

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



**FENANTREN VE FLUORANTEN POLİAROMATİK HİDROKARBONLARININ
TEK VE KOMBİNE TOKSİK ETKİLERİNİN *Gammarus pulex*'DE
BELİRLENMESİ**

Taner DERMAN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Nuran ÇIKCIKOĞLU YILDIRIM**

**II. DANIŞMAN
Doç. Dr. Osman SERDAR**

TUNCELİ – 2021

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**FENANTREN VE FLUORANTEN POLİAROMATİK HİDROKARBONLARININ
TEK VE KOMBİNE TOKSİK ETKİLERİNİN *Gammarus pulex*'DE
BELİRLENMESİ**

Taner DERMAN
(190040007)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Nuran CIKCIKOĞLU YILDIRIM

II. DANIŞMAN
Doç. Dr. Osman SERDAR

TUNCELİ – 2021

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**FENANTREN VE FLUORANTEN POLİAROMATİK HİDROKARBONLARININ
TEK VE KOMBİNE TOKSİK ETKİLERİNİN *Gammarus pulex*'DE
BELİRLENMESİ**

**Taner DERMAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI**

Bu tez 10/12/2021 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **oy birliği** ile kabul edilmiştir.

İmza:.....

Prof. Dr. Nuran
CIKCIKOĞLU YILDIRIM
(Munzur Üniversitesi)

DANIŞMAN

İmza:.....

Prof. Dr. Mehmet
KOCABAŞ
(Karadeniz Teknik Üniversitesi)

ÜYE

İmza:.....

Doç. Dr. Gökhan Önder
ERGÜVEN
(Munzur Üniversitesi)

ÜYE

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

Doç. Dr. Murat KORUNUR
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

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

Proje No: YLMUB020-01

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.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

İmza
Taner DERMAN

Danışman
Prof. Dr. Nuran
CIKCIKOĞLU YILDIRIM

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmam süresince, tezimin her aşamasında bilgi, birikim, yardım ve yönlendirmelerini benden esirgemeyen değerli danışman hocam Prof. Dr. Nuran CIKCIKOĞLU YILDIRIM'a, deney ve tez yazım aşaması süresince sabır gösteren, destek ve yardımlarını benden esirgemeyen değerli II. danışman hocam Doç. Dr. Osman SERDAR'a, yine deney ve tez yazım süresince yanımda olan değerli hocam Arş. Gör. Dr. Abdullatif ÖLÇÜLÜ'ye ve gerek lisans gerek ise yüksek lisans tez yazım ve kontrolü süresince yardımlarını benden esirgemeyen enstitü personeli değerli büyüğüm Necmi ARITÜRK'e katkılarından dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Lisans eğitimim boyunca yardım ve desteğini esirgemeyen, yüksek lisansa adım atmama vesile olan değerli hocam Prof. Dr. Numan YILDIRIM'a teşekkürü borç bilirim.

Son olarak, atacağım yeni adımlarda doğumuyla bana ışık olacak olan yeğenim Elias'a ve en değerli hazinem; sevgili aileme TEŞEKKÜR ederim.

Taner DERMAN
TUNCELİ-2021

İÇİNDEKİLER

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	I
TEŞEKKÜR.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ŞEKİLLER LİSTESİ	IV
TABLOLAR LİSTESİ	V
SEMBOLLER LİSTESİ	VI
KISALTMALAR LİSTESİ	VII
ÖZET	VIII
ABSTRACT	IX
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Mikrokirleticiler	1
1.2. Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar (PAH)	2
1.3. Fenantren (Phe)	5
1.4. Floranten (Flu).....	6
1.5. Gammarus pulex.....	7
1.6. Biyobelirteçler	8
1.6.1. Asetilkolinesteraz (AChE).....	8
1.6.2. Glutasyon S-Transferaz (GST)	9
1.6.3. Sitokrom P450 1a1 (CYP1A1).....	10
2. MATERYAL VE METOT	11
2.1. Model Canlının Temini	11
2.2. <i>G. Pulex</i> 'lerin Laboratuvar Koşullarına Adaptasyonu	11
2.3. PAH'ların <i>G. pulex</i> 'teki LC ₅₀ Değerlerinin Belirlenmesi.....	12
2.4. Subletal Konsantrasyon Uygulamaları	12
2.5. Diseksiyon İşlemleri ve Süpernatantların Hazırlanması	13
2.6. Biyokimyasal Yanıtın Belirlenmesi	13
2.6.1. GST enzim aktivitesinin belirlenmesi	14
2.6.2. CYP1A1 enzim aktivitesinin belirlenmesi	14
2.6.3. AChE aktivitesinin belirlenmesi.....	14
2.7. İstatistiksel Analizler	15
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	16
3.1. LC ₅₀ Bulguları	16
3.2. Biyokimyasal Bulgular	16
3.2.1. Asetilkolinesteraz (AChE) enzim düzeyleri	18
3.2.2. Sitokrom P450 (CYP1A1) enzim düzeyleri	19
3.2.3. Glutasyon S-Transferaz (GST) enzim aktiviteleri	20
3.3. Tartışma	21
4. SONUÇ VE ÖNERİLER	31
5. KAYNAKLAR.....	33
ÖZGEÇMİŞ	42

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1.	Su damlası benzetmesi ile mikrokirleticiler (Url-2).....	1
Şekil 1.2.	EPA tarafından öncelikli kirletici olarak belirlenen 16 PAH (Alver ve ark., 2012)	2
Şekil 1.3.	Öncelikli kirletici olarak belirlenen 16 Polisiklik aromatik hidrokarbonların	4
Şekil 1.4.	Fenantren'in üç boyutlu hali (URL-3)	5
Şekil 1.5.	Fenantren'in kimyasal yapısı (URL-3)	5
Şekil 1.6.	Fenantren (URL-3).....	5
Şekil 1.7.	Floranten'in kimyasal yapısı (URL-5)	6
Şekil 1.8.	Floranten'in üç boyutlu hali (URL-5)	6
Şekil 1.9.	Gammarus pulex (URL-6)	7
Şekil 1.10.	Glutasyon Yapısı (URL-8)	9
Şekil 2.1.	Akvaryumdaki Stok G. pulex (Orijinal).....	12
Şekil 3.1.	Fenantren ve Floranten poliaromatik hidrokarbonlara farklı konsantrasyonlarına tek tek ve kombine olarak maruz bırakılan G. pulex'te AChE enzim aktivitelerindeki değişimler.....	18
Şekil 3.2.	Fenantren ve Floranten poliaromatik hidrokarbonlara farklı konsantrasyonlarına tek tek ve kombine olarak maruz bırakılan G. pulex'te CYP1A1 enzim aktivitelerindeki değişimler.....	19
Şekil 3.3.	Fenantren ve Floranten poliaromatik hidrokarbonlara farklı konsantrasyonlarına tek tek ve kombine olarak maruz bırakılan G. pulex'te GST enzim aktivitelerindeki değişimler.....	20

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 1.1. Gammarus pulex'in bilimsel sınıflandırılması	7
Tablo 2.1. Deney konsantrasyonları	12
Tablo 3.1. G. pulex bireyleri için Fenantren ve Floranten poliaromatik hidrokarbonlara ait LC50 değerleri	16
Tablo 3.2. Fenantren ve Floranten poliaromatik hidrokarbonlara farklı konsantrasyonlarına tek tek ve kombine olarak maruz bırakılan G. pulex'te CYP1A1, GST ve AChE enzim aktivitelerindeki değişimler	17
Tablo 3.3. Caenorhabditis elegans, Daphnia magna, Artemia salina, Chironomus tentans, ve Eisenia fetida model canlıları için çeşitli poliaromatik hidrokarbonlarının LC50 değerleri (µg/L).....	22



SEMBOLLER LİSTESİ

°C	: Santigrat Derece	
kD	: Kilodebye	
mg	: Miligram	
L	: Litre	
LC	: Letal Konsantrasyon	
LC50	: Letal Konsantrasyon %50	
W	: Ağırlık	
V	: Hacim	
PBS	: Tuzlu Fosfat Tamponu	
Rpm	: Dakikadaki devir sayısı	
Nm	:	Nanometre



KISALTMALAR LİSTESİ

ACh	: Asetilkolin
AChE	: Asetilenkolinesteraz
AR-GE	: Araştırma Geliştirme
CYP	: Sitokrom P-450
CYP1A1	: Sitokrom P-450 1a1
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EPA	: Çevre Koruma Ajansı
Flu	: Floranten
GSH	: Glutasyon
GST	: Glutasyon S-Transferaz
HRP	: Bayır Turpu Peroksidazı
IARC	: Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı
PAH	: Polisiklik Aromatik Hidrokarbon
Phe	: Fenantren
RNA	: Ribonükleik Ait
SPSS	: Sosyal bilimler için istatistik paketi
US-EPA	: Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı

ÖZET

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH'lar) havada, suda ve toprakta yaygın olarak bulunan organik bileşiklerdir. Günümüzde petrol türevi yakıtlardan ve tamamlanmamış yanma işlemlerinden elde edilen PAH'ların çevre üzerindeki miktarı giderek artmaktadır. Sucul ortamda omurgasızlar dahil suda yaşayan organizmalarda PAH toksisiteleri, biyobirikim özellikleri, endokrin bozulması ve dokuya özgü toksisite dahil olmak üzere PAH'ların toksisitesinin önemi ortaya çıkmıştır. Bu yönlerle ilgili olarak PAH'ların toksisitesinin belirlenmesi amacıyla Florantenler (Flu) ve Fenantren (Phe) PAH maddelerinin tek tek ve birlikte etkisinin sucul indikatör bir organizma olan *Gammarus pulex* üzerindeki nörotoksik, oksidatif stres ve maruz kalma etkisi nicel olarak belirlenmiştir. Bu amaçla öncelikle Flu, Phe ve Flu + Phe akut toksite (LC₅₀) değeri sırasıyla $5,88 \pm 0,23$, $8,31 \pm 0,57$ ve $7,00 \pm 0,33$ mg/L olarak belirlenmiştir. *G. pulex* organizma bireyleri belirlenen LC50 değerine oranla sublethal konsantrasyonlarına 14 gün süreyle maruz bırakılarak nörotoksik (Asetilkolinesteraz), oksidatif stres (Glutasyon S-Transferaz) ve maruz kalma etkisi (Sitokrom P450) belirlenmiştir.

G. pulex model canlısında asetilkolinesteraz (AChE) enzim düzeyleri kontrol grubu ile kıyaslandığında 7 ve 14 günün sonunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde inhibisyon gözlenmiştir. Sitokrom P450 (CYP1A1) maruz kalma etkisi kontrol grubu ile kıyaslandığında ise 7. günün sonunda tüm uygulama gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir değişim gözlenmemiş olup 14. günün sonunda ise kontrol grubu ile kıyaslandığında CYP1A1 enzim düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış olduğu saptanmıştır. Glutasyon S-Transferaz (GST) enzim aktiviteleri kontrol grubu ile kıyaslandığında 7 ve 14 gün maruz bırakma sonucunda gruplar arasında anlamlı düzeyde bir inhibisyon gözlenmiştir.

Yapılan bu çalışma ile Phe ve Flu PAH'larına farklı konsantrasyonlarına tek tek ve kombine olarak maruz bırakılan *G. pulex*'te biyotransformasyon enzimleri olan (CYP1A1, GST) ve nörotoksitenin bir biyobelirteçi olan (AChE) enzim seviyelerinde istatistiksel olarak önemli değişikliklere yol açtığı, kullanılan biyobelirteçlerden CYP1A1, GST ve AChE'nin yararlı birer biyobelirteç olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Fenantren, floranten, poliaromatik hidrokarbonlar, *Gammarus pulex*

ABSTRACT

Determination of Single and Combined Toxic Effects of Phenanthrene and Fluoranthene Polyaromatic Hydrocarbons in *Gammarus pulex*

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are organic compounds commonly found in air, water, and soil. Today, the amount of PAHs obtained from petroleum-derived fuels and incomplete combustion processes in the environment is increasing. The importance of PAHs toxicity in aquatic organisms, including invertebrates, has emerged, including PAH toxicities, bioaccumulation properties, endocrine disruption, and tissue-specific toxicity. Regarding these aspects, in order to determine the toxicity of PAHs, the neurotoxic, oxidative stress and exposure effects of Fluoranthene (Flu) and Phenanthrene (Phe) PAHs individually and together on *Gammarus pulex*, an aquatic indicator organism, were determined quantitatively. For this purpose firstly, Flu, Phe and Flu + Phe acute toxicity (LC_{50}) values were determined as 5.88 ± 0.23 , 8.31 ± 0.57 and 7.00 ± 0.33 mg/L, respectively. Neurotoxic (Acetylcholinesterase), oxidative stress (Glutathione S-Transferase) and exposure effect (Cytochrome P450) were determined by exposing *G. pulex* organism individuals to sublethal concentrations for 14 days in proportion to the determined LC_{50} value.

When acetylcholinesterase (AChE) enzyme levels were compared with the control group, a statistically significant inhibition was observed at the end of 7 and 14 days in *G. pulex* model animals. When the exposure effect of cytochrome P450 (CYP1A1) was compared with the control group, no statistically significant change was observed in all application groups at the end of the 7th day, and at the end of the 14th day, a statistically significant increase was found in the CYP1A1 enzyme levels when compared to the control group. When Glutathione S-Transferase (GST) enzyme activities were compared with the control group, a significant inhibition was observed between the groups after 7 and 14 days of exposure.

In this study, it was determined that *G. pulex* exposed to different concentrations of Phe and Flu PAHs individually or in combination, caused statistically significant changes in the enzyme levels, which are biotransformation enzymes (CYP1A1, GST) and a biomarker of neurotoxicity (AChE). It was concluded that biomarkers CYP1A1, GST and AChE are useful biomarkers.

Keywords: Phenanthrene, fluoranthene, polyaromatic hydrocarbons, *Gammarus pulex*

1. GİRİŞ

1.1. Mikrokirleticiler

Atıksularda bulunan, genellikle mikro ya da nano düzeydeki; aromatik hidrokarbonlar, pestisitler, farmasötikler, endokrin bozucular, kişisel bakım ürünleri ve endüstriyel diğer kirleticilerin (fitalat, bisfenol-A gibi) oluşturduğu kirletici türleri mikrokirleticiler olarak adlandırılır (Özcan, 2017).

Mikrokirleticiler; sucul ortam ve sucul canlılara yaptığı toksik ve istenmeyen etkileri ile sucul ortamın kalite ve değerini düşüren insan kaynaklı aktiviteler ile çevreye geçen mikro boyuttaki kirletici maddelerdir. Öncelikli kirleticiler, eser kirleticiler, zehirli ve dirençli çözünmeyen kirleticiler gibi isimler ile de tanımlanmaktadırlar (Worobec, 1986; URL-1, 2021). Sucul ortam ve çevresinde doğrudan ve dolaylı etkiler meydana getirerek alıcı ortamın kalitesini düşürebilir, besin zinciri yolu ile canlı organizmaların sağlığını etkileyebilirler (URL-1, 2021).

Konsantrasyonlarının düşük olmasına rağmen mikrokirleticilerin ekosisteme etkileri çok fazladır ve etkilerini değerlendirmek ise oldukça zordur. Gelişen teknolojiye paralel olarak daha çok kimyasal madde kullanımı ve giderim metotlarının tam olarak bilinmemesi mikrokirleticilerin çevreye hızla yayılmasını sağlamıştır. Sucul ekosistemde sürdürülebilirliğin sağlanabilmesi için mikrokirleticilerin kontrol altına alınması gerekmektedir. Aksi durumda sucul çevrede yaşayan canlılar üzerinde geri döndürülemez istenmeyen etkilere sebep olurlar. Bu etkilerden bazıları kısa süreli ve uzun süreli toksisite, cinsiyet oranlarının değişmesi, cinsiyet tersinimleri, populasyonun azalması, sucul organizmaların sinir sisteminde tahribat, alglerin fotosentezine etki, endokrin bozucu etkiler gibi birçok olumsuz etkilerdir (FOEN, 2012; Kabak, 2008; Luo ve ark., 2014; Odabaşı, 2019).

