



**BİSFENOL A (BPA)'NIN TATLI SU MİDYESİ (UNİO, BİVALVİA)
ÜZERİNDEKİ AKUT TOKSİSİTESİ**

Leila MEHRNIA

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE BİLİMLERİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

TEMMUZ 2019

Leila MEHRNIA tarafından hazırlanan “BİSFENOL A (BPA)'NIN TATLI SU MİDYESİ (UNİO, BİVALVİA) ÜZERİNDEKİ AKUT TOKSİSİTESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Çevre Bilimleri Ana Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Feriha YILDIRIM
Fen Bilimleri Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Başkan: Doç. Dr. Nihal GÖMÜRGEN
Biyoloji Ana Bilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Üye: Prof. Dr. İrfan AR
Kimya Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Tez Savonma Tarih: 01/07/2019

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Prof. Dr. Sena YAŞYERLİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Leila MEHRNIA
.../.../2019

BİSFENOL A (BFA)'NIN TATLISU MİDYESİ (UNİO, BİVALVİA) ÜZERİNDEKİ AKUT TOKSİSİTESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Leila MEHRNIA

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Temmuz 2019

ÖZET

Günlük yaşamımızda geniş kullanım alanına sahip olan plastik malzemelerde bulunan Bisfenol A (BFA), gıda, içme suyu ve inhalasyonla insan vücuduna alınabilinen zehirli bir bileşiktir. Bu çalışmada toplam 75 adet *U. mancus eucirrus* türü tatlı su midyesi kullanılmıştır. Midyeler her akvaryumda 15'er adet birey olmak üzere 5 gruba ayrılmış ve bütün gruplar 96 saat süresince Bisfenol-A'ya (kontrol grubu, 0.1 mg/L, 1 mg/L, 5 mg/L ve 10 mg/L) maruz bırakılmıştır. BFA'nın midyelerin fiziksel özelliklerine etkisini incelemek amacıyla, midyelerin ağırlıkları, boyları, enleri ve kalınlıkları ölçülmüştür ve kontrol grubuna göre anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Ayrıca BFA'nın toplam hemosit sayısına, doku malondialdehit (MDA) ve glutatyon (GSH) düzeylerine olan etkisi belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre 96 saat sonunda kontrol grubuna göre; toplam hemosit sayısının artış gösterdiği ($p<0.05$), solungaç dokularındaki ve sindirim bezindeki GSH düzeylerinin azaldığı ($p<0.05$), sindirim bezindeki MDA düzeyinin ise arttığı ($p<0.05$) belirlenmiştir.

Bilim Kodu : 20302
Anahtar Kelimeler : Bisfenol A (BFA), *U. mancus eucirrus*, malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH)
Sayfa Adedi : 49
Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Feriha YILDIRIM

ACUTE TOXICITY EFFECTS OF BISPHENOL A (BPA) ON THE FRESHWATER
BIVALVE (UNIO, BIVALVIA)

(M. Sc. Thesis)

Leila MEHRNIA

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

June 2017

ABSTRACT

Bisphenol A (BPA), which is widely used in our daily life, is a toxic compound that can be taken to human body by food, drinking water and inhalation. A total of 75 *Unio mancus eucirrus* fresh water mussels were used in this study. The mussels were divided into 5 groups as 15 individuals in each aquarium and all groups were exposed to Bisphenol A (control group, 0.1 mg/L, 1 mg/L, 5 mg/L and 10 mg/L) for 96 hours. Weights, lengths, widths and thicknesses of the mussels were measured in order to investigate the effect of BFA on the physical properties, but no significant difference was found compared to the control group. In addition, the effect of BPA on total hemocyte count, tissue malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) levels were determined. According to the results, it was determined that total hemocyte count increased ($p<0.05$), GSH levels in the digestive gland and gill tissue decreased ($p<0.05$) and MDA levels increased in the digestive gland ($p<0.05$), compared to the control group after 96 hours.

Science Code : 20302

Key Words : Bisphenol A (BPA), *U. mancus eucirrus*, malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH)

Page Number : 49

Supervisor : Assist. Prof. Dr. Feriha YILDIRIM

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım boyunca her türlü desteği ile yanımda olan, özellikle de yazım aşamasında büyük bir sabırla ve fedakarlıkla bana yardımcı olarak tezimi bitirmemi sağlayan sevgili danışman Hocam Dr. Öğr. Üyesi Feriha YILDIRIM'a minnettarlığımı ve sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Tez çalışmalarımın her aşamasında önderliği, öğrettikleri ve sunduğu çalışma ortamı için daima yanımda hissettiğim sevgili hocam Prof. Dr. Figen ERKOÇ'a da çok şey borçluyum ve sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum. Ayrıca değerli hocalarım Prof. Dr. Çağlan GÜNAL ve Doç. Dr. Zuhal YILDIRIM'a verdikleri destek ve bilgi için minnettarım.

Çalışmalarım boyunca her zorlandığım yerde yanıma koşan, moralimi yükselten ve yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Elif PAÇAL, Pınar ARSLAN, Gülsüm BATMAZ ve Kevser YILMAZ'a çok teşekkürler ediyorum.

Yüksek lisansa başlamam konusunda en büyük destekçim olan başta sevgili kardeşim Masoomah MEHRNIA TUTSOY başta olmak üzere, bütün hayatım boyunca beni maddi ve manevi her zaman destekleyen ve her kararımda arkamda olan canım annem Azam BAGHALI ve babam Moharram MEHRNIA'ya minnetimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	x
RESİMLERİN LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETLERİ	3
2.1. Endokrin Bozucu Kimyasalların Etkileri	3
2.2. Bisfenol-A'nın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	6
2.3. Bisfenol-A'nın İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkileri.....	8
2.4. BFA'nın Çevresel Davranışı	10
2.5. BFA'nın Toksisitesi ve Diğer Canlılar Üzerine Etkileri	11
2.6. BFA Maruziyetinin Kaynakları ve Yolları.....	12
2.7. <i>U. mancus eucirrus</i> Türünün Ekolojik Önemi ve Sistematik Pozisyonu.....	14
3. MATERYAL VE YÖNTEM	17
3.1. Materyal	17
3.1.1. Tatlı su midyelerinin temini, taşıma ve saklama koşullar	17
3.1.2. <i>U. mancus</i> 'lara uygulanan deney ortamı	18
3.1.4. BFA çözeltilerinin hazırlanması.....	19
3.2. Yöntem	20
3.2.1. Deney yöntemi	20

3.2.2. Deney sonrası uygulanan işlemler	20
3.2.3. <i>U. mancus</i> 'lardan hemolenf alınması ve hemosit sayısının belirlenmesi	21
3.2.4. Tatlı su midyesinden (<i>U. mancus eucirrus</i>) dokuların çıkartılması	22
3.2.5. Doku analizleri	22
3.2.6. Doku analiz yöntemlerinin uygulanması	23
4. BULGULAR.....	27
4.1. BFA'nın <i>U. mancus eucirrus</i> Üzerine Subletal Toksik Etkisi	27
4.1.1. Toplam ağırlık, uzunluk, yükseklik ve kalınlık sayısına ilişkin bulgular	27
4.2. Toplam Hemosit Sayısına İlişkin Bulgular	31
4.3. Doku Analizlerinden Elde Edilen MDA Bulguları	32
4.4. Doku Analizlerinden Elde Edilen GSH Bulguları	35
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	39
KAYNAKLAR	43
ÖZGEÇMİŞ	49

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Endokrin bozucuların insanların üreme sistemi üzerindeki etkileri	4
Çizelge 2.2. BFA'nın fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	7
Çizelge 3.1. BFA çözeltilerinin hazırlanması aşamasında kullanılan maddeler, malzemeler ve koşullar	19
Çizelge 4.1. Farklı BFA dozlarına maruz bırakılan tatlı su midyelerinin ağırlık ortalamaları.....	27
Çizelge 4.2. Farklı BFA dozlarına maruz bırakılan tatlı su midyelerinin uzunluk, yükseklik ve kalınlık miktarlar	28
Çizelge 4.3. <i>U. mancus eucirrus</i> 'ların deney gruplarına göre toplam hemosit sayıları	30
Çizelge 4.4. <i>U. mancus eucirrus</i> 'un sindirim bezi dokusunda BFA dozlarına göre toplam toplam MDA miktarları.....	33
Çizelge 4.5. <i>U. mancus eucirrus</i> 'un solungaç dokusunda BFA dozlarına göre toplam toplam MDA miktarları.....	33
Çizelge 4.6. Sindirim bezi ve solungaç dokusundaki malondialdehit (MDA) değerlerinin karşılaştırması	33
Çizelge 4.7. BFA dozlarına göre <i>U. mancus eucirrus</i> 'un sindirim bezi dokusundaki toplam GSH miktarları.....	35
Çizelge 4.8. BFA dozlarına göre <i>U. mancus eucirrus</i> 'un solungaç dokusunda toplam GSH miktarları.....	35
Çizelge 4.9. Sindirim bezi ile solungaç dokularındaki toplam GSH miktarının karşılaştırması	36

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Endokrin engelleyicilerin erkek/kadın üreme sistemi üzerine olan etkileri ..	3
Şekil 2.2. BFA'nın kimyasal yapısı	7
Şekil 2.3. BFA'nın insan sağlığı üzerinde etkisi	9
Şekil 2.4. BFA'nın üreme ve obezite üzerine etkileri	10
Şekil 4.1. <i>U. mancus eucirrus</i> 'ların ağırlık ortalamalarının kutu grafiğinde karşılaştırılması.....	29
Şekil 4.2. <i>U. mancus eucirrus</i> 'ların uzunluk (mm) ortalamalarının kutu grafiğinde karşılaştırılması.....	29
Şekil 4.3. <i>U. mancus eucirrus</i> 'ların yükseklik (mm) ortalamalarının kutu grafiğinde karşılaştırılması.....	30
Şekil 4.4. <i>U. mancus eucirrus</i> 'ların kalınlık (mm) ortalamalarının kutu grafiğinde karşılaştırılması.....	30
Şekil 4.5. <i>U. mancus eucirrus</i> 'un toplam hemosit sayısı (THS/mL) ortalamalarının kutu grafiğinde karşılaştırılması	32
Şekil 4.6. <i>U. mancus eucirrus</i> 'un sindirim bezi dokusunda MDA düzeylerinin (nmol/g doku) kutu grafiğinde karşılaştırılması	34
Şekil 4.7. <i>U. mancus eucirrus</i> 'un solungaç dokusundaki MDA düzeylerinin (nmol/g kutu grafiğinde karşılaştırılması	34
Şekil 4.0. Kontrol ve deney gruplarının toplam MDA Sol düzeyi farklarının kutu grafiğinde karşılaştırılması	34
Şekil 4.8. <i>U. mancus eucirrus</i> 'ların sindirim bezi dokularında toplam GSH düzeylerinin (nmol/g doku) kutu grafiğinde karşılaştırılması	36
Şekil 4.9 <i>U. mancus eucirrus</i> 'ların solungaç dokularında toplam GSH düzeylerinin (nmol/g doku) kutu grafiğinde karşılaştırılması	37



RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. <i>U. mancus eucirrus</i> 'un morfolojik yapısı	16
Resim 2.2. <i>U. mancus eucirrus</i> 'un kabuk görüntüsü	16
Resim 3.1. Karasu Çayı (Sinop)	17
Resim 3.2. <i>U. mancus eucirrus</i> 'un biyodeney düzeneği	18
Resim 3.3. BFA çözeltisinin hazırlaması	19
Resim 3.4. Midyelerinin canlılık tespit aşaması	20
Resim 3.5. <i>U. mancus eucirrus</i> ölçümleri	21
Resim 3.6. <i>U. mancus eucirrus</i> hemolemf sıvısı alınması	21
Resim 3.7. <i>U. mancus eucirrus</i> 'un solungaç ve sindirim bezinden örnek alınması	22
Resim 3.8. Solungaç ve sindirim bezi TBARS düzeyinin ölçülmesi	24
Resim 3.9. Solungaç ve sindirim bezi glutatyon düzeyinin ölçülmesi	25

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklamalar

cm	Santimetre
g	Gram
kg	Kilogram
L	Litre
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
nM	NonoMolar
ng	Nanogram

Kısaltmalar

Açıklamalar

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
BHT	Bütıl Hidroksi Toluen
BPA	Bisphenol A
BFA	Bisfenol A
CAS	Kimyasal Abstract Servisi
EDC	Endokrin Bozucu Kimyasallar
EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Ajansı
EPA	Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı
EUA	Avrupa Üniversiteler Birliği
DTNB	5,5'-dithiyobis (2-nitrobenzoik asit)
IUPAC	Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği
LC₅₀	Deneklerin yarısını öldüren konsantrasyon
GSH	Glutasyon

Kısaltmalar**Açıklamalar****NOEL**

Gözlenebilen Hiçbir Yan Etki Göstermeyen Doz

MDA

Malondialdehit

ROT

Reaktif Oksijen Türleri

TBA

Tiyobarbütirik Asit

TCA

Trikloroasetik Asit

TDI

Tolere Edilebilir Günlük Alım Miktarı

WHO

Dünya Sağlık Örgütü



1. GİRİŞ

Dünya genelinde zehirli çevresel kirleticilerin en belirgin olanlarından birisi olan Bisfenol A [(2.2-bis (4-hidroksifenol) propan)] “*endokrin bozucu*” olarak bilinmektedir (Manfo ve diğerleri, 2014). BFA polikarbon ve epoksi gibi reçinelerin üretimine katılarak plastik üretiminde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Günümüzde hayatımızın her alanında kullanılan plastikler hemen hemen tüm ürünlerin içerisinde bulunabilmektedir (Hammer ve Kraak, 2012). Esas olarak gıda ambalajları, su şişeleri, medikal malzemeler, diş dolgularında, temizlik ürünleri ve kozmetik üretiminde kullanılmaktadır (Le Corre ve diğerleri, 2015). Bu sebeplerden dolayı BFA’ya her zaman maruz kalabilme olasılığı yüksektir BFA’ya maruz kalmanın en yaygın yolu BFA bulaşmış gıda ve içme sularının tüketilmesi ile olmaktadır (Stahlhut ve diğerleri, 2009).

BFA, endüstriyel atıklarından göl, nehir ve içme sularına geçebilmesinden dolayı “çevresel kirlenici” olarak tanımlanmaktadır. Tatlı sularda rapor edilen değerler $<1 \mu\text{g/L}$ civarındadır (Alvarez-Munoz ve diğerleri, 2015).

Sudaki canlıların düşük derişimde de olsa BFA’ya maruz kalmaları potansiyel biyoakümülyasyon risk faktörünü artırması açısından göz önünde bulunması gereken bir durumdur. Konserve balıkta ve bazı deniz canlılarında (balıklar, mollusklar ve makroalg türlerinde) kalıntı analizi yapılan bir araştırmada BFA seviyeleri sırasıyla 2-59 ng/g ve 5.6-9.1 ng/g (dw) olarak rapor edilmiştir (Alvarez-Munoz ve diğerleri, 2015).

Avrupa Gıda Güvenliği Ajansı (EFSA) raporuna göre BFA’nın sıçanlarda “gözlenebilen hiçbir yan etki göstermeyen” dozu (NOEL) 5 mg/kg/gün’dür. Kabul edilebilir günlük alım miktarı ise 0.05 mg/kg/gün’dür (EFSA, 2005).

Endokrin bozucu kimyasallar plastikler, deterjanlar, böcek ilaçları ve endüstriyel kimyasallarda bulunur. Bazıları lipofiliktir ve yağ dokusunda biriktirirler, böylece çevrede kalabilirler. Bazıları sadece kısa bir süre için, ancak kritik bir büyüme döneminde etkilerini gösterir. BFA, oyuncaklarda, çeşitli plastik malzemelerde, medikal ve tıbbi kaplarda, ev temizlik ürünlerinde çok kullanılan bir maddedir. Suda ve toprakta kolayca çözünmez, böylece dünyanın en önemli kirlilik sorunlarından biri olan yeraltı suları, yüzey suları ve

atık sularda kirliliğe neden olur. Atık sularda kirletici maddelerin uzaklaştırılması için yaygın yöntemler, adsorpsiyon ve geleneksel su arıtma yöntemleridir. Bu metotlar kullanılarak, sudaki kirleticiler bir ortamdan diğerine aktarılır, ancak bu yöntemlerle suları saflaştırabilmek için daha fazla işlem gerekmektedir (Şolpan ve Mehrnia, 2018).

