



**ÇEVRESEL KİRLETİCİ SODYUM OMADİN'İN ZEBRA BALIKLARINDA
(*Danio rerio*) GENOTOKSİK VE ANTİOKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

İlknur YILMAZ SEZER

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

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ŞUBAT 2020

İlknur YILMAZ SEZER tarafından hazırlanan “ÇEVRESEL KİRLLETİCİ SODYUM OMADİN’İN ZEBRA BALIKLARINDA (Danio rerio) GENOTOKSİK VE ANTİOKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Çevre Bilimleri Ana Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Aylin SEPİCİ DİNÇEL

Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

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

Başkan: Doç. Dr. Belda ERKMEN

Genel Biyoloji Ana Bilim Dalı, Aksaray Üniversitesi

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

Üye: Doç. Dr. Aysel Gamze YÜCEL İŞILDAR

Çevre Bilimleri Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

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

Tez Savunma Tarihi: 28/02/2020

Jüri tarafından kabul edilen bu çalışmanın 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.

İlknur YILMAZ SEZER
28/02/2020

ÇEVRESEL KİRLETİCİ SODYUM OMADİN'İN ZEBRA BALIKLARINDA (*Danio rerio*) GENOTOKSİK VE ANTİOKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE ETKİLERİNİN

BELİRLENMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

İlknur YILMAZ SEZER

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Şubat 2020

ÖZET

Son yıllarda dünyadaki üretim ve aşırı tüketim faaliyetlerinin en çarpıcı sonuçlarından biri çevresel kirleticilerin sayısındaki hızlı artıştır. Teknolojik ve modern hayatın zararlı sonuçlarından biri olan çevresel kirleticiler, insan ve diğer canlıların sağlığını tehdit etmektedir. Sodyum omadin (NaOM), bakteri ve mantarlara karşı yaygın olarak kullanılan bir çözücü ve biyosittir. Bir çevresel kirleticisi olan 'NaOM'e maruz bırakılan zebra balıklarında DNA/RNA oksidatif hasarının ve antioksidan sistem üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Doku hasarı oluşturmak için altı grup zebra balığı (uzunlukları 3-4,5 cm) 24, 72 ve 96 saat olarak planlanan zaman aralıkları için 1 ug/L ve 5 ug/L dozlarında NaOM 'a maruz bırakıldı. Tüm vücut zebra balığı DNA izolasyonu için homojenize ve hidrolize edildi ek olarak DNA/RNA oksidatif hasarı EIA ticari kit ile ölçüldü. Antioksidan enzim aktivitesi için katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) seviyeleri ticari EIA kiti ile ölçüldü. Deney grupları arasındaki 8-OHdG (pg/100 mg doku), SOD (U/100 mg doku) ve Katalaz (CAT, µM formaldehit/100 mg doku) konsantrasyonlarının değerlendirilmesinde SPSS programı kullanılmıştır ve gruplar arasındaki doku konsantrasyonlarında istatistiksel anlamlılık saptanmıştır (p<0.05). Çalışmanın sonuçları çevre kirliliği, deniz kirliliği ve sağlık sorunları arasında farkındalık sunmaktadır. Çevresel kirleticilerin, besin ağı üzerindeki organizmaların farklı evrelerinde DNA hasarı ve antioksidan enzim sistemleri üzerindeki toksik etkilerine ulaşmak, insanlar üzerindeki etkileri anlamak ve tahmin etmek için temel veriler sağlar.

Bilim Kodu : 90307

Anahtar Kelimeler : Zebra Balığı, Sodyum Omadin, Çevresel Kirleticisi, Antioksidan Sistem, DNA Hasarı

Sayfa Adedi : 62

Danışman : Prof. Dr. Aylin SEPİCİ DİNÇEL

DETERMINATION OF THE EFFECTS OF ENVIRONMENTAL POLLUTER SODIUM
OMADIN ON THE GENOTOXIC AND ANTIOXIDANT SYSTEM IN ZEBRA FISHES

(*Danio reiro*)

(M. Sc. Thesis)

İlknur YILMAZ SEZER

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

February 2020

ABSTRACT

One of the most striking results of production and over-consumption activities in the world in recent years is the rapid increase in the number of environmental pollutants. Environmental pollutants, one of the harmful consequences of technological and modern life, threaten the health of people and other living things. Sodium omadine (NaOM) is a widely used solvent and biocide against bacteria and fungi. The aim of this study was to determine DNA / RNA oxidative damage and its effects on antioxidant system in zebra fish exposed to 'NaOM, an environmental pollutant. Six groups of zebrafish (3-4,5 cm in length) were exposed to sodium omadine at doses of 1 ug / L and 5 ug / L at 24, 72 and 96 hours to cause tissue damage. Whole body zebra fish were homogenized and hydrolyzed for DNA isolation, and DNA / RNA oxidative damage was measured with the EIA commercial kit. Catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) levels for antioxidant enzyme activity were measured with the commercial EIA kit. SPSS program was used to evaluate the concentrations of 8-OHdG (pg / 100 mg tissue), SOD (U / 100 mg tissue) and Catalase (CAT, µM formaldehyde / 100 mg tissue) between the experimental groups and statistical significance was found in tissue concentrations between the groups (p <0.05). As a result, marine pollution and degradation of ecosystems directly affect people. The results of the study provide awareness among environmental pollution, marine pollution and health problems.

Science Code : 90307

Key Words : Zebra Fish, Sodium Omadine, Environmental Pollutants, Antioxidant System, DNA Damage

Page Number : 62

Supervisor : Prof. Dr. Aylin SEPİCİ DİNÇEL

TEŞEKKÜR

[Tez çalışmamın planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Aylin Sepici Dinçel'e ve Bölüm Başkanım Sayın Prof. Dr. A. Çağlan Günal'a; Yüksek lisans eğitimim boyunca her zaman yanımda olan, beni teşvik eden sevgili halam Sündüz Çelik'e; bana verdikleri destekten dolayı eşimin annesi Emine Sezer'e ve babası Bahattin Sezer'e; Varlıklarından güç aldığım, her zaman yanımda olan ve desteğini benden esirgemeyen her türlü sevgi ve saygıya değer olan kıymetli ailem; annem Şemsinur Yılmaz'a, babam Osman Yılmaz'a, kardeşim Doğan Batuhan Yılmaz'a, sevgili eşim Bahadır Vefa Sezer'e ve biricik oğullarım Ilgar Sefer Sezer ve Ayazhan Uluç Sezer'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 01/2017-31 proje sözleşme numarası ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
RESİMLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Çevre Kirliliği	5
2.1.1. Çevre kirliliğinin nedenleri	5
2.1.2. Çevresel kirleticiler	7
2.1.3. Biyositler	10
2.2. Sodyum Omadin	11
2.2.1. Sodyum Omadin 'in kimyasal özellikleri.....	12
2.2.2. Sodyum Omadin'in kullanım alanları	13
2.3. Biyofouling.....	14
2.4. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres	15
2.4.1. Serbest oksijen radikalleri	17
2.4.2. Oksidatif stres	19
2.4.3. Antioksidanlar	19
2.4.4. Enzimatik antioksidanlar.....	20
2.4.5. Nonenzimatik antioksidanlar	21

	Sayfa
2.5. DNA ve Yapısı	23
2.5.1. Reaktif oksijen türlerinin DNA üzerine etkileri.....	23
2.5.2. Oluşan DNA hasarlarının gruplandırılması	24
2.5.3. Pürin baz modifikasyonları	24
2.6. DNA Hasarı Tamir Mekanizmaları.....	24
2.7. DNA Hasarının Tayini	25
2.7.1. Yüksek basınçlı sıvı kromatografi + elektrokimyasal tarama (HPLC-ECD).....	26
2.7.2. Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC/MS).....	27
2.7.3. Post-labeling yöntemi	27
2.7.4. Onarım endonükleazları ile oksidatif baz hasarının ölçümü.....	27
2.8. Zebra Balığı' nın Genel Özellikleri.....	27
3. MATERYAL VE METOT	31
3.1. Materyal.....	31
3.1.1. Araştırma yeri.....	31
3.1.2. Laboratuvar şartları	31
3.1.3. Akvaryum ve suyun özellikleri	31
3.1.4. Zebra balıklarının temini ve adaptasyonu	31
3.1.5. Kullanılan cihazlar, kimyasallar ve kitler.....	32
3.1.6. Kullanılan kimyasal maddeler ve hazırlanışı	33
3.2. Metot.....	33
3.2.1. Subletal toksisite deneyleri.....	33
3.2.2. Deney hayvanlarının hazırlanması	33
3.2.3. Biyokimyasal analizler	35
3.2.4. Verilerin analizi	36

	Sayfa
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	37
4.1. Farklı Zamanlarda Zebra Balıklarının Boy ve Ağırlıklarına İlişkin Bulgular	37
5. TARTIŞMA	47
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	53
KAYNAKLAR	55
ÖZGEÇMİŞ	61

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Reaktif oksijen türleri (ROS).....	17
Çizelge 2.2. Reaktif nitrojen türleri (RNS).....	17
Çizelge 4.1. 24 saat sonunda Zebra balıklarının boy ve ağırlıkları	37
Çizelge 4.2. 72. saat sonunda Zebra balıklarının boy ve ağırlıkları	38
Çizelge 4.3. 96. saat sonunda Zebra balıklarının boy ve ağırlıkları	38
Çizelge 4.4. DNA izolasyonu Mobio kit kullanılarak ve DNA miktar tayini nanodrop kullanılarak tüm örnekler için ölçüm yapılmıştır	39
Çizelge 4.5. Zebra balıklarında farkı zamanlarda ölçülen DNA/RNA hasarı (8-OHdG, pg/100 mg doku), SOD (U/100 mg doku) ve CAT (μ M formaldehit/100 mg doku) ham verileri	40
Çizelge 4.6. Zebra balığında oksidatif DNA/RNA (pg/100 mg doku) hasarı düzeylerineait istatistiksel veriler	41
Çizelge 4.7. Zebra balığında SOD enzim aktivitesi (U/100 mg doku) düzeylerine ait istatistiksel veriler.....	41
Çizelge 4.8. Zebra balıklarında CAT enzim aktivitesi (μ M formaldehit/100 mg doku) düzeylerine ait istatistiksel veriler	42
Çizelge 4.9. Çizelge 4.9. Zebra Balıkları tüm vücut dokusunda ölçülen katalaz (CAT, μ M formaldehit/100 mg doku) ve süperoksit dismutaz antioksidan enzim aktiviteleri (SOD U/100 mg doku), ve oksidatif DNA/RNA hasarı (8-OHdG, pg/100 mg doku) ortalama değerleri ve standart sapmaları.....	42

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Sodyum Omadin'in yapısı.....	13
Şekil 2.2. DNA'nın Yapısı.....	23

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. Sanayi atıklarının çevreye ve canlılara zararları.....	8
Resim 2.2. Kentsel atıkların çevreye ve canlılara zararları	9
Resim 2.3. Su kirliliği	10
Resim 2.4. Zebra Balıkları	28
Resim 4.1. Nano drop	39

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler	Açıklamalar
%	Yüzde
±	Artı – eksi
°C	Derece Celsius
µg	Mikrogram
atm	Atmosfer basıncı
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
ml	Mililitre
mV	Milivolt
nm	Nanometre
O ₂	Oksijen molekülü
O ₃	Ozon molekülü
OH	Hidroksil radikal
Pg	Pikogram
Ppm	Parts per million (Milyonda bir kısım)

Kısaltmalar	Açıklamalar
ATP	Enzim
CAT	Katalaz aktivitesi tayini
DNA	Deoksiribonükleik asit
EPA	A.B.D. Çevre Koruma Kanunu
GC	Gaz kromatografisi
TBT	Tribütiltin
UV	Ultraviyole
VTG	Vitellogenin

Kısaltmalar**Açıklamalar**

LC 50	Ortalama öldürücü konsatrasyon
LD 50	Ortalama öldürücü doz
MRL	Maximum residue level
MS	Mass spectrometry
NaOM	Sodyum omadin
NBT	Nitro Blue Tetrazolyum
OECD	Ekonomik Kalkınma ve İş birliği Örgütü
RNA	Ribonükleik asit
ROS	Reaktif oksijen türleri
SC	Stockholm Sözleşmesi
SOD	Süperoksit dismutaz tayini

1. GİRİŞ

Dünya üzerindeki canlıların hayatları boyunca ilişkilerini sürdürdüğü dış ortam olan çevrenin; hava, su ve toprak fiziksel unsurlarını oluştururken, doğada yaşayan tüm canlı organizmalar biyolojik unsurlarını oluşturur. Canlı organizmalar içinde yaşadıkları ortamla yakından ilişkilidirler. Doğrudan ya da dolaylı yollarla çevreye bırakılan, insan sağlığı ve çevre üzerinde zararlı etkileri olan her türlü maddeye kirletici denir. Günümüzde her gün yüzlerce kirletici çevreye atılmakta ve çevrede yaşayan canlıları etkilemektedir. Bu kirleticilerden birisi de kimyasal maddelerdir. Doğal olarak ortamda bulunmayan veya doğayı ve insan, hayvan, bitki ve diğer mikroorganizmaları etkileyen organik ve inorganik yapay maddeler kimyasal kirleticidir. Sanayileşmenin artması sonucu, akarsular, denizler, göller gibi doğal su kaynaklarının kimyasal maddelerle kirlenmesi küresel bir sorun haline gelmiştir.

Dünya’da süregelen aşırı tüketim ve üretim faaliyetlerinin en çarpıcı sonuçlarının başında çevresel kirleticiler gelmektedir. Hızlı tüketimle birlikte, üretim faktörlerindeki süreçlerin de hızlandırılması gerektiğinden, çevresel kirleticiler üretim süreçlerinde yer almaya başlamıştır. Tıpkı 1900’lü yıllarda başlayan Sanayi Devrimiyle birlikte insanlığın farkında olmaksızın makineleşme sürecinin başlamış olması gibi, 1980’ler sonrası üretim imkânlarındaki yoğun teknoloji, beraberinde insan ve doğadaki diğer canlı organizmaların yapısal ve genetik fonksiyonlarını bozucu materyallerin kullanımını arttırmıştır. Kullanılan çevresel kirleticiler, ekosistem döngüsü içerisinde muhakkak su kaynakları ile temas etmekte ve bu temas sonucu da sucul ortamlar aracılığıyla hızlı bir şekilde yayılmaktadır.

