesi, 96 saat uygulama sonrasında A grubunda bulunmuş olup, B ve C gruplarında TBARS seviyeleri 24 ve 96 saat sonrasında kontrol grubuna göre artmıştır ($p<0.05$). Tavuk embriyolarına BPA uygulaması yapılan bir çalışmada MDA düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir (Sravani ve ark., 2015). Tatlı su balığı üzerinde yapılan bir çalışmada da çalışmamızdakine benzer şekilde uygulama sonunda artan MDA seviyeleri bulunmuştur (Faheem ve Parvez Lone, 2017).



5. SONUÇLAR

Yapılan bu çalışma sonucunda elde edilen verilere göre; daha çok plastik endüstrisinde kullanılan BPA maddesinin *G. pulex* üzerine toksik etkiye sahip olduğu ve BPA'dan kaynaklanan kirliliğin çevre için büyük bir risk oluşturabileceği düşünülmektedir. BPA uygulanan model canlı *G. pulex*'de TBARS miktarları kontrole göre artış göstermiştir. Malondialdehit miktarının artması lipid peroksidasyonunun bir göstergesidir. Lipid peroksidasyonundaki değişikliklerle beraber GSH miktarının artması antioksidan savunmanın çalıştığını göstermektedir. GSH miktarında görülen değişimler strese karşı adaptasyon eğiliminin olduğunu düşündürmektedir. GSH miktarının artması, çevresel kirleticilerin etkisinin giderilebilmesi için etobolik yanıt oluşmuştur. GSH miktarındaki kısmi düşüşler ise stres dolayısıyla GSH sentezinin baskılanması ya da ROS'un uzaklaştırılması esnasında GSH'nin kullanılmasından kaynaklanmaktadır.

BPA maddesinin *G. pulex*'de meydana getirdiği toksik etkilerin araştırılmasında kullandığımız biyobelirteçlerden SOD, CAT, GSH ve TBARS'nin yararlı birer biyobelirteç olduğu sonucuna varılmıştır. Sonuç olarak, antioksidan enzimlerindeki değişiklikler ile glutatyon ve lipid peroksidasyonunun, potansiyel olarak çevre içindeki BPA'ların risk değerlendirmesi için hassas biyolojik belirteç olarak kullanılabileceği öngörülmektedir.

Ayrıca elde edilen verilere göre maruz kalma süresi ve uygulama dozundaki farklılıklar model canlı *G. pulex*'in verdiği biyokimyasal yanıtları değiştirmiştir. Antioksidan enzimler ile GSH ve TBARS içeriğindeki değişiklikler, BPA metabolizmasından kaynaklanan streslerin değişebilir olduğunu ve metabolitlerin toksisitesinin antioksidan savunma sistemindeki değişikliklerden yola çıkılarak yorumlanabileceğini göstermiştir. Düşük düzeydeki oksidatif strese karşı telafi edici bir yanıt olarak antioksidan enzim sisteminin indüklenebileceği, aşırı toksik maddelerden kaynaklanan şiddetli oksidatif strese karşı ise; bu enzimlerin aktivitelerini düşürebileceği ve oksidatif hasara neden olabileceği öngörülmektedir.

6. ÖNERİLER

Başta plastik sanayisi olmak üzere bazı endüstrilerde proses sonrasında oluşan atıksularda BPA ortaya çıkmaktadır ve bu da toksik etkiye neden olabilmektedir. BPA'nın oluşturduğu stres sonucu biyomarkırlardaki değişimler, *G. pulex*'in kirletici etkisinde kaldığını göstermektedir. Bu durum atıksuların canlı sağlığı açısından risk teşkil edebileceğini ortaya koymuştur. Bu nedenle bu tür atıksuların arıtılmasında ilave arıtım teknolojilerinin uygulanması gerekmektedir.