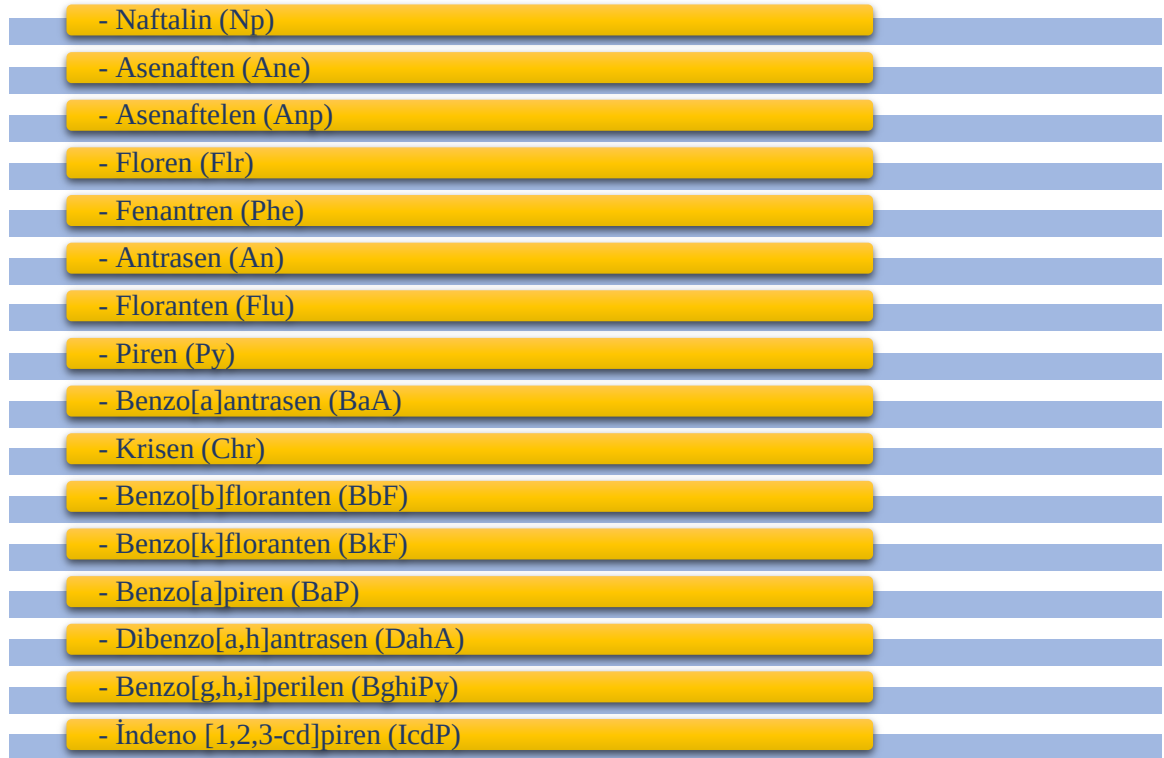


Şekil 1.1. Su damlası benzetmesi ile mikrokirleticiler (Url-2)

1.2. Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar (PAH)

PAH'lar organik bileşiklerin eksik yanması sonucu ortaya çıkan toksik ve kanserojen etkiye sahip yine organik yapıda bileşiklerdir (Zhang ve ark., 2010; Wcisło, 1998; Wang ve ark., 2010, Alver ve ark., 2012). Doğal oluşum şekilleri, orman yangınları ve volkanik patlamalardır. İnsan aktivitesi ile oluşumları ise endüstriyel kaynaklar, motorlu taşıtlar ve sigara ile olmaktadır. Sigara ile ortaya çıkan PAH miktar olarak diğerlerine göre az olmasına rağmen insan sağlığı açısından en fazla tehdit oluşturan kaynaklar arasındadır (Vardar ve ark., 2004). Endüstriyel kaynaklar, çöp yakma, çimento fabrikaları, petrol rafinerileri, kok ve asfalt üretimi, alüminyum, demir çelik üretiminden kaynaklanmaktadır (Baek ve ark.,1991; WHO, 1998). Isınma ve enerji amacı ile kullanılan kömür, odun gibi katı yakıtlar ile fosil yakıtlar da PAH oluşumuna neden olmaktadır (Ré-Poppi ve Santiago-Silva, 2005; Lee ve ark., 2001; Dabestani ve Ivanov, 1999; Alver ve ark., 2012).

Doğada 100'ün üzerinde PAH bileşiği olduğu tespit edilmiştir. Ancak, US-EPA tarafından kanserojen ve toksik etkisinin daha fazla olduğu düşünülen 16 PAH bileşiği öncelikli kirleticiler arasında kabul edilmiştir (EPA, 1999; Kayıkçı, 2017).



- Naftalin (Np)	
- Asenaften (Ane)	
- Asenaftelen (Anp)	
- Floren (Flr)	
- Fenantren (Phe)	
- Antrasen (An)	
- Floranten (Flu)	
- Piren (Py)	
- Benzo[a]antrasen (BaA)	
- Krisen (Chr)	
- Benzo[b]floranten (BbF)	
- Benzo[k]floranten (BkF)	
- Benzo[a]piren (BaP)	
- Dibenzo[a,h]antrasen (DahA)	
- Benzo[g,h,i]perilen (BgHiPy)	
- İndeno [1,2,3-cd]piren (IcdP)	

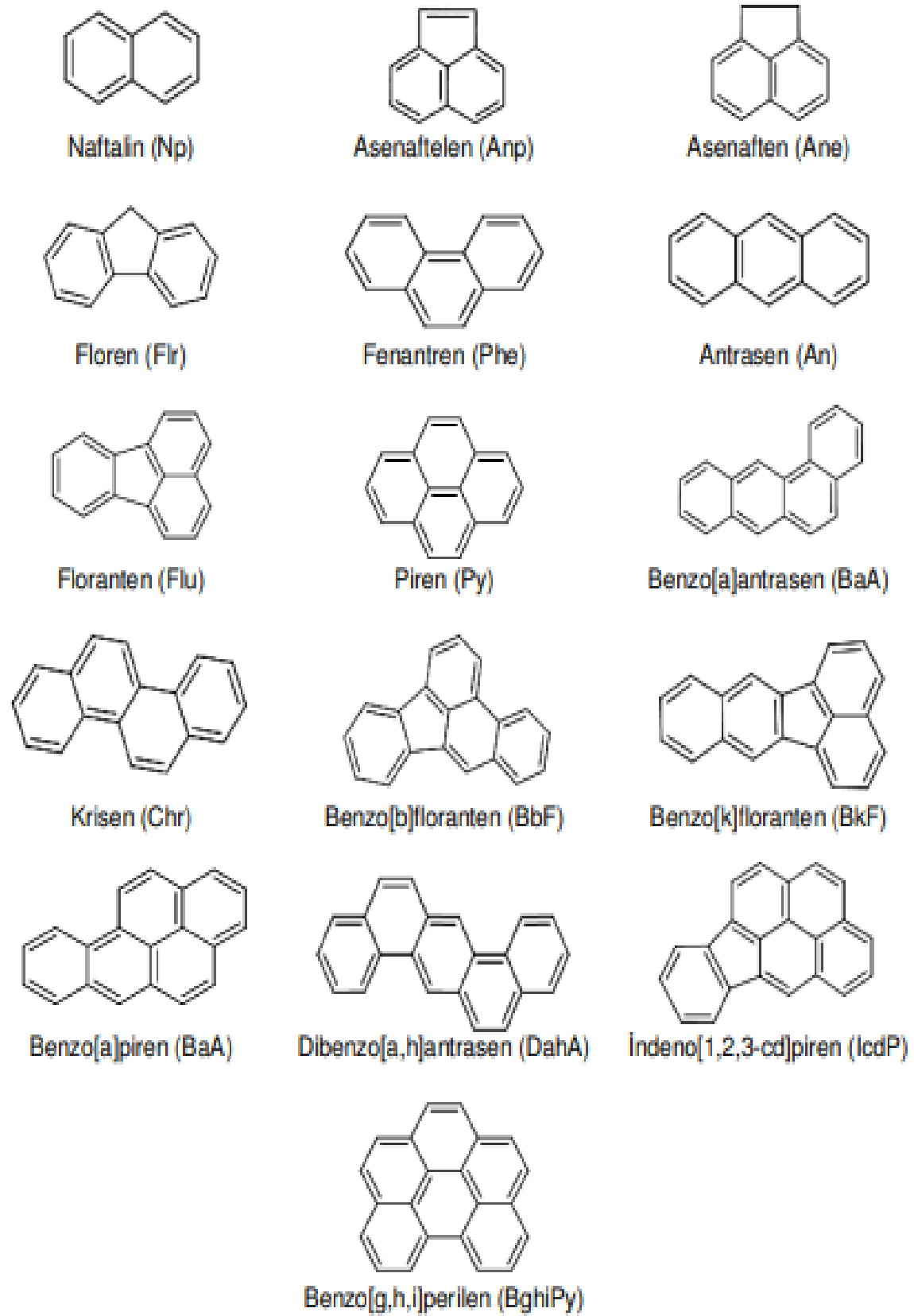
Şekil 1.2. EPA tarafından öncelikli kirletici olarak belirlenen 16 PAH (Alver ve ark., 2012)

Bekki ve ark., (2013) yaptıkları çalışmada PAH türevlerinin neden olduğu oksidatif stresin alerjik reaksiyon, dolaşım sistemi hastalığı, enfeksiyon ve yaşlanma gibi çeşitli hastalıklarda rol oynayabileceği bildirilmiştir.

Honda ve Suzuki, (2020) yaptıkları çalışmada PAH'ların özellikle su, tortu, balık, bentik omurgasızlar, deniz kuşları ve deniz memelileri dahil olmak üzere su ortamında yaygın olarak tespit edildiği bildirilmiştir.

Djomo ve ark., (2004) Yaptıkları çalışmada yeşil alg, *Scenedesmus subspicatus*'u 7 gün boyunca iki ila beş halkadan [naftalin (Nap), antrasen (Ant), fenantren (Phe), piren (Pyr) ve benzo(a)piren (BaP)] arasında artan moleküler ağırlığa sahip bir dizi PAH'a maruz bırakmışlardır. Bireysel PAH tarafından *S. subspicatus*'a popülasyon büyümesinin inhibisyonu olarak ölçülen toksisitenin şu sırayı takip ettiğini bildirmişlerdir: BaP>Pyr>Ant>Phe>Nap. Bu sonuçlara dayanarak, PAH'ların toksisite potansiyelinin, fiziko-kimyasal özelliklerinden (sulu çözünürlük, Kow, uçuculuk katsayısı, vb.) ve alg kültürü koşullarından (ışık, nitrat iyonlarının varlığı, vb.) güçlü bir şekilde etkilendiğini doğrulamıştır.

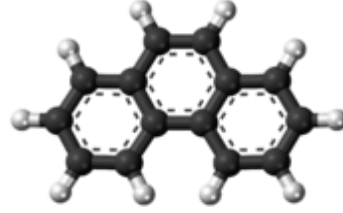
Wu ve ark., (2011) yaptıkları çalışmada Çin'deki su ekosistemlerinde antrasen, benzo(a)piren, krizen, floren, fenantren ve pirenin bir olasılık risk değerlendirmesi yapılmıştır. Risk değerlendirmesi, antrasen, benzo(a)piren, krizen, floren ve fenantrenin güvenilir maksimum risk katsayılarının (RQ), kabul edilebilir potansiyel ekolojik riski değeri olan 1 değerinden daha düşük, 0.064-0.755 aralığında olduğunu göstermiştir. Belirsizliğe rağmen, bu sonuçlar, yüksek PAH konsantrasyonlarına sahip su ekosistemlerinin potansiyel ekolojik riskler oluşturabileceği bildirilmiştir.



Şekil 1.3. Öncelikli kirlenici olarak belirlenen 16 Polisiklik aromatik hidrokarbonların molekül yapısı (Alver ve ark., 2012)

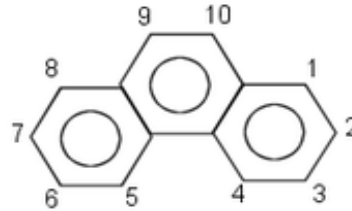
1.3. Fenantren (Phe)

Fenantren (Phe), doğrusal olmayan üç kaynaşık benzen halkası formundan oluşan PAH'tır. Saf form olarak sigara dumanında bulunur ve tahriş edici, renksiz bir katıdır. Phe mavi flüoresan içeren beyaz bir toz olarak görünür (URL-3).



Şekil 1.4. Fenantren'in üç boyutlu hali (URL-3)

Benzen haricindeki diğer PAH'lar çok halkalı ve hetero halkalı bileşikler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Çok halkalı grubuna giren Phe iskelet yapısının birçok biyolojik aktif doğal bileşiğin yapısında bulunması Phe sentezine yönelimi arttırmıştır (Ceran, 2009).



Şekil 1.5. Fenantren'in kimyasal yapısı (URL-3)

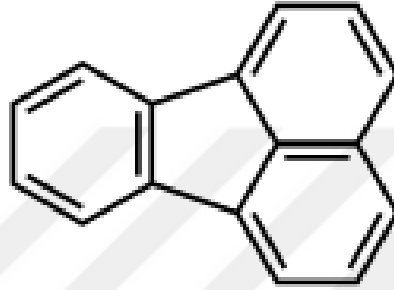
Phe'nin kömürden keşfedilmesinden ve yapısının çözülmesinden sonra Phe'in ve türevlerinin hazırlanması üzerine birçok çalışma yapılmıştır (Ceran, 2009).



Şekil 1.6. Fenantren (URL-3)

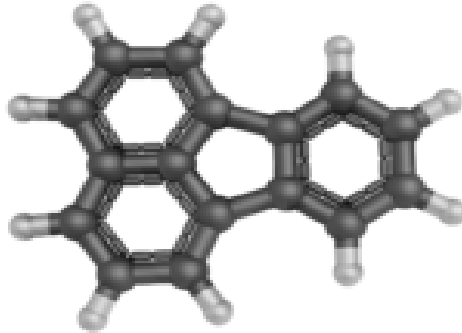
1.4. Floranten (Flu)

Florantenler (Flu), PAH'ların önemli bir alt sınıfıdır ve aradaki beş üyeli bir halka yoluyla naftalin ve benzen halkalarının kaynaşmış formları olarak tanımlanabilirler. Örnekler genellikle soluk sarı olmasına rağmen, bileşik renksizdir. Polar olmayan organik çözücülerde çözünür. Altı karbon atomlu olanlar haricinde başka halkalara sahip olduğu için alternatif olmayan PAH'lar olarak bilinen PAH sınıfının bir üyesidir (URL-4).



Şekil 1.7. Floranten'in kimyasal yapısı (URL-5)

Flu, kömür katranından türetilen bir PAH'tır. Fosil yakıtların eksik yanma ürünlerinde her yerde bulunan Flu ortam havasında, yüzeyde, içme suyunda ve atık suda ve kömürde kavrulmuş gıdalarda tespit edilmiştir (IARC, 1983; URL-5).



Şekil 1.8. Floranten'in üç boyutlu hali (URL-5)

Flu, diğer PAH'larla birlikte birçok yanma ürününde bulunur. Flu, EPA'nın 16 öncelikli kirletici olarak belirlediği PAH'larından bir tanesidir. Flu, Uluslararası Kansere Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından 3. grup kanserojen. İnsanlar için kanserojenliğine göre sınıflandırılmaz ancak kısa vadeli sonuçlara göre yeni doğan farelerde kanserojen özelliklere sahip olduğu bulunmuştur (URL-5).

1.5. Gammarus pulex

Gammarus pulex, tatlısu amfipodları grubunda yer alır. *Gammarus*lar, toksikolojik çalışmalarda kullanılan en popüler canlı gruplarından bir tanesidir. Dünya üzerinde yaygın olarak bulunması, ulaşılması ve toplama kolaylığı ile birlikte laboratuvar koşullarında yaşatılabilmesi konusunda büyük sorunlar çıkarmayışı çalışmalarda popüler olarak tercih edilen canlı grubu olmasını sağlamıştır. Ayrıca *Gammarus*lar birçok toksik maddeye karşı da duyarlı organizmalardır (Poyraz, 2001; Güneş, 2020).