Denizlerde kullanılan araç ve gereçler zamanla deniz canlıları tarafından doğal ortamları gibi kabul görür ve bu canlılar tarafından kaplanır. Bu durum biyofouling olarak bilinir. Bu yeni yaşam alanı ise, endüstriyel ve modern dünyanın yaşam döngüsü içerisinde yer alan deniz taşıtları ya da kullanılan benzer araçlar için risk oluşturduğundan belirli dönemlerde arındırılma (anti-fouling) işlemine tabi tutulması gerekmektedir. Oluşan bu kolonizasyon ile deniz taşıtları ve platformlar üzerindeki olumsuz etkilerinin başında söz konusu yatırımın ekonomik ömrünün tahmin edilenden daha kısa sürelerle çekiliyor olması gelmektedir. Denizlerde kullanılan araçların su ile temas eden yüzeylerini biofoulingden korumak için antifouling katkılı boyalar kullanılır. Bu kimyasallar kolonileşmeye sebep olan canlıyı

yapıdan uzak tutar ya da öldürür. Yıllardır kullanılan antifouling sistemlerinin başında da tribütiltin (TBT) gelir. Ancak TBT kabuklu organizmaların kabuklarında deformasyon ve kalınlaşmalara neden olurken bazı organizmalarda cinsiyet farklılaşmalarına (imposeks), balıkların ve deniz memelilerinin immün sistemlerinin bozulmasına da neden olabilmektedir [1]. Bu nedenle 1990'ların başında dünyanın birçok yerinde TBT kullanımı sınırlandırılmıştır ve TBT'ye alternatif biyositler geliştirilmiştir. Irgarol 1051, diuron, çinko piriton (ZnPT), bakır piriton (CuPT) ve klorotalonil, günümüzde en yaygın kullanılan biyositler arasındadır. TBT'nin sınırlı kullanımından sonra, bu destekleyici biyositlerin üretimi, satışı ve kullanımı önemli ölçüde artmış ve bu da deniz ortamına bu biyosit girdilerinin önemli oranda artışına yol açmıştır.

Yapılan çalışmalarda, ZnPT, CuPT ve klorotalonil gibi biyositler için iç su ve deniz canlılarında farklı sınırlı toksisite verileri bulunmaktadır. Günümüzde biofoulinge karşı kimyasal maddelerle savaşın ekonomik önemi son derece büyüktür. Kimyasallar yüzyılımızın olmazsa olmazları haline gelmiştir. Ancak yoğun kimyasal kullanımı öncesinde fayda ve zarar analizi yaparak kullanım yeri ve miktarına karar vermek oldukça önemlidir. Birkhoj ve diğerlerinin (2004) yaptıkları epidemiyolojik araştırma sonuçlarına göre pestisit ve diğer kimyasallara maruz kalındığında insan sağlığının etkilendiğini belirtmişlerdir [2].

Kimyasal kirleticiler su ve gıda yoluyla karışım halinde insana ulaştığından önemli risk oluşturarak çevresel sucul ortamda etkileşerek aditif, sinerjistik, antagonistik etkiler gösterebilmektedir. Başta deniz taşıtları olmak üzere söz konusu araçlar için uygulanan bu arındırma işleminin temel materyali ise sodyum omadindir (NaOM). NaOM mikro organizmalar için yaygın olarak kullanılan bir parçalayıcı maddedir; canlılarda antibakteriyel ve antifungal etkiler için yaygın kullanılan bir biyositir. Bu tezde amaçlanan sucul alanlardaki zehirlilik derecesi ve bu amaçla kullanılan kimyasallardan biri olan NaOM'in insanlar üzerine muhtemel olumsuz etkilerini Zebra balıkları (*Danio Rerio*) üzerinde toksik maruziyet konsantrasyonunda genotoksik ve antioksidan sistem üzerine etkilerinin araştırılarak belirlenmesidir. Bu çalışmayla bilime, korunma ve tedavi yöntemlerine katkı sağlanacağı düşünülmektedir. Böylece ekosistem üzerindeki zararlı etkiler irdelenecek ve oluşturulacak olan öngörü disiplinleri içerisinde koruma yöntemlerinin geliştirilmesine de katkı sağlanacaktır.

Kullanılan kimyasalların, bir hastalık kaynağı olabilme ihtimali ve bu hastalıkların canlılar üzerindeki ilerlemesinin nasıl süregeldiği gibi konular, çevresel kirleticilerle ilgili çalışmalara ağırlık verilmesine sebep olmuştur. Çevresel kirleticiler özellikle hedef olmayan canlılarda erken gelişme dönemlerini etkileyerek toksisite göstermektedir. Oksidatif stresin, çeşitli hastalıkların patogenezinde önemli rol oynadığının belirlenmesi, son yıllarda çevresel kirleticiler ile ilişkili olarak konuya verilen önemin giderek artmasına neden olmuştur. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi DNA'nın yapısında hasara yol açabilir. Artmış ROS, DNA'nın yanı sıra, lipit ve proteinler gibi makro moleküllerin oksidatif hasarını da hızlandırabilir. 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG), DNA'da pürin artıklarının ROS ile indüklenen değişiklikleridir. 8-OHdG guaninin 8-hidroksilasyonu sonrası, spesifik enzimatik bölünmeyi takiben oluşan oksidatif DNA hasarının bir ürünüdür. 8-OHdG, oksidatif DNA hasarının ve oksidatif stresin gösterilmesinde önemli ve hassas bir belirleyicidir.

Biyolojik çevrimin bir halkasını oluşturan ve önemli protein kaynaklarından biri olarak tüketilen sucul canlılarda özellikle de balıklarda bu maddelerin etkilerinin belirlenmesi, insan sağlığı ve ekolojik dengenin korunması açısından, ayrı bir önem taşır.

Zebra balığı (*Danio Rerio*) doğal yaşamı Himalaya Bölgesi olan küçük bir tropikal tatlı su balığıdır. 1970 ve 1980'li yılların başlangıcında gelişim biyolojisi çalışmaları ile bilim dünyasına adım atan zebra balıklarının günümüzde insan hastalıklarında model organizma olarak popülaritesi artmaktadır [3]. Zebra balığı embriyolojik ve genetik olarak izlenebilen ideal bir omurgalı model olarak tanımlanmaktadır. İnsanla yüksek genetik ve organ homolojisi göstermesi, embriyonun şeffaf olması nedeni ile dış ortamda gelişiminin izlenebilir olması, küçük boyutu, kısa gelişim ve üretim süresi, yüksek sayıda yumurta (200'ün üzerinde/ dişi/ hafta) üretimi ve düşük bakım masrafı gibi avantajları ile diğer klasik omurgalı modellerden ayrılmaktadır [4]. Çalışmada NaOM 'in zebra balıkları üzerindeki etkisini saptamak insanlardaki etkisine klinik katkı sağlayabilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Çevre Kirliliği

Çevre kirliliği kavramı ilk defa 1869 yılında Massachusetts (ABD) Halk Sağlığı Komitesince ele alınmış ve bu konuda çok önemli bir bildiri yayınlanmıştır. Bu bildiride her insanın temiz havaya, suya ve toprağa ihtiyacı olduğu, bunların kirletilmemesi gerektiği belirtilmiştir [5].

2872 sayılı Çevre Kanunu çevreyi “canlıların yaşamları boyunca ilişkilerini sürdürdükleri ve karşılıklı olarak etkileşim içinde bulundukları biyolojik, fiziksel, sosyal, ekonomik ve kültürel ortamı” olarak, çevre kirliliği tanımını ise “Çevrede meydana gelen ve canlıların sağlığını, çevresel değerleri ve ekolojik dengeyi bozabilecek her türlü olumsuz etki” olarak tanımlanmaktadır [6]. Toprak, hava ve su da oluşan kirlenmeler ekosistem dengesini olumsuz etkilemektedir.

Yaşamımızı idame ettirmemiz esnasındaki süreçlerin çıktısı olan kirlenme çeşitlerini kabaca kimyasal ve fiziksel kirlilik olarak ikiye ayırabiliriz. Fiziki kirlilik çıktılarını daha kolay yollarla doğadan ayırtırmak mümkünken kimyasal kirliliğin sonuçları hem zaman hem maliyet hem de eskisi gibi olamaması bakımından oldukça zordur.

Toplumların hayatlarını idame ettirme mücadeleleri içerisinde sürekli artan taleplerin karşılanabilmesi için hızla gelişen sanayi sektörü, talep hızını yakalayabilmek için üretim süreçlerine ağır kimyasalları da dâhil ederek doğrudan ya da dolaylı bir şekilde çevre kirliliğine sebep olmaktadır.

2.1.1. Çevre kirliliğinin nedenleri

İlk insanlar bütün zamanlarını hayatta kalabilmek adına yiyecek ve barınak temini için harcamışlardır. Çiftçilik ve hayvancılığın geliştiği çağlarda insanoğlu zamanının tamamını temel ihtiyaçlar için harcamak yerine önemli bir kısmını uzmanlaşmaya ayırmışlardır. Çeşitli mesleklerin ortaya çıkışı ve iş bölümü olarak devam eden bu süreçte insanlar daha iyi

yaşam koşullarına ulaşmaya başlamıştır. Kişi başına tüketimin ve nüfusun artması ise çevre tahribatına yol açmıştır [7].

Maslow'un ihtiyaçlar hiyerarşisinde en alt basamağı oluşturan barınma ve gıda için sürekli bir arayış içerisinde olan insanoğlu toplayıcılıkla başladığı bu serüvene zamanın getirdiği tecrübelerden yola çıkarak hayvancılık ve tarım faaliyetleriyle devam etti. Ancak sürekli artan nüfus karşısında yalnızca talebi karşılayabilmek adına bilhassa sanayi devrimi ile birlikte ilk defa adından söz ettirmeye başlayan bir çevre kirliliği kavramı ile tanışmıştır. Ne üretirsен üret muhakkak bir pazar ve alıcı bulursun düşüncesi zaman içerisinde tüketicilerin de üretim süreçlerine dahil olması ve artan çevresel kirlitici çıktıları sebebiyle çevre bilincinin dünya üzerinde yavaş yavaş oluşmaya başlamasına sebep olmuştur. Bilhassa çevre sorunlarının artması ve hızlı büyüyen nüfusun bu artan sorunlarla karşı karşıya kalmaları çevre kirliliği kavramının oluşmasında oldukça etkilidir.

Artan teknolojik imkânlar sayesinde insanoğlunun üretim imkânlarındaki hızlı artış doğanın da hızlı bir şekilde tahrip olmasıyla sonuçlanmaktadır. İyi planlanmamış bir üretim süreci sonunda amaçlanan ürün ya da hizmet elde edildiği gibi bir sonraki üretim faktörlerini de oldukça olumsuz etkileyen nice zararlı çıktı da doğa ile baş başa kalmaktadır. Su kaynaklarına yakın lokasyonlardaki fabrikalar ya da hane halkının ikamet için seçtiği lokasyonlara yalnızca ulaşım kolaylığı sebebiyle kurulan fabrikalar, su ya da hava kirliliği için başlıca sıralanabilecek zararlılardır.

1970 yılında Roma Kulübü için MIT tarafından Büyümenin Sınırları (Limits of Growth) adı altında yayınlanan çalışmada; nüfus artışı, gıda üretimi, endüstrileşme, doğal kaynakların tüketilmesi ve kirlenmeden oluşan beş temel etkenin karşılıklı bağımlılığının ve etkileşiminin belirlenmesi olmuştur. Bu çalışma “değişmek ya da yok olmak” ikilemi üzerine kurulduğundan abartılı ve karamsardı; ancak insanlığı bekleyen felaketin habercisi niteliğini taşıdığından uluslararası kamuoyunun gündeminde yer almıştır [8].

Çevreye dair aksaklıkların tüm dünya üzerinde görülmesinin başlıca sebeplerinde biri ise ekonomik buhranlardır. Başta gıda olmak üzere kaynakların az olması ve dengesiz dağıtılması da oldukça önemli bir sorundur. Bu ve benzeri sebepler kimyasal maddelerin üretimin her aşamasında boy göstermesine neden olmuştur. Yıllar içerisinde kontrolsüz kullanımın artması da çevre kirliliğinin başlıca nedenlerinden olmuştur.

2.1.2. Çevresel kirleticiler

Doğrudan ya da dolaylı yollarla çevreye bırakılan, insan sağlığını etkileyen ve ekolojik denge üzerinde zararlı etkileri olan her türlü maddeye kirletici denir. Çevresel kirleticileri şöyle sıralayabiliriz;

Fosil yakıtlar (Petrol, Doğalgaz ve Kömür)

Fosil yakıtlar, hidrokarbon ve karbonun oluşturduğu doğal enerji kaynaklarından biridir. Hayvan, bitki gibi canlı organizmaların oksijensiz ortamda milyonlarca yıl ısı ve basınç altında kalmasıyla oluşur. Fosil yakıtların endüstride çok yaygın kullanım alanları vardır.

Fosil yakıtların yapısında büyük oranda karbon ve hidrojen bulunmaktadır. Bu yakıtların yanması havadaki oksijen ile reaksiyona girmesindendir. Genellikle, karbon, CO₂ oluşturmak için oksijenle (O) birleşir ve hidrojen (H) su buharı oluşturmak için oksijenle birleşir. Açığa çıkan CO₂ sera etkisinin nedenidir [9].

Kömür, çok az miktarda inorganik madde içeren organik bir katı yakıttır. Kömür yandığında birçok tehlikeli kirletici ortaya çıkar. Yanıcı olmayan mineral içeriği ise küle dönüşür. Kömürün yanması ile baca gazları da açığa çıkar. Kömür yandığı zaman bacadan çıkan gazların içerisinde yanmamış azot, karbondioksit ve su buharı bulunmaktadır [9].

Ham petrol 19 yüzyılda keşfedilince hem sanayi gelişimine hem de insanların hayat standartlarına olumlu yönde etki eden ekonomik bir yakıt olmuştur. Petrokimya; kullanımı sırasında gerçekleşen reaksiyonlar sonucu tehlikeli maddeleri ürün olarak çıkaran ve çevreye kirletici madde salınımı yapan organik bir atıktır. Ham petrol ve petrokimya ürünleri üretilirken veya taşınırken oluşan kazalarda deniz suyunu ve toprağı kirletmektedir. Toprağı karışan petrokimya ürünleri yer altı sularını ve toprağı olumsuz olarak etkilemektedir.

Doğalgaz tortul kayalarda bulunan hidrokarbonlarının yanıcı bir karışımıdır. Gazın içerisinde birçok hidrokarbon bulunmaktadır. Bu karışımın en zehirli bileşenler propan ve bütandır. Sondaj ve kuyulardan çıkarılan gaz boru hatları ile taşınmaktadır Doğalgazın yanması sonucu diğer fosil yakıtlara göre önemsiz miktarlarda zehirli madde ve partikül meydana gelir.

Endüstriyel atık

Endüstriyel atıklar organik ve inorganik bileşenlerin meydana getirdiği canlı yaşamına doğrudan etki edecek kadar zararlı, çevresel kirleticiliği yüksek atıklardır. Tehlikeli atıkların tamamına yakını bu gruba girer. Zararlı endüstriyel atıkları sıralayacak olursak; halojenli ve halojensiz organik seyrelticiler, hidroksitler, tuz artıkları ve egzoz gazlarıdır.