Ayrıca, plastik sanayisinde yaygın olarak kullanılan BPA maddesinin kontrolsüz şekilde deşarj edilmesi, son yıllarda sucul ortamlarda ortaya çıkan ekolojik denge değişimlerinde çevresel kirletici faktörlerden birisi olabilir. Bu nedenle bu atıkların deşarjında sınır değerlere uygunluğu düzenli olarak kontrol edilmeli, toksikolojik veriler göz önüne alınarak sınır değerler belirlenmelidir.

7. KAYNAKLAR

- Aebi, H.**, 1984. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*. 105:121-126.
- Adams, M.S.**, 2002. *Biological Indicators of Aquatic Ecosystem Stress*. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, 644 s.
- Ahmad, S.**, 1995. "Oxidative stress and antioxidant defenses in biology" Chapman and Hall Inc, London, 447s.
- Alexopoulos, E., McCrohan, C.R., Powell, J.J., Jugdaohsingh, R., White, K.N.**, 2003. Bioavailability and Toxicity of Freshly Neutralized Aluminium to the Freshwater Crayfish *Pacifastacus leniusculus*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 45(4): 509-514.
- Allsopp, M., Santillo, D., Johnston, P.**, 1997. *Poisoning the Future: Impacts of Endocrine Disrupting Chemicals on Wildlife and Human Health*, Greenpeace Research Laboratories, Dept. Biological Sciences, University of Exeter, UK. (in reports section).
- Antmen, Ş.E.**, 2005. Beta Talasemide Oksidatif Stres, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- APHA (American Public Health Association)**, 1998. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation, 20th Edition.
- Bach, C., Dauchy, X., Chagnon, M.C., Etienne, S.**, 2012. Chemical compounds and toxicological assessments of drinking water stored in polyethylene terephthalate (PET) bottles: A source of controversy reviewed. *Water Research*, 46, 571-583.
- Bang, D.Y., Kyung, M., Kim, M.J., Jung, B.Y., Cho, M.C., Choi, S.M., Kim, Y.W., Lim, S.K., Lim, D.S., Won, A.J., Kwack, S.J., Lee, Y., Kim, H.S., Lee, B.M.**, 2012. Human risk assessment of endocrine-disrupting chemicals derived from plastic food containers. *Ecotoxicological Environment Safety*, 44, 56-61.
- Barnard, J.L., Barnard, C.M.**, 1983. *Freshwater Amphipoda of the World*. I. Evolutionary Patterns, I-VIII, IX-XVIII, 1-358; II. Handbook and Bibliography, XIX, 359- 830. Hayfield Ass., Mt. Vernon, Va., U.S.A.