Unio mancus eucirrus tatlı su midyeleri sucul ekosistemlerin indikatör tür/model organizmasıdır. *U. mancus eucirrus* türü kullanılarak araştırmada BFA'ya maruziyet sonrasında oluşan hemosit (omurgasızlarda kan hücrelerinin genel adı) sayısı ile solungaç ve sindirim bezi dokularındaki MDA ve GSH değerlerine etkileri incelenmiştir.

Sucul ortamda maruziyet dozlarının daha kolay uygulanabilmesinin nedenleri;

- Omurgalıları kıyasla omurgasız hayvan modellerinin etik kurula girmeden deney yapılabilmesi,
- Küçük ve kolay taşınabilir/tutulabilir olmaları,
- Ucuz şekilde temin edilebilmeleri,
- Laboratuvar ortamında fazla ekipmana gerek olmadan yaşayabilme ve uyumlanabilme avantajlarıdır.

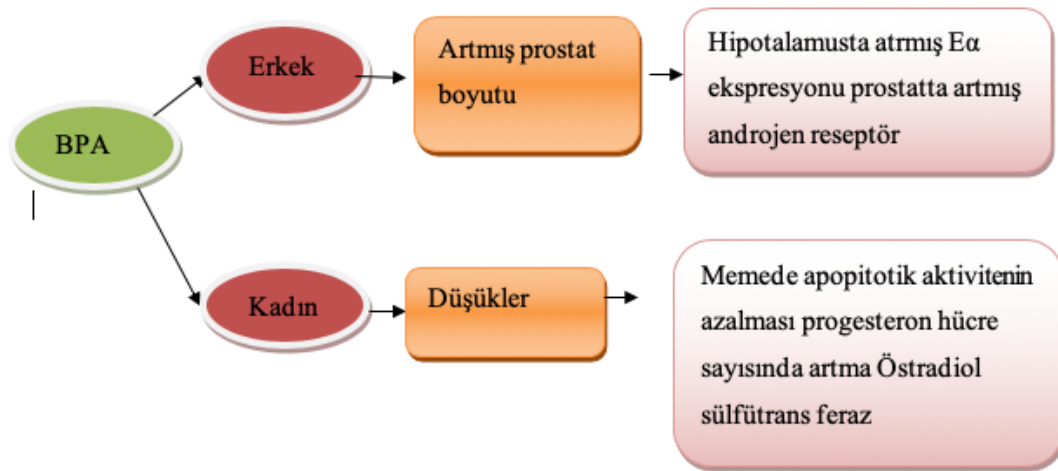
Çalışma sonucunda BFA'nın insan sağlığına olası etkileri konusunda ön bilgi üretilecektir; çünkü deniz mahsülleri insanların kalıcı kirleticilere ve EDC'lere başlıca maruz kalma yollarından birini oluşturmaktadır.

2. LİTERATÜR ÖZETLERİ

2.1.Endokrin Bozucu Kimyasalların Etkileri

Endokrin bozucular (EDC), sentez, sekresyon, transport, metabolizma, reseptör bağlanma fonksiyonu ve üreme ve gelişim süreçleri dengesi için gerekli olan hormonların salgısı ve dengesini olumsuz etkileyen harici maddelerdir. Bu maddelerin kadın ve erkek üreme sistemi üzerine olumsuz etkileri olduğu ve çeşitli kanserlere sebep olduklarına dair kanıtlar bulunmaktadır.

Diamanti ve diğerleri (2009)'ne göre endokrin engelleyicilerden biri olan Bisfenol A'nın kadınlar ve erkekler üzerindeki en belirgin etkileri Şekil 2.1'de gösterilmiştir. Bu araştırmacılara göre "fizyolojik açıdan, doğal veya sentetik bir endokrin bozucu madde, çevresel veya uygunsuz gelişimsel maruziyetlerle, organizmanın çevreyle ilişkisini veya çevreye olan tepkisini sağlayan hormonal veya homeostatik sistemleri değiştirebilir".



Şekil 2.1. Endokrin engelleyicilerin erkek/kadın üreme sistemi üzerine olan etkileri (Diamanti ve diğerleri, 2009)

Kortenkamp ve diğerleri (2011) yaptıkları in vitro ve hayvan deneyleri ile epidemiyolojik çalışmalar ışığında endokrin bozucu kimyasalların olumsuz etkileri arasında aşağıdaki bozuklukları bildirmişlerdir:

- Dişi ve erkek üreme sistemi üzerine etkiler,
- Tiroid bozuklukları ve hastalıkları (konjenital hipotiroidizm, tiroid kanser riski, tiroid hormonları ile etkileşim),

- Nörogelişimsel bozukluklar (hormon bozukluğuna bağlı beyin gelişimi ile ilgili bozukluklar, davranış bozuklukları vb),
- Hormona bağlı kanserler (meme, endometriyal, over, prostat, testis ve tiroid kanseri vb endokrin ilişkili kanserler),
- Adrenal bozukluklar (deniz aslanlarında dioksin, PCB ve metil civaya bağlı adrenal lezyonlar),
- Kemik bozuklukları (kemik fonksiyonunda önemli rol oynayan östrojen ile ilgili bozukluklara bağlı osteoporotik kemik kırılmalarında artış),
- Metabolik bozukluklar (metabolik sendrom, obezite, diyabet),
- Bağımsızlık fonksiyonu bozuklukları (bağımsızlık fonksiyonundan sorumlu kortizol, östrojen, tiroid hormonu ve karaciğer X reseptör (LXR-liver X receptor) ve peroksizom proliferatör etkinleyici reseptör alfa (PPAR-peroxisome proliferator activated receptor alpha) gibi nükleer reseptörlerin fonksiyonundaki bozukluklara bağlı immün sistem hastalıklarının ve sistematik inflamasyonların gelişmesi, allerji, otoimmün hastalıklar, astım gibi).

Diamanti ve diğerleri (2009)'ne göre “endokrin bozucu kimyasalların” kadın ve erkek gelişiminin çeşitli evrelerinde (fatal/neonatal, prepubertal, yetişkin) neden olabileceği tıbbi sorunlar daha detaylı olarak Çizelge 2.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Endokrin bozucuların insanların üreme sistemi üzerindeki etkileri (Diamanti ve diğerleri, 2009)

	<i>Fetal/Neonatal</i>	<i>Prepubertal</i>	<i>Pubertal</i>	<i>Yetişkin</i>
<i>Süreç</i>	• İntrauterin büyüme • Cinsel farklılaşma	• Adrenarş	• Gonadarş	• Spermatogenesis • Ovulasyon
<i>Erkek</i>	• İntrauterin büyüme gerilemesi • Kriptorşidizm • Hipospadias • Seminifer tübül atrofi	• Puberte prekoks	• Küçük testis ve yüksek FSH • Erken puberte • Geç puberte • Jinekomast	• Oligospermi • Testiküler kanser • Prostat hiperplazisi • Leyding ve Sertoli hücrelerinde atrofi • İnfertilite
<i>Dişi</i>	• İntrauterin Büyüme Geriliği	• Puberta prekoks • Prematür telarş	• Puberte prekoks • Prekoksial puberta • Polikistik over sendromu • Geciken ovulasyon siklusu	• Vajinal adenokarsinoma • Ovulasyon bozuklukları • Benign meme hastalıkları • Meme kanseri • Uterine fibroidler • Laktasyon bozulması

Endokrin engelleyicilere maruziyette önemli noktalar şunlardır;

1. Hamilelik ve doğum sonrası iki yaşına kadar olan dönem (dış etkenlere karşı en hassas dönem): Bu hassas dönemde endokrin bozucularına maruz kalma, büyümeyi ve gelişmeyi engelleyebilir, sessiz bir dönemi takiben tekrar aktifleşebilir ve fonksiyon bozukluğu belirtileri ortaya çıkabilir (Barker, 2003).
2. Maruz kalma ile belirtilerin görülmesi arasındaki zaman: Maruz kalma sonrası etkinin kendisini göstermesi için genellikle sessiz bir dönem geçmektedir. Bu sessiz dönem bazen çok uzun (on yıldan fazla) sürebilmektedir (Herbst ve diğerleri, 1971).
3. Endokrin bozucu kimyasalların farklı etkinlik mekanizmalarına sahip olması: Örneğin tek bir endokrin bozucu kimyasalın bile hem östrojenik, hem antiandronik etkiye sahip olması, orijinal bileşikten farklı yollar üzerinden metabolize olması, farklı dokularda etki ettiği hormon reseptör ekspresyonunun farklılığı gibi nedenlerle organizmada değişken yanıtlar alınabilmektedir (Zoeller ve diğerleri., 2012; Beronius, 2013). Etkiler, türler arasında farklılık gösterebilirken (bazı sıçan türlerinin östrojene özellikle duyarsız olması gibi), gecikmeli olarak da görülebilir (Dietilstilbestrol, gebe kadınlarda, gebelikle ilişkili komplikasyonların azaltılması ve düşük riskine karşı 1940-1970'li yıllarda kullanılmış; ancak bu kadınların kız çocuklarında ergenlik sonrasında çok nadir görülen vajinal temiz hücre adenokarsinoması oluşturduğu, ovaryan germ hücre kanseri ve serviks kanserine neden olduğu tespit edilmiştir) (Newbold, 2004).
4. Düşük dozlarda bile etkili: Normalin altındaki düşük miktarda bile, endokrinolojik ve reproduktif problemler oluşabilir (vom Saal ve diğerleri, 2007). Çok düşük dozlarda etkili olabilmesi ve non-monotonik doz-yanıt ilişkisi endokrin bozucu kimyasallar için karakteristik bir özelliktir. Non-monotonik etkilerini ise reseptör yarışması, reseptör seçiciliği, reseptör down regülasyonu, farklı gen aktivasyonu ve yarışmacı mekanizmalar üzerinden yapabilir (Beronius, 2013).
5. Doz-yanıt dinamikleri: Endokrin bozucular, "zehiri zehir yapan dozudur" klişesine her zamantabi olmamakla birlikte doz yanıt dinamikleri çoğunlukla U şeklinde tanımlanmaktadır (Yani, "en yüksek yanıtın düşük ve yüksek dozlarda alındığı durumlar olabilirken, ters U şekilli yani en yüksek yanıtın orta dozlarda alındığı durumlar da gözlenebilmektedir (Yurdakök, 2013).
6. Mutajenik etki: Endokrin bozucular DNA sekansları üzerinde mutasyonlara sebep olarak genetik etki gösterir ve böylece sadece maruz kalan nesli değil, sonraki kuşakları da etkileyebilirler (Anway ve Skinner, 2006).

7. Epigenetik etki: Toksikoloji ve güvenlik değerlendirmelerinde önemli yeri olan ve canlıların embriyodan yetişkin bireye doğru ilerleyen gelişim sürecinde gözlemlenen, hücre farklılaşmaları sırasında ortaya çıkan gen ifadesindeki değişiklikleri ifade eden epigenetik faktörler, özellikle endokrin bozucu kimyasalların fenotipik etkilerini göstermesinde ve değerlendirme aşamalarında önemlidir. Yaşamın ilk safhalarında DNA metilasyonu başlar, dinamik ve geri dönüşümlüdür ve gen ekspresyonunu programlar, gen üzerindeki hatıraları oluşturur (Skinner, 2007). Epigenetik fenomenin üzerinde en çok çalışma yapılmış olan iki tipi DNA metillenmesi ve histon modifikasyonlarıdır. Yapılan araştırmalar sonucunda, gelişim sürecinde çekirdeğin epigenetik özelliklerinde bir dizi değişimin gerçekleştiği ve hücrel potansiyelin kaybı ile geri dönüşümsüz gen susturulmasının (örn. embriyonik) arasında önemli bir ilişkinin varlığı saptanmıştır (Orcan, 2006).

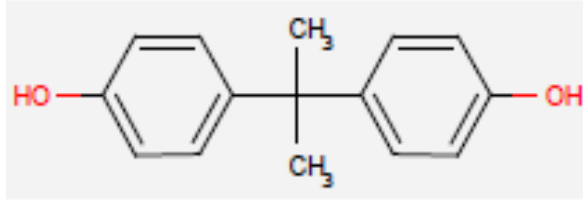
8. Kalıntı sorunu: Besin amaçlı yetiştirilen hayvanlar endokrin bozucu kimyasallara çeşitli yollardan maruz kalabilmektedir. Bunların arasında; yeni ilaçlanmış meralar, ilaçlanmış yemden hazırlanan silajlar, içme suyu kontaminasyonu, atık sistemleri, alet ve ekipman ile ağıllarda kullanılan malzemeler veya yemlerin içerisindeki doğal fitoöstrojenler (alfalfa, yonca, soya gibi) gibi çeşitli sebeplerle maruz kalabilmekte ve yenilebilir dokularında bulunabilmekte; poliklorlu bifeniller gibi lipofilik özellikte bileşikler de süte geçebilmektedir (Bernhoft, 2006). Örneğin laktasyondaki ineklerin sütüne “endokrin bozucu kimyasal” özelliği bilinen nitro misk bileşikler, süt işletmelerinde kullanılan deterjanlardan ve laboratuvar/işletme çalışanlarının kullandıkları parfümlerden geçebilmektedir (Blüthgen ve Ruoff, 1998). Ayrıca, evsel atıkların karıştığı deniz ve akarsulardaki balıklarda da bu bileşikler biyoakümülyasyon ve biyomagnifikasyona bağlı görülebilmektedir (Fromme ve ark., 2001).

9. Çoklu etkileşim: Bir organizma genelde bir endokrin bozucu karışımına maruz kalır ancak, farklı endokrin bozucuların beraber olan tesirleri, aditif veya sinerjistik etkiler yaratabilir (Crews ve diğerleri, 2003).

2.2. Bisfenol-A'nın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

CAS (Chemical Abstracts Service) numarası 80-05-7 olan Bisfenol-A (BFA) [2,2-bis(4-hidroksifenil) propan] sentetik organik bir bileşiktir. IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) numarası 4,4'-(propane-2,2-diyl)diphenol olup moleküler formülü $(CH_3)_2C(C_6H_4OH)_2$ veya $C_{15}H_{16}O_2$ şeklinde ifade edilir (Şekil 1). Moleküler ağırlığı

228.29 g/mol'dür. Oda sıcaklığında renksiz ve katı haldedir (PubChem, 2019). Endüstriyel bir kimyasal olup ilk kez 1891 yılında sentezlenmiş ve östrojenik etkileri 1930'larda bulunmuştur (Wolstenholme ve diğerleri, 2011).



Şekil 2.2. BFA'nın kimyasal yapısı

BFA'nın düşük buhar basıncı ve yüksek erime noktasına sahip olduğu bilinmektedir (erime noktası 158 °C ve kaynama noktası 220 °C). Çözücülerini etanol ve alkali maddeler olduğu için organik çözücülerde ve hatta suda bile kısmi olarak çözünmektedir (pKa değeri 9,6 ile 11,3 arasında çözünme 300 mg/L). Biyolojik olarak kolayca parçalanabilen BFA'nın CO₂'ye mineralizasyonu %81-93 oranında 28 gün içerisinde gerçekleşebilmektedir.

Yapılmış olan bir araştırma sonucunda nehirdeki bozunma yarı ömrü 0,5-3 gün tespit edilmiştir (Wright-Walters ve diğerleri, 2011). Çizelge 2.1'de BFA'nın fiziksel ve kimyasal özellikleri verilmektedir.

Çizelge 2.2. BFA'nın fiziksel ve kimyasal özellikleri (Wright-Walters ve diğerleri, 2011)

<i>Adı</i>	<i>Bisfenol A</i>
IUPAC Adlandırılması	2,2-bis(4-hidroksifenil) propan
CAS Numarası	80-05-7
Moleküler Formülü	C ₁₅ H ₁₆ O ₂
Moleküler Ağırlığı	228,29 g/mol
Fiziksel Durum	Beyaz katı pullar veya toz halinde
Erime Noktası	155°C

2.3. Bisfenol-A'nın İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkileri

Endokrin bozucu kimyasallar (EDC'ler), endokrin sistemin gelişimini ve işlevini değiştiren maddelerdir (Şolpan ve Mehrnia, 2018). EDC'ler endojen hormonları taklit edebilir veya endokrin sistemin normal hormonal aktivitesini inhibe edebilir. Doğal çevrede ve endüstriyel süreçlerde bulunabilirler. Son yıllarda yapılan araştırmalar, endokrin bozucu kimyasalların endokrin sisteminin işlevlerini etkileyerek organizmadaki bazı hastalıkların sıklığını artırdığı bilinmektedir. BFA endokrin bozucu olarak adlandırılır ve yerli ürünler, medikal ve dental tedavi materyallerinde kullanılmaktadır. Aynı zamanda BFA gıda, içme suyu ve insan vücuduna solunum yoluyla (inhalasyon) alınabilen zehirli bir bileşiktir (Şolpan ve Mehrnia, 2018).