Resim 2.1. Sanayi atıklarının çevreye ve canlılara zararları [10]

Kentsel atıklar

Kentsel atıklar insanlar tarafından üretilen, bozulmuş yiyecekler, plastikler, kişisel eşyalar metal ve kullanılmayan giyim eşyalarından oluşan atıklardır. Kanalizasyon suları inorganik zararlı maddeleri içerir. Son dönemlerde akarsularımızda görülen kirlenmelerin en büyük nedeni kanalizasyon sularının ve sanayi atıklarının karışması ile olduğu görülmektedir.

Tarımsal atık

Tarımsal atıklara baktığımızda tarım için kullanılan zirai ilaçlar ve hayvan besleme alanlarından (kümes, ahır vb.) çıkan atıklar toprağa veya suya karışırsa canlı yaşamına zarar

verebilir ve çevreyi kirletebilir. Birçok nörolojik hastalığın da sebebi olarak toprak yoluyla çevreye karışan fenni gübreler gelebilmektedir.



Resim 2.2. Kentsel atıkların çevreye ve canlılara zararları [11]

Zirai ilaçlar (Pestisitler)

Zirai ilaçlar, tarım alanlarında canlı organizmaları öldürmek için üretilmiş toksik maddelerdir. Bunlar hem böcek hem de bakteri ve otların yok edilmesi için kullanılmaktadır. Zirai ilaçlar canlıların gelişim süreçlerini engellemek için ve hücre yapısına zarar vermek için üretilmiştir. Pestisitler sadece zarar verdiği düşünülen canlının değil, toprak ve havada bulunan tüm canlılara zarar vermektedir.

Böcek öldürücüler

Böcek zehirleri tüm canlılara değil de zararlı olduğu düşünülen böceklerin yok edilmesi için üretilmiş toksik maddelerdir. Canlı yaşamında olumsuz etkileri olan bu toksik maddeler havaya püskürtme yoluyla veya suya karışıp kirletebilir.

Ot öldürücüler (Herbisit)

Herbisit uygulamaları çevre için risk oluşturan uygulamalardır. Tarımda zararlı otların öldürülmesi için kullanılır. Hava, toprak ve suya zarar verebilir.



Resim 2.3. Su kirliliği [12]

Mantar ilaçları (Fungisit)

Mantarlara yaşam döngüsünün birçok yerinde rastlamak mümkündür. Mantarları öldürmek için üretilen ilaçların hava, su ve toprağı kirlettiğı bilinmektedir. Mantar ilaçları, çevreye tarımsal amaçlı kullanımla tıbbi amaçlı kullanımla ve sanayide kullanımla karışabilir.

Bakteri öldürücüler

Bakteri üremesini engellemek ve var olanlarında yaşamını sonlandırmak için kullanılırlar. Ancak zararlı bakteriler üzerinde etkili oldukları kadar yararlı bakteri florasına da zarar verdiğinden yaşam döngüsünde olumsuz etkilere sebep olabilirler.

2.1.3. Biyositler

Biyositin tam kelime karşılığı canlıkıran, canlı öldürenidir. Biyosidal ürünler, maya, mantar, bakteri, küf gibi mikroorganizmaları öldüren ya da bu organizmaları kullanıldıkları yüzeyden uzak tutan kimyasal aktif maddeler içeren boya ya da benzeri koruyuculardır. Önceleri “pestisit” olarak adlandırılan biyositlerle ilgili, R. Carson (1962) yayımladığı “Sessiz Bahar” kitabında DDT ve hidrokarbonların çevredeki dayanıklılığını, insan ve

hayvanların yağ dokularında birikimini, hedef olmayan türler üzerindeki toksik etkilerini, ekolojik ve insan sağlığı ile ilgili olumsuz etkilerinden bahsetmiştir. Özellikle hedef olmayan ve olmaması gereken türler üzerindeki toksik etkilerinden dolayı canlıkıran anlamına gelen “biyosit” terimini kullanmıştır [13].

Başlıca biyosit türlerini insektisitler (böceklerle karşı), herbisitler (yabani otlara karşı), fungusitler (mantarlara karşı), akarisitler (uyuz böcekleri ve parazitlere karşı), rodentisitler (kemiricilere karşı) ve mollusitler (yumuşakçalara karşı) oluşturmaktadır [14].

Biyositler, zararlı görülen canlıları etkisiz hale getirmek için üretildiğinden toksik ve öldürücüdür. Çevreye yayılımı çok kolaydır ve yıllarca zararlı etkileri devam edebilmektedir. Hava, yağmur, kar, toprak, yer altı suyu, yüzey suları, sis ve hatta kutuplarda saptanmıştır. İnsan ve hayvanlarda da varlığı gösterilmiştir [14].

Biyositler, canlı vücutlarında biyolojik birikimle hasara yol açabilirler. Bu hasar besin zincirinin her aşamasında gittikçe büyüyen tahrip edici oranlara ulaşmaktadır. Yağda çözünebilen biyositler dokulara çok daha kolay nüfuz edebilmektedir ve yapılan araştırmalara göre toprağa uygulanan miktarın %39’una 17 yıl sonra bile rastlanmıştır.

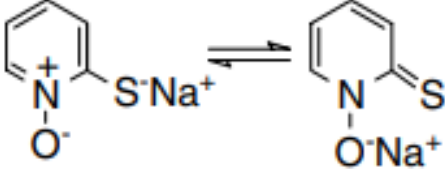
Biyositlerin akut etkileri iritasyondan, sistemik Emilime bağlı ölüme kadar değişik etkiler göstermektedir. Alerjik dermatitin oluşma sebeplerinden biri olarak sayabiliriz. Biyosit etkileşimi sonucu görülen başlıca kronik sağlık sorunları kanser, doğumsal anormallik riskleri, nörotoksisite, nörodavranışsal ve nörofizyolojik bozukluklar, üreme ve doğurganlık ile ilgili olumsuz etkiler olarak sınıflandırılmaktadır.

2.2. Sodyum Omadin

Sodyum omadin, bakteri ve / veya mantar üremesi yoluyla bozulabilen imalat malzemelerinde koruyucu olarak ve proses sıvılarında katkı maddesi olarak kullanılan geniş spektrumlu bir antimikrobiyal bileşiktir.

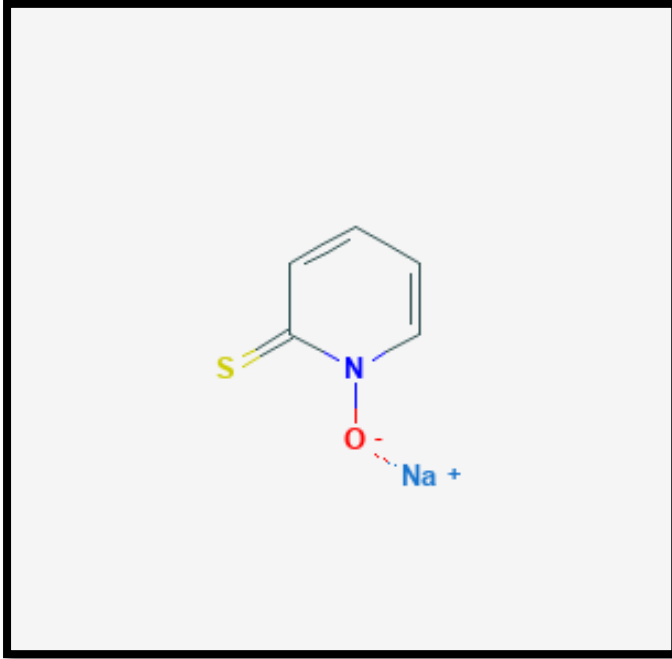
Sodyum omadin ilk kez Amerika Birleşik Devletleri'nde 1968'de biyosit olarak kullanılmak üzere tescil edilmiştir. NaOM üzerine Kayıt Standardı (NTIS # PB86-173929) Temmuz 1985'te yayınlandı [15].

2.2.1. Sodyum Omadin 'in kimyasal özellikleri

Sınıflandırma / MAK değeri:	1 mg / m ³
	Tepe sınırlama kategorisi II, 1
	Hamilelik risk grubu C
Sınıflandırma tarihleri:	1994
Eş anlamlılar:	sodyum 1-hidroksi-2- (1 H) -piridindiyon sodyum piridinition
Ticari isimler:	Sodyum Omadine® Sodyum-Pyrion®
Kimyasal adı (CAS):	2-piridinetil 1-oksit sodyum tuzu 1-hidroksi-2-(1 H) -piridindiyon sodyum tuzu
CAS numarası:	3811-73-2 15922-78-8.
Yapısal formül:	
Moleküler formül:	
Moleküler ağırlık:	149.2
Erime noktası:	252–257 ° C (ayırır)
25 ° C'deki yoğunluk:	1.167 gm / cm ³
Çözünürlük (25 ° C'de g / 100 g):	su (53) dimetil sülfoksit (17) etanol (19) sıvı parafin (<0.0001) propilen glikol (13) zeytinyağı (<0.0005) polietilen glikol 400 (12)



Ticari olarak toz halinde temin edilebilir. (Teknik kalite, saflık %90–95) veya %40-45 sulu çözelti (pH 9.2 'de 25 ° C) halinde hazırlanır. Oda sıcaklığında ve pH aralığı 4.5 ila 9.5 olan karanlık ortamda NaOM kararlı yapıdadır. 100 ° C'de en az 120 saat boyunca stabildir, 150 ° C'de ise maddenin %29' u 48 saat içinde ayrılmıştır. Işık altında veya zayıf oksitleyici maddelerle temas halinde sodyum piriyon disülfite dönüştürülür. (2,2-piridil-N-oksit disülfite).



Şekil 2.1. Sodyum Omadin'in yapısı [16]

2.2.2. Sodyum Omadin'in kullanım alanları

Sodyum omadin, özellikle mantarlar, gram (+) ve gram (-) bakterilere karşı kullanılan geniş spektrumlu bir biyosittir. Kullanım alanlarını tanımlayacak olursak; metal işleme sıvılarında (konsantre olarak %0,5'e kadar sıkıcı ve kesme yağları), lastik, boya endüstrisi (dispersiyon boyları, %0,05-%0,2), şampuanlar ve yıkama losyonları gibi durulanan kozmetiklerde, %0,5 konsantrasyonlarında bulunmaktadır [16].

Dipiritiyonun bir fungusit ve bakterisit olarak kullanıldığı ve apoptozu indükleyerek yeni sitotoksik aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir.

Piriton, fotokimyasal olarak OH ve (piridin-2-il) sülfonil radikale bozunması nedeniyle organik sentezde bir hidroksil radikal kaynağı olarak kullanılabilir [17]. NaOM suda çözünür biyosidal odun koruyucudur, mikroorganizmalar için yaygın olarak kullanılan bir çözücü ve biyosittir [18].

Sodyum veya çinko piriyonun renk bozulmasının önlenmesi veya azaltılması için de kullanılır. Piridinit, mantar, maya, küf ve bakteri üremesini engeller. Piridion N-oksidin sodyum ve çinko tuzu kozmetikte ve şampuanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Vücut

bakım ürünlerinde kullanılırlar. Piridinethion türevleri, kükürt atomu (S) ve genellikle oksijen (O), azot (N), hidrojen (H) ve ayrıca diğer elementleri içeren bir siklik kükürt organo ürünlerine aittir (antiviral, antibakteriyel, antifungal, antitüberküloz, antikor ve antifungal ajanlar olarak).

Pirimidin, altı üyeli halka yapısı molekülünde 1 ve 3 pozisyonlarında azot atomları içeren heterosiklik bir bileşiktir. Canlı sistemlerdeki üç ana pirimidin sitozin, timin ve urasildir. Pirimidin ve türevleri, nükleik asitlerin (DNA, RNA) ve koenzimlerin biyolojik olarak önemli bileşenleridir. Bunlar, barbitüratlar dâhil olmak üzere birçok ilacın ana bileşiği olabilir [17].

Ülkemizde ve dünyada kullanılan su ekosistemlerine ulaşan bir kirleticisi olan NaOM geniş bir spektrumlu antimikrobiyal koruyucudur. Ek olarak, bakteri ve mantar oluşumuna karşı kullanılan bir katkı maddesi ve biyosidal (çürümeyi önleyici) ajandır. Ahşap önemli bir yapı ve inşaat malzemesidir ve önemi ve kullanımı artmaya devam etmektedir. Ahşabın çeşitli kullanımları için böcekler, mantarlar ve diğer organizmalar tarafından saldırıya karşı korunması gerekir.

2.3. Biyofouling

Deniz canlılarının gemi, petrol kulesi vb. araç ve gereçlerin üzerinde oluşturdukları topluluklar fouling olarak adlandırılmaktadır. Fouling mikro organizmalar ve makro deniz canlılarının bir yüzeyde birikmesi ile başlayıp yüzeyin sıvı temasını kesebilecek kadar yoğun kolonileşme ile sonuçlanabilecek bir süreçtir.

Açık denizlerde yer alan doğalgaz gibi yer altı kaynaklarını arama çalışmaları için kullanılan platformlardan tutun da deniz taşımacılığı araçlarına kadar denizlerde kullanılan birçok araç sucul organizmalar tarafından bir habitat kabul edilir ve sanki canlının yaşam döngüsünde hep varmış gibi daimî kullandığı bir lokasyon halini alır. Biyofouling olarak bilinen bu durum, deniz taşıtları ya da kullanılan benzer araçlar için risk oluşturduğundan bu araçların belirli dönemlerde arındırılma (antifouling) işlemine tabi tutulması gerekmektedir. Oluşan bu kolonizasyon ile deniz taşıtları ve platformlar üzerindeki olumsuz etkilerinin başında söz

konusu yatırımın ekonomik ömrünün tahmin edilenden daha kısa sürelerle çekiliyor olması gelmektedir.

Deniz canlılarının araç ve gereçler üzerinde oluşturduğu istenmeyen oluşumları engelleyen antifouling sistemleri, kimyasal kaplamalar şeklinde deniz ulaşım endüstrisi üzerinde ciddi bir çalışma alanı yaratmaktadır. Çeşitli antifouling boyalar, UV ışınları, ultrason, robot kullanımı gibi uygulamalar geliştirilmiş çeşitli antifouling teknolojileridir. Bu uygulamalardan biyosit içerikli antifouling boyaların kullanımı en sık tercih edilen yöntemdir.

Geçmişten beri antifouling amaçlı kullanılan boyaların, daha çok ağır metal bazlı olduğu bilinmektedir. Örneğin; bakır, kurşun, cıva, arsenik ve kadmiyum boyalara sıklıkla karıştırılmakta ve biyofilm oluşumunun engellenmesi sağlanmaktadır. TBT bileşikler 1950’li yılların sonunda kullanılmaya başlanmış olmakla birlikte 2000’li yılların başlarında Uluslararası Denizcilik Organizasyonu (IMO) ve Deniz Çevresini Koruma Komitesi (MEPC) tarafından ciddi zararları olduğu dile getirilerek sınırlamalar getirilmeye başlanmıştır.