Şekil 1.9. *Gammarus pulex* (URL-6)

Literatürde pestisitlerin sucul ortamda yaşayan canlılar üzerindeki etkilerini inceleme üzerine gerçekleştirilen birçok çalışma bulunmaktadır. *Gammarus*'ların pestisitlerden doğrudan etkilenmeleri, toksisite çalışmalarında bu türün yaygın bir biçimde kullanılmasında tercih nedeni olmasında etkili olmuştur. Bu nedenle bu cinsin toksikolojik çalışmalardaki kullanımı giderek artmaktadır (Güneş, 2020).

Tablo 1.1. *Gammarus pulex*'in bilimsel sınıflandırılması

Binom Adı	<i>Gammarus pulex</i> (Linnaeus, 1758)
Alem	Hayvanlar
Şube	Eklembacaklılar
Altşube	Kabuklular
Sınıf	Malakostraka
Takım	Amfipoda
Aile	Gammaridae
Cins	<i>Gammarus</i>
Tür	<i>Gammarus pulex</i>

1.6. Biyobelirteçler

Biyobelirteçler genel tanım olarak; normal biyolojik süreçler, patolojik süreçler veya terapötik bir işleme karşı farmakolojik cevabın göstergesi olabilen, objektif olarak ölçülüp değerlendirilmesi yapılabilen özelliktir. Kısaca; biyolojik bir durumun biyolojik ölçümleri olarak tanımlayabiliriz (URL-7). Enzimler gibi biyokimyasal ve fizyolojik göstergeler, suda yaşayan organizmaların sağlığı ciddi şekilde etkilenmeden önce olası çevresel kontaminasyonları belirlemek ve su kalitesi endeksleri geliştirmek için biyobelirteç olarak kullanılabilirler (Osman ve ark., 2010).

1.6.1. Asetilkolinesteraz (AChE)

Sinir, kas dokularında ve periferik olan birçok dokuda enzim olarak bulunan AChE'nin ana görevi, asetilkolini hidrolize ederek sinir iletimini engellemektir. AChE katalitik birimi ve temel yapısal kütlesi 70-80 kD aralığında olan bir gliko proteindir (Küçükılınç, 2014; Beyazsakal, 2021).

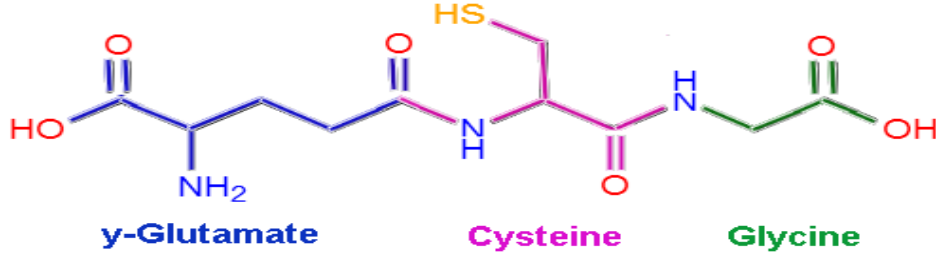
AChE çevresel sinir sisteminde olup aynı zamanda merkezi sinir sisteminde de yani beyin ya da omurilik gibi bölgelerde de görev yapan moleküldür. Sinir hücreleri arasındaki sinaps adı verilen boşluklarda sinirsel olarak uyarıların bir nörondan öbürüne geçişinde rol oynar. ACh ve benzeri moleküllere genel olarak nörotransmitter adı verilir ve sinir sistemlerinden kas sistemlerine uyarı geçişi sağlanmasını da sağlar. Kas ve iskelet sistemlerinde, vücudun hareket etmesinde görev alan ana nörotransmitterdir (Beyazsakal, 2021).

AChE, ACh'ı hidrolizleyen hidrolaz grubundan bir enzimdir. Oldukça yüksek aktiviteye sahip olan AChE enzimi saniyede yaklaşık olarak 25.000 ACh molekülünü parçalayabilmektedir. AChE enziminin aktif bölgesi katyonik alt birim ve anyonik alt birim olarak iki alt birimden oluşur. AChE enziminin yapısı ve reaksiyon mekanizması enzimin kristal yapısı ile açıklanmıştır (Sussman ve ark., 1991; Çetin, 2021).

AChE, sinir uçları önünde biriken kimyasalları toplayarak ortamdan uzaklaştırır. Bu sayede, elektron taşıyıcıların önü devamlı olarak açıldığından sinirsel iletim kesintisiz ve dengeli bir şekilde gerçekleşir (Göçer ve ark., 2013; Akıncıoğlu ve ark., 2014; Çoşkun, 2021).

1.6.2. Glutasyon S-Transferaz (GST)

Glutasyon (GSH); SH (sülfhidril), sistenin sülfhidril grubuna işaret eder ve molekülün alışveriş yapan kısmıdır. Glutasyon ile ksenobiyotiklerin reaksiyonlarını katalizleyen enzimlere glutasyon S-transferaz denir (Hayes ve Pulford, 1995; Orhan, 2011). GST'ler ilk kez 1961'de Booth ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (Hayes ve Pulford, 1995; Orhan, 2011). Ksenobiyotik metabolizmasında glutasyonun rolü; faz I enzimlerince oluşturulan reaktif türlerin glutasyon ile konjugasyona girmesi ve sonuçta hücre makromolekülleri (DNA, RNA, protein) ile bağlanmasını engelleyerek hücre hasarını önlemesi şeklinde gerçekleşmektedir (Boar ve ark., 1990; Orhan, 2011).



Şekil 1.10. Glutasyon Yapısı (URL-8)

GSH, GST enziminin çalışabilmesi için tepkime ortamında mutlaka bulunmalıdır. GST enzimi, GSH bağımlı çalıştığı için, GSH'a kosubstratta denmektedir. GSH dışındaki diğer substratlar, oldukça geniş bir yayılım gösterdiklerinden dolayı, GST enzimi, kısmi substrat özgüllüğü gösteren bir enzimdir. Bunun yanında oksidasyonla oluşan ürünlerin ya da dışarıdan alınan yabancı toksik maddelerin, vücutta bulunan diğer makromoleküller ile birleşmesini önleyip, hücre komponentlerine zarar vermeden atılmasını sağlarlar. Bu yüzden GST'ler, çok önemli koruyuculuk görevi gören enzim gruplarından biridir (Armstrong, 1997; Hayes ve ark., 2005; Baş, 2006; Özaslan, 2014).

GST çok sayıda ksenobiyotik, sitotoksik ajanların ve kanserojenlerin metabolizmasından sorumlu bir enzim ailesidir. Bu enzim geniş bir yelpazede yer alan organik bileşiklerle glutasyonun reaksiyona girmesi ve tiyoester oluşumunu, bazen de detoksifikasyonun ilk adımında yer alarak merkaptöürik asit oluşumunu katalizler (Rushmore ve Pickett, 1993; Öztürk, 2006).

1.6.3. Sitokrom P450 1a1 (CYP1A1)

CYP1A1 geni ksenobiyotik metabolizmasında rol alan CYP1A1 proteinini kodlamaktadır. Kanserojen etkisi olup sigarada bulunan PAH kimyasallarının ve serbest radikallerin oluşumundan sorumlu bir proteindir. CYP1A1, P450 formları içinde en fazla hidrokarbonlarla indüklenabilen enzim aktivitesine sahip enzimdir. 1964 yılında yapılan çalışmada PAH'ların DNA'ya bağlanmalarıyla kanser ilişkisi gösterilmiştir. CYP1A1 proteini toplamda 512 amino asitten oluşmaktadır. CYP1A1 epitelyal dokularda anlam kazanan bir enzimdir. 11'den fazla aleli vardır; CYP1A1 *2A, *2B, *2C, *3, *4, *5, *6, *7, *8, *9, *11 (Zamani ve Yıldırım, 2014; Ay 2015).

CYP enzimleri steroidlere, yağ asitlerine, vitaminlere ve yabancı maddelere çok fazla oksijen taşıyabilmektedirler. Bu enzimler ışığı 450 nm frekansında emdikleri için Sitokrom P450 olarak adlandırılmışlardır ve bunlar hepatositlerde en yüksek konsantrasyonda bulunmakla beraber farklı dokularda da görülebilmektedirler (Preskorn, 1996; Doğan 2016).

Yapılan bir çalışmada CYP1A1 geni promotör bölgesinde metilasyon oranının, çok miktarda sigara içen bireylerde %33, az miktarda sigara içen bireylerde %71 ve sigara içmeyen bireylerde %98 olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda sigara kullanımı bırakıldıktan sonra bir hafta içinde CYP1A1 geni promotör bölgesinin metilasyon oranında artış saptanmıştır. Bu çalışma sonucunda CYP1A1 indüksiyonunun düzenlenmesinde metilasyonun rolü olduğu ortaya konmuştur (Anttila ve ark., 2003; Polat, 2020).

Sitokrom P450 enzim sistemi, dışarıdan alınan ilaçlar, endüstriyel kimyasallar, pestisidler, petrol ürünleri, alkaloidler gibi maddeleri metabolize yapan sistemdir. Sitokromlar tüm doku ve ince bağırsak sistemi, akciğerler, böbrek, beyin, lenfositler ve plasenta gibi organlarda, en fazla da karaciğer hücrelerinin ER membranları üzerinde bulunmaktadır. Steroidler, yağ asitleri, prostaglandinler, lökotrienler ve biyogenaminleri bu enzimlerin fizyolojik substratları olarak bilinmektedir. İlaçlar, bitki toksinleri ve toksik kimyasallar gibi xenobiyotikler de bu enzimler tarafından metabolize edilmektedir (Rozman, 2001; Doğan, 2016).

Yapılan bu çalışmada ise Flu ve Phe PAH maddelerinin sucül indikatör bir organizma olan *G. pulex* üzerindeki nörotoksik etki için AChE, oksidatif stres için GST ve maruz kalma etkisi için sitokrom P450 biyobelirteçleri kullanılarak PAH etkisi nicel olarak belirlenmiştir.

2. MATERYAL ve METOT

2.1. Model Canlının Temini

Çalışmada kullanılan model canlı *G. pulex* (L., 1758) örnekleri, Munzur Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Laboratuvarında kültüre edilmiş organizmalardan temin edilmiştir.

Kültüre edilmiş *G. pulex*'ler, deneysel uygulamanın yapılacağı Akuatik Toksikoloji Araştırma Laboratuvarına canlı olarak getirilmiş ve bu koşullara adaptasyonu için 15 gün bekletilmiştir.

2.2. *G. Pulex*'lerin Laboratuvar Koşullarına Adaptasyonu

Deneysel çalışma için laboratuvara canlı olarak getirilen *G. pulex* örnekleri, benzer boyuttaki sağlıklı erkek bireylerden seçilmiştir. Laboratuvarın ısı ve aydınlatması kontrollü hale getirilmiştir. Aydınlatmada, zaman ayarlı elektrik devresi ile 12:12 aydınlık:karanlık olacak şekilde fotoperyot uygulanmıştır (Yüksel et al., 2020). Sıcaklık ise termostatlı klima ile deneysel tüm aşamalarda $18\pm0,5$ °C'ye ayarlanmıştır.

Test organizmasının tutulduğu stok akvaryumlarında su sirkülasyonu için dış filtre kullanılmıştır. Adaptasyon süresince canlıların beslenmesi ve hareketliliği gözlemlenmiştir.



Şekil 2.1. Akvaryumdaki Stok *G. pulex* (Orijinal)



2.3. PAH'ların *G. pulex*'teki LC₅₀ Değerlerinin Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan her bir kirletici (PHE ve FLU) maddelerinin ve birlikte kombine (PHE + FLU) akut toksisite testleri, 96 saatlik statik LC₅₀ testi ile *G. pulex*'lere uygulandı. Bu amaçla öncelikle organizmalara aralık belirleme testi uygulanmış, test sonuçlarına göre PHE için konsantrasyonları 0,000 (kontrol), 0,01, 0,10, 1,00 ve 10,00 mg/L, FLU için 0,000 (kontrol), 0,01, 0,10, 1,00 ve 10,00 mg/L ve PHE + FLU için 0,000 (kontrol), 0,01, 0,10, 1,00 ve 10,00 mg/L LC₅₀ testi uygulama konsantrasyonları belirlenmiştir (Tablo 2.1). LC₅₀ değeri için belirlenen konsantrasyonlarda 1 litre hacme sahip cam akvaryumlara 10'ar adet *G. pulex* bireyleri kullanılarak akut toksisite testi uygulanmıştır. Akut toksisite testlerinin (aralık belirleme testleri dahil) tüm aşamaları üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

Tablo 2.1. Deney konsantrasyonları

Kirleticiler	Kontrol	Akut Toksisite Grupları (mg/L)			
PHE	0,00	0,01	0,10	1,00	10,00
FLU	0,00	0,01	0,10	1,00	10,00
PHE + FLU	0,00	0,01	0,10	1,00	10,00

Akut toksisite deneysel çalışmalarında 96 saat süre içerisinde organizmalara besleme yapılmamıştır. Deneme süresince her bir konsantrasyon grubu 24, 48, 72 ve 96. saatlerde gözlemlenmiştir. Ölü bireyler deneme ortamından uzaklaştırılarak not edilip kayıt altına alınmıştır. Elde edilen verilerden probit analizi kullanılarak 96 saatlik LC₅₀ toksisite değerleri hesaplanmıştır.

2.4. Subletal Konsantrasyon Uygulamaları

LC₅₀ değerleri hesaplanan Fenantren, Floranten ve kombine Fenantren ve Floranten değerlerine oranla aşağıda tanımlanan uygulama konsantrasyonları oluşturulmuştur.

K Grubu (Kontrol); herhangi bir kirleticiye maruz bırakılmamış test organizmaları,

A Grubu; PHE'ye ait LC₅₀ değerinin 1/40 oranında sublethal konsantrasyonu,

B Grubu; PHE'ye ait LC₅₀ değerinin 1/20 oranında sublethal konsantrasyonu,

C Grubu; PHE'ye ait LC₅₀ değerinin 1/10 oranında sublethal konsantrasyonu,

D Grubu; FLU'ya ait LC₅₀ değerinin 1/40 oranında sublethal konsantrasyonu,
E Grubu; FLU'ya ait LC₅₀ değerinin 1/20 oranında sublethal konsantrasyonu,
F Grubu; FLU'ya ait LC₅₀ değerinin 1/10 oranında sublethal konsantrasyonu,
G Grubu; PHE + FLU'ya ait LC₅₀ değerinin 1/40 oranında sublethal konsantrasyonu,
H Grubu; PHE + FLU'ya ait LC₅₀ değerinin 1/20 oranında sublethal konsantrasyonu,
I Grubu; PHE + FLU'ya ait LC₅₀ değerinin 1/10 oranında sublethal konsantrasyonu,

Test organizmaları, oluşturulan bu kirlетici konsantrasyonlarına 7 gün ve 14 gün boyunca maruz bırakılmıştır. Maruz bırakma işlemi sonrasında test organizmaları hızlı bir şekilde -86 °C ultra dondurucuda biyokimyasal yanıtları tespit edilmek üzere muhafaza edilmiştir.

2.5. Diseksiyon İşlemleri ve Süpernatantların Hazırlanması

Bu kısımda yapılan tüm çalışmalar Munzur Üniversitesi Merkezi AR-GE Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmada model canlı olarak *G. pulex* kullanılmıştır. Test organizma bireylerinden 0,5 g 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 edilerek ve elde edilen süpernatantlar -86 °C' de derin dondurucuda ölçüm işlemleri tamamlanıncaya kadar muhafaza edilmiştir.

2.6. Biyokimyasal Yanıtın Belirlenmesi

Çalışmamızda biyokimyasal yanıtın belirlenmesi için, GST, CYP1A1, AChE enzim aktiviteleri belirlenmiştir.