BFA'ya maruz kalmanın önemi yıllar öncesinden bilinmesine rağmen bu konuda yeni yeni durulmaktadır. BFA'nın insan sağlığı üzerinde özellikle bebeklerin gelişiminde ciddi etkiler oluşturabileceği ve çağımızda önemli bir halk sağlığı problemi olduğu bilinmektedir. BFA'nın, kadınlık hormonuna çok benzer (ksenöstrojen) sentetik bir yapıya sahip olduğu bilinmektedir. Günümüzde yapılan birçok araştırma BFA gibi kimyasalların organizmaların hormon sistemine çok ciddi zararlı etkiler yaptığı ve bu etkilerin sadece üremeyi değil, vücut gelişimini ve davranışları da etkilediği kanıtlanmaktadır (Dirinck ve diğerleri, 2011).

BFA'nın bazı yan etkileri bu başlıklar altında sayılabilir;

- Cenin, bebek ve çocuklar üzerinde nörolojik ve davranışsal bozuklukları oluşturabildiği (Liu ve diğerleri, 2011),
- Prostat ve meme bezlerini etkilediği, kızlarda erken ergenliğe neden olduğu (Wolstenholme ve diğerleri, 2011),
- Uzun süre BFA'ya maruz kalan kadınların üretkenliğinin azaldığı (Kawamura ve diğerleri, 2003),
- Sperm sayısının azaldığı ve kalitesinin düştüğü (BFA'nın oksidatif stres oluşturarak PI3K/c-Src/FAK ve MAPK gibi sinyal yollarını etkiledikleri) (Wong ve Cheng, 2011),
- Şişmanlığa yol açan metabolik bozuklukların ortaya çıkması (BFA'nın yağ dokusundan faydalı bir hormon olan adinopektin salgısını azaltıp aksine zararlı iltihabi

olaylara yol açan interlökin-6 ve TNF- α adlı zararlı moleküllerin kandaki düzeyini artırması nedeniyle (Jonathan ve diğerleri, 2009),

- Metabolik sendrom oluşumu, meme ve prostat kanserinin tedavisini bozduğu (Sharpe ve Drake, 2010),
- Hamile kadınlarda çeşitli etkilere neden olduğu (Caserta ve diğerleri, 2011).

Bu konuda yapılan araştırmalardan örnek vermek gerekirse; Liu ve diğerleri, (2011) hamilelerde yapmış olduğu çalışmada, hamilelerin idrarında bulunan BFA ile kendiliğinden gelişen ve tekrarlayan düşük arasında ilişki olabileceğini bildirmişlerdir.

Braun ve Hauser, (2011) BFA'nın çocuk sağlığına etkisi isimli derlemelerinde, idrardaki BFA derişimi ile seks hormonu arasında ilişki olduğunu ve yapılan bir çalışmada idrarında yüksek miktarda BFA olan kızlarda göğüs büyümesinin geciktiğini bildirmiştir. Prenatal dönemde BFA'ya maruz kalmanın kız çocuklarında görülen hiperaktif ve agresif olma durumu ile ilişkili olabileceği vurgulanmıştır (Liu ve diğerleri,2011). BFA'nın insan sağlığı üzerindeki etkileri Şekil 2.3'de, üreme ve obezite üzerindeki etkileri ise Şekil 2.4'de şematik olarak ifade edilmiştir.



Şekil 2.3. BFA'nın insan sağlığı üzerinde etkisi (Liu ve diğerleri, 2011)



Şekil 2.4. BFA'nın üreme ve obezite üzerine etkileri (Crews Ja, 2003)

Avrupa Gıda Güvenliği Kurumu'nun (EFSA) yaptığı araştırmalara göre, bir insan vücudunun günlük tolere edebileceği BFA miktarı, vücut ağırlığının her kilogramı için 0,05 mg'dır (EFSA, 2005).

2.4. BFA'nın Çevresel Davranışı

Su, birçok bileşik için iyi bir çözücü olduğundan, kaynaktan kullanım aşamasına kadar en kolay kirletici maddedir. Adsorpsiyon ve konvansiyonel su arıtma yöntemlerinde, su içindeki BFA gibi kirleticiler yoğun konsantrasyonla bir ortamdan diğerine aktarılır, ancak bu konsantrasyon ortamdaki toksik kirleticilerin uzaklaştırılması ek işlem gerektirir. BFA'nın yüzey sularına geçişinin başlangıcında atık su arıtma tesisi atık sularından gelmektedir. BFA, atık su arıtma tesisleri giriş sularında, atık sularda ve çamurda tespit edilmiştir. (Furhacker ve diğerleri, 2004). Çöp sızıntı sularında BFA derişimi maksimum 17,2 mg/L olarak rapor edilmiştir (Yamamoto ve diğerleri, 2001).

BFA'nın sediment ve toprak gibi organik fazlarda bileşenlerine ayrılması hidrofobik olduğunu gösteren bir kanıt olarak bilinmektedir. Ayrıca BFA'nın doğal sularda buhar fazına geçmesi ve çözünmesi (hidrolize olması) beklenmez (Staples ve diğerleri, 1998).

BFA'nın buharlaşma katsayısının düşük olmasından dolayı havada yok denecek kadar az bulunduğunu gösterilmiştir. Ayrıca yarılanma süresinin suda ve toprakta 4,5 gün, havada ise 1 günden az olduğunu belirtmişlerdir. BFA'nın aerobik biyodegradasyonu, hava hariç diğer ortamlarda en baskın giderim mekanizmasıdır. BFA buharı hidroksil radikalleriyle reaksiyona girerek fotodegradasyona uğrayarak bozunmaya meyillidir (Cousins ve diğerleri, 2002).

2.5. BFA'nın Toksisitesi ve Diğer Canlılar Üzerindeki Etkileri

BFA'nın toksik etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda sucul canlı olan balık, alg, bakteri, tatlı ve tuzlu su omurgasızları ve bitkiler üzerindeki akut ve kronik etkilere odaklanıp, BFA'nın organizmaların yaşamı, üremeyi ve büyümeyi etkileyip etkilemediği incelenmiştir. Yapılan araştırmalarda sudan alınan BFA dozunun 48 saatle 400 gün arasında ölümcül etkiye sahip olduğu görünmüştür (Tabata ve diğerleri, 2001).

Büyüme ve gelişme üzerindeki kronik etkisi organların büyüklüğü ve ağırlığına (tüm vücuda göre oranı), yapısal deformasyonlara, popülasyondaki artışa (algler için), ikincil cinsiyet özelliklerine, aynı zamandamaruz kalma miktarına bakarak 28-120 gün arasında gözlemlenmiştir (Schäfers ve Wenzel, 2000).

Sucul organizmaların üreme sistemleri ile bağlantılı olan ekotoksik testler sperm hareketliliği ve uzunluğu, yumurta üretimi, kuluçka süresi ve embriyoların hayatta kalma ve cinsiyet farklılıklarını gözlemleyerek yapılmıştır (Oehlman ve diğerleri, 2000).

BFA'nın tatlı ve tuzlu su ekosistemlerinde akut toksisiteye neden olduğunu LC₅₀ (Lethal Concentration₅₀; yani test organizmalarının yarısının ölmesine neden olan derişim) değerinin 1-10 mg/L arasında değiştiğini belirtmişlerdir (Alexander ve diğerleri, 1988).

BFA'nınyaşamsal, büyüme, üreme sistemlerindeki toksik etkilerini tatlı ve tuzlu su alglerinde, omurgasızlar ve balıklar (*Selenastrum capricornutum*, *Pimephales promelas*, *Daphni magna*, *Mysidopsis bahia*) üzerinde incelenmiştir. Sonuçlar LC₅₀ değerinin 1000-20 000g/L aralığında olduğunu göstermiştir (Alexander ve diğerleri, 1988).

BFA'nın genetik toksisitesi ve fizyolojik etkilerinin incelendiği çalışmada *Daphnia magna* ve sucul sinek olan *Chironomus tentans* kullanılmış ve *D. magna*'nın daha hassas olduğu bulunmuştur (Park ve diğerleri, 2006). Ölmez-Hancı ve diğerleri (2013) BFA'nın *D. magna* üzerindeki akut toksisitesini yüzde bağıl değerlerini hesaplayarak karşılaştırmışlar ve BFA'nın toksik etkilerinin yanısıra, ileri oksidasyon ara ürünlerinin de toksik olduklarını bulmuşlardır.

Endokrin bozuculardan kaynaklı “üreme bozuklukları” konusunda çalışmalar yapan Gunderson ve diğerleri (2004) bu kimyasalın, timsahlarda eşey gelişimini bozduğunu belirlemişlerdir. Çalışmalarına göre; dişi bireylerde aromataz aktivitesinin artmasıyla testosteron azalmış, kortikosteron artmış ve erkeklerde phallus boyutu küçülmüştür.

2.6. BFA Maruziyetinin Kaynakları ve Yolları

BFA, polikarbonatlı plastiklerin ve epoksi reçinelerinin üretiminde kullanılan başlıca monomerdur. Günümüzde yılda 2 milyon tondan fazla üretilmekte olan BFA'ya maruziyet yolları metal konser ve kutular veya plastik kaplamasından gıdaya geçmesinden, içtiğimiz suya kadar büyük bir yelpazeye sahip olmasından dolayı bu zararlı bileşene maruz kalınmanın olası riskleri son yıllarda büyük bir sorun oluşturmaktadır (Mercea, 2009). Öyle ki polikarbonatlı plastikler; biberon, yiyecek saklama kapları, su şişeleri ve şişe kapakları, gözlük camları, CD, DVD ve elektronik cihazların yapımında kullanılır. Keza, BFA hazır konser kutuları veya yiyeceklerin kaplamalarından gıdaların içerisine nüfuz edebilmekte ve sonuç olarak insanlar her zaman az miktarda bile olsa BFA'ya maruz kalabilmektedirler BFA'nın oral yol ile vücuda geçme riskini arttıran kaynaklar arasında epoksi reçine bazlı gıda kutuları, su şişeleri veya plastik biberonlar en sık kullanılanların başında gelmektedirler (Shi ve diğerleri, 2009; Geens ve diğerleri, 2012).

BFA, diş hekimliğinde dişleri çürükten koruma amacıyla Pedodonti'de yaygın olarak kullanılan fissür örtücü ve kompozit rezin dolgu maddelerinin (diş kompozitleri) yapısında da bulunmaktadır (Akyüz ve diğerleri, 2011). Daha önce fungusid olarak kullanılan tetrabromobisfenol A gibi yanmayı önleyen malzemelerin öncül maddesi de BFA'dır. Karbonsuz kopya kağıtlarında ve termal kağıtlarda renk geliştirici madde olarak BFA tercih edilir. BFA ihtiva eden ürünler su borularının kaplanması ve döküm kalıplarında da kullanılmaktadır (Wolstenholme ve diğerleri, 2011).

BFA maruziyeti;

- Çevresel (BFA ile kirlenme hava ve sudan)
- Yerel (ev ürünleri, kozmetikler)
- Tıbbi (BFA ile kirlenme aletler ve cihazlardan)
- Mesleki kaynak (solunum, deri teması, endüstriyel kullanım ya da üretim süreci boyunca yutma) yollarıyla meydana gelmektedir (Ölmez-Hancı ve diğerleri, 2013).

Bisfenol A, Gıda ambalajlarında çeşitli uygulamalar esnasında gıda içerisine ambalaj malzemelerinden BFA'nın nüfuz etmesi muhtemel olan bir durumdur ve böylece BFA'nın oral yolla alınıp miktarı artabilmektedir. Ayrıca mikrodalga fırın kaplarının üretiminde kullanılan BFA gıdalara geçebilmektedir (Zalko ve diğerleri, 2011). İlaveten termal kağıt kaplamalarından, tıbbi cihazlarla ve daha birçok ürünlerle büyük ölçüde BFA'ya maruz kalılabilmektedir (Cho ve diğerleri, 2012).

Paketleme uygulamalarında kullanılan plastikler 7 çeşit olup, geri dönüşüm kodu 1, 2, 4, 5 ve 6 olanlar polimerizasyon ya da paketleme formunda BFA içermedikleri için, gıda ve içeceklere BFA geçmesi söz konusu değildir. Geri dönüşüm kodu 3 ve 7 olan plastikler ise polikarbonat ve epoksi gibi malzemeleri içermekte olup bu malzemelerin gıda ve içeceklerle temas etmesi halinde az miktarda BFA gıda ve içeceklere geçmektedir. Plastiklerin zarar görmesi halinde ise BFA'nın gıdalara geçişi artmaktadır. Normal koşullarda malzemelerden belirli miktarda BFA salınırken, bu plastikler ısıya maruz kaldığında alınıp hızı ve miktarı artmaktadır. (WHO, 2009).

Schierow ve Lister (2010)'e göre Avrupa Gıda Güvenliği ve Sağlığı, BFA konusunda tolere edilebilir günlük alım miktarı (TDI), 25 mg/kg/gün ve 50 mg/kg/gün olarak belirlemiştir. Manfo ve diğerleri (2014) çalışmalarında BFA'nın günlük tolere edilebilir miktarının EFSA tarafından çeşitli canlılara göre 4 µg/kg ile 50 µg/kg arasında olarak belirtmişlerdir. BFA'nın çevreden vücuda alınan miktarının ise belirlenen TDI değerinden 4-5 kat daha düşük olduğu tahmin edilmektedir. Bisfenol A için, maximum kabul edilebilir ya da referans doz Çevre Koruma Ajansı tarafından 50 mg/kg vücut ağırlığı/gün olarak belirlenmiştir (EFSA, 2005).

Endokrin bozucu kimyasallar doğada doğal olarak bulunabildiği gibi (sarımsak, maydanoz, kahve gibi besinlerde bulunabilen fitoöstrojenler ancak çok fazla alındığında bu etkiyi

gösterir), değişik sentetik ve endüstriyel ürünlerde (fungusit, herbisit, boya, plastik çözücüler gibi), evsel malzemelerde (temizlik malzemeleri, parfüm gibi), ilaçlarda (doğum kontrol hapları, dietilstilbestrol gibi) ve ağır metaller (arsenik, kadmiyum, uranyum, kurşun, civa gibi) içerisinde de yer alabilmektedir (Yeşilkaya, 2008).

Avrupa Birliği Komisyonu'nun 2016'da güncellediği "Çevre" raporunda; çeşitli araştırmalarda "endokrin bozucu" etkisi belirlenen 546 kimyasal için hazırladığı sınıflandırma sistemine göre, bu kimyasalların 147'sinin yüksek miktarda üretildiği, çevrede kalıcı olduğu ve Kategori 1 olarak sınıflandırılabilceği, 66'sının potansiyel tehlikeli olduğu, 60'ına ise insanların maruz kaldığı bildirilmektedir. Kategori-1 endokrin bozucu etkinin en azından bir canlı organizma üzerinde test edildiği, Kategori-2 endokrin bozucu kimyasalın biyolojik etkinliğinin kanıtlandığı, Kategori-3 a ve b ise veri eksikliğine bağlı sınıflandırma yapılamayan ve endokrin bozucu etkinliği bilinmeyen maddelerin olduğu sınıflandırmadır. Kategori-1 içerisinde pestisit, gıda koruyucu, gıda ve farmasötiklerde koruyucu (prezervatif) amacıyla kullanılan, güneş kremlerinde yer alan çeşitli kimyasallar bulunmaktadır. Bunlara borik asit, 4-nonilfenol, omethoat, 4-sikloheksifenol, siklofosfamid, mono-n-butilfitalat, tersiyerbutilhidroksianizol, metil tersiyer butil eter, trifluralin, klordimeform, p-kumarik asit, dibromokloropropan, p-hidroksibenzoik asit, etilentiyo üre örnek verilebilir (European Commission, 1996).

2.7. *U. mancus eucirrus* Türünün Ekolojik Önemi ve Sistematik Pozisyonu

Midyeler sudaki organik bileşenleri ve planktonları temizleyerek beslenirler. Bu filtreleme işlemi esnasında çok miktarda su süzdükleri için ağır metalleri de filtre ederler. Bu özellikleri nedeniyle midyeler ağır metal birikiminin biyolojik izlenmesi için oldukça iyi indikatörlerdir (Carson ve Darling, 1962). Su ürünleri, pek çok atığın deniz, göl ve akarsulara verilmesinden dolayı en önemli kirlilik kaynaklarından birini oluşturmaktadır. Bu nedenle besinlerimiz arasında önemli yer tutan balık ve midye gibi su ürünlerinde ağır metal birikiminin izlenmesi insan sağlığı açısından önem taşımaktadır (Öktener, 2004).