Biyofoulingin kontrolü için biyositlerin kullanımı, yaygın olarak başvuru ve kabul gören bir yöntemdir. Biyositler yalnızca antifouling işlemi için kullanılmakla kalmayıp bakteri sayısının azalması ya da yok edilmesi gibi işlemler için de kullanılırlar. Biyositler foulingi azaltırken katıldıkları boyaları da korurlar.

2.4. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

Kimyasal bağlar, farklı atomlar içeren ve aynı yörüngeyi paylaşarak zıt yönde dönen çift elektronlardan oluşmuş yapılardır. Dış yörüngesinde eşleşmemiş elektronu bulunan molekül veya iyonlara “serbest radikal” adı verilir. Fizyolojik veya patolojik reaksiyonlar sırasında oluşabilen serbest radikallerde eşleşmemiş olan bu elektronlar genelde reaktiftir ve dış yörüngelerindeki elektronu eşleştirebilmek için diğer moleküllerle etkileşerek reaksiyona girer ve kararlı bir yapı oluşturmaya çalışır. Organizmada çeşitli reaksiyonlarla oksijen ve nitrojen kaynaklı oluşabilen bu radikallerden oksijen kaynaklı reaktif ürünlerin (ROS) metabolizmaya önemli ölçüde olumsuz etkisi vardır [20,21].

Serbest radikaller yüksek enerji transferi gerektiren üç grup tepkime sonucunda üretilirler [22].

- Bir moleküle elektron eklenmesi ile:
($A + e^- \rightarrow A^-$)
- Bir molekülden tek bir elektron kaybı veya bir molekülün kovalent bağındaki iki elektronun bir atomda kalacak şekilde ayrışması ile:
($A \rightarrow A^+ + e^-$) veya ($A..B \rightarrow A^- + B^+$)
- Kovalent bağlı bir molekülün ayrışması sonucu bağı oluşturan elektronların her birinin bir atomda kalarak ayrışması ile:
($A..B \rightarrow A + B$)

Elektron transferi sonucu oluşan serbest radikaller (+) veya (-) yüklü olabilirler. Radikaller, sağlıklı doku hücresinden elektron alarak ya da elektron aktararak kimyasal reaksiyona girip doku hücresinin yapısını bozar. (+) veya (-) yükle yüklenmiş olan doku hücresi diğer dokularla etkileşime girerek bozulma reaksiyonlarını zincirleme bir şekilde başlatmış olur.

Serbest radikallerin faydalı ve zararlı etkileri olabildiğinden organizmada çift yönlü etki eden moleküllerdir. Düşük düzeyleri normal fizyolojik fonksiyonlar için gerekli iken yüksek konsantrasyonda olması ya da çok düşük seviyelerde olması oksidatif stres kaynaklı zararlı etkilere sebep olur.

Serbest radikaller genellikle oksijen ve azot kaynaklıdır. Oksijen kaynaklı serbest radikallere reaktif oksijen türleri (ROS) ve azot kaynaklı serbest radikallere reaktif azot türleri (RNS) denir. Bunlarda radikal olanlar ya da radikal olmayanlar diye ikiye ayrılır. Süperoksit, hidroksi, peroksi, alkoksi ve hidroperoksiler radikal olan reaktif oksijen türleridir. Hidrojen peroksit, hipokloröz asit, hipobromöz asit, ozon ve singlet oksijen radikal olmayan reaktif oksijen türleridir. Nitrik-oksit ve azot-dioksit radikal olan reaktif azot türleridir ve nitröz asit, nitrozil katyonu, nitroksi anyonu, diazot tetraoksit, peroksinitrit, peroksinitröz asit, nitronyum katyonu ve alkilperoksi nitritler radikal olmayan reaktif azot türleridir ve bunlar hücrede ölümcül etkiler yaratacak güçlü moleküllerdir.

Çizelge 2.1. Reaktif oksijen türleri (ROS)

Radikaller	Nonradikaller
Süperoksit $O_2^{\cdot-}$	Hidrojen peroksit H_2O_2
Hidroksil $OH^{\cdot}$	Hipokloröz asit $HOCl$
Peroksil $ROO^{\cdot}$	Hipobromöz asit $HOBr$
Alkoksil $RO^{\cdot}$	Singlet oksijen 1O_2
Hidroperoksil $HO_2^{\cdot}$	Ozon O_3
Lipid peroksil $LOO^{\cdot}$	

Çizelge 2.2. Reaktif nitrojen türleri (RNS)

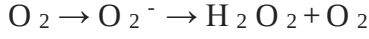
Radikaller	Nonradikaller
Nitrik oksit $NO^{\cdot}$	Nitrik asit HNO_2
Nitrojen dioksit $NO_2^{\cdot}$	Nitrosil katyonu NO^+
	Nitroksil anyonu NO^-
	Dinitrojen tetroksid N_2O_4
	Dinitrojen trioksit N_2O_3
	Peroksinitrit $ONOO^-$
	Peroksinitrik asit $ONOOH$
	Nitronyum katyonu NO_2^+
	Nitril klorid NO_2Cl
	Alkil peroksinitrit $ROONO$

2.4.1. Serbest oksijen radikalleri

Hücre ve dokularda oluşan serbest radikallerin en önemlisi oksijen radikalleridir. Oluşan zincirleme reaksiyonlar sonucu açığa çıkan ürünler oksijen elektron transferleri ile suya kadar indirgenmektedir. Oksijenden tek elektron indirgenmesiyle başlayan oksidan yıkımı, doku inflamasyonu benzeri çok sayıda etki ederek hastalıkların patogenezinde rol oynar. Serbest radikaller yüksek derecede reaktivite sahibi bileşikler oldukları için, hızla reaksiyona girebilirler ve bu reaksiyonlar sonsuz sayıda olabilir. Bu ajanlar redükte edici veya oksitleyici olabilirler (En önemli serbest oksijen radikalleri şunlardır;

Süperoksit (O_2^-)

Oksijen doğada moleküler yapıda bulunur ve kararsız bir elementtir. Süperoksit radikali oksijen molekülünün bir elektron alması sonucu oluşur [23].



Süperoksit bir serbest radikal olmakla birlikte, hidrojen peroksidin kaynağı ve geçiş metallerinin iyonlarının indirgeyicisi olmasından dolayı da önemlidir [22]. Lipid peroksidasyonuna sebep olarak katalaz ve glutatyon benzeri antioksidan sistemi zayıflatır.

Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit serbest bir radikal olmamasına rağmen metal iyonlarıyla reaksiyonu sonucunda hidroksil radikallerinin açığa çıkmasından dolayı oksitleyici olarak kabul edilmektedir.

Hidrojen peroksit proteinlerde bulunan hem grubu ile reaksiyona girerek reaktif demir formlarını oluşturmaktadır. Oluşan bu reaktif demir ise lipit peroksidasyonu gibi radikal değişimleri başlatmaktadır [22].

Radikal Hidroksil (OH)

En reaktif radikal olarak bilinen hidroksil radikali dokularda büyük hasara yol açar. Lipit peroksidasyonu olarak adlandırılan serbest radikal zincir reaksiyonu, oluşturduğu en önemli biyolojik reaksiyondur. [22].

Singlet Oksijen (O_2)

Radikal olmayan bir reaktif oksijen türü olan singlet (tekil) oksijen doymamış yağ asitleri ile tepkimeye girerek peroksil radikalinin oluşumuna ve lipit peroksidasyonun başlamasına sebep olabilir [22]. Alkol, uyuşturucu gibi bağıışıklık yapan maddeler, radyasyon, ultraviyole ışınları, çevresel kirleticiler, sigara dumanı, enfeksiyonlar, virüsler, stres, metabolizma toksik ürünleri, bazı tahrip edici kimyasallar sebebiyle de vücutta oluşabildikleri gibi, stres

kaynaklı zararlı etkilerin önlenmesi için bağışıklık sistemi tarafından da üretilirler. Bu durum vücutta bir denge mekanizmasıyla kontrol edilir.

Serbest radikallerin aşırı üretimi hücre ve doku hasarına neden olur. Bu hasar ise zincirleme reaksiyonlara sebep olup yeni radikalleri meydana getirir. Serbest radikaller hücredeki her türlü faaliyet üzerinde oldukça etkilidirler. Lipitler, proteinler, nükleik asitler, enzimler ve karbonhidratlar ve DNA üzeninde etkili olabilirler. Verdikleri hasar bedensel yaşlanma süreciyle doğrudan ilişki gösterir.

Serbest radikallerin bu etkileri antioksidan adı verilen kimi enzim ve moleküller tarafından ortadan kaldırılır. Organizmalar serbest radikal üretimiyle antioksidan savunma sistemleri arasında kurulan hassas dengeyi korurlar. Reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türleri ile antioksidan savunma sistemi arasındaki bu hassas dengenin oksidan yönünde bozulması sonucu oksidatif stres gerçekleşir [24].

2.4.2. Oksidatif stres

Oksidatif stres, organizmada antioksidan savunma mekanizmasıyla nötrleştirilebilenden daha fazla reaktif oksijen türünün (ROS) bulunması olarak tanımlanır. Pek çok kronik hastalığın sebebinin serbest oksijen radikallerinin sebep olduğu hücre hasarları kaynaklı oksidatif stres olduğu bilinmektedir. Bunlardan bazıları amfizem/bronşit, Parkinson hastalığı, hemodiyaliz hastalıkları, diyabet, akut renal yetmezlik, Down Sendromu, hücresel yıpranma/yaşlanma, kanser türleri ve karaciğer hastalıkları gibi hastalıklardır [25].

2.4.3. Antioksidanlar

Antioksidanlar serbest radikallerin fonksiyonlarını engelleyen veya sınırlandıran ve hücresel hasarı erteleyen ya da önleyen moleküller olarak tanımlanmaktadır [26,27].

Antioksidanların fizyolojik rolü, tanımda verildiği gibi, serbest radikaller içeren kimyasal reaksiyonların bir sonucu olarak ortaya çıkan hücresel bileşenlerin hasar görmesini önlemektir [27]. Antioksidanlar çeşitli şekillerde sınıflandırılabilir. Aktivitelerine göre sınıflandırmada, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak sınıflandırılır.

Enzimatik antioksidanlar serbest radikallerin bağlarını kırarak ve uzaklaştırarak etki gösterirler. Antioksidan enzimler, tehlikeli oksidatif ürünleri önce hidrojen perokside (H_2O_2), daha sonra da suya dönüştürürler. Bu dönüşüm sürecinde bakır, çinko, mangan ve demir gibi enzim kofaktörleri görev almaktadır.

Enzimatik olmayan antioksidanlar ise serbest radikallerin bağ reaksiyonlarını kırarak oksidan karşıtı etki göstermektedir. C vitamini, E vitamini, bitkisel polifenoller, karotenoidler ve glutatyon enzimatik olmayan antioksidanlara örnek olarak verilebilir [26]. Antioksidanları sınıflandırmanın diğer bir yöntemi de suda veya yağda çözünbilme özelliğine dayandırılmaktadır. C vitamini gibi suda çözünabilen antioksidanlar, sitozol veya sitoplazmik matriks gibi hücresel sıvılarda bulunmaktadır. E vitamini, karotenoidler ve lipoik asit gibi yağda çözünen antioksidanlar ise çoğunlukla hücre zarında bulunmaktadır.

Ayrıca antioksidanlar büyüklüklerine göre de sınıflandırılmakta. Küçük molekül antioksidanlar, ROS ürünlerinin uzaklaştırılmasında etkin olup; E vitamini, C vitamini, karotenoidler ve glutatyon bu grupta yer almaktadır. Büyük molekül antioksidanlar (süperoksit dismutaz, katalaz 42 gibi) ise ROS ürünlerini absorbe eder ve diğer esansiyel proteinlere saldırmasını önlemektedirler [26].

2.4.4. Enzimatik antioksidanlar

Süperoksit Dismutaz (SOD)

SOD substrat olarak oksijen radikalini yükseltgeyip süperoksiti hidrojene çeviren bir enzimdir [28]. Oksidatif strese karşı savunma tepkimesi ilk SOD ile başlatılır. [29]. Bu tepkime sonucunda oluşan ürünler ya lizozomlardaki katalaz tarafından ya da mitokondrideki glutatyon peroksidaz tarafından H_2O 'ye detoksifiye edilir [29].

Katalaz (CAT)

Glikoprotein yapıda bir hemoprotein olup, Hidrojen peroksinin yüksek yoğunlukta olduğu durumlar da yüksek aktivite gösterir [31]. Hidrojen peroksiti su ve oksijene ayrıştırarak hücreyi oksidatif strese karşı korur [22].

Glutasyon Peroksidaz (GPx)

GPx hücrelerin sitozolünde bulunan antioksidan enzimlerin en çok çalışandır. SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksit ve yağ asitini elimine eder. GPx fagositik hücreler de önemli fonksiyonlarda yer alır. Fagozitoz sırasında oluşan solunum patlaması sonucunda oluşan serbest radikallerin peroksidasyonundan fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller [32]. En temel görevi akut yaygın oksidatif strese yanıt vermektir. Enzim aktivitesinin en çok görüldüğü yerler karaciğer, böbrek ve kalptir.

Glutasyon-S-Transferazlar (GST)

GST organizmaya giren ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda görev alır. Öncelikle araşidonat ve lineolat hidroperoksidleri olmak üzere lipit peroksitlerine karşı bir defans mekanizması olarak görev yaparlar [28].

Glutasyon Redüktaz (GR)

Hidrojen peroksit ve lipit peroksitlerinin yükseltgenmesi sırasında oluşan glutasyon GPx tarafından okside glutatyona dönüşür. Oluşan okside glutasyonun tekrar redükte glutatyona dönüşmesini sağlayan ise Glutasyon redüktazdır [22].

Mitokondrial sitokrom oksidaz

Sitokrom oksidaz süperoksit radikalini suya çevirerek etki gösterir [22].

2.4.5. Nonenzimatik antioksidanlar

Vitamin C

Lipit peroksidasyonunu başlatan radikallerin etkilerini yok ederek, lipitleri oksidasyona karşı korur. Nitrik oksit sentez tetrahidrofolatı stabilize ederek nitrik oksit (NO) üretimini arttırır [33,34].

Vitamin E

Yağda çözünen bir vitamin olup lipid peroksidasyonunu önler [34].

β -Karoten

Serbest radikalleri temizler, peroksitleri inaktif hale getirir [35].

Koenzim Q₁₀

Yağda çözünen bir antioksidan olup O₂'i temizleyerek endotelial disfonksiyonu azaltır [34,36]. Membran stabilitesinde, enerji dönüşümlerinde ve ATP üretiminde görev alır. Vücutta üretilmediği gibi dışardan da takviye edilebilecek bir antioksidandır. Koenzim Q₁₀ oksijen kaynaklı serbest radikaller ile etkileşerek molekül zararını önler.