Çalışmada kullanılan GST kiti CAYMAN, CYP1A1 ve AChE kitleri ise CUSABIO firmasından satın alınmıştır. Katalog numaraları sırasıyla (GST: 703302, CYP1A1: CSB-EL006395FI, AChE: CSB-E17001Fh)'dir.

2.6.1. GST enzim aktivitesinin belirlenmesi

Cayman's Glutasyon S-Transferaz Test Kiti, 1-kloro-2,4dinitrobenzenin (CDNB) indirgenmiş glutasyon ile konjugasyonunu ölçerek toplam GST aktivitesini (sitosolik ve mikrozomal) ölçülmüştür. Konjugasyona 340 nm'de absorbans artışı eşlik eder. Artış oranı, numunedeki GST aktivitesi ile doğru orantılıdır. Cayman GST Test Kiti ile doku homojenatları GST aktivitesini ölçmek için kullanılamıştır. Sitosolik ve mikrozomal GST aktivitesi, Numune Hazırlama protoklü izlenerek gerçekleştirilmiştir.

2.6.2. CYP1A1 enzim aktivitesinin belirlenmesi

Bu testte, rekabetçi inhibisyon enzimi immünoassay tekniğini kullanarak, sağlanan mikropate CYP1A1'e özgü bir antikorla önceden kaplanmıştır. Standartlar veya numuneler, Biotin-konjuge CYP1A1 ile uygun mikropate kuyucuklarına eklenir. CYP1A1'e özel önceden kaplanmış antikor ile Biotin-konjuge CYP1A1 arasında rekabetçi bir inhibisyon reaksiyonu başlatılır. Numunelerdeki CYP1A1 miktarı ne kadar fazlaysa, Biotin-konjuge CYP1A1 tarafından bağlanan antikor o kadar az olur. Mikropate yıkandıktan sonra kuyucuklara avidin konjuge Horseradish Peroxidase (HRP) ve substrat solüsyonu eklenerek numunedeki CYP1A1 miktarına zıt renk gelişir. Rengin yoğunluğunun ölçülme prensibi ile CYP1A1 enzim aktivitesi hesaplanmıştır.

2.6.3. AChE aktivitesinin belirlenmesi

Bu test, rekabetçi inhibisyon enzimi immünoassay tekniğini kullanarak, sağlanan mikropate AChE'ye özgü bir antikorla önceden kaplanmıştır. Standartlar veya numuneler, Biotin-konjuge AChE ile uygun mikropate kuyucuklarına eklenir. AChE (Standartlar veya numuneler) ve AChE'ye özel önceden kaplanmış antikor ile Biotin ile konjuge AChE arasında rekabetçi bir inhibisyon reaksiyonu başlatılır. Örneklerdeki AChE miktarı ne kadar fazlaysa, Biotin-konjuge AChE tarafından bağlanan antikor o kadar az olur. Mikropate yıkandıktan sonra kuyucuklara avidin konjuge Horseradish Peroxidase (HRP) ve substrat solüsyonu eklenerek numunedeki AChE miktarına zıt renk gelişir. Rengin

yoğunluğunun ölçülme prensibi ile AChE enzim aktivitesi hesaplanmıştır.

2.7. İstatistiksel Analizler

Çalışma sonunda var olan verilerin istatistiksel analizleri SPSS 24.0 istatistik programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir ilacın *G. pulex*'teki LC₅₀ değeri Probit analizi kullanılarak hesaplanmıştır. Aynı uygulama süre içinde farklı gruplar arasındaki istatistiksel fark DUNCAN testi ile belirlenmiştir. Uygulama süreleri (7 ve 14 gün) arasındaki fark ise bağımsız t testi ile belirlenmiştir (Sümbüloğlu, 1998; Kalaycı, 2010).



3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. LC₅₀ Bulguları

Aralık belirleme testlerinden sonra *G. pulex* bireyleri için Fenantren, Floranten ve kombine Fenantren ve Floranten poliaromatik hidrokarbonlara ait LC₅₀ değerleri belirlenmiş olup Tablo 3.1’de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. *G. pulex* bireyleri için Fenantren ve Floranten poliaromatik hidrokarbonlara ait LC₅₀ değerleri

Kirleticiler	LC ₅₀ Değeri (mg/L)
Flu	5,88 ± 0,23
Phe	8,31 ± 0,57
Flu + Phe	7,00 ± 0,33

3.2. Biyokimyasal Bulgular

Bu çalışmada Fenantren ve Floranten poliaromatik hidrokarbonlara farklı konsantrasyonlarına tek tek ve kombine olarak maruz bırakılan *G. pulex*’te CYP1A1, GST ve AChE enzim aktiviteleri belirlenmiş olup elde edilen sonuçlar Tablo 3.2’de gösterilmiştir.

Tablo 3.2. Fenantren ve Floranten poliaromatik hidrokarbonlara farklı konsantrasyonlarına tek tek ve kombine olarak maruz bırakılan *G. pulex*'te CYP1A1, GST ve AChE enzim aktivitelerindeki değişimler

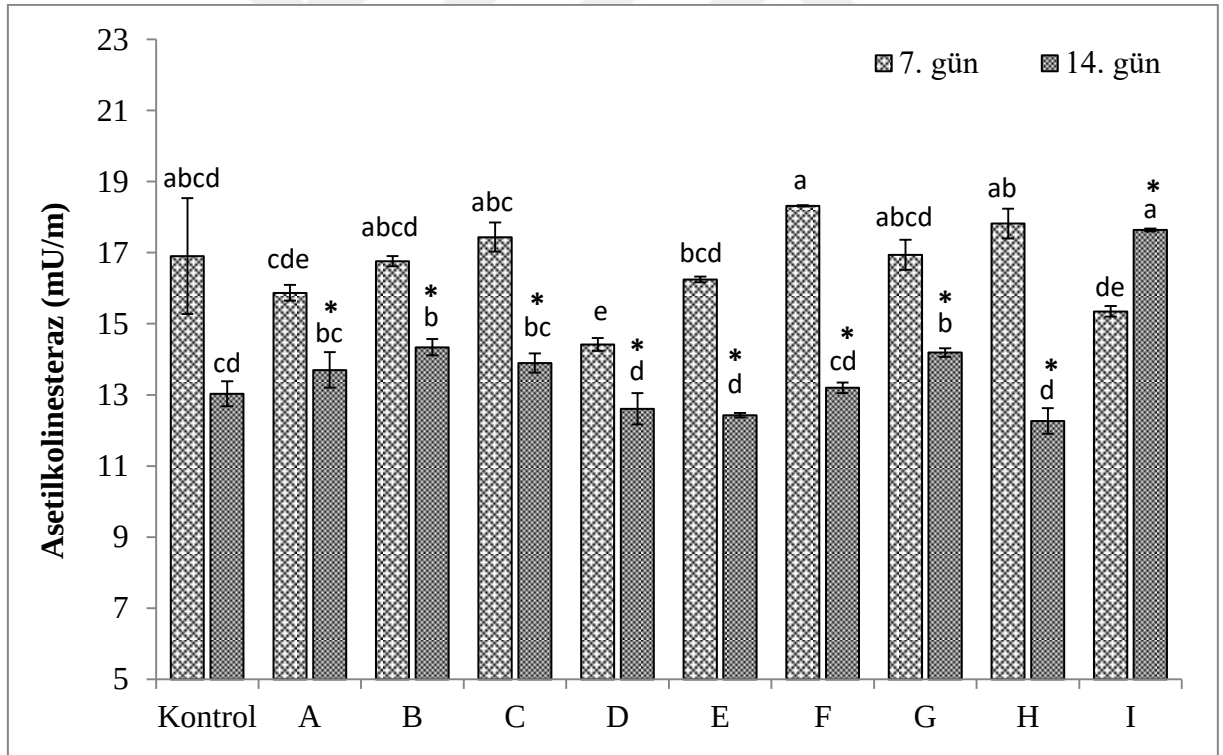
Asetilkolinesteraz (ng/mL)	7. gün	14. gün
Kontrol	16,90±1,63 ^{abcd}	13,03±0,35 ^{cd}
Flu1/40(A)	15,87±0,22 ^{cde}	13,70±0,50 ^{bc*}
Flu1/20(B)	16,76±0,14 ^{abcd}	14,34±0,23 ^{b*}
Flu1/10(C)	17,44±0,41 ^{abc}	13,90±0,27 ^{bc*}
Phe1/40(D)	14,42±0,18 ^e	12,61±0,44 ^{d*}
Phe1/20(E)	16,25±0,08 ^{bcd}	12,43±0,06 ^{d*}
Phe1/10(F)	18,32±0,02 ^a	13,20±0,15 ^{cd*}
Flu+Phe 1/40(G)	16,94±0,42 ^{abcd}	14,19±0,12 ^{b*}
Flu+Phe 1/20(H)	17,82±0,42 ^{ab}	12,27±0,36 ^{d*}
Flu+Phe1/10(I)	15,35±0,15 ^{de}	17,64±0,04 ^{a*}
CYP1A1(pg/mL)	7. gün	14. gün
Kontrol	505,30±17,94 ^b	291,73±8,33 ^{d*}
Flu1/40(A)	454,90±31,42 ^b	388,2±21,63 ^b
Flu1/20(B)	420,78±4,84 ^b	394,59±20,12 ^b
Flu1/10(C)	767,72±19,21 ^a	357,90±16,20 ^{bcd*}
Phe1/40(D)	421,71±31,59 ^b	334,72±23,38 ^{bcd}
Phe1/20(E)	469,14±4,70 ^b	387,20±27,31 ^b
Phe1/10(F)	489,97±28,54 ^b	297,78±12,37 ^{cd*}
Flu+Phe 1/40(G)	497,36±31,67 ^b	371,25±17,43 ^{bc*}
Flu+Phe 1/20(H)	481,91±29,10 ^b	341,19±21,27 ^{bcd*}
Flu+Phe1/10(I)	422,71±4,62 ^b	537,66±26,55 ^{a*}
GST (nmol/min/mL)	7. gün	14. gün
Kontrol	53,94±6,03 ^c	94,09±9,64 ^{a*}
Flu1/40(A)	37,44±4,98 ^d	59,80±0,08 ^{b*}
Flu1/20(B)	31,41±0,74 ^d	32,02±3,44 ^d
Flu1/10(C)	26,59±0,86 ^d	29,61±0,09 ^{d*}
Phe1/40(D)	86,45±1,85 ^a	47,80±1,09 ^{bc*}
Phe1/20(E)	74,65±8,51 ^b	29,53±0,31 ^{d*}
Phe1/10(F)	26,72±1,63 ^d	37,79±1,16 ^{cd*}
Flu+Phe 1/40(G)	54,01±3,46 ^c	28,88±0,53 ^{d*}
Flu+Phe 1/20(H)	27,85±1,12 ^d	28,46±1,28 ^d
Flu+Phe1/10(I)	29,65±0,12 ^d	37,83±1,11 ^{cd*}

*Üst simgedeki a, b ve c harfleri aynı gündeki farklı gruplar arasındaki ve Üst simgedeki * ise aynı uygulama grubunun farklı günleri (7. ve 14. gün) arasındaki istatistiksel farkları göstermektedir.

3.2.1. Asetilkolinesteraz (AChE) enzim düzeyleri

Fenantren ve Floranten poliaromatik hidrokarbonlarına farklı konsantrasyonlarına tek tek ve kombine olarak maruz bırakılan *G. pulex*'te AChE enzim düzeylerindeki değişimler belirlenmiş olup sonuçlar Tablo 3.2'de gösterilmiştir. Kontrol grubu ile kıyaslandığında 7. günün sonunda A, D ve I gruplarında AChE enzim düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir inhibisyon gözlenmiştir ($p<0,05$). 14. günün sonunda ise kontrol grubu ile kıyaslandığında D, E ve H gruplarında AChE enzim düzeylerinde yine inhibisyon gözlenmiştir ($p<0,05$). En fazla inhibisyon Fenantren ve Fluoranten uygulamasının birlikte yapıldığı H grubunda olduğu saptanmıştır ($p<0,05$).

Uygulama süreleri kıyaslandığında ise I grubu hariç tüm uygulama gruplarında 14. günde enzim düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür ($p<0,05$).

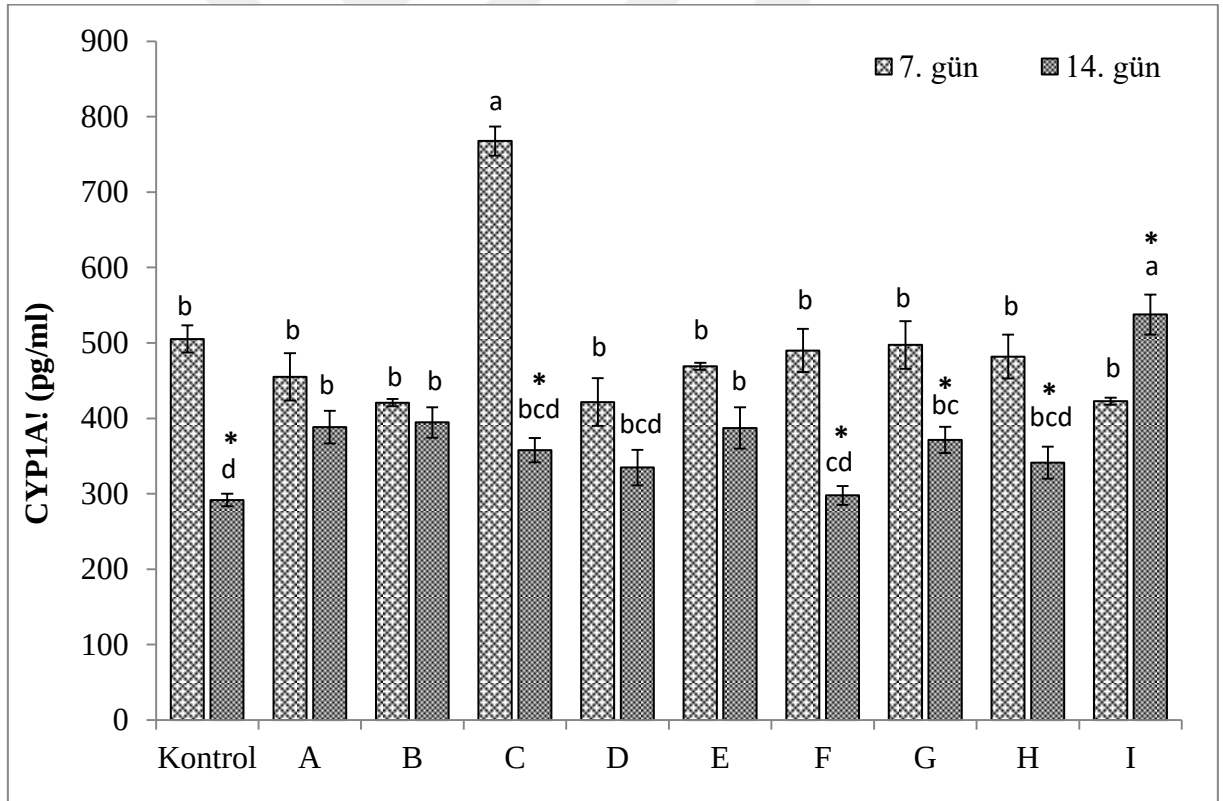


Şekil 3.1. Fenantren ve Floranten poliaromatik hidrokarbonlarına farklı konsantrasyonlarına tek tek ve kombine olarak maruz bırakılan *G. pulex*'te AChE enzim aktivitelerindeki değişimler

3.2.2. Sitokrom P450 (CYP1A1) enzim düzeyleri

Fenantren ve Floranten poliaromatik hidrokarbonlarına farklı konsantrasyonlarına tek tek ve kombine olarak maruz bırakılan *G. pulex*'te CYP1A1 enzim düzeylerindeki değişimler belirlenmiş olup sonuçlar Tablo 3.2'de gösterilmiştir. Kontrol grubu ile kıyaslandığında 7. günün sonunda tüm uygulama gruplarında CYP1A1 enzim düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir değişim gözlenmemiştir ($p>0,05$). 14. günün sonunda ise; kontrol grubu ile kıyaslandığında CYP1A1 enzim düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış bulunmuştur ($p<0,05$).