- Barthold, J.S., Kryger, J.V., Derusha, A.M., Duel, B.P., Jendak, R, Skafat, D.F., 1999.** Effenct of an environmental endocrine disruptor on fetaldevelopment, estrogen receptor(alpha) and epidermal growth factor receptor expression in the porcine male genital tract. The Journal of Urology, 162: 864-871.
- Başak, E., 2011.** Modifiye edilmiş kitosan boncuklar üzerine katalaz enziminin immobilizasyonu. Yüksek Lisans Tezi,. Celal Bayar Üniversitesi, 53s, Manisa.
- Bat, L., Akbulut, M., Çulha, M., Gündoğdu, A., Satılmış, H.H., 2000.** Effect of Temperature on the Toxicity of Zinc, Copper and Lead to the Freshwater Amphipod *Gammarus pulex* (L., 1758), Turkish Journal of Zoology, 24, 409-415.
- Behr, M., Oehlmann, J., Wagner, M., 2011.** Estrogens in daily diet: In vitro analysis indicates that estrogenic activity is omnipresent in foodstuff and infant formula. Food and Chemical Toxicology, 49, 2681-2688.
- Briggs Reed, L.M., Heagler, M.G., 1997.** A Comparative Analysis of Lead Concentrations in Purged and Unpurged Crayfish (*Procambarus clarkii*): The Significance of Digestive Tract Removal Prior to Consumption by.
- Bjorkblom, C., Mustamaki, N., Olsson, P., Katsiadaki, I., Wiklund, T., 2011.** Assessment of reproductive biomarkers in three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) from sewage effluent recipients. Environmental Toxicology, 28, 229–237.
- Brown, S.B., Evans, R. E., Vandenbyllardt, L., Finnson, K.W., Palace, V.P., Kane, A.S., Yarechewski, A.Y., Muir, D., 2004.** Altered thyroid status in lake trout (*Salvelinus namaycush*) exposed to co-planar 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl. Aquatic Toxicology, 67(1), 78-85.
- Cold, A., Forbes, V.E., 2004.** Consequences of a short pulse of pesticide exposure for survival and reproduction of *Gammarus pulex*. Aquatic Toxicology, 67(3): 287-299.
- Crain, D.A., Eriksen, M., Iguchi, T., Jobling, S., Laufer, H., LeBlanc, G.A., Guillette, L.J., 2007.** An ecological assessment of bisphenol-A: evidence from comparative biology Reproductive Toxicology, 24 (2), 225–239.
- Çetin, Ç., 2011.** Koroner Arter Ektazi Hastalarında Oksidatif Dna Hasarı, Lipid Peroksidasyonu ve Bazı Antioksidant Enzimler (yüksek lisans tezi, basılmamış), Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Van.
- Çetinkaya, S., 2009.** Endokrin çevre bozucular ve ergenlik üzerine etkileri, Dicle Tıp Dergisi, 36, 59-66.
- Çimen, Ç., Öter, Ç., Demir, H., Savran, A., 2005.** Rat Eritrositlerinden Elde Edilen Katalaz Enziminin Karakterizasyonu ve Kinetiğinin İncelenmesi. YYÜ Veteriner Fakültesi 16: 15-20.

- Çobanoğlu, U., Demir, H., Cebi, A., Sayır, F., Alp, H.H., Akan, Z., Gur, T., Bakan, E.,** 2011. Lipid peroxidation, DNA damage and Coenzyme Q10 in lung cancer Patients - Markers for Risk Assessment? Asian Pacific Journal Cancer Prevention, 12: 1399-1403.
- Desbrow, C.E.J.R., Routledge, E.J., Brighty, G.C., Sumpter, J.P., Waldock, M.,** 1998. Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 1. Chemical fractionation and in vitro biological screening. Environmental Science and Technology, 32(11), 1549-1558.
- Deveci, A.,** 2007. Mastitisli (Meme İltihabı) İneklerde Kan MDA ve GSH Düzeylerinin Araştırılması (yüksek lisans tezi, basılmamış). KÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars.
- Dix, T.A., Aikens, J.,** 1993. Mechanisms and biological relevance of lipid peroxidation initiation, Chem, Res. Toxicol, 6: 2-18.
- Dodds, E., Lawson, W.,** 1936. Synthetic, oestrogenic agents without the phenanthrene nucleus, Nature, 137: 996.
- Dodds, E., Lawson, W.,** 1938. Molecular Structure in Relation to Oestrogenic Activity. Compounds without a Phenanthrene Nucleus. Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences, 125, s. 222-232.
- Dorval, J., Leblond, V.S., Hontela, A.,** 2003. Oxidative stress and loss of cortisol secretion in adrenocortical cells of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed in vitro to endosulfan, an organochlorine pesticide. Aquatic Toxicology, 63: 229-241.
- Duman, F., Kar, M.,** 2015. Evaluation of effects of exposure conditions on the biological responses of *Gammarus pulex* exposed to cadmium. International Journal of Environmental Science & Technology, 12:437-444.
- Džeroski, S., Demšar, D., Grbović, J.,** 2000. Predicting Chemical Parameters of River Water Quality from Bioindicator Data, Applied Intelligence 13, p. 7-17.
- El-Gendy, K.S., Aly, N.M., Mahmoud, F.H., Kenawy, A., El-Sebae, A.K.H.,** 2010. The Role of Vitamin C as Antioxidant in Protection of Oxidative Stress Induced by Imidacloprid, Food and Chemical Toxicology, 48, 215-221.
- El-Gohary, M., Awara, W.M., Nassar, S., Hawas, S.,** 1999. Deltamethrin-induced testicular apoptosis in rats: the protective effect of nitric oxide synthase inhibitor. Toxicology, 132: 1-8.
- Escobar, J.A., Rubio, M.A., Lissi, E.A.,** 1996. SOD and catalase inactivation by singlet oxygen 1O_2 and peroxy radicals. Free Radical Biology Medicine. 20:285-290.