Serüloplazmin

İki değerlikli demirin üç değerlikli demire yükseltgenmesini böylece fenton reaksiyonunu inhibe eder. Serbest radikal oluşumu da inhibe edilmiş olur [37].

Transferrin

Dolaşımdaki serbest demiri bağlayarak fenton reaksiyonunu önler [38].

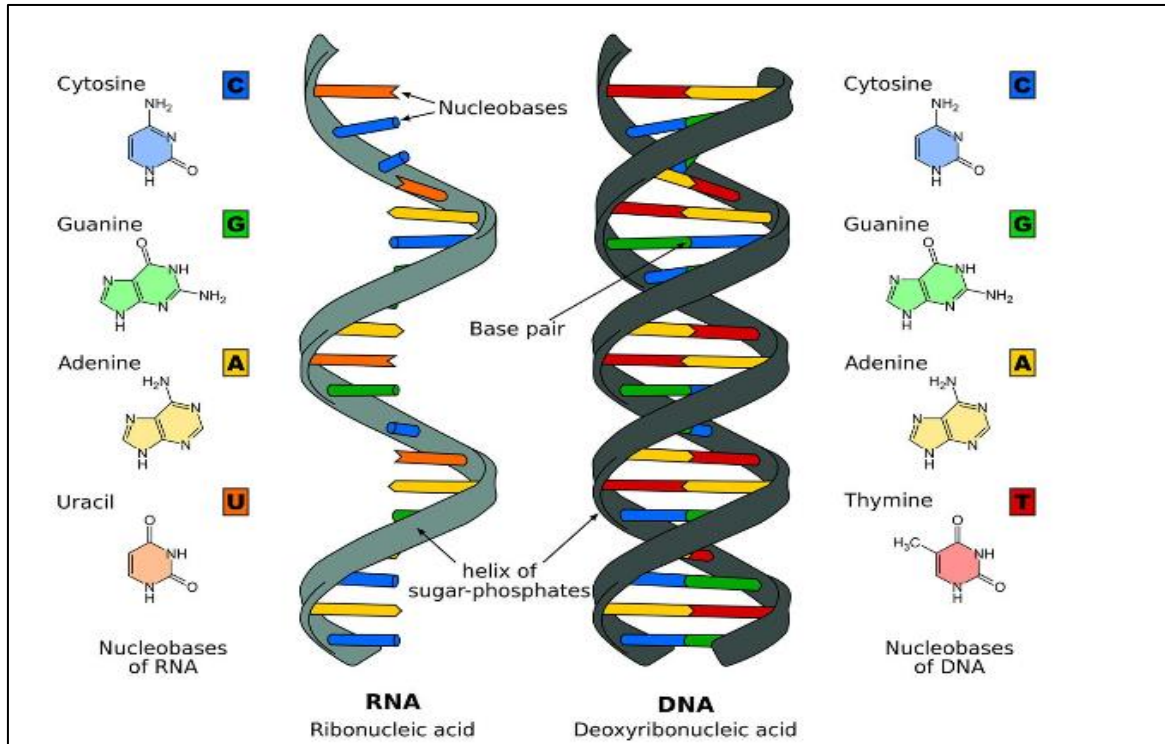
Glutatyon (GSH)

Hücredeki önemli fonksiyonları üslenmesinin (DNA, protein sentezi, enzim aktivitesi regülasyonu gibi) yanında antioksidan görevi de vardır [39]. İnsan vücudundaki glutatyonun en önemli kaynağı karaciğerdir [40].

Oksidatif strese azalma eğilimi gösterdiğinden dolayı, oksidatif stresin ölçümünde kullanılan bir antioksidandır. [41]. Diğer nonenzimatik antioksidanlar α -lipoik asit, bakır, çinko, selenyum gibi elementler, folik asit, ürik asit, albumin gibi kofaktörler, B1, B2, B6, B12 gibi vitaminlerdir [34].

2.5. DNA ve Yapısı

Çift sarmallı bir molekül olan DNA polideoksiribonükleotittir. Bu yapıda birbirlerine, kovalent olarak 3'-5' fosfodiester bağı ile bağlanmış birçok monodeoksiribonükleotit bulunur. Her bir DNA nükleotidinde bir pentoz şeker, bir fosfat grubu ve azot içeren bir baz bulunmaktadır. DNA zincirinin ana çatısını deoksiriboz-fosfat iskeleti oluşturur. Bazlar pürin (A, G) veya pirimidin (C, T) gruplarından oluşur. 2 polinükleotid zincire ait birbirinin tamamlayıcısı karşılıklı bazlar arasında meydana gelen hidrojen bağları sayesinde DNA'nın ikili zincir yapısı oluşur [43,44].



Şekil 2.2. DNA'nın Yapısı [45]

2.5.1. Reaktif oksijen türlerinin DNA üzerine etkileri

DNA, ROS aracılı hasarın en önemli hedeflerinden birisidir, ROS artışı sonucu mitokondriyal DNA hasarı ve disfonksiyonu oluşur. ROS nükleotidlerde oksidatif değişikliğe sebep olarak DNA replikasyonunda defekte yol açabilir [43]. Oksidatif DNA hasarı mutajenite, karsinojenite ve yaşlanma gibi farklı seviyelerde değişikliklere yol açmaktadır. Bu hasar mekanizması, karbon merkezli şeker radikallerinin ve OH- veya H-

bağlanmış heterosiklik baz radikallerinin oluşumuna yol açan, serbest radikallerin ayrılma ve birleşme tepkimelerinden ibarettir.

2.5.2. Oluşan DNA hasarlarının gruplandırılması

- Baz modifikasyonları (Pürin, pirimidin bazları)
- Şeker gruplarında modifikasyonlar
- DNA- protein arasında çapraz bağların (cross-linkler) kurulması
- DNA zincir kırıkları

2.5.3. Pürin baz modifikasyonları

DNA oksidatif hasar çalışmalarında en çok incelenmiş hasar ürünlerinin başında 8 oksoguanin gelmektedir. Guaninin 8. pozisyonunda okside olması ile 7,8 dihidro-8 okso guanin (8-oksoG) oluşmaktadır. 8-oksoG genellikle DNA oksidatif stres belirleyicisi olarak kullanılabilir. 8-oksoG sitozin yerine yanlışlıkla adenin ile karşılıklı gelebilir. Eğer DNA replikasyonu öncesinde onarılmazsa 8-oksoG, GC--TA transversiyonuna yol açar. Bu nedenle 8-oksoG mutajeniktir [44, 46].

DNA'da oluşan diğer bir lezyon da 8-okso-2'deoksiguanozindir (8-oksodG). 8-oksodG, guaninin ROS aracılı 8-hidroksilasyonu ile oluşur ve oksidatif DNA hasarının iyi tanımlanmış bir belirleyicisidir. Önce 8-okso-7,8-dihidrideoksiguanozin trifosfat (8-oksodGTP) oluşur ve DNA'da baz değişikliğine yol açar ve sonra 8-okso-7,8-dihidro-2` deoksiguanozin oluşumu gerçekleşir [43]. Süperoksit dismutaz etkisiyle, mitokondrial DNA'da 8-oksodG'in biriktiği gösterilmiştir [47].

2.6. DNA Hasarı Tamir Mekanizmaları

DNA tamiri, genomun bütünlüğünü korumaya yönelik olarak düzenlenmiş bir savunma sistemidir [48]. DNA'da oluşan oksidatif hasar sonucu bazlarda oluşan küçük kimyasal değişimlerin tamirinden başlıca sorumlu arayol, baz eksizyon onarım yoludur (BER-base excision repair pathway) [46]. Hasarlı bazı tanıyıp uzaklaştıran DNA glikozilaz enzimidir. Bazlara spesifik birçok glikozilaz türü tanımlanmıştır. Pek çok DNA oksidatif DNA lezyonu

arasında 8-oxoG, ROS tarafından en çok oluşturulan okside bazdır; 8-oxoG, DNA glikozilaz BER arayolunu harekete geçiren en önemli enzimdir. Bir diğer tamir arayolu da nükleotid eksizyon onarım yoludur [49,50].

2.7. DNA Hasarının Tayini

Oksidatif DNA baz hasarı, prensip olarak; ya hasar ve onarım arasındaki dengeyi yansıtan DNA'da kararlı durum hasarının ölçümü, ya da spontan veya enzim katalizli hidrolizle DNA'dan serbest kalan nükleozid veya bazların izlenmesiyle olur [51]. Deoksiriboz fragmentasyonu rutin analizlerle çok zor ölçümlenebilen birçok ürün oluşturduğundan, DNA'da meydana gelen oksidatif hasarın tespiti için yapılan farklı araştırmalarda, modifiye bazlar analizlenmektedir [52]. Ölçümüne en sık başvurulanan gösterge ise oksidatif DNA baz hasar göstergesi 8-hidroksiguanin (8-OHG) ve onun deoksiriboz bağlı şekli olan 8-hidroksideoksiguanozindir (8-OHdG). Diğer ölçülebilir baz hasar ürünleri; 8-hidroksiadenin, 2-hidroksiadenin, 2,6- diamino-4-hidroksi-5-formamidopirimidin, timin glikol, 5-hidroksimetilurasil, 5,6-dihidrositozin olarak belirtilebilir [51, 53]. Oksidatif DNA hasarı canlı organizmalarda önemli bir mutasyon yükü kaynağıdır ve hidroksil radikali DNA'daki bazlara ve deoksiriboz kalıntılarına saldıran ana aktif oksijen türüdür. Mevcut veriler, mesleki veya çevresel maruziyetler ve 8-OHdG'nin indüksiyonu arasında hala iyi belirlenmiş doz-yanıt ilişkilerinin olmadığını göstermektedir. Çelişkili sonuçlara rağmen, bazı çalışmalar 8-OHdG için kimyasal maruziyetle ilgili oksidatif stresin bir biyobelirleyicisi olarak umut vermektedir.

Oksidatif DNA hasarı tayinine bir başka yaklaşım da idrarla atılan DNA baz ürünlerinin saptanmasıdır. Bu ölçüm, vücuttaki total DNA hasarının göstergesi olarak kabul edilebilir. Oksidatif hasar ürünleri arasında en sık ölçümlenen 8-OHdG'dir [54]. Genellikle 8-OHdG'i tanıyan antikorları içeren kolonlarda idrar yoğunlaştırıldıktan sonra HPLC-ECD ile ölçülür [55].

Oksidatif baz hasarlarının ölçümüne yönelik ideal metodun saptanabilmesi için birçok çalışma yapılmıştır. İdeal metottan kasıt, 106 normal nükleozide karşılık 1 gibi düşük miktarlardaki modifikasyonları bile tespit edebilecek hassasiyete ve girişim vermesi muhtemel bileşiklerle minimal kontaminasyona girecek hassasiyete sahip metotlardır.

DNA'daki oksidatif baz hasarının izlenmesine yönelik, başlıca direkt yaklaşım ve indirekt yaklaşım olmak üzere iki yaklaşım vardır. Kullanılan her yöntemin kendine göre avantajları ve dezavantajları vardır.

Direkt yaklaşımda ilk olarak enzimatik veya kimyasal hidroliz yolu ile DNA izole edilir. Bu basamak kritik bir basamaktır, çünkü izolasyonun kendisi, oksidasyon reaksiyonlarını indükleyebilir. Sonra DNA içeriği, küçük parçalarına ayrılır ve farklı analitik metotlarla ölçüm yapılır. Oksidatif baz modifikasyonlarını ölçmekte kullanılabilen dört ana yöntem vardır [51].

- Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografi (high pressure liquid chromatography- HPLC)-Elektrokimyasal Tarama (electrochemical detection- ECD) (HPLC+ECD) yöntemi (Direkt yaklaşıma örnek)
- Gaz kromatografisi (gas chromatography) – Kütle Spektrometresi (mass spectrometry) (GC+MS) yöntemi (Direkt yaklaşıma örnek)
- İzole DNA derive materyali (örn. nükleosidler veya bazlar) uygun bildirgeç ile işaretleme (Post-labeling yöntemi) (İndirekt yaklaşıma örnek)
- Onarım endonükleazlar ile oksidatif DNA baz hasarının ölçümü

DNA oksidatif hasarının tespitine yönelik farklı laboratuvarlarda, birbirinden farklı birçok sonucun elde edilmesi nedeniyle, 1997 yılında Avrupa Birliği'nce de desteklenen Oksidatif DNA Hasarında Avrupa Standartları Komitesi (European Standarts Commitee on Oxidative DNA Damage- ESCODD) kuruldu. 27 üye laboratuvar bulunan komisyonun amacı 8-oxoG ve 8-oxodG ölçümünde kesinlik ve doğruluk sağlamak olarak bildirilmiştir. Komite tarafından yayınlanan kalite kontrol raporları, son yıllarda ölçüm sonuçlarında daha iyi veriler elde edildiğini göstermektedir [56].

2.7.1. Yüksek basınçlı sıvı kromatografi + elektrokimyasal tarama (HPLC-ECD)

HPLC protein kökenli maddelerin tetkikinde en gelişmiş yöntemdir ve bütün aminoasitler ile ilişkili yapıları tetkik etmek mümkündür. 8-OHdG, enzimatik hidrolizle DNA'dan bağımsız hale getirilir. DNA hidrolizatında bulunan 8-OHdG, yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile ayrılır ve elektrokimyasal dedeksiyon ile tarama yapılır [57,58].

2.7.2. Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC/MS)

Kısaca, GC/MS tekniği ile DNA'nın formik asitçe yoğun bir yüzeyde yüksek ısıya maruz bırakılarak hidrolize edilmesidir. Bu hidrolizat sonucu hasarlı çıktılar kromatograf ile ayrıştırılarak kütle spektrometre ile ölçülür.

2.7.3. Post-labeling yöntemi

Fosfor 32 (32P) ile işaretleme için kullanılır. DNA, önce nükleotid monofosfatlara hidroliz edilir. Nükleotid monofosfatlar, polinükleotid kinaz ve radyoaktif işaretli ATP ile işaretlenirler. 32P ile işaretli deoksineotidler, ince tabaka kromatografisi (thin-layer chromatography (TLC) ile birbirinden ayrılır ve otordiyografi ile taranır [59,60].

2.7.4. Onarım endonükleazları ile oksidatif baz hasarının ölçümü

Özgün enzimler aracılığı ile DNA modifiye bazlardan kırarak tek dal kırıklar haline getirilir. 8-OHdG ve diğer guanin ürünlerini tanıyan bir onarım enzimi olan FAAPy glikozilaz (Fpg protein) kullanılır. İki ölçüm esas alınarak işleme tabi tutulur. Bunlardan ilki enzimatik işlemden önce yapılan ölçüm ve ikincisi ise işlem tamamlandıktan sonra yapılan ölçümdür. Yapılan ölçümlerle kırılan dalların karşılaştırması yapılarak okside bazlar ölçülür. Dal kırıkları alkali elüsyon, comet assay (single-cell gel elektroforezi) gibi yöntemlerle saptanır [61, 62].