Uygulama süreleri kıyaslandığında ise; A, B ve E grubu hariç tüm uygulama gruplarında CYP1A1 enzim düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır ($p<0,05$).

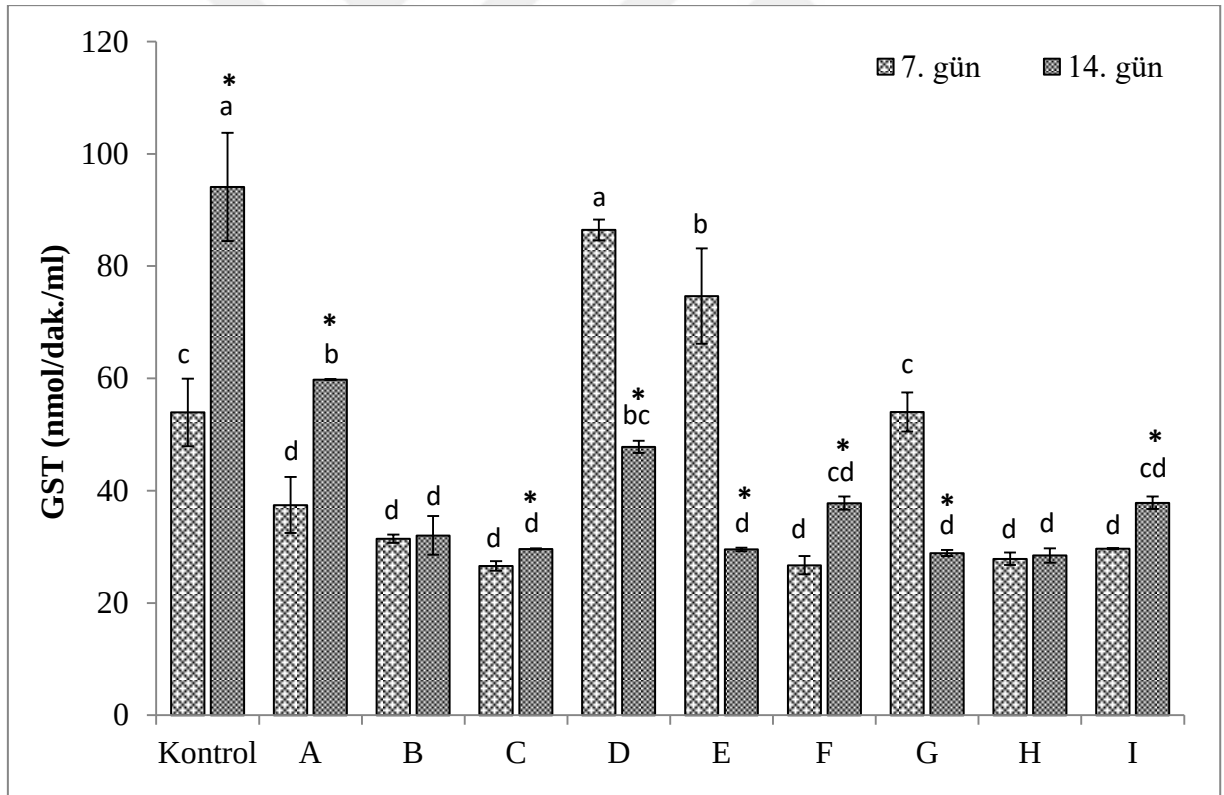


Şekil 3.2. Fenantren ve Floranten poliaromatik hidrokarbonlarına farklı konsantrasyonlarına tek tek ve kombine olarak maruz bırakılan *G. pulex*'te CYP1A1 enzim aktivitelerindeki değişimler

3.2.3. Glutasyon S-Transferaz (GST) enzim aktiviteleri

Fenantren ve Floranten poliaromatik hidrokarbonlarına farklı konsantrasyonlarına tek tek ve kombine olarak maruz bırakılan *G. pulex*'te GST enzim aktivitesindeki değişimler belirlenmiş olup sonuçlar Tablo 3.2'de gösterilmiştir. Kontrol grubu ile kıyaslandığında 7. günün sonunda A, B, C, F, H ve I gruplarında GST enzim aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir inhibisyon gözlenmiştir ($p<0,05$). 14. günün sonunda ise kontrol grubu ile kıyaslandığında tüm uygulama gruplarında GST enzim aktivitelerinde inhibisyon gözlenmiştir ($p<0,05$).

Uygulama süreleri kıyaslandığında GST enzim aktiviteleri 14. günün sonunda A, B, C, F, H, I gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmış ($p<0,05$), D, E ve G, gruplarında ise; istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır ($p<0,05$).



Şekil 3.3. Fenantren ve Floranten poliaromatik hidrokarbonlarına farklı konsantrasyonlarına tek tek ve kombine olarak maruz bırakılan *G. pulex*'te GST enzim aktivitelerindeki değişimler

3.3. Tartışma

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar, hava, toprak ve sedimente kolayca bağlanan yaygın ve çevresel olarak kalıcı kimyasallardır (Bartonitz ve ark., 2020). Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH'lar) çevrede birikme eğilimi göstermesi nedeniyle çevre kirliliğine neden olurlar ve biyolojik dengeyi önemli ölçüde etkilerler. Doğa, sucul yaşam ve insan üzerindeki olumsuz etkilerinden dolayı, PAH'lar, yüzey suyu kütlelerinde izlenmesi gereken önemli kirleticilerden biri olarak kabul edilir (Eker ve ark., 2019). Fenantren, USEPA tarafından 16 öncelikli hidrokarbondan biri olarak kabul edilir. Üç aromatik halkaya sahiptir ve sudaki organizmalar için tehlikeli olmasına rağmen insan sağlığı için riskler taşımaz (Campos ve ark., 2018). Floranten, güçlü toksik özelliklerinden dolayı olası insan kanserojen maddeler listesinde yer almaktadır. Bu nedenle, Fluoranthene öncelikli kirleticiler listesinde yer almaktadır (Eker ve ark., 2019). Fluoranten benzer şekilde fenantrene ile aynı sayıda halkaya ve molekül ağırlığına ancak farklı şekilde halka dizilişlerine sahiptir. Bu özellikleri de ortamda kalış sürelerini belirlenmesinde etkilidir. Flouranten yanmış petrol için, fenantren ise petrol ve yanma ürünleri arasında ayırım yapmakta kullanılan iyi birer indikatördürler (Balcıoğlu ve ark., 2019).

Organizmalar tarafından ksenobiyotik maruziyetlere tepki olarak çeşitli enzimler ve diğer proteinler üretilir. Sitokrom P450'ler (CYP), Bakterilerden omurgalılara kadar suda yaşayan organizmalarda ve karasal organizmalarda bulunan ana faz I tipi detoksifikasyon enzim sınıflarından biridir. Bu enzimler çok çeşitli substratları metabolize eder. Endojen moleküller (ör. yağ asitleri, eikosenoidler, steroidler) ve ksenobiyotikler (ör. hidrokarbonlar, pestisitler, ilaçlar) (Snyder, 2000). PAH, sitokrom P450 monooksijenazları (CYP'ler) grubuna ait enzimler tarafından metabolize edilir. Özellikle CYP1A alt ailesinden enzimler, birçok omurgalıda ksenobiyotiklerin faz I biyotransformasyonunda yer alır. PAH metabolizmasının ikinci aşaması, glutatyon-S-transferazlar (GST) gibi faz II biyo-dönüşüm enzimleri tarafından yürütülür (Kammann ve ark., 2013). AChE, nörotransmitteri kolinerjik sinapslarda asetilkolini parçalayan enzimdir. Asetilolinesteraz enziminin inhibisyonu sinir fonksiyonunun bozulmasına ve ölümcül olmayan düzeyde davranış değişikliklerine neden olur (Peakall, 1992).

Ksenobiyotikler ile ilgili çalışmaların büyük çoğunluğunda bu kimyasalların tek olarak kullanıldıklarında ne tür etkilerin ortaya çıkacağı araştırılmıştır. Fakat kirli ekosistemlerde canlılar bir tek kimyasal yerine çok çeşitli toksik maddelere birlikte maruz

kalmaktadırlar. Bu kirleticiler arasında maruz kalan canlıdaki toksik tepkiyi arttıran veya azaltan (durduran) bir ilişki vardır. Etkileşim, kinetik fazda canlı tarafından toksik maddenin alınımını, dağılımını, depolanmasını ve metabolizmasını değiştirerek ya da dinamik fazda, toksik madde-reseptör bağlanma aktivitesi ve çekimini değiştirerek kimyasal ya da fiziksel olabilir (Uçkun, 2013).

Yapılan bu çalışmada da Fenantren ve Fluoranten poliaromatik hidrokarbonlarının subletal konsantrasyonlarına tek tek ve kombine olarak maruz bırakılan *G. pulex*'te CYP1A1, GST ve AChE enzim düzeylerindeki değişiklikler maruziyetin 7. ve 14. günün de olmak üzere iki farklı uygulama periyodu sonrası incelenecek ve söz konusu PAH'ların toksik yanıtları sucül bir organizma olan *G. pulex*'de belirlenmiştir.

Yapılan çeşitli çalışmalarda farklı poliaromatik hidrokarbonlarının farklı model canlılar için LC50 değerleri tabloda verilmiş olup bizim yaptığımız çalışmada *G. pulex* için LC50 değerleri; Fluoranten ($5,88 \pm 0,23$ mg/L); Fenantren ($8,31 \pm 0,57$ mg/L); Fenantren +Fluoranten ($7,00 \pm 0,33$ mg/L) olarak bulunmuştur.

Tablo 3.3. *Caenorhabditis elegans*, *Daphnia magna*, *Artemia salina*, *Chironomus tentans*, ve *Eisenia fetida* model canlıları için çeşitli poliaromatik hidrokarbonlarının LC50 değerleri ($\mu\text{g/L}$)

PAH Bileşenleri	<i>Caenorhabditis elegans</i>	<i>Daphnia magna</i>	<i>Artemia salina</i>	<i>Chironomus tentans</i>	<i>Chironomus tentans</i>
Fenantren	4771 (48 h) a 3758 (72 h) a	843 (48 h) d	-	490 (48 h)g	114.02 (72 h) h
Floranten	2719 (48 h) a 1955 (72 h) a	4 (1 h) c	40 (1 h) c	250 (48 h) f	*
Asenaften	70573 (72 h) a	41000 (48 h) e	-	-	-
Antrasen	2561 (48 h) a 1560 (72 h) a	20 (1 h) c	20 (1 h) c	-	*
Piren	2418 (48 h) a 1653 (72 h) a	4 (1 h) c	8 (1 h) c	-	*
Benzopiren	174 (48 h) a 80 (72 h) a	250 (48 h) b	-	-	-

*Antrasen, floranten ve piren, solucanlara (*Eisenia fetida*) karşı öldürücü toksisite sergilememiştir. Sese ve ark., (2009); Atienzar ve ark., (1999); Kagan ve ark., (1985); Eastmond ve ark., (1984); LeBlanc., (1980); Suedel ve Rodgers, (1996) Millemann ve ark., (1984); Nam ve ark., (2015).

Larguinho ve ark., (2014) yaptıkları çalışmada akrilamid'e kronik maruziyet sonrası deniz çift kabuklularda *Mytilus galloprovincialis*'da metabolik ve histopatolojik değişiklikler araştırılmıştır. Asetilkolinesteraz aktivitesinin değişmediğini, GST aktivitesinin ise; 10 mg/L uygulanan grupta arttığı saptanmıştır.

Richardi ve ark., (2018) yaptıkları çalışmada fenantren'in akut olarak 96 saatlik LC50 değeri 0,12 mg L olarak kronik olarak 8 günlük LC50 1,2 mg/L olarak belirlenmiştir. Asetil kolinesteraz, Alfa esteraz ve Beta esteraz aktiviteleri ile histolojik değişiklikler incelenmiştir. 24, 48, 72, 96 saat maruziyet sonrası da 8 günlük maruziyet sonrası da Asetilkolinesteraz aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı değişiklik gözlenmediği bildirilmiştir.

Jee ve Kang, (2003) yaptıkları çalışmada 2 hafta ve 4 hafta boyunca 1 ve 2 mM fenantrene maruz kalan *Paralichthys olivaceus*'da AChE aktivitesinin balık plazmasında azaldığını bulmuşlardır.

Kopecka-Pilarczyk ve ark., (2011) yaptıkları çalışmada Fenantren (0,11, 0,28, ve 0,56 mM), piren (0,02, 0,12 ve 0,25 mM), flören (0,12, 0,30 ve 1,20 mM) PAH'larına tek tek ve (0,15, 0,22, ve 0,44mM) dozlarında kombine olarak 4 gün boyunca maruz kalan *Sparus aurata* üzerine etkilerini araştırmışlardır. Beyin asetilkolin esteraz seviyeleri üzerine hiçbir değişikliğe neden olmadığı ancak 0,02 mM piren uygulamasında asetilkolin esteraz aktivitesinin arttığı bulunmuştur.

Kang ve ark. (1997) yaptıkları çalışmada İlk kez, PAH'ların in vitro ilavesinin doza bağımlı olarak elektrikli yılan balığından saflaştırılmış asetilkolinesterazın aktivitesini rekabetçi bir şekilde inhibe ettiğini göstermiştir.

Hauser-Davis ve ark., (2019) çalışmalarında Güneydoğu Brezilya'da bir tropikal balık türü olan kefal (*Mugil liza*) üzerinde PAH'ın beyin AChE aktivitesi üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Piren, Krizen, Fenantren, Naftalin ve PAH metabolitleri, 2-Naftol ve 1-OH-Pyren'i çalışmalarında kullanmışlardır. Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre AChE aktivite inhibisyonu gözlemlendi, ancak yüksek ve düşük moleküler ağırlıklı PAH arasında bir fark gözlenmedi. 2-Naftol'ün, anlamlı olmasa da Naftalinden daha az güçlü bir AChE inhibitörü olduğu görüldü.

Aguilar ve ark., (2020) yaptıkları çalışmada Yucatán Yarımadası'nın endemik bir balığı olan *Gambusia yucatan*'da dört farklı konsantrasyonda (4,37, 8,73, 17,46, 34,95 µg L⁻¹) PAH'ların akut maruziyetinin etkisini çeşitli biyobelirteçler kullanarak belirlemişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre; AChE aktivitesi tüm uygulama gruplarında

azaldığı saptanmıştır. EROD ve GST aktiviteleri en yüksek konsantrasyonda sırasıyla %292 ve %754 arttığı, TBARS, son üç konsantrasyonda %51, %49 ve %36 azaldığı, SOD aktivitesi en yüksek konsantrasyonda %56 arttığı, GPx aktivitesinde herhangi bir fark olmadığı ve CAT aktivitesi en yüksek konsantrasyonda %85 azaldığı bulunmuştur.

Sandrini-neto ve ark., (2016) yaptıkları çalışmada ham petrole maruz kalan *Anarhicas denticulatus*'un hassasiyetini, ölümcül olmayan dozlar kullanarak değerlendirmişlerdir. İlk olarak petrole maruz kalmanın biyobelirteç tepkileri üzerindeki etkilerini değerlendirmişler daha sonra sonra 5 hafta boyunca canlıların büyümelerini izledimşlerdir. Bu tartışmalı tekniğin toksisitesini test etmek için organizmaların 48 saat boyunca maruz kalmasını içeren iki deney yapıldı. Bu çalışma, etoksiresorufin-O-deetilaz (EROD) ve asetilkolinesterazın (AChE)'ın *A. denticulatus*'un PAH metabolitlerine maruziyetini değerlendirmek için uygun biyobelirteçler olduğunu göstermiştir.

Froment ve ark., (2016) yaptıkları çalışmada PAH'lardan (Fenantren ve krizen) ve naftenik asitlerin ($C_{15}H_{24}O$ ve $C_{16}H_{14}$) elektrikli yılan balığında potansiyel olarak AChE'yi inhibe edebileceğini önermişlerdir.