Bivalvia, sucul ekosistemlerin makrobentik faunasının yaygın olarak karşılaşılan gruplarından. Besin zincirinde önemli bir yere sahip olan bu organizma grubu, başta balıkların olmak üzere çeşitli su kuşlarının ve su memelilerinin (samur, kunduz vb.) besinlerini oluşturur. İlavenen çevresel değişimlerde biyoindikatör organizmalardır ki bu

nedenle ekolojik çalışmalarda kullanmak için çok elverişlidirler. İnsanlar tarafından tüketilmesinin yanında bazı hayvanların yetiştiriciliğinde (balık, tavuk, domuz vb) ve bazı türlerin de kabukları inci, düğme yapımı için süs eşyalarının yapımında kullanılmaktadır. Molluskler ayrıca yeryüzünün jeolojik gelişimlerinin araştırması açısından çok önemli fosillerdir. Mollusk fosilleri tortul oluşumunda başlıca etkendir (Öktener, 2004).

Unio'lar birçok midye türünün aksine, kirlilik stresine maruz kalarak ortadan kaybolan ilk canlılar olarak bildirilmiştir. Bu hassasiyeti nedeniyle, birçok su ekosisteminde sayıları hızla azaldığından IUCN'in Red List Kriterlerine göre NT (Near Threatened-Tehdite Yakın) olarak nitelendirilmekte olup, bu konuda 2014'de güncelleme yapılmıştır (Lopes-Lima ve diğerleri 2014; IUCN, 2014).

Sulardaki kirlilik izleme çalışmalarına bakıldığında, omurgasızlar biyotik faktörlerin sağlam kontrolünü sağladıkları için önemli seçeneklerdir. Birçok midye türü denizlerde bol miktarda bulunmaları, metalleri yüksek yoğunluklarda biriktirip, bunları uzun bir süre bünyelerinde tutmalarından dolayı sucul ekosistemlerde kirliliği yansıtan biyolojik indikatörlerin başında gelmektedirler (Van Hassel ve diğerleri, 2007).

Ancak *Unio mancus* türünün sucul kirlilik ve ekotoksikoloji deneylerinde tercih edilmesinde ise; çevresel kirleticilerin seviyelerine karşı hassas olması, sesil yaşamaları, uzun ömürlü olmaları, çok geniş yayılım alanına sahip olmaları, kirletici analizleri için yeterli dokuyu kolayca sağlayacak büyüklükte olmaları gibi çalışmalarda kolaylık sağlayacak avantajlara sahip olması gelmektedir.

U. mancus eucirrus'un taksonomisi aşağıda verilmiştir;

Alem: Animalia

Şube: Coelomata

Sınıf: Bivalvia

Altsınıf: Eulamellibranchiata

Takım: Unionoida

Familya: Unionidae

Cins: *Unio* (Philipsson, 1788).

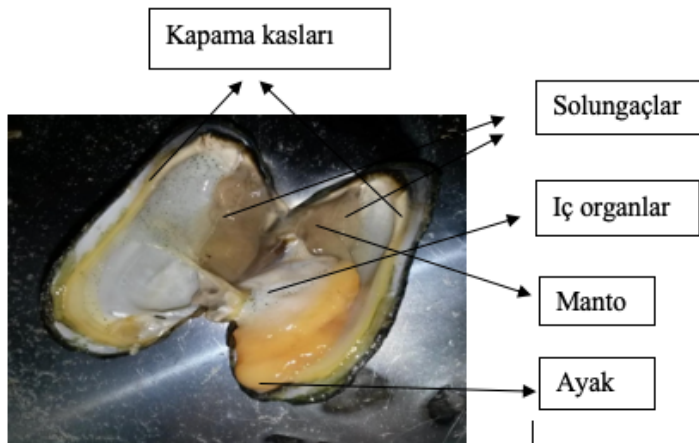
Tür: *Unio mancus eucirrus* Bourguignat, 1857 (Musselp, 2019)

Türkiye’de çeşitli araştırmacılar tarafından *Unio* cinsine ait altı tür (*Unio pictorum*, *Unio hueti*, *Unio terminalis*, *Unio elongatulus*, *Unio tigridis*, *Unio stevenianus*) saptanmıştır. Türkiye’de *U. mancus eucirrus* türüne Bekteşaga Göleti’nde ve Karasu Çay’ında rastlanmıştır (Öktener, 2004). Resim 2.1’de çalışmalarımızda kullandığımız *U. mancus eucirrus* türü bireylerinin kabuk görüntüsü verilmiştir.



Resim 2.1. *U. mancus eucirrus* türü bireylerinin kabuk görüntüsü

Unio mancus türü midyeler genelde tatlı sularda yaşarlar. Resim 2.2’de de görüldüğü üzere kabukları ön (anterior), arka (posterior), karın (ventral), sırt (dorsal) olmak üzere dört kısmı ayrılır. İki kabuğu birbirine elastik ligament bağlar. Midye kabuklarının iç kısmı sedef madde ile kaplıdır. Midyenin iki adet solungacı vardır ve bunlar ayak kısmının yanında bulunur. Anterior kısmında her iki kabukta kapama kasları mevcuttur. İç organlar dorsal kısma tutunmuştur, kabuğun iç kısmında manto boşluğu bulunur.



Resim 2.2. *U. mancus eucirrus*’un morfolojik yapısı

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Tatlı su midyelerinin temini, taşıma ve saklama koşulları

Çalışmamızda kullanılan midye türü, toplama kaynağı, taşıma ve hazırlama koşulları verilmiştir;

- Midye türü: *Uniomancus eucirrus* Bourguignat, 1857.
- Toplama tarihi: Ekim 2015
- Toplama yeri: Sinop ilinin Karasu Çay'ının yüzeye yakın, ulaşılabilen kısımları. Karasuyu Çayının Uzunluğu 80 km'dir ve Sinop'un 8 km batısından denize dökülmektedir.
- Toplama yerinin koordinatları: 37° 17' 96'' Kuzey enlemi ve 31° 11' 24'' Doğu boylamı olup GPS irtifa ise 21,3 m'dir.
- Toplama koşulları: El ile, daha sığ olan kısımlarda ise kepçe ile.
- Taşıma koşulları: Işık almayan mavi termoslar içine konularak laboratuvara getirilmiştir.



Resim 3.1. Karasu Çayı (Sinop)

3.1.2. *U. mancus*'lara uygulanan deney ortamı

Karasu Çayından toplanan *U. mancus eucirrus* bireyleri serin ve nemli koşullarda tutularak laboratuvara getirilmiştir. Bu arada daha önceden şebeke suyu konulan cam akvaryumlar ve kaplar, deney yapılan laboratuvarın güneş gören pencerelerinin önüne yerleştirilmişler ve içinde alglerin doğal olarak büyümeleri için bir süre bekletilmişlerdir. Böylece bunların içine konulan ve 1 hafta kadar adaptasyon için tutulan midyelerin, ortamda doğal olarak üreyen tatlısu algleri ile beslenmeleri sağlanmıştır. Bu deneyin düzeneği Resim 3.2'de görülmektedir. Deney öncesi akvaryumdaki su parametreleri; sıcaklık $19,1 \pm 0,16^{\circ}\text{C}$, iletkenlik $256,6 \mu\text{S/cm}$, pH $8,16 \pm 0,2$, çözülmüş oksijen (DO) $6,25 \text{ mg/L}$ 'dir.

Deney süresince kullanılan malzemeler ve uygulamaların akışı aşağıdaki gibidir:

U. mancus eucirrus bireyleri

↓
20 L'lik 5 adet Akvaryum

↓
Akvaryumlar içerisine 15 L su konulması (merkezi havalandırma uygulanarak)

↓
Her bir akvaryuma 15 midye yerleştirilmesi



Resim 3.2. *U. mancus eucirrus*'un biyodeney düzeneği

3.1.3. BFA çözeltilerinin hazırlanması

Subletal deneyde stok çözeltileri hazırlanması için kullanılan kimyasal maddenin ismi ve özellikleri, BFA çözeltisini hazırlamak için kullanılan çözücünün adı, saklama koşulları, deneyde kullanılan malzemeler ve maddeler Çizelge 3.1’de sıralanmıştır (Resim 3.3).

Çizelge 3.1. BFA çözeltilerinin hazırlanması aşamasında kullanılan maddeler, malzemeler ve koşullar

<i>Deney</i>	<i>Kullanılan madde, malzeme ve ortam</i>
Subletal deneyinde stok çözeltileri hazırlanması için kullanılan madde ismi ve özellikleri	Katı haldeki BFA, 99% (CuPT; Arch Chemicals, U.K.)
BFAçözeltisini hazırlamak için kullanılan çözücü	Etil alkol
BFAçözeltisini saklama koşulları	Balon jojenin etrafı ışık almayacak şekilde alüminyum folyo ile sarılması
Akvaryum ve cam kaplarda dozlama yapılırken kullanılan aletler	Otomatik mikro pipetler, balon jojeler



Resim 3.3. BFA çözeltisinin hazırlanması

3.2. Yöntem

3.2.1. Deney yöntemi

U. mancus eucirrus türü midyelerin kullanıldığı subletal maruziyet deneyinin (BFA Etil alkol’da çözünerek hazırlanmıştır) doz aralığına belirlenen ön deney sonucunda karar verilmiştir. Hacimleri 20 L olan 4 adet deney akvaryumuna 15’er adet tatlı su midyesi konulmuş ve bunlara sırasıyla 0.1 µg/L, 1 µg/L, 5 µg/L ve 10 µg/L’lik dozlardaki Bisfenol A kimyasal maddesi dozlanmıştır. Deneyde ayrıca 20 litrelik iki adet kontrol akvaryumu (DMSO ve negatif kontrol) oluşturulmuştur. Bunların içine de 15’er adet midye konulmuş, havalandırılmış ve kloru uçurulmuş şebeke suyu ile doldurulmuştur. Yapılan dozlama 96 saat boyunca gözlemlenmiştir.

3.2.2. Deney sonrası uygulanan işlemler

Deney esnasında (96 saat) midyelerinin her gün kabuklarına uyarı verilerek el vasıtasıyla açılmaya çalışılarak canlı oldukları tespit edilmiştir (kabuklar açılabiliniyorsa ölü, açılmaya çalışıldığında tekrar kapanıyorsa canlı kabul edilerek). Bu yöntemle canlılık tayini aşamasından sonra ölü olanlar kaydedilerek fiziksel özellikler (ağırlık, uzunluk, yükseklik ve kalınlık değerleri) yazılmıştır. *U. mancus* bireyleri deney bitiminde (96 saat sonunda) kağıt havlu ile kurularak fazla suları alınmış, ağırlıkları Sartorius TE313S marka terazi ile; uzunluk, yükseklik ve kalınlık parametreleri ise kumpas aleti kullanılarak ölçülmüştür.



Resim 3.4. Midyelerinin canlılık tespiti aşaması



Resim 3.5. *U. mancus eucirrus* ölçümleri

3.2.3. *U. mancus*'lardan hemolenf alınması ve toplam hemosit sayısının belirlenmesi

Midyelerin ilk aşamada Şekil 3.6'da da görüldüğü üzere, umbo kısmına (midyenin kabuğu büyürken ilk oluşan kısım) yakın bir kısımdan 2,5 ml'lik enjektör kullanılarak hemolenf sıvısı alınmış 1:1 oranında %4'lük formaldehitte sulandırılmıştır (%4'lük formaldehit; 96ml distile suya 4ml formaldehit konularak). Hemositometre yardımıyla ışık mikroskopunda hemolenfdeki hücreler sayılarak toplam hemosit miktarı (THS/ml) belirlenmiştir. Daha sonra bu sayılar üzerinden yöntemin modifikasyonu hesaplanmıştır (Dinçel ve diğerleri, 2013). İstatistik değerlendirmede Kruskall Wallis testi uygulanmıştır



Resim 3.6. *U. mancus eucirrus* hemolenf sıvısı alınması

3.2.4. Tatlı su midyesinden (*U. mancus eucirrus*) dokuların çıkartılması

Midyelerin hemolenfleri alındıktan bir sonraki aşama, diseksiyon işlemidir. Bu işlemin temelinde biyobelirteçleri biyokimyasal analizle kanıtlamak amacıyla, 10 adet örneğin her birinin solungaç ve sindirim bezleri alınarak alüminyum folyoya sarılmış ve şoklama yöntemi ile sıvı azota konulmuştur. Bu örnekler, parametre ölçüm işlemlerinin yapılacağı zamana kadar -80°C’de derin dondurucuya konularak saklanmıştır.



Resim 3.7. *U. mancus eucirrus*’un solungaç ve sindirim bezinden örnek alınması

3.2.5. Doku analizleri

Doku analizlerinde kullanılan aletler ve kimyasallar aşağıda verilmiştir;

Kullanılan aletler

- Homojenizatör MICCRA D-1 Mikro
- Hassas terazi SARTORIUS
- Santrifüj HETTICH Micro 200 R Soğutmalı
- Spektrofotometre BLOKIT EL X 800 Bioelisa Reader
- Spektrofotometre BIOCHROM Libra S22 UV/VIS
- Vortex HEIDOLPH
- Benmari Isıtıcı Su Banyosu
- Derin dondurucu DAIHAN
- pH-metre JENWAY
- Magnetik karıştırıcı Isıtıcı HEIDOLPH
- Kar makinesi ELECTROLUX
- Otomatik pipet

Kullanılan kimyasal maddeler

- Trikloroasetik asit (TCA)
- Etil alkol(Merck)
- 5,5' ditiyobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB)
- Tiyobarbitürik asit (TBA)
- Bütil hidroksitoluen (BHT)
- Na₂HPO₄.2H₂O, sodyum sitrat (Sigma)

3.2.6. Doku analiz yöntemlerinin uygulanması

Solungaç ve sindirim bezi TBARS düzeyinin ölçümü için yapılanlar işlemler akış sırasıyla aşağıda verilmiştir:

Solungaç ve sindirim bezi dokusunda lipid peroksidasyon düzeyinin ölçümü Tiyobarbitrik asit (TBA) reaktif madde oluşumu yöntemi ile (Casinive diğerleri, 1986; Kurtel, 1992).

↓
Doku örneklerinin homojenize edilmesi (Homojenizatör ile soğuk trikloraasetik asit (TCA) (100 mg doku + 900 µL%10'luk TCA içinde buzlu ortamda).

↓
Örneklerin santrifüj edilmesi (15 dakika süreyle 4 000 rpm'de ve süpernatant alınarak 4000 rpm'de 8 dakika

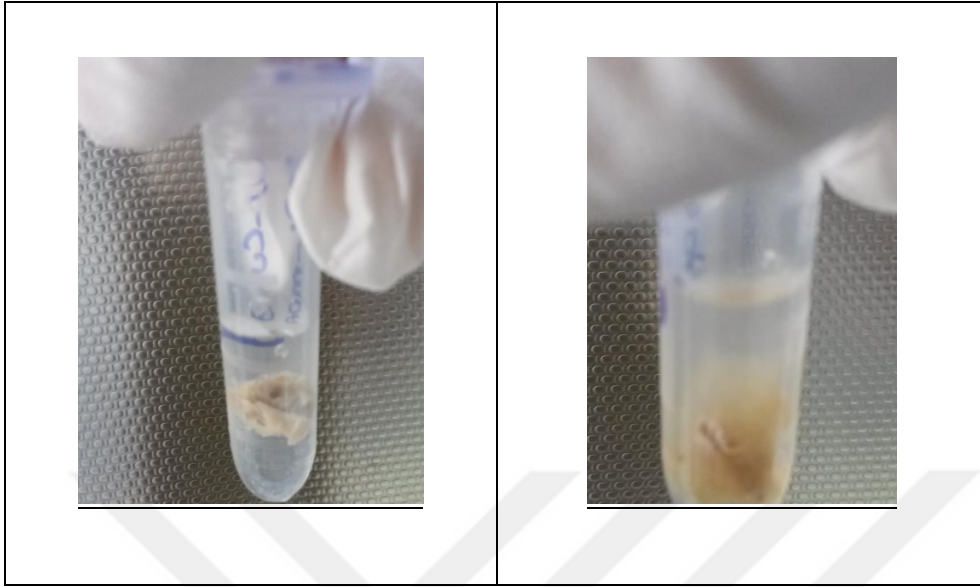
↓
Örnekten 250 µL alınarak, üzerine 10 µL %1'lik bütil hidroksitoluen (BHT) ve 250 µL %0,67'lik tiobarbitrik asit (TBA) eklenmesi

↓
Kaynar su banyosunda (100°C) örneklerin 15 dakika bekletilmesi

↓
Örneklerin soğutulularak 4 000 rpm'de santrifüj edilmesi

↓
Örneklerin süpernatant alınarak her bir örneğin absorbansı 532 nm'de tayin edilmesi

↓
Solungaç ve sindirim bezi dokusu lipid peroksidasyon düzeyi $1,56 \times 10^5 \text{ M/cm}$ ekstinksiyon katsayısı kullanılarak malondialdehit (MDA) eşdeğeri olarak ifade edilmesi.