- Faheem, M., Parvez Lone, K.,** 2017. Oxidative stress and histopathologic biomarkers of exposure to bisphenol-A in the freshwater fish, *Ctenopharyngodon idella*. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. <http://dx.doi.org/10.1590/s2175-97902017000317003>.
- Fleisch, A.F., Sheffield, P.E., Chinn, C., Edelstein, B.L., Landrigan, P.J.,** 2010. Bisphenol A and related compounds in dental materials. *Pediatrics*., 126(4):760-768.
- Fridovich, I.,** 1983. Superoxide Radical: An Endogenous Toxicant. *Annual Review Pharmacology Toxicology*, 23: 239-257.
- Fürhacker, M., Scharf, S., Weber, H.,** 2000. Bisphenol A: Emissions from Point Sources. *Chemosphere*, 41: 751-756.
- Gazea, A., Koukoumides, C., Lazaridou-Dimitriadou, M., White, K.N.,** 1999. Heavy Metals in Tissues of *Gammarus* spp. (Amphipoda, Crustacea), From a Mining Area of Chalkidiki, 6th. Intern Conference on Environmental Science and Technology, Samos, Greece, 30 August – 2 September.
- Gerhardt, A.,** 2009. Bioindicator species and their use in biomonitoring. Boris Stepanovich Maslov (Ed), *Environmental Monitoring*, UNESCO (ed), *Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)*, Oxford, EOLSS.
- Göktekin, E., Barlas, N.,** 2008. Histopathological effects of 4-tert-octylphenol treatment through the pregnancy period, on the pituitary, adrenal, 93 pancreas, thyroid and parathyroid glands of offspring rats at adulthood, *Environ Toxicology Pharmacology*. 26, 199-205.
- Hachfi, L., Couvray, S., Simide, R., Tarnowska, K., Pierre, S., Gaillard, S., Richard, S., Coupé, S., Grillasca, J.P., Prévot-D'Alvise, N.,** 2012. Impact of endocrine disrupting chemicals [EDCs] on hypothalamic-pituitary-gonad-liver [HPGL] axis in fish. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 4(1), 14-30.
- Halliwell, B.,** 1994. Freeradicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence? *The Lancet*, 344:721.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C.,** 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rd edn. Oxford: Oxford Science Publications.
- Hamza-Chaffai, A.,** 2014. Usefulness of Bioindicators and Biomarkers in Pollution Biomonitoring. *International Journal of Biotechnology for Wellness Industries*, 3: 19-26. doi: <http://dx.doi.org/10.6000/1927-3037.2014.03.01.4>.
- Huang, A.H.C., Trelease, R.N., Moore, T.S.,** 1983. *Plant peroxisomes*, Academic press, 213, New York.