Oliveira ve ark., (2012) yaptıkları çalışmada, pirenin, çeşitli Avrupa nehir ağzlarında ve lagünlerde önemli bir tür olan kayabalığı *Pomatoschistus* mikropları üzerindeki akut etkileri (96 saat), yavruların 0,125, 0,25, 0,5 veya 1 mgL^{-1} pirene bireysel maruziyeti yoluyla değerlendirilmiştir. Etki kriteri olarak mortalite, yüzme performansı ve çeşitli biyobelirteçler kullanılmıştır. 96 saatlik ortalama LC_{50} değeri 0,871 mgL^{-1} olarak bulunmuştur. Artan piren konsantrasyonlarında ($LOEC=0,125mgL^{-1}$) toksik maddenin biyotransformasyonu sırasında metabolitlerin üretiminde önemli bir artış bulunmuştur. 0,5 mgL^{-1} Piren uygulamasında baş asetilkolinesterazın aktivitesini ve 1 mgL^{-1} de ise kas kolinesterazlarının aktivitesini önemli ölçüde inhibisyon tespit edilmiştir.

Jett ve ark., (1999) piren, benzo(a)piren, antrasen ve floranten gibi farklı PAH'ların farklı konsantrasyonlarının AChE aktivitesini inhibe ettiğini bulmuşlardır. BaP, piren, antrasen ve floranten'in sırasıyla 8,29, 11,49, 12,89 ve 17,0 mM konsantrasyonlarına maruziyet sonrası asetilkolinesteraz aktivitesinin 50% oranında inhibisyona neden olduğu görülmüştür. Bu PAH'ların IC_{50} değerlerinin 8,2–17 μM arasında olduğunu bulmuşlardır.

Sussarellu ve ark., (2022) yaptıkları çalışmada *Mytilus edulis* ve *Mytilus galloprovincialis*'te eser metaller, PAH'lar, polibromlu difenil eterler, Poliklorlu bifeniller gibi kirleticilerin biyobirikimine ve biyobelirteç cevabına bakmışlardır. AChE aktivite

seviyelerinin inhibe olmadığını ve midyelerin önemli bir nörotoksik stres altında bulunmadığını öne sürmüşlerdir.

Mansour ve ark., (2017) yaptıkları çalışmada sıcaklığın (20 ve 30 °C) ve PAH'ların (flore, fenantren ve piren) kombine etkisini in vitro maruziyet sonrası Avrupa deniz tarağı *Ruditapes*'in bağışıklık tepkilerini (Toplam hemosit sayısı, hücre canlılığı, fenoloksidaz, lizozim, alkalın fosfataz, estera, antibakteriyel ve aglütinasyon aktiviteleri) ölçerek değerlendirmişlerdir. Yüksek sıcaklıklara maruz kalmanın, daha düşük fosfataz alkalın aktivitesi ve daha yüksek hemosit ile sonuçlandığı ayrıca sadece piren uygulamasının hemosit lizoziminde ve estetaz aktivitesinde önemli bir azalmaya neden olduğu görülmüştür.

Gauthier., (2015) yaptığı çalışmada ölümcül olmayan fenantren konsantrasyonlarına maruz kalmanın *H. azteca*'da ciddi davranış bozukluğuna yol açtığı ve asetilkolin aktivitesinde bir azalmaya (nörotoksisite) neden olduğu bulunmuştur.

Satbhai ve ark., (2017) yaptığı çalışmada petrol hidrokarbonlarının (Fenantren ve Dibenzo[*a,h*]piren) bireysel ve kombine etkileri üreme davranışı üzerine etkilerini amfipod *Hyalella azteca*'da araştırmışlardır. 24 saatlik uygulama sonrasında eş koruma davranışı sergiledikleri görülmüştür.

Bizim çalışmamızda ise; çevresel bir kirlenici olan poliaromatik hidrokarbonlar grubuna ait fenantren ve florantenin nörotoksik etkilerini ortaya koymak amacıyla *Gammarus pulex* model canlısında asetilkolinesteraz enzim düzeyleri belirlenmiş ve kontrol grubu ile kıyaslandığında 7. günün sonunda A, D ve I gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir inhibisyon gözlenmiştir ($p<0,05$). 14. Günün sonunda ise kontrol grubu ile kıyaslandığında D, E ve H gruplarında AChE enzim düzeylerinde yine inhibisyon gözlenmiştir ($p<0,05$). En fazla inhibisyon Fenantren ve Fluoranten uygulamasının birlikte yapıldığı H grubunda olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). AChE düzeylerinde tek tek uygulanmalarından daha fazla inhibisyonun sebebi, kimyasal maddelerin birlikte kullanıldığında birbirlerinin etkisini arttırması anlamına gelen additif ve sinerjistik etkileşimle açıklanabilir (Güven, 1999).

Uygulama süreleri kıyaslandığında ise I grubu hariç tüm uygulama gruplarında 14. günde enzim düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Asetilkolin mekanizmasını bloke eden kimyasallardan bazıları antiasetilkolin estera şeklinde görev yapar ve enzimi inhibe eder. Enzimin inhibisyonu, sinir sisteminde sinapslarda asetilkolin miktarının artışına neden olur. Asetilkolinin aşırı birikimi; merkezi

sinir sistemi kolinerjik iletimi, somatik sinirler, otonomik gangliyonlar, parasempatik sinir uçları ve yer yer sempatik sinirleri uyarır. Böylece sinir sinyallerinin (impulsun) sürekli transmisyonu, tetani ve sıklıkla solunum bozuklukları ve nihayetinde ölümle sonuçlanabilir (Pretti, 2001).

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH'ler) her yerde bulunan çevresel kanserojenlerdir ve sitokrom P450 (P450 veya CYP), epoksit hidrolaz, glutatyon transferaz, UDP-glukuronoziltransferaz, sülfotransferaz, NAD(P)H gibi çeşitli ksenobiyotik metabolize edici enzimler tarafından metabolize edilir. Bu enzimler esas olarak PAH'ların daha polar ve suda çözünür metabolitlere dönüştürülmesine katılır ve ortaya çıkan metabolitler vücuttan kolayca atılır. Bununla birlikte, metabolizmanın seyri sırasında, çeşitli kararsız ve reaktif PAH ara ürünleri oluşur ve bu metabolitler DNA'ya saldırarak hücre toksisitesine ve transformasyonuna neden olur. P450'ler ve epoksit hidrolaz, PAH'ları yakın kanserojen metabolitlere, PAH-diollere dönüştürür ve bu ürünler ayrıca P450'ler tarafından nihai kanserojen metabolitlere, PAH diolepoksitlerine veya aldo-keto redüktaz tarafından reaktif PAH o-kinonlarına metabolize edilir. PAH'lar ayrıca P450 ve peroksidazlar tarafından DNA'ya kovalent olarak bağlanan reaktif radikal katyonlara aktive edilir. PAH'ların oksijenli ve reaktif metabolitleri genellikle faz II enzimleri tarafından daha polar ve detoksifiye edilmiş ürünlere dönüştürülür (Shimada, 2006). Alfa (GSTA), mu (GSTM1), pi (GSTP1) vetheta (GSTM1) gen ailelerinin polimorfik üyeleri tarafından kodlanan sitosolik GST'ler, PAH oksitler ve diol-epoksitler dahil olmak üzere çeşitli toksik ve kanserojen bileşiklerin metabolizmasında önemli roller oynar (Hayes ve ark., 2005). Tek tek enzimlerin seviyeleri, indüksiyon ve genetik polimorfizm ile etkilenebilir. Glutatyon konjugatlarının çoğu daha az toksiktir ve daha polardır ve vücuttan atılabilir (Bartsch ve ark., 1999).

Achazi ve ark., (1999) karasal annelidlerin [*oligochaetes Eisenia f. fetida* (kaplan solucanı) ve *Enchytraeus crypticus* (saksı solucanı)] dört haftaya kadar 100 mg floranten veya benzo[a]piren maruz bırakılmasının bu monooksijenaz aktivitesinde önemli değişikliklere neden olmadığını ve her iki türde de cytochrome P420 aktivitesinin bulunduğunu bulmuşlardır.

Harris ve ark., (2020) yaptıkları çalışmada CYP1A'nın PAH toksisitesindeki rolünü netleştirmek için, CYP1A'yı bazal (ancak indüklenemez) seviyede eksprese eden transgenik *Caenorhabditis elegans* üretmişlerdir. Bu tür normalde herhangi bir CYP1 familyası enzimini eksprese etmediğinden, bu yaklaşım, bazal olarak eksprese edilen

CYP1A'nın PAH toksisitesindeki rolünün test edilmesini sağlamıştır. *C. elegans*'ı farklı yaşam evrelerinde ya tek başına PAH benzo[a]pirene (BaP) ya da Elizabeth Nehri'ndeki (VA, ABD) yüksek oranda kirlenmiş bir bölgenin tortusundan çıkarılan PAH'ların egemen olduğu bir gerçek dünya karışımına maruz bırakmışlardır ve *C. elegans*'ta bazal bir CYP1A aktivitesinin incelenen PAH maruziyetlerine karşı koruyucu olduğunu bulmuşlardır.

Bizim çalışmamızda ise; kontrol grubu ile kıyaslandığında 7.günün sonunda tüm uygulama gruplarında CYP1A1 enzim düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir değişim gözlenmemiştir ($p>0,05$). 14. günün sonunda ise; kontrol grubu ile kıyaslandığında CYP1A1 enzim düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış bulunmuştur ($p<0,05$). Uygulama süreleri kıyaslandığında ise; A, B ve E grubu hariç tüm uygulama gruplarında CYP1A1 enzim düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır ($p<0,05$).

Christou ve ark., (1995) tarafından polisiklik aromatik hidrokarbonlar tarafından indüklenen sitokromlar CYP1A1 ve CYP1B1'lerin sıçan meme bezindeki hücreye özgü ekspresyonu araştırılmıştır. CYP1B1 proteini ve ilişkili aktivitenin her biri yapısal olarak düşük seviyelerde mevcut olduğu ve benz[a]antrasen tarafından yüksek oranda indüklendiği bulunmuştur.

Monari ve ark., (2007) benzo[a]pirene maruz kalmanın *Scapharca inaequivalvis* kanında CYP1A1/1A2- ve CYP2E1 ile SOD'lar üzerindeki etkisi araştırılmıştır. B[a]P'nin varlığının hem sindirim bezi mikrozomlarının toplam CYP'sini hem de mikrozomal CYP1A1/1A2-immünopozitif proteini artırdığı bulunmuştur.

Stoddard ve ark., (2021) yaptıkları çalışmada B6129SF1/J farelerini, tek olarak benzo[a]piren'e ve karışık olarak da en bol bulunan 10 PAH karışımına (2-180 $\mu\text{mol/kg/d}$) dozlarında maruz bırakmışlardır. Maruz kalan farelerden alınan hepatik mikrozomlarda, aktivite bazlı protein profilini kullanarak aktif CYP miktarlarını ve global proteomik kullanarak toplam CYP ekspresyonunu ölçmüşlerdir. En düşük PAH maruziyetlerinde 6 saat sonra hızlı CYP1A1 indüksiyonu ve ilk dozu takiben 72 saatte 3 günlük PAH dozundan sonra birçok CYP'nin geniş indüksiyonunu gözlemlemişlerdir.

PAH metabolizmasının ikinci adımı, glutatyon-S-transferazlar (GST) gibi faz II biyo-dönüşüm enzimleri tarafından yürütülür. Hem bu enzim aileleri hem de bunların aktiviteleri veya bunlara karşılık gelen mRNA'lar ve proteinler, çeşitli sucul canlılarda PAH'lara maruz kalmanın biyolojik belirteci olarak kapsamlı bir şekilde incelenmiştir

(Schlenk., 2008). GST aktivitesinin pestisit, ağır metaller veya farklı ksenobiyotikler gibi her türlü stres koşullarından etkilendiği bilinmektedir (Uçkun., 2013).

Turja ve ark., (2020) ham petrole maruz kalmanın midye *Mytilus trossulus* ve amfipod *Gammarus oceanicus* araştırılmıştır. Bu model organizmalar *M. trossulus* 4, 7 ve 14 gün boyunca *G. oceanicus* ise; 4 ve 11 gün boyunca poliaromatik hidrokarbonlara maruz bırakılmışlardır. Petrole maruz kalmanın biyolojik etkileri, enzimlerden oluşan bir biyobelirteçler kullanılarak incelenmiştir. Antioksidan savunma sistemi, lipid peroksidasyonu, faz II detoksifikasyon (glutasyon S-transferaz), nörotoksisite'yi değerlendirmek için asetilkolinesteraz inhibisyonu ve genotoksik ile sitotoksisite'yi değerlendirmek için ise; mikronükleus ve diğer nükleer deformiteler araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre yüksek konsantrasyonda PAH'a maruz kalan midyelerde CAT ve SOD enzim aktivitesinde artış gözlenmiştir. En yüksek konsantrasyonlardaki PAH'a maruz kalan midyelerin solungaçlarında GST aktivitelerinde 7. günde artış saptanmıştır. 14. günde midyelerde genotoksisite ve sitotoksisite seviyelerinde artış görülmüştür. *G. oceanicus*'da ise benzopirene 3 $\mu\text{g L}^{-1}$ dozunda 4 gün boyunca maruziyet sonrası GST aktivitesindeki artış görülmüş ve bu sonuçlar gammaridlerde poliaromatik hidrokarbonların metabolizmasında GST'lerin önemli rol oynadığını göstermiştir. Ayrıca Rodrigues ve ark., (2013) tarafından yapılan başka bir çalışmada da 7 gün boyunca 16–100 $\mu\text{g L}^{-1}$ floranten'e maruz kalan *Carcinus mancas*'da da GST aktivitesinde artışlar saptanmıştır. Benzer şekilde Baussant ve ark., (2009) yaptıkları çalışmada *Mytilus edulis*'un ham petrole maruz kalması sonucu GST aktivitesinde artış gözlenmiştir.

Rebecchi ve ark., (2021) fenantren'in moleküler ve biyokimyasal etkileri *Chironomus sancticarioli*'de çalışılmıştır. 0,0025, 1,25 ve 2,44 mg L^{-1} dozlarda fenantren glutasyon S-transferaz aktivitesini inhibe etmiştir, CAT aktivitesi değişmemiş, SOD seviyelerinin azaldığı saptanmıştır.

Ronda ve ark., (2018) yaptıkları çalışmalarda PAH'lara maruz kalan *Ramnogaster arcuata* balıklarında çeşitli metabolik enzim aktiviteleri (Aspartat aminotransferaz-AST, Alanin aminotransferaz-ALT, Laktat dehidrojenaz-LDH, Kreatin kinaz-CK ve Alkalın fosfataz-ALP), protein içeriği ve oksidatif stres biyobelirteç olarak lipid peroksidasyonu kas ve karaciğerde analiz edilmişlerdir. Fenantren, naftalin, asenaften asenaften ve fluoranten seviyelerinin düzeylerini çeşitli dokularda araştırmışlar ve PAH'ların metabolik enzimler, proteinler ve lipid peroksidasyonu ile korelasyonun *R. arcuata*'da hepatik

AST/ALT'nin PAH biyotransformasyon biyobelirteçleri olarak ve kas LDH'nin bir stres oksidasyon biyobelirteçleri olarak kullanılabileceğini önermişlerdir.

Szczybelski ve ark., (2019) yaptıkları çalışmada *Astarte borealis*'da Piren ve iki piren metabolitine (1-hidroksipiren ve piren-1) maruziyet sonrası asetilkolinesteraz, açıl-CoA oksidaz ve glutatyon S-transferaz'ın potansiyel olarak biyobelirteç olarak kullanımını değerlendirmişlerdir. Maruz kalma seviyeleri, muhtemelen model canlıda saptanabilir biyobelirteç yanıtlarını indüklemek için çok düşük olarak bulunmuş, ancak AChE seviyelerinde bir azalma potansiyel olarak *A. borealis*'in stresli fizyolojik durumunun bir göstergesi kabul edilmiştir.