Resim 3.8. Solungaç ve sindirim bezi TBARS düzeyinin ölçülmesi

Solungaç ve sindirim bezi glutatyon düzeyinin ölçülmesi için yapılan deneylerin ölçülmesinde izlenen yol aşağıda sunulmuştur:

Solungaç ve sindirim bezi dokusunda glutatyon (GSH) tayininin yapılması (Modifiye Ellman yöntemi kullanarak (Aykaç, 1985 ve Ellman, 1959)



Lipid peroksidasyonunda anlatıldığı şekilde solungaç ve sindirim bezi dokularının homojenize edilmesi



Santrifüj işlemi



100µL süpernatant, 400 µL 0,3 M $\text{Na}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve 50 µL ditiyobisnitrobenzoat (DTNB) (0,4 mg/ml %1'lik sodyum sitrat) çözeltisi ile karıştırılması



Örneklerin oda sıcaklığında 5-10 dakika inkübasyona bırakılma işlemi



UV- GB spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda absorbans ölçümü ve glutatyon düzeyleri 13,600 M/cm ekstinksiyon katsayısı kullanılarak hesaplanması



Resim 3.9. Solungaç ve sindirim bezi glutatyon düzeyinin ölçülmesi

Deney sonuçlarının değerlendirilmesi

MDA ve GSH tayini sonuçları gruplar arası farkın tespiti için önce normal dağılım ve varyansların homojenliği testlerinden geçirilmiştir. Bu şartları sağlayanlar parametrik t-testi ve tek yönlü ANOVA ile; sağlamayanlar ise bunların non-parametrik eşdeğeri olan Mann-Whitney U ve Kruskal Wallis H testleri ile analiz edilmiştir. Anlamlılık düzeyi 0.05 olarak alınmıştır.

4. BULGULAR

4.1. BFA'nın *U. mancus eucirrus* Üzerine Subletal Toksik Etkisi

Unio mancus eucirrus tatlı su midyeleri sucul ekosistemlerin indikatör tür/model organizmasıdır. Bu sucul hayvan modelleri kullanılarak araştırmada BFA'ya maruziyet sonrasında oluşan akut etkiler, lipid peroksidasyonu ve hücrel antioksidan savunma sisteminin başlıca bileşeni GSH'nın biomarker olarak düzeyleri incelenmiştir.

4.1.1. Toplam ağırlık, uzunluk, yükseklik ve kalınlık sayısına ilişkin bulgular

Doksan altı saatlik maruziyet deneyi süresince Bisfenol A kimyasal maddesinin 0.1µg/L, 1µg/L, 5µg/L ve 10µg/L'lik dozlarına maruz bırakılan tatlı su midyesi *U. mancus eucirrus* üzerinde, bu maruziyetin fiziksel yapıya bir etkisi olup olmayacağını belirleyebilmek için ortalama ağırlık (Çizelge 4.1), uzunluk, yükseklik ve kalınlık (Çizelge 4.2) değerleri bakımından “kontrol” ve “deney grupları” karşılaştırılmıştır.

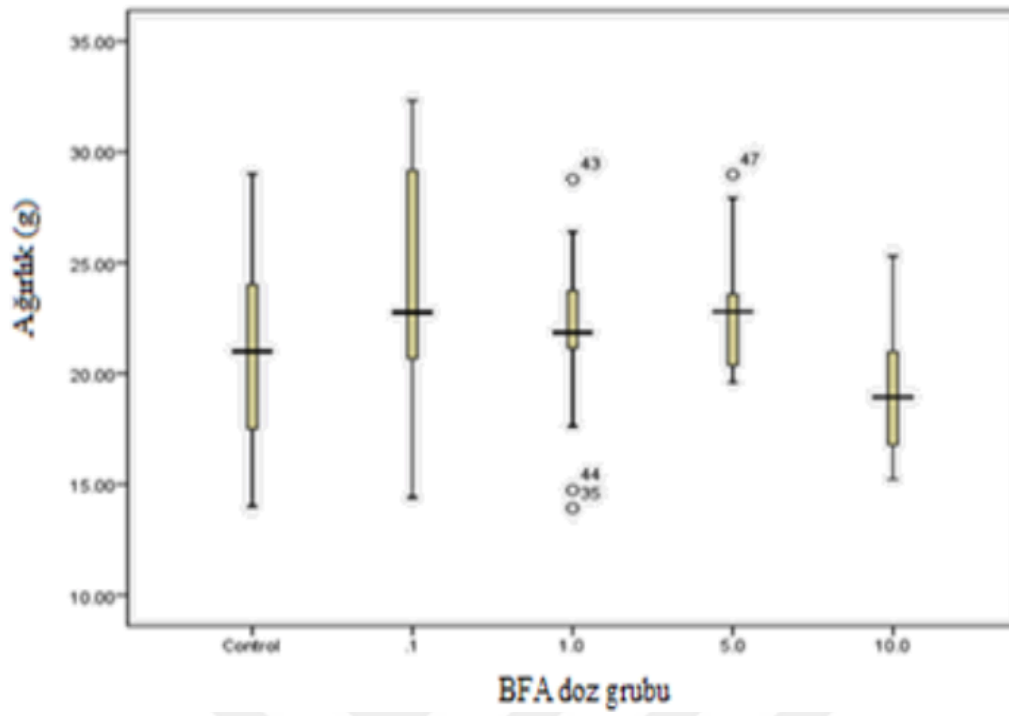
Bu değerler kutu grafikleri olarak ifade edildiklerinde Şekil 4.1, 4.2, 4.3 ve 4.4'de de görüldüğü üzere aralarında önemli düzeyde bir farklılık tespit edilememiştir ($p>0,05$).

Çizelge 4.1. Farklı BFA dozlarına maruz bırakılan tatlı su midyelerinin ağırlık ortalamaları

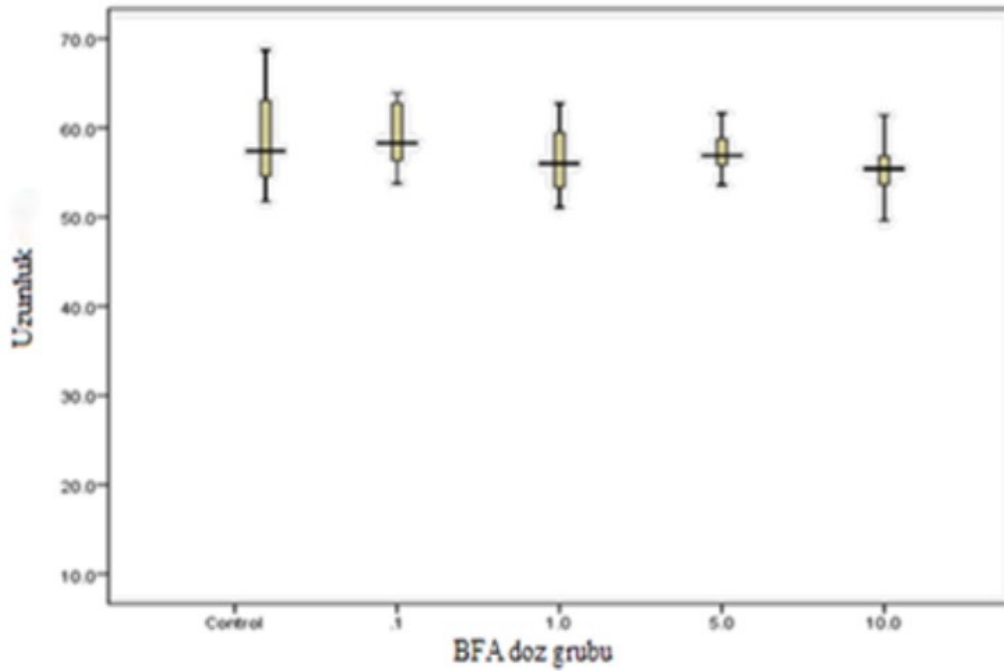
BFA dozu (µg/L)	Ağırlık Miktarı (g) Ortalama ± SD	Güven aralığı (% 95)
Kontrol	20.80 ± 4.58	1.57 ± 1.98
0.1	24.00 ± 5.52	1.98 ± 1.57
1.0	21.83 ± 4.01	1.93 ± 1.87
5.0	22.64 ± 2.85	1.19 ± 1.49
10.0	19.40 ± 3.26	0.87 ± 0.92

Çizelge 4.2. Farklı BFA dozlarına maruz bırakılan tatlı su midyelerinin uzunluk, yükseklik ve kalınlık miktarları

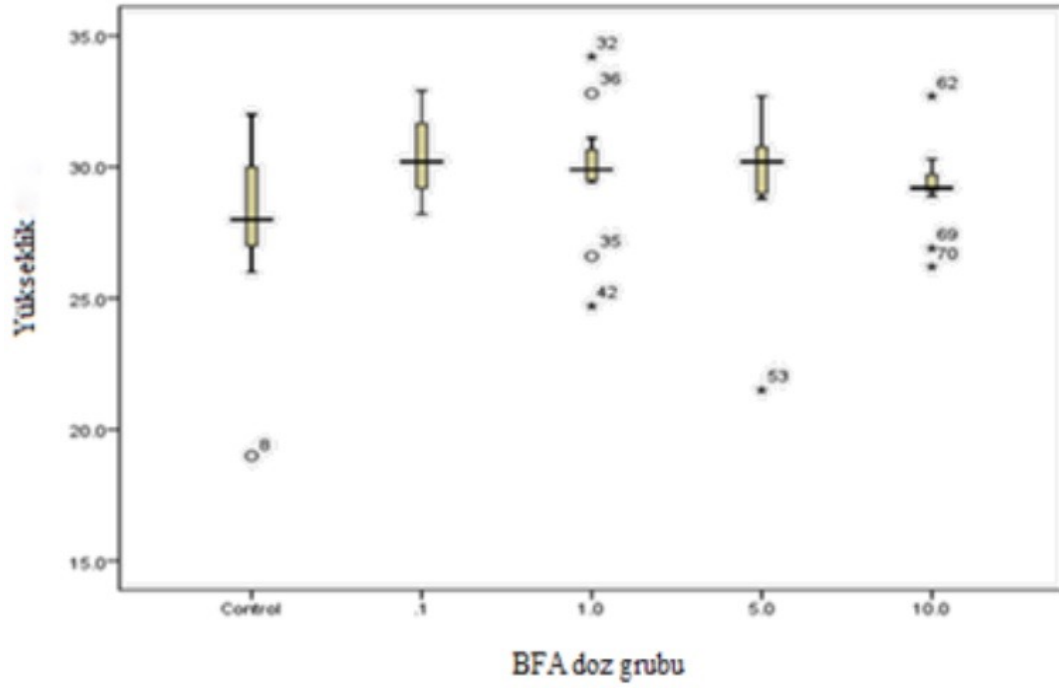
BFA dozu ($\mu\text{g/L}$)	Ortalama $\pm$ SD	Güven aralığı (% 95)
Uzunluk (mm)		
Kontrol	56.22 $\pm$ 3.41	1.78 $\pm$ 1.13
0.1	58.26 $\pm$ 3.57	1.13 $\pm$ 1.78
1.0	56.38 $\pm$ 3.91	0.42 $\pm$ 0.73
5.0	57.44 $\pm$ 2.23	0.74 $\pm$ 0.53
10.0	56.47 $\pm$ 3.00	0.08 $\pm$ 0.86
Yükseklik (mm)		
Kontrol	28.00 $\pm$ 3.00	0.29 $\pm$ 0.16
0.1	30.43 $\pm$ 1.58	0.16 $\pm$ 0.29
1.0	29.92 $\pm$ 2.21	0.92 $\pm$ 0.07
5.0	29.68 $\pm$ 2.52	0.83 $\pm$ 0.47
10.0	29.24 $\pm$ 1.43	0.23 $\pm$ 1.43
Kalınlık (mm)		
Kontrol	18.06 $\pm$ 1.62	0.90 $\pm$ 0.89
0.1	19.06 $\pm$ 1.71	0.89 $\pm$ 0.90
1.0	18.82 $\pm$ 2.90	0.42 $\pm$ 0.92
5.0	19.98 $\pm$ 1.12	0.51 $\pm$ 0.33
10.0	19.88 $\pm$ 1.01	0.35 $\pm$ 0.27



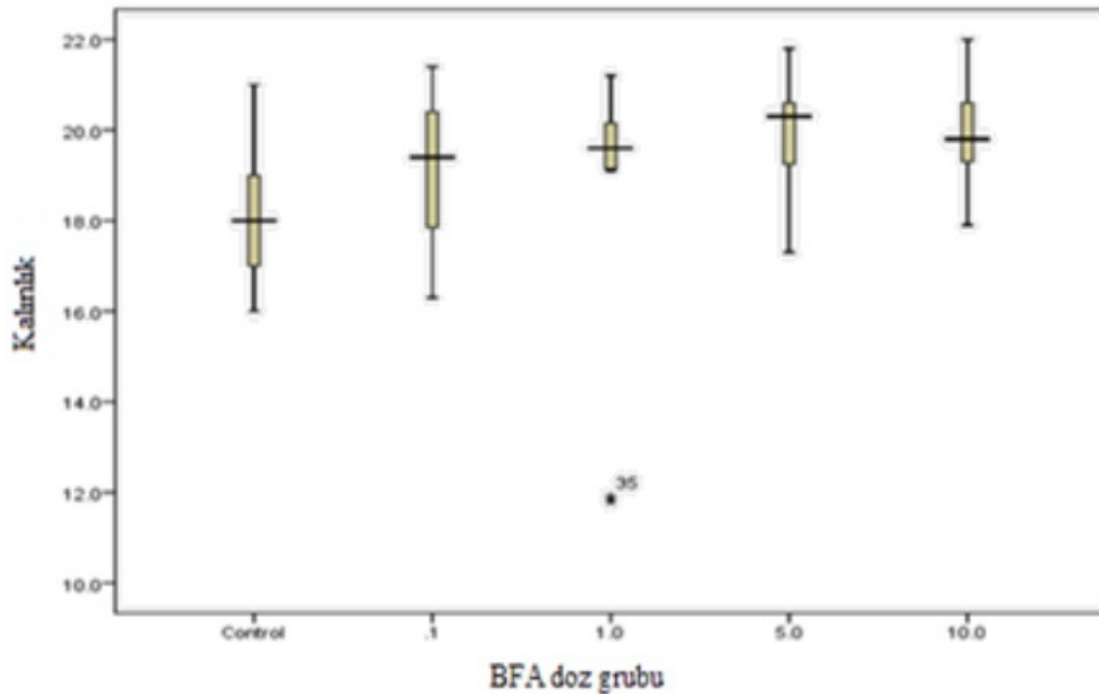
Şekil 4.1. *U. manicus eucirrus*'ların ağırlık ortalamalarının kutu grafiğinde karşılaştırılması (BFA doz grupları: Kontrol grubu, 0.1 µg/L, 1.0 µg/L, 5.0 µg/L, 10.0 µg/L)



Şekil 4.2. *U. manicus eucirrus*'ların uzunluk (mm) ortalamalarının kutu grafiğinde karşılaştırılması (BFA doz grupları: Kontrol grubu, 0.1 µg/L, 1.0 µg/L, 5.0 µg/L, 10.0 µg/L)



Şekil 4.3. *U. manicus eucirrus*'ların yükseklik (mm) ortalamalarının kutu grafiğinde karşılaştırılması (BFA doz grupları: Kontrol grubu, 0.1 µg/L, 1.0 µg/L, 5.0 µg/L, 10.0 µg/L)



Şekil 4.4. *U. manicus eucirrus*'ların kalınlık (mm) ortalamalarının kutu grafiğinde karşılaştırılması (BFA doz grupları: Kontrol grubu, 0.1 µg/L, 1.0 µg/L, 5.0 µg/L, 10.0 µg/L)