- Huang, Y., Wong, C., Zheng, J., Bouwman, H., Barra, R., Wahlström, B., Neretin, L., Wong, M.,** 2012. Bisphenol A (BPA) in China: a review of sources, environmental levels, and potential human health impacts. *Environment International*. 42, 91–99.
- Imran, A., Mehmood, J., Abdul, W., Azizullah, A., Bohan, L., Faisal, I., Abid, A., Daud, M.K., Yihua, L., Yinbo, G.,** 2017. Biochemical responses and ultrastructural changes in ethylene insensitive mutants of *Arabidopsis thaliana* subjected to bisphenol A exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 144, 62-71.
- Jain, S.K.,** 2006. Oxidative stress and metabolic diseases: Introduction. *Pathophysiology*. 13(3):127-128.
- Jandegian, C.M., Deem, S.L., Bhandari, R.K., Holliday, C.M., Nicks, D., Rosenfeld, C.S., Selcer, K.W., Tillitt, D.E., vom Saal, F.S., Velez-Rivera, V., Yang, Y., Holliday, D.K.,** 2015. Developmental exposure to bisphenol A (BPA) alters sexual differentiation in painted turtles (*Chrysemys picta*). *General and Comparative Endocrinology*, 216, 77-85. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ygcen.2015.04.003>.
- Kabir, E.R., Rahman, M.S., Rahman, I.,** 2015. A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 40, 1, 241-258.
- Kamiloğlu, N.N.,** 2002. “Tuj Koyunlarında Döl Verimi ve Antioksidatif Savunma Sistemi Üzerine A Vitamini ve -Karoten Enjeksiyonlarının Etkileri”, Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kars, 29-41.
- Kang, J., Kondo, F., Katayama, Y.,** 2006. Human Exposure to Bisphenol A. *Toxicology*, 226: 79-89.
- Karaman, G.S.,** 1973. 53. Contribution to the Knowledge of the Amphipoda. some new or very interesting Gammarus species from southern Europa and Asia minor, *Polyoprivreda I. Sumarstvo*, XIX(3): 1-42.
- Karaman, G.S., Pinkster, S.,** 1977. Freshwater Gammarus species from Europe, North Africa and adjacent regions of Asia (Crustacea-Amphipoda), Part I Gammarus pulex- group and related species, *Bijdragen Tot de Dierkunde*, 47: 1-97.
- Kavas, G.,** 1989. Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri Dergisi*, 9(1): 2.
- Kazancı, G., Girgin, S., Dügel, M., Oğuzkurt, D.,** 1997. Akarsuların çevre kalitesi yönünden değerlendirilmesinde ve izlenmesinde biyotik indeks yöntemi [The method of the biotic index of assessment and monitoring with respect to environmental quality of running waters]. İmaj Yayıncılık. ANKARA, 100 s.
- Keha, E.E., Küfrelioğlu, Ö.İ.,** 2001. *Biyokimya*, Aktif Yayınevi, 241, İstanbul.

- Kelce, W.R., Wilson, E.M., 2001.** Antiandrogenic Effects of Environmental Endocrine Disruptors. In: Metzler M (ed). The Handbook of Environmental Chemistry, Endocrine Disruptors Part 1. Springer-Verlag Berlin Heidelberg; p. 39-61.
- Khoschorur, G.A., Winklhofer-Roob, B.M., Rab, P.H., 2000.** Evaluation of a sensitive Hplc method for the determination of malondialdehyde and application of the method to different biological materials. *Chromatographi A*, 52: 181-184.
- Kidd, P.M., 1997.** Glutathione: systemic protectant against oxidative and free radical damage. *Alternative Medicine Reviews*, 2: 155-176.
- Kono, Y., Fridovich, I., 1982.** Inhibition of catalase by superoxide radicals. *Fed Proc.*, 257(10), 2571-5754.
- Kuniyoshi, L.S., Braga, E.S., 2010.** Cytogenetic disruption in fishes as bioindicator of the Environmental quality in two estuarine systems under different exposition to anthropogenic influences. *Safely, Health and Environment World Congress Book*, Sao Paulo, Brazil, 93-96.
- Lackner, R., 1998.** Oxidative Stress in Fish by Environmental Pollutants. *Fish Ecotoxicology*, 203-224.
- Lee, M.M., 2007.** Endocrine Disrupters. A Current Review of Pediatric Endocrinology, 109-118.
- Li, Z.H., Zlabek, V., Grabic, R., Li, P., Machova, J., Velisek, J., Randak, T., 2010.** Effects of Exposure to Sublethal Propiconazole on Intestine Related Biochemical Responses in Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*, *Chemico-Biological Interactions*, 185, 241-246.
- Li, Y., Shi, J.Q., Qu, R.J., Feng, M.B., Liu, F., Wang, M., Wang Z.Y., 2012.** Toxicity assessment on three direct dyes (D-BLL,D-GLN,D-3RNL) using oxidative stress bioassay and quantum parameter calculation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 86, 132–140.
- Lintelmann, J., Katayama, A., Kurihara, N., Shore, L., Wenzel, A., 2003.** Endocrine Disruptors In The Environment. *Pure and Applied Chemistry*, 75: 631-681.
- Maffini, M.V., Rubin, B.S., Sonnenschein, C., Soto, A.M., 2006.** Endocrine disruptors and reproductive health: the case of bisphenol-A. *Mol Cell Endocrinol* 2006; 25: 254- 255.
- Maggioni, T., Hued, A.C., Monferra'n, M.V., Bonansea, R.I., Galanti, L.N., Arne, M.V., 2012.** Bioindicators and Biomarkers of Environmental Pollution in the Middle-Lower Basin of the Suquia River (Cordoba, Argentina). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 63: 337-353. doi: 10.1007/s00244-012-9785-0.