2.8. Zebra Balığı' nın Genel Özellikleri

Bu tür 1930'lardan beri yaygın olarak üzerinde çalışılan bir balıktır [63]. Üzerinde zebraı andıran yatay siyah çizgiler olduğundan Zebra balığı olarak adlandırılır [64]. Akvaryumlarda yaygın bir şekilde süs olarak kullanılır ve Cyprinidae familyasının bir üyesi olup doğal olarak Bengal'den Hindistan'ın Coromandel sahillerine kadar bulunur [65]. Oldukça hareketli bir balık olup, diğer balıklarla beraber uyumlu içinde yaşarlar ve sürü halinde yaşamaktan hoşlanırlar. Boyları dişilerde 5 cm'ye kadar ulaşabilir [64].

Zebra balığı (*Danio Rerio*) doğal yaşamı Himalaya Bölgesi olan küçük bir tropikal tatlı su balığıdır. 1970 ve 1980'li yılların başlangıcında gelişim biyolojisi çalışmaları ile bilim

dünyasına adım atan zebra balıklarının günümüzde insan hastalıklarında model organizma olarak popülaritesi artmaktadır [3]. Zebra balığı embriyolojik ve genetik olarak izlenebilen ideal bir omurgalı model olarak tanımlanmaktadır.



Resim 2.4. Zebra Balıkları

İnsanla yüksek genetik ve organ homolojisi göstermesi, embriyonun şeffaf olması nedeni ile dış ortamda gelişiminin izlenebilir olması, küçük boyutu, kısa gelişim ve üretim süresi, yüksek sayıda yumurta (200'ün üzerinde/ dişi/ hafta) üretimi ve düşük bakım masrafı gibi avantajları ile diğer klasik omurgalı modellerden ayrılmaktadır [4].

Son yıllarda Zebra balığı (*Danio Rerio*) yumurtaları ve embriyolarının ekotoksikoloji çalışmalarında çok fazla kullanılma sebeplerinin başında, dayanıklı bir tür olmalarının yanı sıra kolay bulunur olması, laboratuvar ortamında kolay bakılması ve üremesi, dış döllemeyle üremesi, yumurta ve embriyolarının saydam oluşundan dolayı tercih edilmektedir. Ayrıca yumurta ve larva gelişiminin kolay gözlemlenmesi, kısa sürede ergin hale gelmesi ve embriyolarının toksik maddelere karşısında duyarlılık göstermesi ve buna benzer özelliklerinden dolayı da birçok çalışmada oldukça sık kullanılan bir test organizması olmuştur.

Son yıllarda Zebra balığı ile insan ve diğer omurgalıların genom yapılarındaki benzerlik, metabolizma ve embriyo gelişimlerinin neredeyse aynı olması hastalıklarının araştırılmasında çok tercih edilen bir organizma olmasını sağlamıştır. Zebra balığında keşfedilen tümör baskılayıcı genin (sitokrom P450 grubu) insanlarda da olması bu model organizma ile ilgili yapılan çalışmaların daha da önem kazanmasını sağlamıştır. Dişilere

göre erkek zebra balıklarının daha ufak görünmesinin sebebi karınlarının düz görünmesidir. Balıkların vücudunda baştan kuyruğa kadar (kuyrukta dâhil) 7 -9 tane mavi çizgi vardır ve vücut rengi genel olarak gümüş rengindedir. Erginleşmemiş erkek ve dişilerin ayırt edilmesi, belirsiz seks karakterlerinden dolayı çok zordur. Erginleşmemiş erkek balıklar erginleşmemiş dişi balıklara nazaran daha büyük anal yüzgeçlere sahiptirler. Dişilerin genital papillası daha belirgindir. Ayrıca bu tür balıkların karınları oldukça şişkin ve tombuldur [66].

Zebra balığı (*Danio Rerio*), omurgalı gelişimi, ilaç keşfi için küçük molekül taraması, hastalık modellemesi ve fonksiyonel sinirbilim gibi birçok modern biyomedikal araştırma alanı için daha yaygın kullanılan ve giderek daha güçlü bir model organizması haline gelmektedir.

Çalışmada NaOM maddesinin zebra balıkları üzerindeki etkisinin insanlardaki etkisine büyük katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu çalışmada farklı derişimlerde ve farklı maruziyet sürelerinde NaOM'e maruz bırakılmış zebra balıklarında oksidatif DNA hasarı, süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi ve katalaz (CAT) enzim aktivitesi belirlenerek NaOM'un genotoksik ve antioksidan sistem üzerine etkileri araştırılmıştır.

3.1.1. Araştırma yeri

Deneyler Ocak 2018'de Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.1.2. Laboratuvar şartları

Balıkların bulunduğu oda 14 saat aydınlık, 10 saat karanlık olacak şekilde fotoperiyot kurularak balıkların yaşaması için uygun koşullar sağlanmıştır.

3.1.3. Akvaryum ve suyun özellikleri

Belli hacimli akvaryumlara, deneylerden önce, içinde yaklaşık 10 L dinlendirilmiş ve havalandırılmış kaynak suyu konulup; akvaryumlar, hava motorları yardımıyla sürekli havalandırılmış ve termostatlı ısıtıcılarla su sıcaklığı $23\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de sabit tutulmaya çalışılmıştır. Akvaryum suyunda su kalitesi, suda çözünmüş oksijen, pH, iletkenlik, sertlik, sıcaklık ile amonyak, nitrit, nitrat konsantrasyonları alıştırma periyodunda 2 günde bir ölçülmüştür [67]. Çalışmada kullanılan suyun; pH'sı 7,2, çözünmüş oksijeni 5,4 mg/L ve iletkenliği de 75,7 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (21°C) bulunmuştur.

3.1.4. Zebra balıklarının temini ve adaptasyonu

Deney ortamına adaptasyonunun sağlanması için deney başlamadan 15 gün önce stok akvaryumuna alınan 56 adet (dişi/erkek eşit dağılım) zebra balığı 10x20x35 boyutlarındaki

6 adet deney akvaryumlarına yerleştirilmiştir. Balıkların boy ve ağırlıkları hassas terazi vasıtasıyla tartılarak, çalışmada 3-4,5 cm boylarındaki balıklar kullanılmıştır. Adaptasyon süresi esnasında balıklar günde vücut ağırlıklarının %2'si oranında uygun yemle beslenmiştir. Akvaryumlar sürekli havalandırılmış ve düzenli beslenme sağlanmıştır. Yem ve metabolizma atıklarının uzaklaştırılması için günlük sifonlamaları yapılmıştır.

3.1.5. Kullanılan cihazlar, kimyasallar ve kitler

Cihazlar

- Spektrofotometre (Shimadsu UV-1601)
- Hassas Terazi (Shimadsu Ax 200)
- Mini Spin Plus (Eppendorf max.14500 rpm)
- Havalandırma Motoru (Aquawing Aquarium air pump)
- Vorteks (Heidolph Reax 2000)
- Nanodrop
- Etüve (nüve N500)
- Su banyosu (Leica HI1210)

Kitler

- DNA İzolasyon Kiti
- Oxidative DNA Damage Kiti
- SOD ELİZA Kiti
- CAT Kiti

Sarf malzemeler

- 10 µl, 100 µl, 1000 µl'lik otomatik mikropipet (Socorex)
- Piset, cam tüp
- Balon joje, mezür
- Eppendorf tüpü
- Akvaryum

- Pens, bistüri
- Buz kalıbı
- Temiz gazlı bez veya havlu kâğıt, filtre kâğıdı

3.1.6. Kullanılan kimyasal maddeler ve hazırlanışı

Sodyum omadin; suda çözünen bir madde olduğundan %40'lık NaOM hazır solüsyondan her birinde 10 lt su bulunan akvaryumlardan, 2 akvaryuma 1µg/mL NaOM ve 2 akvaryuma ise 5µg/mL NaOM içerecek şekilde otomatik pipetle dozlama yapılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Subletal toksisite deneyleri

Literatür çalışmasında ekotoksikolojik çalışmalarda standart tür olan Zebra balıkları üzerine NaOM'in akut toksisitesine ilişkin çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle farklı konsantrasyon aralıkları denenerek ön çalışmalar yapıp, deney için uygun konsantrasyon belirlenmiştir. Öncelikle LC50 değerleri hesaplanmış ve daha sonra akut toksisite testleri verilerinin ışığında subletal konsantrasyonlar belirlenmiştir. Etkin madde uygulamasını takip eden 24, 72 ve 96. saatlerde planlanan deneyler için örnekler alınmıştır.

3.2.2. Deney hayvanlarının hazırlanması

Her seçilen doz için 3 farklı zamanda (24,72 ve 96 saatlerde) örnekleme yapıldı. Her zaman aralığı için 10 deney ve tüm deneyler için 6 balıktan oluşan tek kontrol grubu kullanılmıştır. İki farklı doz, üç farklı zaman ve tek kontrol örnekleme yapılması ile toplam 56 adet balık içeren akvaryumlarda deney ve kontrol grupları oluşturulmuştur.

1. Akvaryum (Kontrol),
2. Akvaryum (Kontrol),
3. Akvaryum (1µg/mL NaOM),
4. Akvaryum (1µg/mL NaOM),
5. Akvaryum (5µg/mL NaOM),
6. Akvaryum (5µg/mL NaOM).

Bu çalışma 7 grup olarak planlanmış ve 6 akvaryumda çalışma balıkları eşit koşullarda stoklanmıştır. Popülasyonu yansıtmaları için akvaryumlarda dişi ve erkek balık sayısı eşit tutulmuştur. Grupların dağılımı aşağıdaki şekilde olmuştur:

Grup 1 (Kontrol)

Birinci akvaryumdaki balıklar standart şartlarda izlenip, deney ile uyumlu saatin sonunda örnekleme yapılmıştır.

Grup 2 (24 saat, 1 µg/mL)

1 µg/mL NaOM ile dozlanan akvaryumdaki balıklardan 24. saatin sonunda örnekleme yapılarak bu grup oluşturulmuştur.

Grup 3 (24 saat, 5 µg/mL)

5 µg/mL NaOM eklenen akvaryumdaki balıklardan 24. saatin sonunda örnekleme yapılarak bu grup oluşturulmuştur.

Grup 4 (72 saat, 1 µg/mL)

1 µg/mL NaOM eklenen akvaryumdaki balıklardan 72. saatin sonunda örnekleme yapılarak bu grup oluşturulmuştur.

Grup 5 (72 saat, 5 µg/mL)

5 µg/mL NaOM eklenen akvaryumdaki balıklardan 72. saatin sonunda örnekleme yapılarak bu grup oluşturulmuştur.

Grup 6 (96 saat, 1 µg/mL)

1 µg/mL NaOM eklenen akvaryumdaki balıklardan 96. saatin sonunda örnekleme yapılarak bu grup oluşturulmuştur.

Grup 7 (96 saat, 5µg/mL)

5 µg/mL NaOM eklenen akvaryumdaki balıklardan 96. saatin sonunda örnekleme yapılarak bu grup oluşturulmuştur.

3.2.3. Biyokimyasal analizler

Gruplardaki balıklar kafası ve kuyrukları koparılıp sıvı nitrojende dondurularak DNA izolasyonu ve doku enzim çalışmalarına kadar -80° C de saklandı. Tüm balık dokusundan DNA izolasyonu yapıldı, uygun DNA elde edilip edilmediği jelde görüntülenerek tespit edildi, elde edilen DNA nükleaz p1 ve alkalin fosfataz ile hidroliz edilerek DNA/RNA oksidatif hasarı (8-OHdG) tayini enzim immün yöntem prensibini içeren kit ile yapılmıştır. Deneyin bu aşamasında Cayman DNA/RNA Oksidatif Hasar EIA (Ürün No: 589320) ticari kit kullanılmıştır.

Antioksidan enzim tayin için doku miktarına bağlı olarak süperoksit dismutaz enzim aktivitesi (SOD) ve katalaz (CAT) enzim aktivite tayini yapıldı. Sonuçlar 100 mg doku başına verilmiştir.

Süperoksit dismutaz enzim aktivite tayini (SOD)

Yöntemin esası, ortamda oluşturulan süperoksitin süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile ortadan kaldırılması ve kalan miktarın boyanarak renklenmesine dayanan Sun Y' in 1988'de tanımladığı ksantin oksidaz (XO) ile O_2^- oluşturmaları ve bunun da NBT ile renkli bir bileşik oluşturarak bu renk şiddetinin spektrofotometrik olarak ölçülmesidir. Doku ½ oranında distile su ile homojenizatör kullanılarak homojenize edilir. Homojenize edilen doku 5000xg'de +4 °C'de 30 dakika santrifüj edilerek, süpernatant kloroform-etanol karışımıyla (1/1) oranında karıştırılır. Daha sonra +4°C'de 5000xg'de 2 saat santrifüj edilir. Daha sonra total SOD için her tüpe 2.9 ml reaktif karışımı + 50 µl numune + 50 µl XO konulur. 25°C'de 20 dakika inkübe edildikten sonra her birine 0.8 mM $CuCl_2$ 'den 1 ml eklenir 560 nm'de distile su körüne karşı okunur [68]. Çalışma bu prensibi esas alan Cayman SOD Eliza Kiti (Ürün No: 706002) ile yapılmıştır.

Hesaplama

$$\% \text{ inhibisyon} = [(K\ddot{ö}r \text{ abs-numune abs}) / k\ddot{ö}r \text{ abs}] \times 100$$

Hesap %50 inhibisyonu 1 U aktivitenin sağladığı düşünülerek yapılır. SOD aktivitesi U/100 mg doku olarak bulunmuştur.

Katalaz enzim aktivite tayini (CAT)

Yöntem, hidrojen peroksitin yıkımı esasına dayanmaktadır. Doku homojenizasyonunda dokunun gramı başına 5-10 ml soğuk tampon kullanılır. Tampon 50 mM potasyum fosfat, pH 7.0 ve 1 mM EDTA içermektedir. 10,000xg'de 15 dakika +4°C'da santrifüj sonrası süpernatant alınır ve deneye kadar -80°C'de saklanır. Enzimin metanol ile reaksiyonunda optimal konsantrasyonunda H₂O₂ oluşumu temeldir. Üretilen formaldehit kromojen olarak 4-amino-3-hydrazino-5-mercapto-1,2,4-triazole ile spektrofotometrik olarak ölçülür [69]. Çalışma bu prensibi esas alan Cayman CAT Kiti (Ürün No: 707002) ile yapılmıştır.