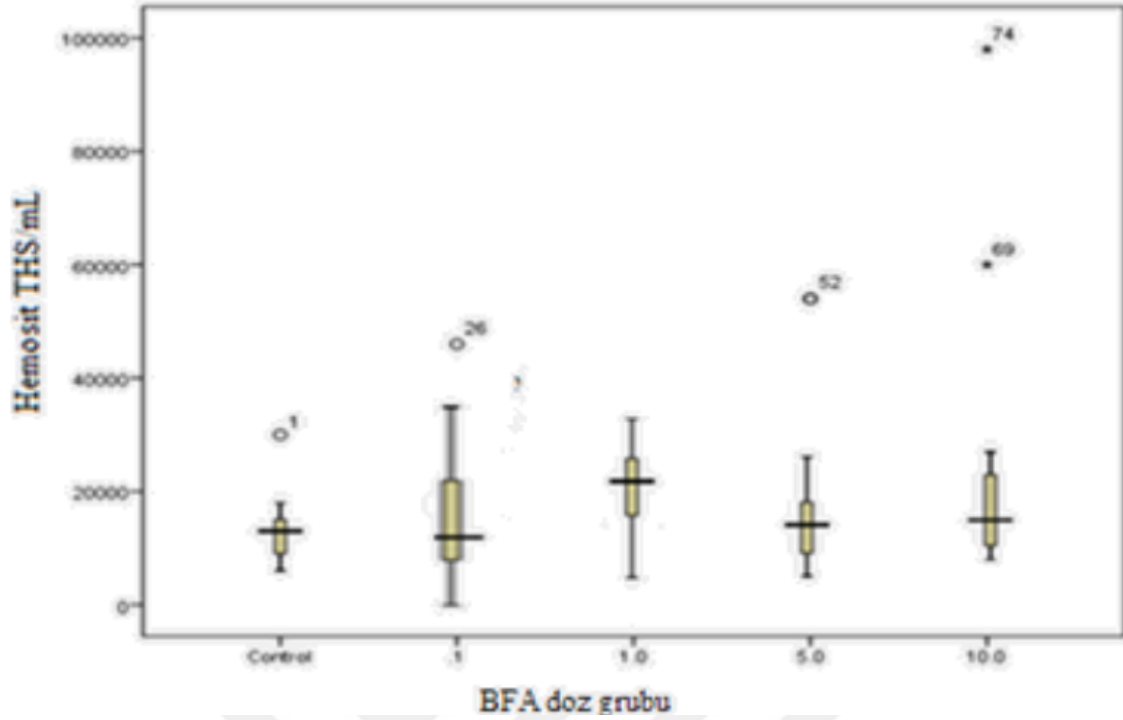
4.2. Toplam Hemosit Sayısına İlişkin Bulgular

Doksan altı saat deney süresince 0.1 µg/L, 1.0 µg/L, 5.0 µg/L ve 10 µg/L'lık subletal BFA dozlarına maruz kalan deney gruplarında, *U. mancus eucirrus*'ların toplam hemosit sayılarının ortalama değerleri sırasıyla 17066.67±10639.84 THS/ml, 17866±11236.84 THS/ml, 19933.33±12608 THS/ml ve 24933.33±1319 THS/ml olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda ise bu değer 12733.3±6169.8 THS/ml'dir.

Toplam hemosit sayıları Çizelge 4.3 ve Şekil 4.5'de görüldüğü üzere; deney grubunda, kontrol grubuna göre istatistik olarak önemli sayılan bir artış göstermiştir (p <0.05). Bisfenol a'nın sırasıyla 0.1, 1.0, 5.0 ve 10 µg/L olarak uygulandığı grupların toplam hemosit sayılarının ortalamaları ve bunların standart sapma miktarları (± SD) da yine Çizelge 4.3'de karşılaştırılmalı olarak verilmiştir.

Çizelge 4.3. *U. mancus eucirrus*'ların deney gruplarına göre toplam hemosit sayıları

Deney grubu (BFA dozu)	Ortalama ± SD (THS/mL)	Güven aralığı (%95)
Kontrol	12 733.30 ± 6 169.80	180.18 ± 0.85
0.1 µg/L grubu	17 066.67 ± 10 639.00	346.85 ± 0.18
1.0 µg/L grubu	17 866.00 ± 11 236.84	228.64 ± 6.97
5 µg/L grubu	19 933.33 ± 12 608.00	3 917.86 ± 6.14
10 µg/L grubu	24 933.33 ± 1 319.00	2 892.20 ± 1 392.20



Şekil 4.5. *U. mancus eucirrus*'un toplam hemosit sayısı (THS/mL) ortalamalarının kutu grafiğinde karşılaştırılması (BFA doz grupları: Kontrol grubu, 0.1 µg/L, 1.0 µg/L, 5.0 µg/L, 10.0 µg/L)

4.3. Doku Analizlerinden Elde Edilen MDA Bulguları

Doksanaltı saat süresince BFA'ya maruz bırakılan *U. mancus eucirrus*'un sindirim bezi ve solungaç dokularındaki malondialdehit (MDA) düzeyleri Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5'de verilmiştir. Çizelge 4.6'da ise farklı dozların (0.1, 1.0, 5.0 ve 10 µg/L) uygulandığı grupların sindirim bezi ve solungaç dokularındaki malondialdehit (MDA) düzeyleri karşılaştırılmıştır.

Bu sonuçlara göre Bisfenol A dozlarına maruz kalmış sindirim bezi dokusundaki malondialdehit düzeyleri (Şekil 4.6) ve solungaç dokularındaki malondialdehit düzeyleri (Şekil 4.7) kontrol grubuna göre önemli miktar artış gözlenmiştir (sindirim bezi dokusu MDA düzeyi: $p < 0.05$, solungaç dokusu MDA düzeyi: $p < 0.05$).

Çizelge 4.4. *U. mancus eucirrus*'un sindirim bezi dokusunda BFA dozlarına göre toplam toplam MDA miktarları

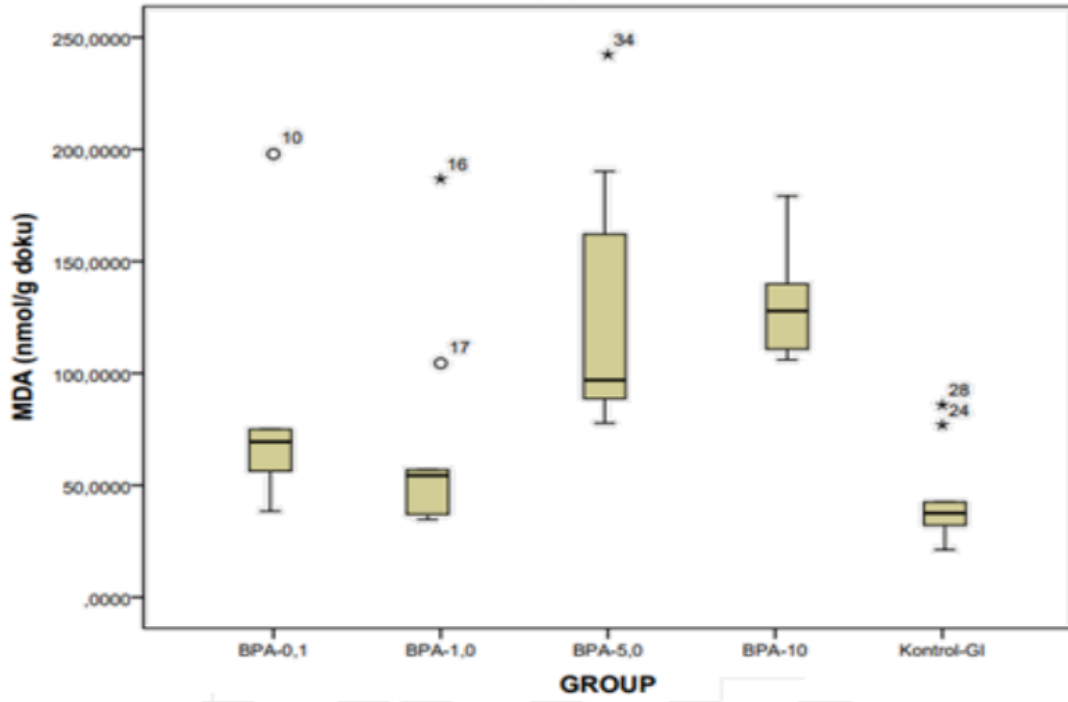
<i>BFA dozları (µg/L)</i>	Sindirim Bezi Dokusunda MDA (nmol/g doku) Ortalama ± SD	Güven aralığı (%95)
Kontrol	39,74±22,95	23.65 ± 1.34
0.1	76,90±45,90	38.34 ± 1.65
1.0	85,07±88,45	28.21 ± 2.97
5.0	121,39±42,66	26.25 ± 2.21
10.0	137,10±30,31	40.74 ± 3.53

Çizelge 4.5. *U. mancus eucirrus*'un solungaç dokusunda BFA dozlarına göre toplam MDA miktarları

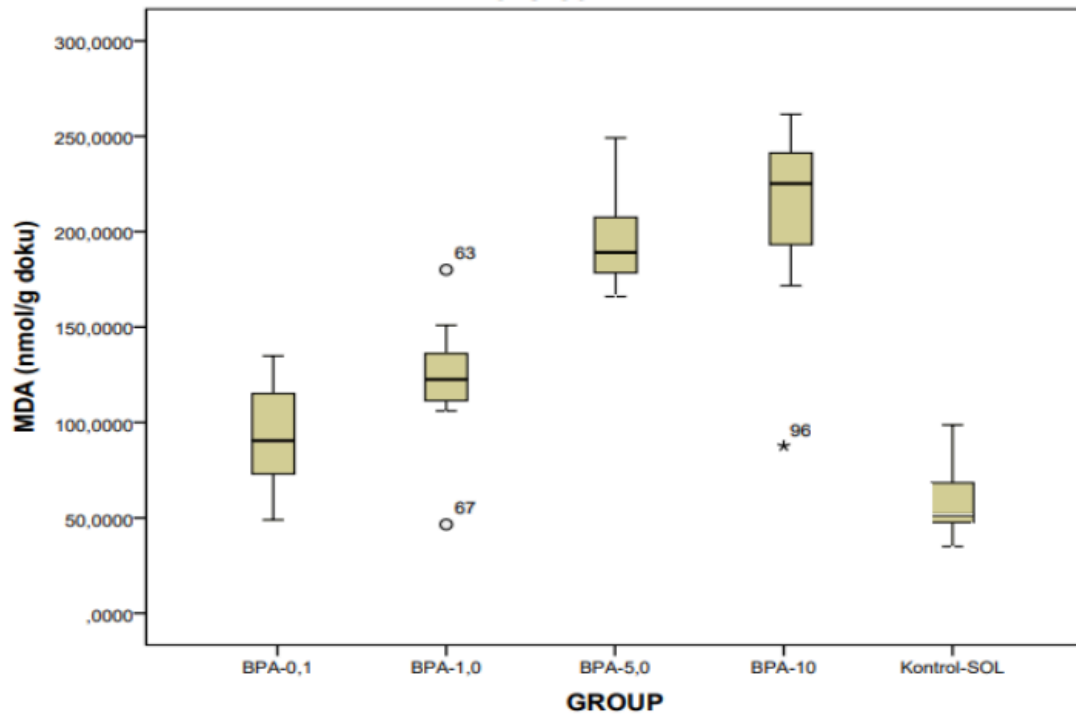
<i>BFA dozları (µg/L)</i>	Solungaç Dokusunda MDA (nmol/g doku) Ortalama ± SD	Güven aralığı (%95)
Kontrol	58,84±20,46	12.24 ± 2.66
0.1	95,35±29,40	2.66 ± 2.24
1.0	122,82±32,89	33.80 ± 2.23
5.0	188,78±40,38	33.80 ± 2.23
10.0	221,75±30,61	39.08 ± 3.26

Çizelge 4.6. Sindirim bezi ve solungaç dokusundaki malondialdehit (MDA) değerlerinin karşılaştırması

	Kontrol Grubu	0.1µg/L BFA doz grubu	1.0 µg/L BFA doz grubu	5.0 µg/L BFA doz grubu	10.0µg/L BFA doz grubu
Sindirim Bezi MDA (nmol/g doku) Ortalama ± SD	39.74 ± 22.95	76.90 ± 45.90	85.07 ± 88.45	121.39 ± 42.66	137.10 ± 30.31
Solungaç MDA (nmol/g doku) Ortalama ± SD	58.84 ± 20.46	95.35 ± 29.40	122.82 ± 32.89	188.78 ± 40.38	221.75 ± 30.61



Şekil 4.6. *U. manicus eucirrus*'un sindirim bezi dokusunda MDA düzeylerinin (nmol/g doku) kutu grafiğinde karşılaştırılması (BFA doz grupları: Kontrol grubu, 0.1 µg/L, 1.0 µg/L, 5.0 µg/L, 10.0 µg/L).



Şekil 4.7. *U. manicus eucirrus*'un solungaç dokusundaki MDA düzeylerinin (nmol/g kutu grafiğinde karşılaştırılması (BFA doz grupları: Kontrol grubu, 0.1 µg/L, 1.0 µg/L, 5.0 µg/L, 10.0 µg/L).

4.4. Doku Analizlerinden Elde Edilen GSH Bulguları

Doksan altı saat süresince BFA'ya maruz kalan tatlı su midyesi *U. mancus eucirrus*'un sindirim bezi ve solungaç dokularındaki glutatyon miktarları Çizelge 4.7 ve 4.8'de verilmiştir. Farklı dozların (0.1, 1.0, 5.0 ve 10 µg/L) uygulandığı grupların sindirim bezi GSH değerleri ortalamaları Çizelge 4.7'de, solungaç dokusundaki GSH değerlerinin ortalamaları ise Çizelge 4.8'de verilmiştir. Çizelge 4.9'da ise Bisfenol A'nın uygulama dozlarına göre iki farklı dokudaki GSH değerlerinin durumları karşılaştırılmıştır.

Çizelge 4.7. BFA dozlarına göre *U. mancus eucirrus*'un sindirim bezi dokusundaki toplam GSH miktarları

<i>BFA dozları (µg/L)</i>	<i>Sindirim Bezinde GSH (nmol/g doku) Ortalama ± SD</i>	<i>Güven aralığı (%95)</i>
Kontrol	3,51±0.04	0.41±0.17
0.1	2.80±0.07	1.14± 0.42
1.0	2.42±0.76	0.50± 0.43
5.0	1.13±0.27	0.67± 0.43
10.0	1.31±0.22	0.17± 0.41

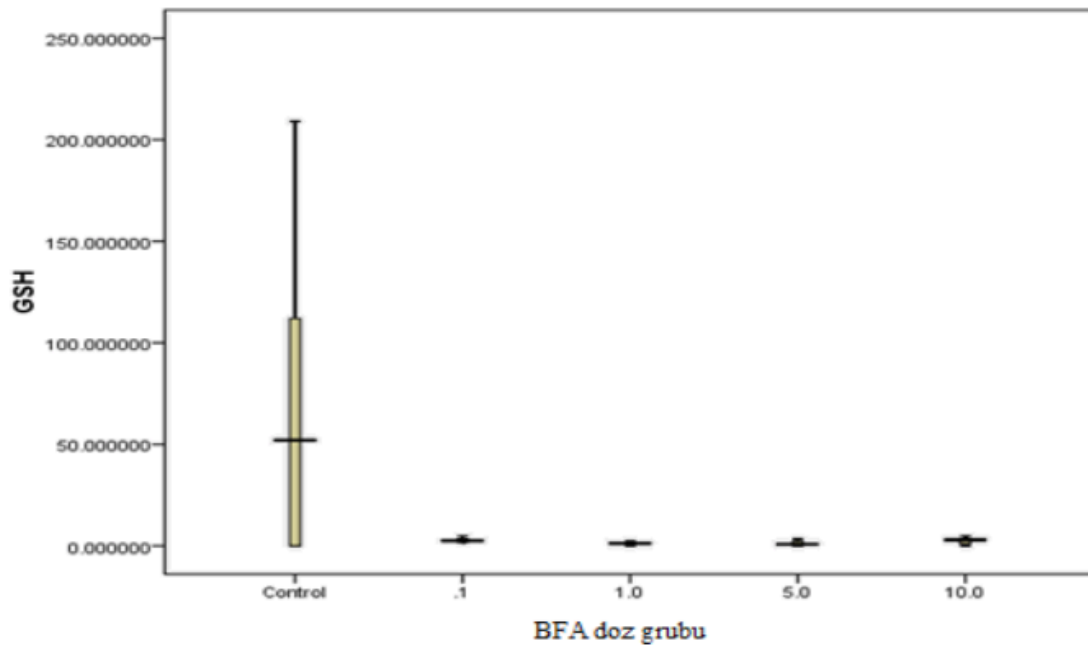
Çizelge 4.8. BFA dozlarına göre *U. mancus eucirrus*'un solungaç dokusunda toplam GSH miktarları