- Mccord, J.M., Fridovich, I.,** 1969. Superoxide Dismutase. An Enzymic Function For Erythrocuprein (Hemocuprein). Journal of Biological Chemistry. 1969 Nov 25; 244 (22), 6049-6055.
- McLachlan, J.A., Simpson, E., Martin, M.,** 2006. Endocrine disrupters and female reproductive health, Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism., 20, 46-63.
- Meister, A., Anderson, M.E.,** 1983. Glutathione. Annual Review of Biochemistry, 52: 711–760.
- Mercan, U.,** 2004. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. YYU Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 15(1-2): 91-96.
- Michalowicz, J.,** 2014. Bisphenol A–sources, toxicity and biotransformation. Environmental Toxicology and Pharmacology, 37, 2, 738-758.
- Moreno, D.H., Soler, F., Míguez, M.P., Pérez-López, M.,** 2010. Brain Acetylcholinesterase, Malondialdehyde and Reduced Glutathione as Biomarkers of Continuous Exposure of Tench, *Tinca tinca*, to Carbofuran or Deltamethrin, Science of the Total Environment, 408, 4976-4983.
- Nam, S.H., Seo, Y.M., Kim, M.G.,** 2010. Bisphenol A migration from polycarbonate baby bottle with repeated use. Chemosphere, 79, 9, 949-952.
- Osman, A.G.M., Abd El Reheem, A.E.B.M., Abuel-Fadl, K.Y., Gad El Rab, A.G.,** 2010. Enzymatic and histopathologic biomarkers as indicators of aquatic pollution in fishes. Natural Science, 2 (11): 1302-1311. <http://dx.doi.org/10.4236/ns.2010.211158>.
- Özaydın, T., Öznurlu, Y., Sur, E., Çelik, I., Uluişik, D., Dayan, M.O.,** 2018. Effects of bisphenol A on antioxidant system and lipid profile in rats, Biotechnic & Histochemistry, DOI:10.1080/10520295.2017.1420821.
- Özdemir, I., Gürkan, O.,** 2006. Agroekosistemlerde, heteroptera biyoçeşitliliği ve biyolojik indikatör olarak rolü. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 20 (38), 9-13.
- Özşahin, E.A., Yazıcı, C., Köse, K., Utaş, C., Tokgöz, B.,** 2004. Hemodiyaliz hastalarında plazma malondialdehit ve tiyol seviyeleri. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 13(2):8-14.
- Poste, G.,** 2011. Bring on the biomarkers. Nature, 469(7329), 156-157.
- Rinderhagen, M., Ritterhoff, J., Zauke, G-P.,** 2000. Crustaceans as Bioindicators, Biomonitoring of Polluted Water – Reviews on Actual Topics (A. Gerhardt, ed.), Trans Tech Publications – Scitech Publications, Environmental Research Forum Vol. 9, p. 161-194.