3.2.4. Verilerin analizi

Yapılan deney sonuçlarına ait veriler Windows için SPSS 21.0 istatistik programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Değişkenler için ortalama ve standart sapmalar hesaplanmıştır. İstatistiksel anlamlılık değeri aşağıdaki gibi değerlendirilmiştir. p<0.05 anlamlı, p<0.01 yüksek düzeyde anlamlı, p< 0.001 çok yüksek düzeyde anlamlıdır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada 1 ve 5 µg/mL konsantrasyonda NaOM'e farklı sürelerde maruz bırakılan zebra balıklarında DNA hasarı, SOD ve CAT enzim düzeyleri tüm vücut dokusunda belirlenerek çevresel kirlenici NaOM'in zebra balıklarında (*Danio Rerio*) genotoksik ve antioksidan sistem üzerine etkileri araştırılmıştır.

4.1. Farklı Zamanlarda Zebra Balıklarının Boy ve Ağırlıklarına İlişkin Bulgular

Bu çalışmada kontrol grubu, 1 µg/mL NaOM ve 5 µg/mL NaOM'a maruz bırakılan deney gruplarındaki zebra balıklarına 24,72 ve 96. saatlerde ötenazi uygulanmıştır. Her grupta belli sayıdaki balık işleme alınmadan önce boy-ağırlık tespiti yapılarak sonuçlar Çizelge 4.1.- 4.3. arasında tablolar halinde verilmiştir.

24. saat sonunda Zebra balıklarının boy ve ağırlıkları a) Kontrol, b) 1µg/mL NaOM, c) 5µg/mL NaOM

Çizelge 4.1. 24 saat sonunda Zebra balıklarının boy ve ağırlıkları

(a) Kontrol			(b) 1µg/mL NaOM			(c) 5µg/mL NaOM		
Grup1 KONTROL			Grup 2 (24 saat, 1µg/mL NaOM) DÜŞÜK DOZ NaOM			Grup 3 (24 saat, 5 µg/mL NaOM) YÜKSEK DOZ NaOM		
No	Boy (Cm)	Ağırlık (g)	No	Boy (Cm)	Ağırlık (g)	No	Boy (Cm)	Ağırlık (g)
1	4,1	0,550	1	4,3	0,633	1	4,2	0,447
2	3,9	0,532	2	4,1	0,564	2	4,1	0,472
3	4,0	0,585	3	4,1	0,447	3	4,0	0,468
4	4,0	0,523	4	4,0	0,532	4	3,8	0,428
5	3,8	0,485	5	4,2	0,551	5	3,9	0,633
6	4,2	0,544	6	3,7	0,415	6	3,7	0,487
7	4,3	0,629	7	4,0	0,582	7	3,9	0,540
8	4,0	0,546	8	3,9	0,522	8	3,8	0,546
$\bar{x}$	4,0	0,549	$\bar{x}$	4,0	0,531	$\bar{x}$	3,9	0,503

Çizelge 4.2. 72. saat sonunda Zebra balıklarının boy ve ağırlıkları

(a) Kontrol			(b) 1µg/mL NaOM			(c) 5µg/mL NaOM		
Grup 1 KONTROL			Grup 4 (72 saat, 1µg/mL NaOM) DÜŞÜK DOZ NaOM			Grup 5 (72 saat, 5 µg/mL NaOM) YÜKSEK DOZ NaOM		
No	Boy (cm)	Ağırlık (g)	No	Boy (cm)	Ağırlık (g)	No	Boy (cm)	Ağırlık(g)
1	4,1	0,550	1	4,1	0,566	1	4,0	0,507
2	3,9	0,532	2	3,9	0,503	2	4,3	0,685
3	4,0	0,585	3	4,1	0,551	3	4,1	0,526
4	4,0	0,523	4	3,8	0,495	4	4,5	0,736
5	3,8	0,485	5	4,0	0,504	5	4,3	0,500
6	4,2	0,544	6	3,9	0,510	6	4,3	0,752
7	4,3	0,629	7	3,8	0,545	7	4,2	0,602
8	4,0	0,546	8	4,0	0,519	8	4,1	0,493
$\bar{x}$	4,0	0,549	$\bar{x}$	3,95	0,524	$\bar{x}$	4,2	0,600

Çizelge 4.3. 96. saat sonunda Zebra balıklarının boy ve ağırlıkları

(a) Kontrol			(b) 1µg/mL NaOM			(c) 5µg/mL NaOM		
Grup 1 KONTROL			Grup 6 (96. Saat, 1µg/mL NaOM) DÜŞÜK DOZ NaOM			Grup 7 (96. Saat, 5 µg/mL NaOM) YÜKSEK DOZ NaOM		
No	Boy (Cm)	Ağırlık (g)	No	Boy (Cm)	Ağırlık (g)	No	Boy (Cm)	Ağırlık (g)
1	4,1	0,550	1	3,9	0,443	1	4,0	0,585
2	3,9	0,532	2	3,8	0,502	2	4,1	0,549
3	4,0	0,585	3	3,7	0,379	3	4,1	0,546
4	4,0	0,523	4	4,1	0,542	4	4,2	0,567
5	3,8	0,485	5	4,0	0,522	5	4,4	0,637
6	4,2	0,544	6	4,1	0,458	6	4,2	0,539
7	4,3	0,629	7	4,2	0,373	7	4,1	0,545
8	4,0	0,546	8	4,2	0,460	8	4,0	0,667
$\bar{x}$	4,0	0,549	9	4,1	0,532	9	4,1	0,570
			$\bar{x}$	4,0	0,467	$\bar{x}$	4,1	0,578

Deney ve kontrol gruplarındaki balıkların boy ve ağırlık ortalamalarının arasında fark olmadığı görülmüştür.

Çizelge 4.4. DNA izolasyonu Mobio kit kullanılarak ve DNA miktar tayini nanodrop kullanılarak tüm örnekler için ölçüm yapılmıştır.

	260/ 280	Konsantrasyon (pg /mL)		260/ 280	Konsantrasyon (pg /mL)		260/ 280	Konsantrasyon (pg /mL)
24 saat 1µg/L			72 saat 1µg/L			96 saat 1µg/L		
1	2,43	101,5	1	2,77	31,4	1	2,56	14,1
2	3,56	23,2	2	1,41	17,3	2	1,78	36,2
3	1,42	14,8	3	2,36	74,8	3	2,96	15,7
4	0,77	3,1	4	2,56	51,6	4	2,35	96,8
5	2,36	6,6	5	1,14	8,4	5	1	6,3
24 saat 5 µg/L			72 saat 5µg/L			96 saat 5µg/L		
1	0,63	1,2	1	1,58	21,9	1	0,03	0,1
2	1,61	14,3	2	2,47	66,2	2	1,73	19,9
3	1,51	14,7	3	2,65	51,4	3	0,41	1,4
4	1,68	26,8	4	7,59	11	4	6,29	15,6
5	1,76	26,3	5	0,09	0,3	5	1,46	16,6



Resim 4.1. Nano drop

Çizelge 4.5. Zebra balıklarında farkı zamanlarda ölçülen DNA/RNA hasarı (8-OHdG, pg/100 mg doku), SOD (U/100 mg doku) ve CAT (μ M formaldehit/100 mg doku) ham verileri.

İsim	Grup	DNA/RNA hasarı (pg /100 mg doku)	SOD (U/100 mg doku)	CAT (μ M formaldehit/100 mg doku)
Kontrol	0	1458,36	1,254	10,44
Kontrol	0	1258,25	1,002	8,5
Kontrol	0	980,25	0,988	5,97
Kontrol	0	1120,36	0,902	8,28
24s NaOM 1ug/L	1	1323,006	0,59	77,17
24s NaOM 1ug/L	1	1340,048	0,312	66,814
24s NaOM 1ug/L	1	1396,031	0,518	70,542
24s NaOM 1ug/L	1	1306,074	0,738	53,467
24s NaOM 1ug/L	1	1250,091	0,77	55,481
24s NaOM 1ug/L	1	-	0,498	59,25
24s NaOM 5ug/L	2	950,85	0,54	45,937
24s NaOM 5ug/L	2	937,991	0,368	53,244
24s NaOM 5ug/L	2	1185,937	0,44	49,143
24s NaOM 5ug/L	2	1433,991	0,644	53,915
24s NaOM 5ug/L	2	1420,916	0,697	91,792
24s NaOM 5ug/L	2	-	0,582	52,987
72s NaOM 1ug/L	3	1174,717	0,489	74,494
72s NaOM 1ug/L	3	1450,598	0,574	64,13
72s NaOM 1ug/L	3	863,978	0,601	85,902
72s NaOM 1ug/L	3	1485,655	0,651	17,603
72s NaOM 1ug/L	3	896,637	0,889	39,45
72s NaOM 1ug/L	3	-	0,601	49,258
72s NaOM 5ug/L	4	1088,649	0,98	49,217
72s NaOM 5ug/L	4	1064,762	0,722	35,24
72s NaOM 5ug/L	4	905,815	0,8	58,14
72s NaOM 5ug/L	4	1112,931	1,025	42,98
72s NaOM 5ug/L	4	1271,088	1,351	50,52
72s NaOM 5ug/L	4	-	0,969	47,359
96s NaOM 1ug/L	5	1634,296	0,536	55,21
96s NaOM 1ug/L	5	1304,26	0,594	49,516
96s NaOM 1ug/L	5	974,27	0,674	37,876
96s NaOM 1ug/L	5	1005,141	0,689	53,31
96s NaOM 1ug/L	5	-	0,878	51,667
96s NaOM 1ug/L	5	1548,25	0,785	48,236
96s NaOM 5ug/L	6	1099,051	0,55	52,2
96s NaOM 5ug/L	6	741,048	0,14	48,331
96s NaOM 5ug/L	6	1457,012	0,231	61,74
96s NaOM 5ug/L	6	889,091	0,354	45,881
96s NaOM 5ug/L	6	1309,079	0,445	52,849
96s NaOM 5ug/L	6	-	0,548	50,213

Gruplar arasındaki 8-OHdG (pg/100 mg doku), SOD (U/100 mg doku), Katalaz (CAT, μ M formaldehit/100 mg doku) konsantrasyonlarının değerlendirmesinde SPSS programı kullanılmıştır. Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney-U testleri uygulanarak sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir ($p<0.05$).

Çizelge 4.6. Zebra balığında oksidatif DNA/RNA (pg/100 mg doku) hasarı düzeylerine ait istatistiksel veriler

	Kontrol	1 μ g/L NaOM (24s)	5 μ g/L NaOM (24s)	1 μ g/L NaOM (72s)	5 μ g/L NaOM (72s)	1 μ g/L NaOM (96s)	5 μ g/L NaOM (96s)
	n=4	n=5	n=5	n=5	n=5	n=5	n=5
8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG)	1204,305	1326,750	1196,638	1149,490	1091,471	1344,925	1125,551
Oksidatif DNA/RNA hasarı	$\pm$ 203,880	$\pm$ 48,243	$\pm$ 217,680	$\pm$ 270,247	$\pm$ 116,714t	$\pm$ 298,778	$\pm$ 270,390

P^t: kontrol grubuna göre, $p<0.05$;

Çizelge 4.6.'de 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG, pg/100 mg doku), Zebra balığı (Danino Rerio) dokusundaki oksidatif DNA/RNA hasarı üç farklı zaman sürecinde (24, 72 ve 96 saat) ve iki farklı NaOM dozuna (1 μ g/L ve 5 μ g/L) maruz bırakılarak ölçülmüştür.

Çizelge 4.7. Zebra balığında SOD enzim aktivitesi (U/100 mg doku) düzeylerine ait istatistiksel veriler

	Kontrol	1 μ g/L NaOM (24s)	5 μ g/L NaOM (24s)	1 μ g/L NaOM (72s)	5 μ g/L NaOM (72s)	1 μ g/L NaOM (96s)	5 μ g/L NaOM (96s)
	n=4	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6
SOD aktivitesi (U/100 mg doku)	1,0365	0,5710	0,5451	0,634	0,974	0,692	0,378
	$\pm$ 0,151	$\pm$ 0,169a,e	$\pm$ 0,123a,e	$\pm$ 0,135a,e,g	$\pm$ 0,218b,c,d,f,g	$\pm$ 0,124a,e,g	$\pm$ 0,168a,d,e,f

p^a: kontrol grubuna göre, $p<0.05$;

p^b: 24 saat(1 μ g/mL NaOM) grubuna göre, $p<0.05$;

p^c: 24 saat(5 μ g/mL NaOM) grubuna göre, $p<0.05$;

p^d: 72 saat(1 μ g/mL NaOM) grubuna göre, $p<0.05$;

p^e: 72 saat(5 μ g/mL NaOM) grubuna göre, $p<0.05$;

p^f: 96 saat(1 μ g/mL NaOM) grubuna göre, $p<0.05$;

p^g: 96 saat(5 μ g/mL NaOM) grubuna göre, $p<0.05$;

Çizelge 4.7.'da Zebra balığı (Danino Rerio) dokusundaki süperoksit dismutaz enzim aktivitesi (SOD, U/100 mg doku), üç farklı zaman sürecinde (24, 72 ve 96 saat) ve iki farklı NaOM dozuna (1 μ g/L ve 5 μ g/L) maruz bırakılarak ölçülmüştür.

Çizelge 4.8. Zebra balıklarında CAT enzim aktivitesi (μM formaldehit/100 mg doku) düzeylerine ait istatistiksel veriler

	Kontrol	1 $\mu\text{g/L}$ NaOM (24s)	5 $\mu\text{g/L}$ NaOM (24s)	1 $\mu\text{g/L}$ NaOM (72s)	5 $\mu\text{g/L}$ NaOM (72s)	1 $\mu\text{g/L}$ NaOM (96s)	5 $\mu\text{g/L}$ NaOM (96s)
	n=4	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6
Katalaz (μM formaldehit/100 mg doku)	8.297 $\pm$ 1.830 ^x	63,787 $\pm$ 9,273 ^x	57,836 $\pm$ 16,912 ^x	55,139 $\pm$ 24.865 ^x	47,242 $\pm$ 7,689 ^{x,y}	49,302 $\pm$ 6,136 ^{x,y}	51,869 $\pm$ 5,470 ^{x,y}

P^x: kontrol grubuna göre, $p < 0.05$;

P^y: 24 saat(1 $\mu\text{g/mL}$ NaOM) grubuna göre, $p < 0.05$;

Çizelge 4.8’da Zebra balığı (Danio Rerio) dokusundaki CAT aktivitesi (μM formaldehit/100 mg doku), üç farklı zaman sürecinde (24, 72 ve 96 saat) ve iki farklı NaOM dozuna (1 $\mu\text{g/L}$ ve 5 $\mu\text{g/L}$) maruz bırakılarak ölçülmüştür.