<i>BFA dozları (µg/L)</i>	<i>Solungaç dokusunda GSH (nmol/g doku) Ortalama ± SD</i>	<i>Güven aralığı (%95)</i>
Kontrol	4.67±0.02	0.17±0.93
0.1	4.05±6.84	1.93± 0.17
1.0	3.64±2.31	1.40± 0.62
5.0	2.76 ±0.86	1.75± 0.19
10.0	2.23±1.12	2.33± 1.18

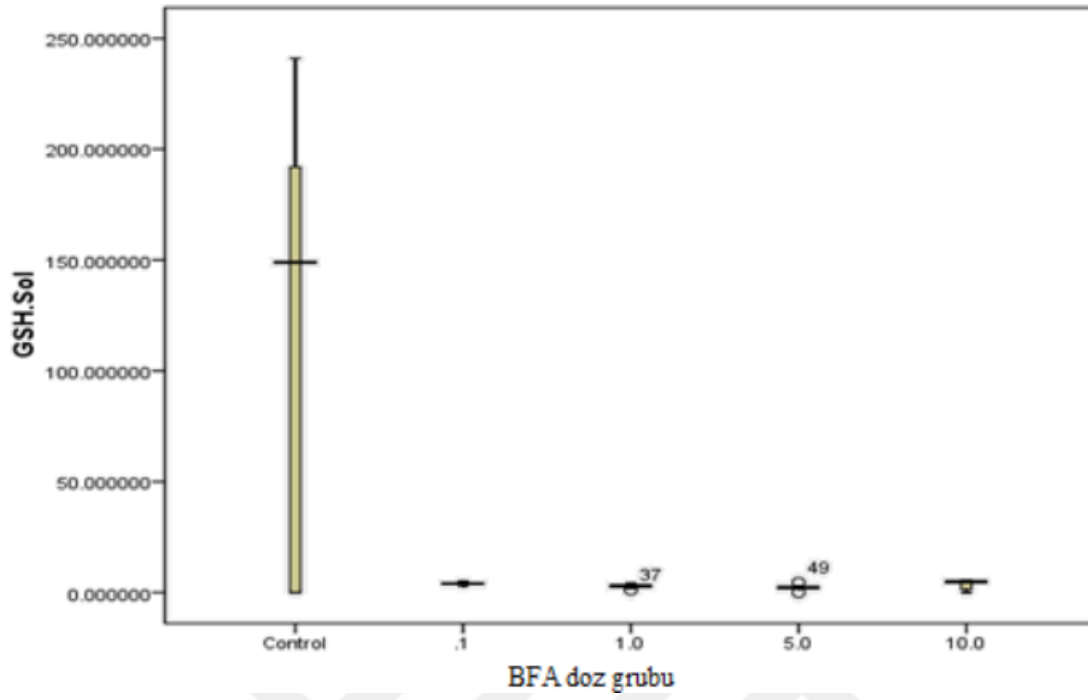
Çizelge 4.9. Sindirim bezi ile solungaç dokularındaki toplam GSH miktarının karşılaştırması

	Kontrol Grubu	0.1 µg/L BFA doz grubu	1.0 µg/L BFA doz grubu	5.0 µg/L BFA doz grubu	10.0 µg/L BFA doz grubu
(Sindirim bezi) Ortalama GSH (nmol/g doku)± SD	3.51 ± 0.04	2.80 ± 0.07	2.42 ± 0.76	1.13 ± 0.27	1.31 ± 0.22
(Solungaç) Ortalama GSH-(nmol/g doku) ± SD	4.67 ± 0.02	4.05 ± 6.84	3.64 ± 2.31	2.76 ± 0.86	2.23 ± 1.12

Bu değerlere göre, sindirim bezi dokularındaki ortalama glutatyon miktarı ile, solungaç dokularındaki ortalama glutatyon düzeylerinde, kontrol grubuna göre azalış olduğu tesbit edilmiştir (Şekil 4.8 ve 4.9). Sindirim bezi dokularındaki ortalama glutatyon düzeyindeki azalış için $p < 0.05$, solungaç dokusundaki glutatyon düzeyindeki azalış için de benzer şekilde $p < 0.05$ olarak bulunduğundan, bu azalışlar önemli bulunmuştur. Solungaç dokularındaki azalışın, sindirim bezine göre daha fazla olmasının nedeni; solungaçların Bisfenol-A uygulanmış su ile diğer dokuya göre daha fazla teması olabilir.



Şekil 4.8. *U. manicus eucirrus*'ların sindirim bezi dokularında toplam GSH düzeylerinin (nmol/g doku) kutu grafiğinde karşılaştırılması (BFA doz grupları: Kontrol grubu, 0.1 µg/L, 1.0 µg/L, 5.0 µg/L, 10.0 µg/L).



Şekil 4.9. *U. Mancus eucirrus*'ların solungaç dokularında toplam GSH düzeylerinin (nmol/g dokü) kutu grafiğinde karşılaştırılması (BFA doz grupları: Kontrol grubu, 0.1 µg/L, 1.0 µg/L, 5.0 µg/L, 10.0 µg/L).



5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Son 40 yıldaki gözlemler, endokrin bozucuların (EDC) üreme sisteminde alarm düzeyinde değişikliklere neden olduğunu göstermiştir (Colborn ve diğerleri, 1993). Endokrin bozucuların kuşlar, balıklar, sürüngenler ve memeliler üzerindeki etkileri, yumurtlama yeteneğinde ve erkek genital gelişiminde azalmaya sebep olmuştur (Swan ve diğerleri, 2000). Endokrin bozucu kimyasallar, hormonları taklit ederek ve vücuttaki hücre reseptörlerini etkileyerek hormonların aktivitesini bozabilmektedir (Barcelo ve Kettrup, 2004). İnsan vücudundaki EDC'ler kansere, fizyolojik doğum kusurlarına, gen mutasyonuna, hücre hasarına veya akut sağlık etkilerine neden olabilmektedir. Farklı amaçlar için kullanılan EDC'li atık ve gübreler, tarım ilaçları, dünyanın birçok bölgesinde içme suyu kalitesinde azalmaya neden olmaktadır (Teilmanve diğerleri,2002).

Laboratuvar çalışmalarımızda BFA'nın sucul organizmalara (balık türleri, midyeler vb) gelişimsel ve reproduktif etkileri olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte BFA'nın farklı toksik etkileri de artık kaçınılmaz bir durum olarak bilinmekte olup literatüre girmiş bulunmaktadır. Sucul canlıların sürekli düşük derişimlerde da olsa bunlara maruz kalmaları potansiyel biyoakümülyasyon riski yaratmaktadır. Konserve balıkta 2-59 ng/g BFA olduğu bildirilmiştir. Deniz balıkları, mollusklar ve makroalg türlerinde kalıntı analizi yapılan bir araştırmada BFA seviyeleri 5.6-9.1 ng/g (dw) olarak bildirilmiş; öncelikli kirletici olarak belirlenmiştir (Alvarez-Munoz ve diğerleri, 2015).

U. mancus eucirrus ile yapılan subletal çalışma sonucunda BFA'ya 96 saat süreyle maruz kalan midyelerin ağırlık (g), uzunluk (cm), yükseklik (cm) ve kalınlık (cm) parametreleri, deney ve kontrol grubunda incelenmeye alınmıştır. BFA'ya maruz kalan midyelerin ağırlıklarında, uzunluk, yükseklik ve kalınlıklarında kontrol grubuna göre önemli bir fark gözlemlenmemiştir. Bu değerler arasındaki küçük farklar, uygulanan kimyasal madde dozlarının büyüme üzerine etkisini inceleme gereği oluşturmamıştır.

U. mancus eucirrus ile yapılan subletal çalışma sonucunda, 96 saat süresince BFA'ya maruz kalan midyelerin hemosit sayılarında, kontrol grubuna göre önemli oranda ortalama artış bulunmuştur ($p<0.05$). Midyelerde ve omurgasız diğer su canlılarında sağlık göstergesi ve stres indikatörü olan toplam hemosit sayısı, subletal konsantrasyonlarda

Bisfenol A'ya maruz kalma durumuna göre etkilenmiştir. Bu nedenle toplam hemosit sayısını dikkate almanın, endokrin bozucu kimyasalların denizel ekosisteme etkisini incelemede iyi bir biyobelirteç olduğu saptanmıştır.

GSH ökaryotik hücrelerde antioksidan savunmasında gerekli olan bir moleküldür. GSH hücre içi indirgeyici, serbest radikal temizleyicisi ve GSH ile ilişkili enzimlerin substratı ya da kofaktörü olduğundan ROT'ların neden olduğu oksidatif hasara karşı savunmada önemlidir (Verma ve diğerleri, 2007). GSH yapısında sistein rezidüsü bulunan tripeptid non-enzimatik bir antioksidandır ve detoksifikasyon ve antioksidan savunmalar da önemli roller almaktadır. Toksikantların indüklediği oksidatif strese karşı GSH'ın koruyucu ve adaptif rolleri akutik organizmalarda iyi betimlenmiştir (Regoli ve Principato, 1995).

Çalışmamızda, *U. mancus eucirrus* türünün BFA'ya 96 saat maruz bırakılması sonucunda solungaç ve sindirim bezi dokularında oluşan glutatyon (GSH) düzeyleri tespit edilmiştir. Solungaç dokularındaki ve sindirim bezindeki glutatyon düzeyleri bu sürenin sonunda kontrol grubuna göre azalma göstermiştir. Bunun nedeni, GSH'ın hücrelerde antioksidan savunması görevi yapması nedeniyle, midyelerin BFA'ya maruz kaldığı süre içinde GSH molekülleri kullanıldıkça, hücredeki düzeyinin azalmaya başlaması olabilir. Solungaç dokularındaki azalmanın, sindirim bezine göre daha fazla olmasının nedeni ise; deneye alınan midyelerin solungaçlarının, sindirim bezine göre Bisfenol A kimyasalına daha fazla temas etmesi olabilir.

Çalışmamızda kullandığımız *Unio mancus* türüne yakın bir başka tür olan *Unio tumidus* üzerinde Doyotte ve diğerleri (1997)'nin yaptığı bir çalışmada, bu midye türü 30 µg/L bakır ve 100 µg/L thiram olmak üzere iki kimyasal maddenin kombinasyonuna 3 gün süreyle maruz bırakılmıştır. Bakır ve thiram kombinasyonuna maruz kalan midyelerde GSH düzeyinde önemli miktarda azalma gözlemlenmiştir. Çalışmamızda kullandığımız *Unio mancus* türüne yakın bir türde gözlenmiş olan bu durum, midyelerin oksidatif strese karşı savunma mekanizmasının çalıştığını ve redükte glutatyon depolarının azaldığını göstermektedir. Cossu ve diğerleri (2000)'nin yaptığı bir araştırmaya göre ise; kontaminasyon özelliklerine bakılarak biyolojik yanıtı inceleme amacıyla tatlı su bivalvi *Unio tumidus* dört farklı kirlenmiş alana konulmuş ve on beş gün beklenmeye alınmıştır. Bu çalışmalarda incelemeye alınan midyelerin, kirli alanlarda veya kirlilik kaynağına yakın yerlerde bulunması, bazı antioksidan parametrelerinde (örneğin GRd, SeGPx, GSH)

belirgin bir tükenmeye yol açmıştır. Enzim aktivitelerindeki azalma, sindirim bezinde veya solungaçlarda lipid peroksidasyon endüksiyonuna yol açmaktadır. Yani, MDA konsantrasyonları ne kadar yüksek olursa, bu üç antioksidan parametresinin aktivitesi o kadar düşük olacağından, bu durumun toksisite için bir biyobelirteç olacaktır. Ancak bu araştırmadaki veriler göstermiştir ki, bu parametrelerdeki bir tükenme, sitotoksitenin indüklenmesi için bazen yetersiz olmaktadır; çünkü antioksidanın tükenmesinin açık olduğu bazı durumlarda, lipid peroksidasyonu ortaya çıkmamıştır. Solungaçların ve sindirim bezinin tepkisi her zaman paralel değildir; bu kirleticilerin biyoyararlanımındaki farklılıklar ile açıklanabilir.

Yağ asitlerinin oksidasyonu ile lipid hidroperoksitleri meydana gelir. Bunların yıkılması ile biyoaktif aldehitler oluşur. Malondialdehit (MDA) bunlardan başlıcasıdır. MDA, lipid peroksidasyonunun bir parçalanma ürünüdür. *U. mancus eucirrus* midyesinin BFA'ya maruz kalması sonucu solungaç ve sindirim bezi dokularında oluşan malondialdehit (MDA) düzeyleri ölçülmüştür. Solungaç dokularındaki malondialdehit (MDA) düzeyleri 96 saat sonunda kontrol grubuna göre artış göstermiştir. Bu duruma benzer şekilde, sindirim bezi MDA düzeyleride, subletal deney sonunda kontrol grubuna göre artmıştır. Doyotte ve diğerleri (1997)'nin çalışmasında da bakır ve thiram kombinasyonuna maruz bırakılan midyelerde, MDA oranının kontrole göre artış gösterdiği saptanmış olup, bu çalışmada denenmiş olan kimyasal maddeler farklı olsada, midyelerin tepki biçiminde benzerlik mevcuttur.

Sonuç olarak; BFA'nın tatlı su canlısı üzerindeki subletal etkilerinin incelendiği çalışmamızda BFA'nın *U. mancus eucirrus* üzerinde subletal uygulama sonucu biyokimyasal etkiler meydana geldiği gözlemlenmiştir. Doz grup ve kontrol grup arasındaki uzunluk, genişlik, yükseklik, ağırlık miktarında ve hemolenf sayısında anlamlı bir fark görünmemiştir. Ancak söz konusu olan midyelerde MDA ve GSH düzeylerinin ise, BFA dozunun artışına bağlı olarak daha büyük bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Kirleticiler günümüzde sucul ekosistemdeki kirliliğin tehlikeli boyutlara ulaşmasına sebep olan faktörlerden birisidir. İnsan nüfusunun hızla artışı, endüstrileşme, plansız kentleşme ve yanlış tarım uygulamaları, temelde insan aktivitesine dayalı faktörler ile pek çok kirleticinin sucul ekosistemlere katılımını arttırmaktadır. Yaptığımız bu çalışmada

bisfenol-A (BFA)'nın *Unio mancus eucirrus*'un solungaç ve hemolenf dokularına olan hasar verdiğini tesbit etmiş bulunmaktayız. BFA ve benzeri yarı kalıcı organik kirletici kimyasallar üzerine yapılan çalışmaların arttırılması, bu kimyasalların sucul canlılar ve ekosistem üzerine etkilerinin daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır. *Unio mancus eucirrus* midyesi ile ilgili daha önce bu formatta bir çalışmaya rastlanmamış olması nedeniyle bulgularımız oldukça önemlidir.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgular, midye grubu canlılarda yapılacak genotoksik ve histolojik çalışmalara zemin hazırlamıştır. Metal birikimi ve etkilerinin incelenmesi konusunda bugüne kadar daha çok denizlerde yaşayan midye türleri tercih edilmiştir. Yaptığımız bu çalışmayla dünyada en çok kullanılan endokrin bozucu kimyasallardan biri olan Bisfenol A'nın tatlı su midyeleri üzerindeki etkisini gözlemleyerek literatüre katkı sağlamış bulunmaktayız.