Varea ve ark., (2021) yaptıkları çalışmada 15 önemli deniz balığında PAH'lar ile mikroplastiklerin etkilerini araştırmışlardır. Biyokimyasal etkileri araştırmak için 7-etoksiresorufin-O-deetilaz EROD ve GST aktiviteleri araştırılmıştır oksidatif strese etkilemini araştırmak için ise GP_x, GR ve Lipid peroksidasyon seviyeleri araştırılmış, genotoksisite için ise; mikronükleus sayısına bakılmıştır. Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre istatistiksel olarak anlamlı olmayan bazı değişiklikler bulunmuştur.

Khpalwak ve ark., (2018) yaptıkları çalışmada floranten, fenantren, mannitol ve sülfürik asidin kadife çiçeği (*Calendula officinalis*) üzerindeki tek ve kombine etkilerini incelemişlerdir. Florantenin, ROS üretimi yoluyla bitkilerde olumsuz etkilere yol açan oksidatif strese neden olduğunu, florantenin, kadife çiçeği bitkileri için fenantren'den daha zararlı olduğu, floranten uygulamasına bağlı olarak CAT enzim aktivitesinin arttığını bulmuşlardır. Ancak fenantren tarafından indüklenen enzimatik aktivitelerin, floranten tarafından indüklenenler kadar yüksek olmadığını, bu da fenantren'nin bitkiler için floranten kadar zararlı olmadığını bir göstergesi olduğunu öne sürmüşlerdir

Pan ve ark., (2017) yaptıkları çalışmada PAH'lardan kaynaklanan kirliliği değerlendirmek için mart, haziran, eylül ve aralık 2014'te Çin'in Qingdao kıyı bölgelerinde S1, S2 ve S3 olarak belirtilen üç bölgeden *Chlamys farreri* deniz tarağında bir çoklu biyobelirteç yaklaşımı uygulanmıştır. 7-etoksiresorufin-O-deetilaz (EROD), epoksit hidrolaz ve dihidrodiol dehidrojenazın faz I detoksifikasyon enzimleri ve glutatyon-S-transferaz ve sülfotransferazın faz II detoksifikasyon enzimleri; (ii) antioksidan enzimler: katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz; oksidatif hasar parametreleri: malondialdehit, protein karbonilasyonu ve DNA hasarı tespit edilmiştir. Qingdao kıyı bölgelerindeki PAH kirliliğini değerlendirmek için en uygun biyobelirteçlerin, toplam PAH'lar için hem solungaçlarda hem de sindirim bezlerinde dihidrodiol dehidrojenaz

mRNA ifadesi, dihidrodiol dehidrojenaz aktivitesi ve protein karbonilasyonu içerikleri veya solungaçlarda veya sindirim bezlerinde protein karbonilasyonu ve MDA içerikleri olduğu kanıtlanmıştır.

Milinkovitch ve ark., (2013) yaptıkları çalışmada ham petrol yağının toksikolojik etkilerini çalışmışlardır. Balıklar 48 saat boyunca ham petrol yağına maruz bırakılmıştır. Maruziyet sonrası glutatyon S-transferaz, süper oksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz seviyeleri belirlenmiştir. 48 saat sonrası disperse yağa maruz kalan balıklarda toksisite gözlemlendiği ve söz konusu biyobelirteçlerde önemli değişikliklerle sonuçlandığı görülmüştür.

Bizim çalışmamızda ise; kontrol grubu ile kıyaslandığında 7. günün sonunda A, B, C, F, H ve I gruplarında GST enzim aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir inhibisyon gözlenmiştir ($p<0,05$). 14. günün sonunda ise kontrol grubu ile kıyaslandığında tüm uygulama gruplarında GST enzim aktivitelerinde inhibisyon gözlenmiştir ($p<0,05$). Uygulama süreleri kıyaslandığında GST enzim aktiviteleri 14. günün sonunda A, B, C, F, H, I gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmış ($p<0,05$), D, E ve G, gruplarında ise; istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştır ($p<0,05$). Elde edilen bu sonuçlar *G. pulex*'de fenantren ve floranten poliaromatik hidrokarbonlarının metabolizmasında GST'lerin önemli rol oynadığını göstermiştir. GST aktivitesindeki bu değişikliklerin nedeninin, enziminin poliaromatik hidrokarbonların toksisitesine karşı daha iyi bir cevap oluşturması olarak değerlendirilebilir.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, yaptığımız çalışmada fenantren ve floranten poliaromatik hidrokarbonlarına farklı konsantrasyonlarına tek tek ve kombine olarak maruz bırakılan *G. pulex*'te biyotransformasyon enzimleri olan (CYP1A1, GST) ve nörotoksisitenin bir biyobelirteçi olan (AChE) enzim seviyelerinde istatistiksel olarak önemli değişikliklere yol açtığı tespit edilmiştir. Fenantren ve floranten boyar maddesinin *G. pulex*'de yarattığı toksik etkilerin araştırılmasında kullandığımız biyobelirteçlerden CYP1A1, GST ve AChE'nin yararlı birer biyobelirteç olduğu, kullanılmasının uygun olmadığı sonucuna varılmıştır.

Yapılan bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre; fenantren ve floranten poliaromatik hidrokarbonlarına *G. pulex* üzerine toksik etkiye sahip olduğu fenantren ve floranten'den kaynaklanan kirliliğin çevresel bir tehdit oluşturabileceği ve *G. pulex*'in poliaromatik hidrokarbonların toksik etkilerini değerlendirmek için uygun bir model canlı olduğu saptanmıştır.

Yine elde edilen verilere göre; fenantren ve florantenin bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkisi tek tek uygulanma ile kıyaslandığında birlikte uygulanmada daha fazla olduğu görülmüştür. Toksik kimyasallar çevresel ortamda bulunan diğer kimyasallar ile etkileşerek yeni bileşikler, şelatlar, kompleksler oluşturur veya toksisitesi değişebilir.

Çalışmamızda ayrıca, uygulama süresi ve uygulama konsantrasyonuna bağlı olarak *G. pulex*'in verdiği biyokimyasal yanıt değişmiştir.

Çalışma sonucunda şu öneriler sıralanabilir:

Fenantren ve florantenin poliaromatik hidrokarbonlarının canlılara öldürücü etkileri, nörotoksik etkileri ve biyotransformasyon enzimlerine etkileri dışında başka biyokimyasal yanıtlar ve histopatolojik yanıtlar da araştırılmalıdır.

Fenantren ve florantenin poliaromatik hidrokarbonların oluşturduğu kirliliklerin, kirliliğe duyarlı başka indikatör türler kullanılarak bu tür çalışmalar yaygınlaştırılmalıdır.

Fenantren ve florantenin poliaromatik hidrokarbonlarının davranışsal (avlanma, beslenme, üreme vb.) etkilerinin de çalışılması önerilebilir.

Poliaromatik hidrokarbonlarının başka kirletici türlerle birlikte kombine etkileri de çalışılabilir. Ayrıca, Poliaromatik hidrokarbonlarının grubunda bulunan kirleticilerin kontrolsüz bir şekilde deşarj edilmesi, sucul ortamlarda yaşayan canlılar için sorunlara

neden olabileceği için bunların deşarjında sınır değerlere uygunluğu düzenli olarak kontrol edilmeli, toksikolojik veriler göz önüne alınarak sınır değerler belirlenmelidir.



5. KAYNAKLAR

- Achazi, R. K., Flenner, C., Livingstone, D. R., Peters, L. D., Schaub, K., Scheiwe, E.,** 1998. Cytochrome P450 and dependent activities in unexposed and PAH-exposed terrestrial annelids. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 121(1-3), 339-350.
- Aguilar, L., Dzul-Caamal, R., Rendón-von Osten, J., da Cruz, A. L.,** 2020. Effects of polycyclic aromatic hydrocarbons in *Gambusia yucatana*, an endemic fish from Yucatán Peninsula, Mexico. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 1-18.
- Akıncioğlu, A., Topal, M., Gülçin, İ., Göksu, S.,** 2014. Novel sulphamides and sulphonamides incorporating the tetralin scaffold as carbonic anhydrase and acetylcholine esterase inhibitors. *Archiv der Pharmazie*, 347(1), 68-76.
- Alver, E., Demirci, A., Özçimder, M.,** 2012. Polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve sağlığa etkileri. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 3(1), 45-52.
- Anttila, S., Hakkola, J., Tuominen, P., Elovaara, E., Husgafvel-Pursiainen, K., Karjalainen, A., Nurminen, T.,** 2003. Methylation of cytochrome P4501A1 promoter in the lung is associated with tobacco smoking. *Cancer research*, 63(24), 8623-8628.
- Armstrong, R. N.,** 1997. Structure, catalytic mechanism, and evolution of the glutathione transferases. *Chemical research in toxicology*, 10(1), 2-18.
- Atienzar, F. A., Conradi, M., Evenden, A. J., Jha, A. N., Depledge, M. H.,** 1999. Qualitative assessment of genotoxicity using random amplified polymorphic DNA: comparison of genomic template stability with key fitness parameters in *Daphnia magna* exposed to benzo [a] pyrene. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 18(10), 2275-2282.
- Baek, S. O., Field, R. A., Goldstone, M. E., Kirk, P. W., Lester, J. N., Perry, R.,** 1991. A review of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: sources, fate and behavior. *Water, air, and soil pollution*, 60(3), 279-300.
- Balcıoğlu, E.B. Çevik, F.E. Aksu, A.,** 2019. İstanbul'un kent topraklarında polisiklik aromatik hidrokarbonların (PAHs) birikimi ve kökenleri üzerine bir ön araştırma. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(1), 173-179.
- Bartonitz, A., Anyanwu, I. N., Geist, J., Imhof, H. K., Reichel, J., Großmann, J., Beggel, S.,** 2020. Modulation of PAH toxicity on the freshwater organism *G. roeseli* by microparticles. *Environmental Pollution*, 260, 113999.
- Bartsch, H., Rojas, M., Nair, U., Nair, J., Alexandrov, K.,** 1999. Genetic cancer susceptibility and DNA adducts: studies in smokers, tobacco chewers, and coke oven workers. *Cancer detection and prevention*, 23(6), 445-453.

- Baş, O.,** 2006. *Dinitrocresol'ün (Rat rattus norvegicus) sıçan glutatyon S-transferaz enzim aktivitesine etkisi. Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi.*
- Baussant, T., Bechmann, R. K., Taban, I. C., Larsen, B. K., Tandberg, A. H., Bjørnstad, A., Sanni, S.,** 2009. Enzymatic and cellular responses in relation to body burden of PAHs in bivalve molluscs: a case study with chronic levels of North Sea and Barents Sea dispersed oil. *Marine Pollution Bulletin*, 58(12), 1796-1807.
- Bekki, K., Toriba, A., Tang, N., Kameda, T., Hayakawa, K.,** 2013. Biological effects of polycyclic aromatic hydrocarbon derivatives. *Journal of UOEH*, 35(1), 17-24.
- Beyazsakal, L.,** 2021. Yeni amin-bis(fenolat) ligandların farklı bor türevlerinin sentezlenmesi ve asetilkolinesteraz (ache) enzimine karşı inhibisyon etkisi. *Yüksek Lisans Tezi. Harran Üniversitesi.*
- Boar, P., Coggan, M., Johnston, P., Ross, V., Suzuki, T., Webb, G.,** 1990. Genetic heterogeneity of the human glutathione transferases: A complex of gene families. *Pharmacology & therapeutics*, 48(3), 357-369.
- Campos, M. F., Nostro, F. L. L., Da Cuña, R. H., Moreira, R. G.,** 2018. Endocrine disruption of phenanthrene in the protogynous dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Serranidae: Perciformes). *General and comparative endocrinology*, 257, 255-263.
- Ceran, N.,** 2009. Fenantrenin işlevleştirilmesi. *Yüksek Lisans Tezi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi.*
- Çetin, M.,** 2021. Çeşitli 1,2,4-triazol halkası içeren heterosiklik bileşiklerin asetilkolinesteraz ve bütirilkolinesteraz aktiviteleri üzerine etkilerinin araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi. Marmara Üniversitesi.*
- Christou, M., Savas, U., Schroeder, S., Shen, X., Thompson, T., Gould, M. N., Jefcoate, C. R.,** 1995. Cytochromes CYP1A1 and CYP1B1 in the rat mammary gland: cell-specific expression and regulation by polycyclic aromatic hydrocarbons and hormones. *Molecular and cellular endocrinology*, 115(1), 41-50.
- Çoşkun, L.,** 2021. Piperidin türevi bileşiklerin asetilkolinesteraz, bütirilkolinesteraz enzimleri üzerindeki inhibisyon etkilerinin ve antibakteriyel aktivitelerinin incelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi. Gümüşhane Üniversitesi.*
- Dabestani, R., Ivanov, I. N.,** 1999. A compilation of physical, spectroscopic and photophysical properties of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Photochemistry and photobiology*, 70(1), 10-34.
- Djomo, J. E., Dauta, A., Ferrier, V., Narbonne, J. F., Monkiedje, A., Njine, T., Garrigues, P.,** 2004. Toxic effects of some major polyaromatic hydrocarbons found in crude oil and aquatic sediments on *Scenedesmus subspicatus*. *Water research*, 38(7), 1817-1821.

- Doğan, L.,** 2016. Remazol brilliant blue r tekstil boyar maddesine maruz bırakılan Gökkuşığı Alabalığı'nda (*Oncorhynchus Mykiss*) biyokimyasal yanıtın araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi*. Munzur Üniversitesi.
- Eastmond, D. A., Booth, G. M., Lee, M. L.,** 1984. Toxicity, accumulation, and elimination of polycyclic aromatic sulfur heterocycles in *Daphnia magna*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 13(1), 105-111.
- Eker, S. Çokay, E., İ. Karapınar, Ersöz, D.,** 2019. Evaluation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) pollution in Büyük Menderes River Büyük Menderes Nehri'nde polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) kirliliğinin değerlendirilmesi.
- FOEN (Federal Office of the Environment),** 2012. Micropollutants in municipal wastewater (Report No. 1214). *Federal Office for the Environment FOEN*. Bern, Switzerland.
- Froment, J., Langford, K., Tollefsen, K. E., Bråte, I. L. N., Brooks, S. J., Thomas, K. V.,** 2016. Identification of petrogenic produced water components as acetylcholine esterase inhibitors. *Environmental Pollution*, 215, 18-26.
- Gauthier, P.,** 2015. Mixtures of metals and polycyclic aromatic hydrocarbons lead to complex toxic outcomes in the freshwater amphipod, *hyalella azteca* (Doctoral dissertation).
- Göçer, H., Akıncioğlu, A., Öztaşkın, N., Göksu, S., Gülçin, İ.,** 2013. Synthesis, antioxidant, and antiacetylcholinesterase activities of sulfonamide derivatives of dopamine-related compounds. *Archiv der pharmazie*, 346(11), 783-792.
- Güneş, S.,** 2020. Tatlısu amfipodu *Gammarus pulex* (L., 1758)'te chlorpyrifos toksisitesinin belirlenmesi. *Doktora Tezi*. Munzur Üniversitesi.
- Güven, K.,** 1999. Biyokimyasal ve moleküler toksikoloji. *Dicle Üniversitesi Basımevi*, 200s. Diyarbakır.
- Hayes, J. D., Pulford, D. J.** 1995. The glutathione s-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance part I. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*, 30(6), 445-520.
- Hayes, J. D., Flanagan, J. U., Jowsey, I. R.,** 2005. Glutathione transferases. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 45, 51-88.
- Hauser-Davis, R. A., Lopes, R. M., Ziulli, R. L.,** 2019. Inhibition of mullet (*M. liza*) brain acetylcholinesterase activity by in vitro polycyclic aromatic hydrocarbon exposure. *Marine pollution bulletin*, 140, 30-34.
- Honda, M., Suzuki, N.,** 2020. Toxicities of polycyclic aromatic hydrocarbons for aquatic animals. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(4), 1363.