- Roefler, P., Synder, S., Zegers, R.E., Rexing, D.J., Fronk, J.L., 2000.** Endocrine-Disrupting Chemicals in A Source Water, *Journal of AWWA*, 92(8): 52-58.
- Routledge, E.J., Sheahan, D., Desbrow, C., Brighty, G.C., Waldock, M., Sumpter, J.P. 1998.** Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 2. In vivo responses in trout and roach. *Environmental Science and Technology*, 32(11), 1559-1565.
- Sanchez-Hernandez, J.C., 2007.** Ecotoxicological perspectives of B-esterases in the assesment of pesticide contamination, *Environmental Pollution: New research*, 1-45.
- Schirling, M., Jungmann, D., Ladewig, V., Ludwichowski, K.U., Nagel, R., Kohler, H.R., Triebkorn, R., 2006.** Bisphenol A in Artificial Indoor Streams: II. Stress Response and Gonad Histology in *Gammarus fossarum* (Amphipoda). *Ecotoxicology*, 15, 143–156.
- Serbes, D., 2011.** Cyfluthrin, imidacloprid ve karışım uygulamalarının *Cyprinus Carpio*'da beyin ve karaciğer dokularında glutatyon, malondialdehit ve protein karbonil düzeylerine etkileri, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana.
- Seriner, R., 2010.** Katalaz enziminin hıyardan (*cucumis sativus*) saflaştırılması. Yüksek Lisans Tezi,. Çukurova Üniversitesi, 45s, Adana.
- Sies, H., 1991.** Oxidative stress from basicrese arch toc lini cal application. *The American Journal of Medicine*, 3(91): 31.
- Sravani, J., Padmaja, K., Eswara Prasad, P., Punya Kumari, B., 2015.** Effect of Bisphenol-A on Antioxidant Enzymes and Lipid Peroxidation in Liver of Chick Embryos. *International Journal of Meat Science*, 6: 1-5.
- Staples, C.A., Dome, P.B., Klecka, G.M., Oblock, S.T., Harris, L.R., 1998.** A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol A. *Chemosphere*, 36, 10, 2149-2173.
- Sun, Y., Yin, Y., Zhang, J., Yu, H., Wang, X., Wu, J., Xue, Y., 2008.** Hydroxyl Radical Generation and Oxidative Stress in *Carassius auratus* Liver, Exposed to Pyrene, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71, 446-453.
- Sülün, Y., 2002.** Çevre Kirliliğini Önlemede Eğitimin Rolü, Muğla Üniversitesi, SBE Dergisi, Sayı 8.
- Tabb, M.M., Blumberg, B., 2006.** New models of action for endocrine disrupting chemicals, *Molecular Endocrinology*, 20,475-482.
- Tejeda-vera, R., Lopez-lopez, E., Sedenio-diaz, J.E., 2007.** Biomarkers and Bioindicators of the Health Condition of *Ameca splendens* and *Goodea atripinnis* (Pisces: Goodeidae) in the Ameca River, Mexico. *Environmental International*, 33: 521-531.