KAYNAKLAR

- Akyüz, S, Yarat, A. ve Egil, E. (2011). Bisfenol-A İçerikli Dental Materyallere Güncel Yaklaşım. *MÜSBED*, 1(3), 190-195.
- Alexander, H.C., Dill, D. C., Smith, L.W., Guiney, P.D. and Dorn, P. (1988). Bisphenol-A: Acute aquatic toxicity. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 7(1), 19-26.
- Alvarez Munoz, D., Rodriguez Mozzaz, S., Maulvault, A.L., Tediosi, A., Fernandez Tejedor, M., Van den Heuvel, F., Kotterman, M., Marques, A. and Barcelo, D. (2015). Occurrence of pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in macroalgae, bivalves and fish from coastal areas in Europe. *Environmental Research*, 143, 56-64.
- Anway, M.D. and Skinner, M.K. (2006). Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors. *Endocrinology*, 147, 43-9.
- Aykaç, G., Uysal, M., Yalçın, A.S., Koçak T.N., Sivas, A. ve Öz, H. (1985). The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase, and glutathione transferase in rats, *Toxicology*, 36(1), 71-76.
- Barcelo, D. and Kettrup, A. (2004). Endocrine Disruptors. *Journal and Analytical Bioanalytical Chemistry*, 378, 547-548.
- Barker, D.J.P. (2003). The developmental origins of adult disease. *European Journal of Epidemiology*, 18(8), 733-736.
- Bernhoft, A. (2006) Animal exposure to endocrine disruptors-synthetic chemical contaminants and natural compounds in diet. 37-42. In *Endocrine Disruptors*. Edited by Grotmol, T., Eriksen, G.S., Flaten, T.P. *The Norwegian Academy of Science and Letters*, Oslo.
- Beronius, A. (2013) *Risk Assessment of Endocrine Disrupting Compounds*. The Institute of Environmental Medicine, Darolinska Institutet, Stockholm, Sweden.
- Blüthgen, A. and Ruoff, U. (1998). *Carry-over of diethylhexylphthalate and aromatic nitro compounds into the milk of lactating cows*. 3rd Karlsruhe Nutrition Symposium European Research Towards Safer and Better Food Review and Transfer Congress, Karlsruhe, Germany.
- Braun, J.M. and Hauser, R. (2011). Bisphenol A and children's health. *Current Opinion in Pediatrics*, 23(2), 233-239.
- Caserta, D., Mantovani, A., Marci, R., Fazi, A., Ciardo, F., La Rocca, C., Maranghi, F. and Moscarini, M. (2011). Environment and women's reproductive health. *Human Reproduction Update*, 17(3), 418-433.

- Casini, A.F., Ferrali, M., Pompella, A., Maellaro, E. and Comborti, M. (1986). Lipidperoxidation and cellular damage in extrahepatic tissues of bromobenzene intoxicated mice. *The American Journal of Pathology*, 123(21), 520-531.
- Cho, S., Choi, Y.S., Luu, H. M. and Guo, J. (2012). Determination of total leachable bisphenolA from polysulfone membranes based on multiple consecutive extractions. *Talanta*, 10, 537–540.
- Colborn, T., vom Saal, F.S. and Soto, A.M. (1993). Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Journal Environmental Health Perspectives*, 101(5), 378-84.
- Cossu, C., Doyotte, A., Babut, M., Exinger, A. and P. Vasseur (2000). Antioxidant biomarkers in freshwater bivalves, *Unio tumidus*, in response to different contamination profiles of aquatic sediments. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 45, 106-121.
- Cousins, I.T., Staples, C.A., Klecka, G.M. and Mackay, D. (2002). A multimedia assessment of the environmental fate of bisphenol A. *Human and Ecological Risk Assessment*, 8, 1107–1135.
- Crane, A. and Matten, D. (2010). Business ethics: managing corporate citizenship and sustainability in the age of globalization (3rd ed). Oxford: *Oxford University Press*.
- Crews, D., Putz, O., Thomas, P. and Howdeshell, K. (2003). Animal models for the study of the effects of mixtures, low doses, and the embryonic environment on the action of endocrine disrupting chemicals. *Pure and Applied Chemistry*, 75, 2305-20.
- Diamanti K, E., Bourguignon, J.P., Giudice, L.C., Hauser, R., Prins, G.S., Soto, A.M., Zoeller, R.T. and Gore, A.C. (2009). Endocrine-disrupting chemicals: an endocrine society scientific statement. *Endocrine Reviews*, 30(4), 293-342.
- Dinçel, S.A., Alparslan, N.Z., Benli, A.Ç.K., Selvi, M., Sarıkaya, R., Özkul, İ.A. ve Erkoç, F. (2013). Hemolymph biochemical parameters reference intervals and total hemocyte counts of narrow clawed crayfish *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823). *Ecological Indicators*, 305-309.
- Dirinck, E., Jorens, P.G., Covaci, A., Geens, T., Roosens, L. and Neels, H. (2011). Obesity and persistent organic pollutants: possible obesogenic effect of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls. *Obesity (Silver Spring)*, 19, 709-714.
- Doyotte, A., Cossu, C., Jacquin, M.C., Babut, M. and Vasseur, P. (1997). Antioxidant enzymes, glutathione and lipid peroxidation as relevant biomarkers of experimental or field exposure in the gills and the digestive gland of the freshwater bivalve *Unio tumidus*. *Aquatic Toxicology*, 39(2), 93-110.
- EFSA (2005). Opinion of the scientific panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food on a request from the commission related to 2,2-bis(4-hydroxyphenyl) propane (Bisphenol A). *EFSA journal*, 100-110.

- Ellman, G.L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochemical Biophys*, 70-77.
- European Commission, (1996). *European workshop on the impact of endocrine disruptors on human health and wildlife*. In: Environment and climate research programme DX. Brussels: European Commission. (Last updated: 08/06/2016)
- Fromme, H., Otto, T. and Pilz, K. (2001). Polycyclic musk fragrances in water and fish samples from Berlin. *Food Additives and Contaminants*, 18, 937-944
- Furhacker, M., Scharf, S. and Weber, H. (2004). Bisphenol A: Emissions from Point Sources *Chemosphere*, 41(5), 751-756.
- Geens, T., Aerts, D. and Berthot, C. (2012). A review of dietary and non-dietary exposure to bisphenol-A. *Food Chem Toxicol*, 3725–3740.
- Gunderson, M.P., Bermudez, D.S., Bryan, T.A., Degala, S., Edwards, T.M., Kools, S.A.E., Milnes, M. R. and Woodward, A. R. (2004). Variation in sexsteroids and phallus size in juvenile American alligators (*Alligator mississippiensis*) collected from 3 sites within the Kissimmee. Everglades drainage in Florida (USA), *Chemosphere*, 56(4) , 335-345.
- Hammer, J., Kraak and M.H. (2012). Parsons JR. Plastics in the marine environment: the darkside of a modern gift. *Rev Environ Contam Toxicol*, 220, 1-44.
- Hassel, V., John, H. and Jerry, F. (2007). A review of the use of Unionid mussels as biological indicators of ecosystem health. *Freshwater Bivalve Ecotoxicology*. 19–50.
- Herbst, A.L., Ulfelder, H. and Poskanzer, D.C. (1971). Adenocarcinoma of vagina. Association of maternal stilbestrol therapy with tumor appearance in young women. *New England Journal of Medicine*, 284(15), 878-81.
- Internet: IUCN (2014) *Unio mancus*.
URL: <https://www.iucnredlist.org/species/22737/42466471>
Son Erişim Tarihi: 29.06.2019
- Internet: PubChem (2019). Bisphenol-A. Compound CID 6623.
URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/#query=Bisphenol-A>
Son Erişim Tarihi: 29.06.2019
- Internet: WHO (2019). Project to review toxicological and health aspects of Bisphenol A.
URL: https://www.who.int/foodsafety/areas_work/chemical-risks/bisphenol/en/
Son Erişim Tarihi: 29.06.2019 'da alınmıştır.
- Jonathan, N.B., Hugo, E.R., Brandebourg, T.D. (2009). Effects of bisphenol A on adipokine release from human adipose tissue: Implications for the metabolic syndrome. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 304(1-2), 49-54.
- Kawamura, K., Ishimura, Y., Yamazaki, K. (2003). Four years' observations of terrestrial lipid class compounds in marine aerosols from the western North Pacific. *Global Biogeochem Cycles*, 17(1), 1003.

- Kortenkamp, A., Martin, O., Faust, M., Evans, R., McKinlay, R., Orton, F., Rosivatz, E. (2011) State of the art assessment of endocrine disrupters. *EU Project No. 070307/2009/550687/SER/D3*.
- Kurtel, H., Granger, D.N., Tso, P. and Grisham, M.B. (1992). Vulnerability of intestinal interstitial fluid to oxidant stress, *American Journal of Physiology*, 263, G573-G578.
- Le Corre, L., Besnard, P. and Chagnon, M.C. (2015). BFA, an energy balance disruptor. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(6), 769-777.
- Liu, Y.M., Shen, Y.P., Liang, H., Wang, Y., Luo, X.M., Shen, Z.J., Chen, X. and Yuan, W. (2011). A correlative study on Bisphenol A and recurrent spontaneous abortion. *Zhonghua YuFang Yi Xue Za Zhi*, 45(4), 344-349.
- Lopes-Lima, M. and Seddon, M.B. 2014. *Unio mancus*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2014:e.T22737A42466471.
- Manfo, F.P.T., Jubendradass, R., Nantia, E.A., Moundipa, P.F. and Mathur, P.P. (2014). Adverse effects of Bisphenol A on male reproductive function. *Review of Environmental Contamination and Toxicology*, 228, 57-82.
- Mercea, P. (2009). Physicochemical Processes involved in migration of bisphenol A from polycarbonate. *Journal of Applied Polymer Science*, 112(2):579-593.
- MUSSELP (2019). The freshwater mussels (Unionoida) of the world (and the other less consequential bivalves). The MUSSEL Project.
- Newbold, R.R. (2004) Lessons learned from perinatal exposure to diethylstilbestrol. *Toxicol Appl Pharmacol* 199(2):142-150.
- Oehlmann, J., Schulte, Oehlmann, U. Tillmann, M. (2000). Effects of endocrine disruptors on prosobranch snails (Mollusca: Gastropoda) in the laboratory. Part I: bisphenol A and octylphenol. *Ecotoxicology*, 9(6):383-97.
- Orcan, S. (2006). Epigenetik ve epigenomik. (http://yunus.hacettepe.edu.tr/~mergen/derleme/d_epigenetik). Pdf. 29.06.2019'da alınmıştır.
- Öktener, A. (2004). Sinop ve Bafra'da bazı tatlı sulardaki mollusca türleri üzerine bir ön araştırma. *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 17(2):21-30.
- Ölmez Hancı, T., Arslan Alaton, İ. ve Genç, B. (2013). Bisphenol A treatment by the hot persulfate process: Oxidation products and acute toxicity. *Journal of Hazardous Materials*, 263:283-290.
- Park, S.Y., Lee, S.W. and Choi, J. (2006). Evaluation of genetic toxicity from environmental pollutants in *Daphnia magna* and *Chironomus tentans* for application in ecological risk assessment. *Environmental Engineering Research*, 11(5):277-284.

- Regoli, F. and Principato, G. (1995). Glutathione, glutathione-dependent and antioxidant enzymes in mussel, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to metal under field and laboratory conditions: implications for the use of biochemical biomarkers. *Aquatic Toxicology*, 31(2):143–164.
- Schäfers, C. and Wenzel, A. (2000). Der Einfluss von Xeno-oestrogenen auf den lebenszyklus von fischen-Annual report. *Jahresbericht*, 32-33.
- Sharpe, R.M. and Drake, A.J. (2010). Bisphenol a and metabolic syndrome. *Endocrinology*, 151(6):2404-2407. DOI: 10.1210/en.2010-0445.
- Schierow, L.J., Lister, S.A. (2008). Bisphenol A (BFA) in plastics and possible human health effects. *CRS Report for Congress*, <https://digital.library.unt.edu/ark:/67531/metacrs10734/>. 29.06.2019'da alınmıştır.
- Shi, Y., Lafontaine, C. Berube, M. and Espourteille, F. (2009). Determination of bisphenol A in infant formula by automated sample preparation and liquid chromatography-mass spectrometry. *Thermo Fisher Scientific*, Franklin, MA, USA, 474:157-167.
- Skinner, M. (2007) Endocrine disruptors and epigenetic transgenerational disease etiology. *Pediatric Research*, 61(5 Pt 2):48R-50R.
- Stahlhut, R.W., Welshons, W.V. and Swan, S.H. (2009). Bisphenol A data in NHANES suggest longer than expected half-life, substantial nonfood exposure, or both. *Environmental Health Perspective*, 117(5):784-789. doi: 10.1289/ehp.0800376.
- Staples, C.A., Dorn, P.B., Klecka, G.M. and O'Block, S. (1998). A Review of the Environmental Fate, Effects and Exposures of Bisphenol A. *Chemosphere*, 36(10): 2149–2173.
- Swan, S. H., Elkin, E. P. and Fenster, L. (2000). The question of declining sperm density revisited: an analysis of 101 studies published 1934-1996. *Environ Health Perspect*, 108(10):961–966.
- Şolpan, D. and Mehrnia, M. (2018). Dimethyl phthalate (DMP) degradation in aqueous solution by gamma-irradiation/H₂O₂. *Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 841-851.
- Tabata, A., Kashiwada, S. and Ohnishi, Y. (2001). Estrogenic influences of estradiol-17B, p-nonylphenol and bisphenol A on Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) at detected Environmental concentrations. *Water Science and Technology*, 43(2):109-16.
- Teilmann, G., Juul, A. Skakkebaek, N.E. and Toppari, J. (2002). Putative effects of endocrine disrupters on pubertal development in the human. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology and Metabolism*, 16(1):105-12.
- Verma, R.S., Mehta, A. and Srivastava, N. (2007). In vivo chlorpyrifos induce oxidative stress: Attenuation by antioxidant vitamins. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 88(2007):191–196.

- Vom Saal, F.S., Akingbemi, B.T., Belcher, S.M., Birnbaum, L.S., Crain, D.A., Eriksen, M., Farabollini, F., Guillette, L.J.Jr, Hauser, R., Heindel, J.J., Ho, S.M., Hunt, P.A., Iguchi, T., Jobling, S., Kanno, J., Keri, R.A., Knudsen, K.E., Laufer, H., Le Blanc, G.A., Marcus, M., McLachlan, J.A., Myers, J.P., Nadal, A., Newbold R.R., Olea, N., Prins, G.S., Richter, C.A., Rubin, B.S., Sonnenschein, C., Soto, A.M., Talsness, C.E., Vandenbergh, J.G., Vandenberg, L.N., Walser-Kuntz, D.R., Watson, C.S., Welshons, W.V., Wetherill, Y. and Zoeller, R.T. (2007). Bisphenol expert panel consensus statement: integration of mechanisms, effects in animals and potential to impact human health at current levels of exposure. *Reproductive Toxicology*, 24(2):131-8.
- Yeşilkaya, E. (2008). Endokrin bozucular. *Güncel Pediatri* 6:76-82
- Yurdakök, B. (2013). Endokrin Bozucular. *Türk Veteriner Hekimleri Birliği Dergisi*, 3-4.
- Zoeller, R.T., Brown, T.R. and Doan, L.L. (2012) Endocrine disrupting chemicals and public health protection: a statement of principles from the Endocrine Society. *Endocrinology*, 153(9): 4097-4110.
- Zalko, D., Jacques, C., and Duplan, H. (2011). Viable skin efficiently absorbs and metabolizes bisphenol A. *Chemosphere*, 121(11): 424-30.
- Wolstenholme, J.T., Rissman, E. F. and Connelly, J.J. (2011). The role of bisphenol A in shaping the brain, epigenome and behavior. *Hormones Behavior*, 106 (32) 296-305.
- Wong, E.W. and Cheng, C.Y. (2011). Impacts of environmental toxicants on male reproductive dysfunction. *Trends in Pharmacological Sciences*, 103 (43) 290-299.
- Wright-Walters, M., Volz, C., Talbott, E. and Davis, D. (2011). An updated weight of evidence approach to the aquatic hazard assessment of Bisphenol A and the derivation a new predicted no effect concentration (P_{nec}) using a non-parametric methodology. *Science of the Total Environment*, 409(4):676-85. doi: 10.1016/j.scitotenv.2010.07.092.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı: MEHRNIA, Leila
 Uyuğu: IRAN
 Doğum tarihi ve yeri: 22.09.1979, Tebriz
 Medeni hali: Bekar
 e-mail: leyla_48@yahoo.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek lisans	FBE Çevre Bilimleri Ana bilim Dalı	Devam ediyor
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi/ Biyoloji ABD	2014
Lisans	BOROOJERD AZAD ESLAMI	2013
Lise	HAJER Lisesi	1998

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

Yıldırım, F., Mehrnia, L., Arslan, P., Yılmaz, K., Benli, A. Ç. K. ve Erkoç, F. (2017). Determination of the Effects of Bisphenol A (BFA) on Total Hemocyte Counts in Freshwater Mussels (*Unio Mancus*), *The Turkish Journal of Occupational /Environmental Medicine and Safety*, 2(1): 157.

Mehrnia, L., Yüksekdağ, Z. N. ve Aslım, B. (2014). Anne Sütü ile Beslenen Bebeklerin Dışkılarından İzole Edilen *Lactobacillus* Türlerinin Bazı Probiyotik Özelliklerinin Araştırılması, *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 12(1): 67-81.

Hobiler:

- Kitap okuma
- Müzik dinleme



Gazi Gelecektir...