- IARC (International Agency for Research on Cancer)**, 1983. Fluoranthene. In: IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Polynuclear Aromatic Compounds. Part 1. Chemical, Environmental and Experimental Data, Vol. 32. *World Health Organization*, Lyon, France, pp. 355-364.
- Jee, J. H., Kang, J. C.**, 2003. Effects of phenanthrene exposure on the acetylcholinesterase activity of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Fisheries and aquatic sciences*, 6(4), 225-227.
- Jett, D. A., Navoa, R. V., Lyons Jr, M. A.**, 1999. Additive inhibitory action of chlorpyrifos and polycyclic aromatic hydrocarbons on acetylcholinesterase activity in vitro. *Toxicology letters*, 105(3), 223-229.
- Kabak, H.**, 2008. Kullanılan bazı tıbbi ilaçların canlı aktif çamur biyokütlesi tarafından adsorplanma özelliğinin incelenmesi. *Doktora Tezi*. Çukurova Üniversitesi.
- Kagan, J., Kagan, E. D., Kagan, I. A., Kagan, P. A., Quigley, S.**, 1985. The phototoxicity of non-carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in aquatic organisms. *Chemosphere*, 14(11-12), 1829-1834.
- Kammann, U., Brinkmann, M., Freese, M., Pohlmann, J. D., Stoffels, S., Hollert, H., Hanel, R.**, 2014. PAH metabolites, GST and EROD in European eel (*Anguilla anguilla*) as possible indicators for eel habitat quality in German rivers. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(4), 2519-2530.
- Kang, J. J., Fang, H. W.**, 1997. Polycyclic aromatic hydrocarbons inhibit the activity of acetylcholinesterase purified from electric eel. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 238(2), 367-369.
- Kayıkçı, G.**, 2017. Bursa’da iç ve dış mekan hava örneklerinde poliaromatik hidrokarbonların (PAHs) incelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*. Uludağ Üniversitesi.
- Khpalwak, W., Abdel-Dayem, S. M., Sakugawa, H.**, 2018. Individual and combined effects of fluoranthene, phenanthrene, mannitol and sulfuric acid on marigold (*Calendula officinalis*). *Ecotoxicology and environmental safety*, 148, 834-841.
- Kopecka-Pilarczyk, J., Correia, A. D.**, 2011. Effects of exposure to PAHs on brain AChE in gilthead seabream, *Sparus aurata* L., under laboratory conditions. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 86(4), 379-383.
- Küçükılınç, T. T.**, 2014. Organofosfat zehirlenmelerinde asetilkolinesterazın biyotemizleyici olarak kullanılma olasılığı. *Turkish Journal of Biochemistry/Turk Biyokimya Dergisi*, 39(2).
- Larguinho, M., Cordeiro, A., Diniz, M. S., Costa, P. M., Baptista, P. V.**, 2014. Metabolic and histopathological alterations in the marine bivalve *Mytilus galloprovincialis* induced by chronic exposure to acrylamide. *Environmental research*, 135, 55-62.

- LeBlanc, G. A.,** 1980. Acute toxicity of priority pollutants to water flea (*Daphnia magna*). *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 24(1), 684-691.
- Lee, S. C., Ho, K. F., Chan, L. Y., Zielinska, B., Chow, J. C.,** 2001. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and carbonyl compounds in urban atmosphere of Hong Kong. *Atmospheric Environment*, 35(34), 5949-5960.
- Luo, Y., Guo, W., Ngo, H. H., Nghiem, L. D., Hai, F. I., Zhang, J., Wang, X. C.,** 2014. A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. *Science of the total environment*, 473, 619-641.
- Mansour, C., Guardiola, F. A., Esteban, M. Á., Mosbahi, D. S.,** 2017. Combination of polycyclic aromatic hydrocarbons and temperature exposure: In vitro effects on immune response of European clam (*Ruditapes decussatus*). *Fish & shellfish immunology*, 67, 110-118.
- Milinkovitch, T., Imbert, N., Sanchez, W., Le Floch, S., Thomas-Guyon, H.,** 2013. Toxicological effects of crude oil and oil dispersant: biomarkers in the heart of the juvenile golden grey mullet (*Liza aurata*). *Ecotoxicology and environmental safety*, 88, 1-8.
- Millemann, R. E., Birge, W. J., Black, J. A., Cushman, R. M., Daniels, K. L., Franco, P. J., Stewart, A. J.,** 1984. Comparative acute toxicity to aquatic organisms of components of coal-derived synthetic fuels. *Transactions of the American Fisheries Society*, 113(1), 74-85.
- Monari, M., Cattani, O., Serrazanetti, G. P., Selli, A., Pagliuca, G., Zironi, E., Livingstone, D. R.,** 2007. Effect of exposure to benzo [a] pyrene on SODs, CYP1A1/1A2-and CYP2E1 immunopositive proteins in the blood clam *Scapharca inaequivalvis*. *Marine environmental research*, 63(3), 200-218.
- Nam, T. H., Jeon, H. J., Mo, H. H., Cho, K., Ok, Y. S., Lee, S. E.,** 2015. Determination of biomarkers for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) toxicity to earthworm (*Eisenia fetida*). *Environmental geochemistry and health*, 37(6), 943-951.
- Odabaşı, S. Ü.,** 2019. Mikrokirleticilerin çevresel etkileri ve giderim yöntemlerinin sürdürülebilirlik açısından araştırılması. *Doktora Tezi*. Ondokuz Mayıs Üniversitesi.
- Oliveira, M., Gravato, C., Guilhermino, L.,** 2012. Acute toxic effects of pyrene on *Pomatoschistus microps* (Teleostei, Gobiidae): Mortality, biomarkers and swimming performance. *Ecological Indicators*, 19, 206-214.
- Orhan, O.,** 2011. Glutasyon s-transferaz gen polimorfizmi ve gestasyonel diabetes mellitus ilişkisi. *Uzmanlık Tezi*. Uludağ Üniversitesi.

- Osman, A. G., Abd-El-Baset, M., AbuelFadl, K. Y., GadEl-Rab, A. G., 2010.** Enzymatic and histopathologic biomarkers as indicators of aquatic pollution in fishes. *Natural Science*, 2(11), 1302.
- Özaslan M.S., 2014.** Glutasyon s-transferaz enziminin van gölü balığı (chalcalburnus tarichi pallas) karaciğerinden saflaştırılması, karakterizasyonu ve bazı metal iyonlarının enzim aktivitesi üzerine etkilerinin incelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*. Atatürk Üniversitesi.
- Özcan, Ö., 2017.** Kayseri organize sanayi bölgesi atıksularında mikrokirleticilerin pilot ölçekli membran biyoreaktör ve ters ozmoz sistemleri ile arıtılabilirliğinin incelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*. Erciyes Üniversitesi.
- Öztürk, T.K., 2006.** Türk toplumunda transizyonel hücreli mesane kanserlerinde CYP 1A1 ve GST M1 gen polimorfizmlerinin İncelenmesi. *Uzmanlık Tezi*. İstanbul Üniversitesi.
- Pan, L., Zhang, M., Jin, Q., Ji, R., 2017.** Multi-biomarker approach in the scallop *Chlamys farreri* to assess PAHs pollution in Qingdao coastal areas of China. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 19(11), 1387-1403.
- Peakall, D., 1992.** Biomarkers of the nervous system. *Animal Biomarkers as Pollution Indicators*.
- Polat, F., 2020.** Investigation of expressions of cyp1a1 and CYP1B1 isoenzymes in the stomach tissues of patients with bariatric surgery. *Uzmanlık Tezi*. Sağlık Bilimleri Üniversitesi.
- Poyraz, İ., 2001.** Çeşitli çevresel kirleticilerin *Gammarus pulex* glutasyon redüktaz enzimi üzerindeki biyokimyasal etkileri. *Yüksek Lisans Tezi*. Anadolu Üniversitesi.
- Preskorn, S.H., 1996.** Clinical pharmacology of selective serotonin reuptake inhibitors. 1s ed. Professional Communications.
- Pretti, C., Cognetti-Varriale, A. M., 2001.** The use of biomarkers in aquatic biomonitoring: the example of esterases. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 11(4), 299-303.
- Rebecchi, D., Palacio-Cortés, A. M., Richardi, V. S., Beltrão, T., Vicentini, M., Grassi, M. T., Navarro-Silva, M. A., 2021.** Molecular and biochemical evaluation of effects of malathion, phenanthrene and cadmium on *Chironomus sancticarloi* (Diptera: Chironomidae) larvae. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 211, 111953.
- Ré-Poppi, N., Santiago-Silva, M., 2005.** Polycyclic aromatic hydrocarbons and other selected organic compounds in ambient air of Campo Grande City, Brazil. *Atmospheric Environment*, 39(16), 2839-2850.
- Richardi, V. S., Vicentini, M., Morais, G. S., Rebecchi, D., Da Silva, T. A., Fávaro, L. F., Navarro-Silva, M. A., 2018.** Effects of phenanthrene on different levels of

- biological organization in larvae of the sediment-dwelling invertebrate *Chironomus sancticarloi* (Diptera: Chironomidae). *Environmental pollution*, 242, 277-287.
- Rodrigues, A. P., Lehtonen, K. K., Guilhermino, L., Guimarães, L.**, 2013. Exposure of *Carcinus maenas* to waterborne fluoranthene: accumulation and multibiomarker responses. *Science of the Total Environment*, 443, 454-463.
- Ronda, A. C., Oliva, A. L., Arias, A. H., Orazi, M. M., Marcovecchio, J. E.**, 2019. Biomarker responses to polycyclic aromatic hydrocarbons in the native fish *Ramnogaster arcuata*, South America. *International Journal of Environmental Research*, 13(1), 77-89.
- Sandrini-Neto, L., Geraudie, P., Santana, M. S., Camus, L.**, 2016. Effects of dispersed oil exposure on biomarker responses and growth in juvenile wolfish *Anarhichas denticulatus*. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(21), 21441-21450.
- Satbhai, K. M., Louka, F. R., Klerks, P. L.**, 2017. Individual and combined effects of petroleum hydrocarbons phenanthrene and dibenzothiophene on reproductive behavior in the amphipod *Hyaella azteca*. *Water, Air, & Soil Pollution*, 228(3), 91.
- Schlenk, D., Handy, R., Steinert, S., Depledge, M. H., Benson, W.**, 2008. Biomarkers. *Toxicology of fishes* (Di Giulio, R. T., Hinton, D. E., eds.), pp. 683–732. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Sese, B. T., Grant, A., Reid, B. J.**, 2009. Toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons to the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 72(19), 1168-1180.
- Shimada, T.**, 2006. Xenobiotic-metabolizing enzymes involved in activation and detoxification of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons. *Drug metabolism and pharmacokinetics*, 21(4), 257-276.
- Snyder, M. J.**, 2000. Cytochrome P450 enzymes in aquatic invertebrates: recent advances and future directions. *Aquatic Toxicology*, 48(4), 529-547.
- Stoddard, E. G., Nag, S., Martin, J., Tyrrell, K. J., Gibbins, T., Anderson, K. A., Smith, J. N.**, 2021. Exposure to an environmental mixture of polycyclic aromatic hydrocarbons induces hepatic cytochrome p450 enzymes in Mice. *Chemical Research in Toxicology*, 34(9), 2145-2156.
- Suedel, B. C., Rodgers Jr, J. H.**, 1996. Toxicity of fluoranthene to *Daphnia magna*, *Hyaella azteca*, *Chironomus tentans*, and *Stylaria lacustris* in. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*, 57, 132-138.
- Sussarellu, R., Chouvelon, T., Aminot, Y., Couteau, J., Loppion, G., Dégremont, L., Burgeot, T.**, 2021. Differences in chemical contaminants bioaccumulation and ecotoxicology biomarkers in *Mytilus edulis* and *Mytilus galloprovincialis* and their hybrids. *Environmental Pollution*, 118328.

- Sussman, J. L., Harel, M., Frolow, F., Oefner, C., Goldman, A., Toker, L., Silman, I.,** 1991. Atomic structure of acetylcholinesterase from *Torpedo californica*: a prototypic acetylcholine-binding protein. *Science*, 253(5022), 872-879.
- Szczybelski, A. S., van den Heuvel-Greve, M. J., Koelmans, A. A., van den Brink, N. W.,** 2019. Biomarker responses and biotransformation capacity in Arctic and temperate benthic species exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Science of the Total Environment*, 662, 631-638.
- Turja, R., Sanni, S., Stankevičiūtė, M., Butrimavičienė, L., Devier, M. H., Budzinski, H., Lehtonen, K. K.,** 2020. Biomarker responses and accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons in *Mytilus trossulus* and *Gammarus oceanicus* during exposure to crude oil. *Environmental science and pollution research international*, 27(13), 15498.
- Uçkun, M.,** 2013. *Xenopus laevis* iribaşlarına thiaklopid ve trifloksistrobin'in akut toksik etkilerinin araştırılması.
- URL-1,** 2021. <https://www.polenekoloji.org/inceleme-kaynaktan-musluga-icme-sularindaki-mikrokirleticiler/>. 01.11.2021.
- URL-2,** 2021. <https://www.shutterstock.com/tr/image-illustration/water-drop-word-cloud-micropollutants-microcontaminants-208895722>. 01.11.2021.
- URL-3,** 2021. <https://mimirbook.com/tr/4a0d55d5f1e>. 02.11.2021.
- URL-4,** 2021. <https://rais.ornl.gov/tox/profiles/fluoran.html>. 02.11.2021.
- URL-5,** 2021. <https://en.wikipedia.org/wiki/Fluoranthene>.02.11.2021.
- URL-6,** 2021. <https://www.artstation.com/artwork/xzL9yX>.03.11.2021.
- URL-7,** 2021. <https://www.news-medical.net/health/What-is-a-Biomarker.aspx>. 04.11.2021.
- URL-8,** 2021. <https://youarethehealer.org/health-conditions/optimize-your-health/detox-biotransformation-pathways/glutathione/>. 05.11.2021.
- Vardar, N., Tasdemir, Y., Odabasi, M., Noll, K. E.,** 2004. Characterization of atmospheric concentrations and partitioning of PAHs in the Chicago atmosphere. *Science of the Total Environment*, 327(1-3), 163-174.
- Varea, R., Paris, A., Ferreira, M., Piovano, S.,** 2021. Multibiomarker responses to polycyclic aromatic hydrocarbons and microplastics in Thumbprint emperor *Lethrinus harak* from a South Pacific locally managed marine Area.
- Wang, X.Y., Li, Q.B., Luo, Y.M., Ding, Q., Xi, L.M., Ma, J.M., Li, Y., Liu, Y.P., Cheng, C.L.,** 2010. Characteristics and sources of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Shanghai, China. *Environmental monitoring and assessment*, 165(1), 295-305.

- Wcislo, E.**, 1998. Soil contamination with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Poland-a review. *Polish Journal of Environmental Studies*, 7(5), 267-272.
- WHO, World Health Organisation**, 1998. Environmental Health Criteria 202, Selected non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons. IPCS, International Programme on Chemical Safety. *World Health Organisation*, Geneva.
- Worobec, N.D.**, 1986. Toxic substances controls primer. The Bureau of National Affairs, Inc. Washington, D.C. ISBN 0-87179-517-5
- Wu, B., Zhang, R., Cheng, S. P., Ford, T., Li, A. M., Zhang, X. X.**, 2011. Risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in aquatic ecosystems. *Ecotoxicology*, 20(5), 1124-1130.
- Zamani, A. G., Yıldırım, A.**, 2014. Biyomarker Olarak sitokrom p450 ekspresyonunun değerlendirilmesi. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 12(1), 37-42.
- Zhang, H., Xue, M., Dai, Z.**, 2010. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in aquatic products by HPLC-fluorescence. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(5), 469-474.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Taner DERMAN

Eğitim Geçmişi:

- 2019/2021 Munzur Üniversitesi / Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Çevre Mühendisliği Ana Bilim Dalı
- 2010/2015 Munzur Üniversitesi / Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği Ana Bilim Dalı