- USEPA (U.S. Environmental Protection Agency),** 1998. Endocrine Disrupter Screening and Testing Advisory Committee (EDSTAC) Final Report.
- Ünal, A.,** 2007. Üriner sistem kanser hastalarında cerrahi tedavi öncesi ve sonrası idrar 8- hidroksideoksiguanozun seviyeleri. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Yagi, K.,** 1987. Lipid peroxides and human diseases. *Chem Phys Lipids*, 45: 337-351.
- Yamamoto, T., Yasuhara, A., Shiraishi, H., Nakasugi, O.,** 2002. Bisphenol A in Hazardous Waste Landfill Leachates. *Chemosphere*, 42: 415-418.
- Yeşilkaya, E.,** 2008. Endokrin bozucular. *Güncel Pediatri*, 76-82.
- Yıldız, N.,** 2009. “Çevresel östrojenlerden bisfenol-A ve oktilfenolün erkek sıçanlarda subkronik etkileri”, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Biyoloji A.B.D. Ankara, 23-31.
- Valavanidis, A., Vlachogianni, T.,** 2010. Integrated Biomarkers in Aquatic Organisms as a Tool for Biomonitoring Environmental Pollution and Improved Ecological Risk Assessment. www.chem-tox-ecotox.org, Science Advances on Environmental Chemistry, Toxicology and Ecotoxicology issues.
- Vom Saal, F.S., Cooke, P.S., Buchanan, D.L.,** 1998. A physiologically based approach to the study of bisphenol A and other estrogenic chemicals on the size of reproductive organs, daily sperm production, and behavior. *Toxicology and Industrial Health*, 14: 239-260.
- Watts, M., Pascoe, D., Carroll, K.,** 2001. Survival and precopulatory behaviour of *Gammarus pulex* (L.) exposed to two xenoestrogens. *Water Research*, 35(10), 2347-2352.
- Welton, J.S., Clarke, R.T.,** 1980. Laboratory studies on the reproduction and growth of the amphipod, *Gammarus pulex* (L.). *The Journal of Animal Ecology*, 581-592.
- Wenzel, A., Muler, J., Ternes, T.,** 2003. Study on Endocrine Disrupters in Drinking Water Final Report, Schmollenberg and Wiesbaden Env.D.1/Etu/2000/0083.
- Wu, D., Cederbaum, A.J.,** 2003. Alcohol, oxidative stress and free radical damage. *Alcohol Research and Health*, 4: 277-284.
- Yücel, A., Morgil, S.,** 1998. Yüksek Öğretimde Çevre Olgusunun Araştırılması, Hacettepe Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi, 14: 84-91.
- Zagal, A., Mazmancı, B.,** 2011. Oxidative stress response in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to textile mill effluent, *Toxicology and Industrial Health*, 27(1), 81-85.

Zamocky, M., Koller, F., 1999. Understanding the Structure and Function of Catalases: Clues from Molecular Evolution and in vitro Mutagenesis, Progress in Biophysics and Molecular Biology, 72, 19-66.

Zhang, J.Z., Li, X.Y., Zhou, L., Wang, L.H., Zhou, Q., Huang, X.H., 2016. Analysis of effects of a new environmental pollutant, bisphenol A, on antioxidant systems in soybean roots at different growth stages. International Journal Of Scientific Reports 6. <http://dx.doi.org/10.1038/srep23782>.

Zhou, J., Shan Zhu, X., Cai, Z.H., 2009. Endocrine disruptors: an overview and discussion on issues surrounding their impact on marine animals. Journal of Marine Animals and Their Ecology, 2(2), 7-17.

Url-1. <https://www.memorial.com.tr/saglik-rehberleri/endokrin-bozucular-sagligi-tehdit-ediyor/> Güncellenme Tarihi: 19 Temmuz 2014- Yayınlanma Tarihi: 19 Temmuz 2014-Alıntı tarihi 05.01.2018

Url-2. <https://prezi.com/wpr6ygkiptyw/endokrin-maddeler-ve-cevresel-etkileri/> Alıntı tarihi-05.01.2018

ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Malatya ili Doğanşehir ilçesi doğmuştur. İlk ve orta öğrenimimi Günedoğru Köyü ilköğretim okulunda, lise öğrenimimi 1997 yılında Doğanşehir Lisesinde, Önlisans öğrenimimi 2003 yılında İnönü Üniversitesi Malatya Meslek Yüksekokulunda, Lisans öğrenimimi 2015 yılında Tunceli Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği bölümünde tamamlamıştır. 2016 yılında Munzur Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliği Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitime başlamıştır. Evli ve 2 çocuk babasıdır.