Çizelge 4.9. Zebra Balıkları tüm vücut dokusunda ölçülen katalaz (CAT, μM formaldehit/100 mg doku) ve süperoksit dismutaz antioksidan enzim aktiviteleri (SOD U/100 mg doku), ve oksidatif DNA/RNA hasarı (8-OHdG, pg/100 mg doku) ortalama değerleri ve standart sapmaları

	CAT (μM formaldehit/100 mg doku) Ortalama $\pm$ std. sapma	SOD (U/100 mg doku) Ortalama $\pm$ std. sapma	8-OHdG (pg/100 mg doku) Ortalama $\pm$ std. Sapma
Kontrol	8.297 $\pm$ 1.830	1,0365 $\pm$ 0,151	1204,305 $\pm$ 203,880
24 saat (1 $\mu\text{g/mL}$ NaOM)	63,787 $\pm$ 9,273	0,5710 $\pm$ 0,169	1326,750 $\pm$ 48,243
24 saat (5 $\mu\text{g/mL}$ NaOM)	57,836 $\pm$ 16,912	0.5451 $\pm$ 0.123	1196,638 $\pm$ 217,680
72 saat (1 $\mu\text{g/mL}$ NaOM)	55,139 $\pm$ 24.865	0.634 $\pm$ 0.135	1149,490 $\pm$ 270,247
72 saat (5 $\mu\text{g/mL}$ NaOM)	47,242 $\pm$ 7,689	0.974 $\pm$ 0.218	1091,471 $\pm$ 116,714
96 saat (1 $\mu\text{g/mL}$ NaOM)	49,302 $\pm$ 6,136	0.692 $\pm$ 0.124	1344,925 $\pm$ 298,778
96 saat (5 $\mu\text{g/mL}$ NaOM)	51,869 $\pm$ 5,470	0.378 $\pm$ 0.168	1125,551 $\pm$ 270,390

Bu çalışmada Grup 1 (Kontrol), Grup 2 (1µg/L NaOM, 24s), Grup 3 (5µg/L NaOM, 24s), Grup 4 (1µg/L NaOM, 72s), Grup 5 (5µg/L NaOM, 72s), Grup 6 (1µg/L NaOM, 96s), Grup 7 (5µg/L NaOM, 96s) 'deki zebra balıklarından 24, 72, 96. saatlerde elde edilen tüm vücut dokularından CAT (µM formaldehit/100 mg doku), SOD (U/100 mg doku) ve oksidatif DNA/RNA Hasarı 8-OHdG (pg/100 mg doku), değerlerinin ortalama ve standart sapmaları hesaplanmış ve sonuçlar çizelge 4.9.'de verilmiştir.

Gruplar arasındaki katalaz (µM formaldehit/100 mg doku) enzim aktivitesi konsantrasyonlarındaki farka bakıldığında

Grupların ortalama katalaz (µM formaldehit/100 mg doku) değerleri elde edilerek gruplara göre karşılaştırma yapılmıştır.

Kontrol grubu ortalama değeri 8,297±1,830 (µM formaldehit/100 mg doku) olarak bulunmuştur. Bu değer 24. saat NaOM düşük doz CAT değeri ortalamasıyla (63,787±9,273 µM formaldehit/100 mg) karşılaştırıldığında ve 24. saat NaOM yüksek doz CAT değeri ortalamasıyla (57,836±16,912 µM formaldehit/100 mg) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde artış saptanmıştır (p=0.011). 72. saat NaOM düşük doz CAT ortalama değeri (55,139±24.865 µM formaldehit/100 mg) ve yüksek doz CAT değeri ortalaması ile (47,242±7,689 µM formaldehit/100 mg) karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı şekilde artış saptanmıştır (p=0.011) ve 96. saat NaOM düşük doz CAT ortalama değeri (49,302±6,136 µM formaldehit/100 mg) ve yüksek doz CAT ortalama değeri (51,869 ±5,470 µM formaldehit/100 mg) karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı şekilde artış saptanmıştır (p=0.011).

24. saat NaOM düşük doz CAT ortalama değeri 63,787±9,273 (µM formaldehit/100 mg doku) olarak bulunmuştur. Bu değer, 72. saat NaOM yüksek doz CAT ortalama değeri (47,242±7,689 µM formaldehit/100 mg doku) ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalma saptanmıştır (p= 0.010). Aynı şekilde bu değer, 96. saat NaOM düşük doz CAT ortalama değeri (49,302±6,136 µM formaldehit/100 mg doku) ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük saptanmıştır (p= 0.006) ve 96. saat NaOM yüksek doz CAT ortalama değeri (51,869 ± 5,470 µM formaldehit/100 mg doku) ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalma saptanmıştır (p= 0.016).

Gruplar arasındaki SOD (U/100 mg doku) konsantrasyonlarına bakıldığında

Grupların ortalama SOD (U/100 mg doku) değerleri elde edilerek gruplara göre karşılaştırma yapılmıştır.

Kontrol grubu değerleri ortalama $1,0365 \pm 0,151$ (U/100 mg doku) olarak bulunmuştur. Bu değer 24. saat NaOM düşük doz SOD değerleri ortalamasıyla ($0,5710 \pm 0,169$ U/100 mg doku) karşılaştırıldığında ve 24. saat NaOM yüksek doz SOD değerleri ortalamasıyla (0.5451 ± 0.123 U/100 mg doku) karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı azalma saptanmıştır ($p=0.011$). 72. saat NaOM düşük doz SOD değerleri ortalamasıyla (0.634 ± 0.135 U/100 mg doku) karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı azalma saptanmıştır ($p=0.010$). 96. saat NaOM düşük doz SOD değerleri ortalamasıyla (0.692 ± 0.124 U/100 mg doku) karşılaştırıldığında ve 96. saat NaOM yüksek doz SOD değerleri ortalamasıyla (0.378 ± 0.168 U/100 mg doku) karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı azalma saptanmıştır ($p=0.011$).

24. saat NaOM düşük doz SOD değerleri ortalama $0,5710 \pm 0,169$ (U/100 mg doku) olarak bulunmuştur. 72. saat NaOM yüksek doz SOD değerleri ortalamasıyla (0.974 ± 0.218 U/100 mg doku) karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı artış saptanmıştır ($p=0.010$). 72. saat NaOM yüksek doz SOD değerleri ortalamasıyla (0.974 ± 0.218 U/100 mg doku) karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı artış saptanmıştır ($p=0.004$).

72. saat NaOM düşük doz SOD değerleri ortalama 0.634 ± 0.135 (U/100 mg doku) olarak bulunmuştur. Bu değer, 72. saat NaOM yüksek doz SOD değerleri ortalamasıyla (0.974 ± 0.218 U/100 mg doku) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı artma saptanmıştır ($p=0.010$). 96. saat NaOM yüksek doz SOD değerleri ortalamasıyla (0.378 ± 0.168 U/100 mg doku) karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı azalma saptanmıştır ($p=0.004$). 96. saat NaOM düşük doz SOD değerleri ortalamasıyla (0.692 ± 0.124 U/100 mg doku) karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır ($p=0.016$).

96. saat NaOM düşük doz SOD değerleri ortalama 0.692 ± 0.124 (U/100 mg doku) olarak bulunmuştur. Bu değer, 96. saat NaOM yüksek doz SOD değerleri ortalamasıyla (0.378 ± 0.168 U/100 mg doku) karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı azalma saptanmıştır.

(p=0.010)

Gruplar arasındaki 8-OHdG (pg/100 mg doku) konsantrasyonlarına bakıldığında;

Grupların ortalama 8-OHdG (pg/100 mg doku) değerleri elde edilerek gruplara göre karşılaştırma yapılmıştır.

24. saat NaOM düşük doz 8-OHdG değerleri ortalama $1326,750 \pm 48,243$ pg/100 mg doku olarak bulunmuştur. Bu değer 72. saat NaOM yüksek doz 8-OHdG değerleri ortalamasıyla ($1091,471 \pm 116,714$ pg/100 mg doku) karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı azalma saptanmıştır (p=0.006).

5. TARTIŞMA

Bu çalışmanın amacı, DNA/RNA oksidatif hasarını ve antioksidan enzim aktivitesini değerlendirerek, çevresel kirletici sodyum omadinin (NaOM, sodyum piritiyon) çevreye karışması sonrası canlılar üzerindeki olası olumsuz etkilerini belirlemektir.

Serbest Piyasa ekonomisi uygulaması ile birlikte küresel pazarlara açılan firmalar ürünlerini en ekonomik taşıma yolu olan deniz yolunu tercih ederek taşımışlardır. Buna bağlı olarak deniz taşımacılığında kullanılan gemi sayısı artmıştır. Hem artan gemi sayısı hem de ticari amaçlar için kullanılan deniz platformların sayısının artması denizlerde yaşayan mikro deniz canlıları için bir habitat oluşturmuştur. Ayrıca ticari kaygılarla işletilen açık denizlerde yer alan doğalgaz ve benzeri yer altı kaynaklarını aramaya yönelik yapılan çalışmalar için kullanılan platformlar, sismik araştırmalarda kullanılan araçlar, kıtalararası fiber optik iletim kabloları, deniz taşımacılığı araçları, öncelikle mikro organizmalar ve sonrasında makro deniz canlıları tarafından habitat kabul edilir ve kolonileşme başlar. Bu biyolojik kolonileşmeye biofouling denir. Bu yeni yaşam alanı ise, endüstriyel ve modern dünyanın yaşam döngüsü içerisinde yer alan deniz taşıtları ya da kullanılan benzer deniz araçları için risk oluşturduğundan belirli dönemlerde bu biyolojik istilanın temizlenmesi ve araçların arındırma (anti-fouling) işlemine tabi tutulması gerekmektedir.

Ekosistem içerisinde yer alan ve çevre sağlığına doğrudan herhangi bir zararı olmayan sucul canlıların, deniz taşıtları üzerinde koloniler kurması araçların ekonomik faaliyetlerine zarar vermektedir. Deniz taşıtları üzerindeki bu kolonileşmelerin önüne geçmek için antifouling işlemi uygulanmaktadır. Bu temizlik işlemleri için uzun yıllar boyunca tribütiltin (TBT) kullanılmıştır. 1950'li yıllarda Hollanda'da yapılan araştırmalar sonucunda kullanıma başlanılan TBT, 1960'lı yıllarda en yoğun kullanılan biyositti. TBT'nin zararlarının 1990'lı yıllarda kanıtlanmış olmasıyla birlikte 1998 yılında imzalanarak resmîyet kazanan Rotterdam Sözleşmesi ile yaygın kullanımı son bulmuştur.

Oluşan bu kolonizasyon ile deniz taşıtları ve platformlar üzerindeki olumsuz etkilerin başında söz konusu yatırımın ekonomik ömrünün tahmin edilenden daha kısa sürelerle çekiliyor olması gelmektedir. Başta deniz taşıtları olmak üzere söz konusu araçlar için uygulanan bu arındırma işleminin temel materyali ise NaOM'dir. Araştırmada ülkemizde ve

dünyada kullanılan su ekosistemlerine ulaşan bir kirletici olan NaOM geniş spektrumlu bir antimikrobiyal koruyucudur. Ek olarak, bakteri ve mantar oluşumuna karşı kullanılan bir katkı maddesi ve biyosidal (çürümeyi önleyici) ajandır.

Kalpakkam Hindistanda bulunan bir bor zenginleştirme tesisinde asit transfer boru hatlarında sert kauçuk (polimerleştirilmiş kauçuk) bozucu mantar vakası bir asidofilik tarafından yoğun kirlenmeye örnektir. Hayatta kalmak için oldukça olumsuz olan ortamda (pH 1.5, çözünmüş besin yok), mantar gelişmiş ve 0.1N hidroklorik asit (HCl) nakletmek için kullanılan boru hattını tıkamıştır [70]. Bu çalışma, aşırı zor koşullar altında biyolojik kirliliğin ilginç bir örneğidir. Besin kaynağı mevcut ve rekabet düşük olduğu süreçte organizmalar fizyolojik olarak olumsuz koşullar altında büyümeye adapte olmuşlardır. Bu fungal soyun biyolojik parçalanmada ve kauçuk atıklarının bertarafı için kullanılması öngörülmüştür. [70].

Yıldırım ve diğerlerinin (2017) yaptığı bir araştırmada ülkemizde ve dünyada kullanılan su ekosistemlerine ulaşan kirletici olarak tanımlanan NaOM geniş spektrumlu bir antimikrobiyal koruyucu olarak belirtilmiştir. Ayrıca, bakteri ve mantar oluşumuna karşı kullanılan bir katkı maddesi ve biyosidal (çürümeyi önleyici) ajan olarak tanımlanmıştır. Bu çalışma ile *Dreissena polymorpha*, model organizmada semi statik biyoassay düzeneğinde 7günlük LC50 değerinin 0.243 mg/L (%95 güven aralığı = 0.735-0.016) olduğu bildirilmiştir. Yapılan bu çalışma bizim çalışmamızı da desteklemektedir [18].

Knox RJ ve diğerlerinin (2004) yaptıkları çalışmada NaOM'in bazı türlerde gecikmiş nöropatiye sebep olduğunu ve nöronların bu maddeye maruziyeti sonrasında hücre içi pH'yı değiştirmediğini ve plazma membranında Ca (2+) geçirgen iyon kanalı açma ihtimaline değinerek deniz tavşanı olarak bilinen türlerin nöronlarında NaOM'in yavaş, kalıcı bir Ca²⁺ akımını aktive ettiği sonucuna varmışlardır [72].

Moe ve diğerlerinin (1960) köpekler üzerinde 5, 10 ve 20 mg/kg şeklinde damardan NaOM enjekte ederek geçici kızarıklık, artmış göz yaşı, belirgin dilatasyon ve görme güçsüzlüğü gözlemlenmiştir [30].

Olin Corporation (1988) sıçanlara, 5mg/kg şeklinde deri yoluyla NaOM enjekte ederek kas hasarı ve arka bacaklarda felç olduğunu gözlemlenmiştir. Aynı kuruluş 1989 da ise 0, 46,

1.1 ve 3,8 mg/m³ olacak şekilde NaOM konsantrasyonunu inhalasyon yoluyla 15 adet sıçana günde 6 saat haftada ise 5 gün olmak üzere toplam 6 hafta şeklinde uygulamış ve deneklerde arka bacak güçsüzlükleri ve kas dejenerasyonları gözlemlemişlerdir.

Antioksidan moleküller, hücre içinde üretilen veya hücre dışından alınabilen yapılar olup, oksidatif strese sebep olan oksidan moleküllerden kaynaklı hasarı etkisiz hale getirirler. Süperoksit dismutaz, glutatyon-S-transferaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, katalaz ve sitokrom oksidaz hücre içinde serbest radikallerle etkileşime giren enzimler olup antioksidan savunmayı sağlarlar [75].

Dasgupta ve diğerlerinin (2018) çalışmasında ise sheepshead minnow larvae hücrelerini oksidatif hasardan koruyan SOD, CAT ve GSH gibi enzimatik bileşenlere sahip çeşitli antioksidan savunma sistemlerin varlığı belirtilmiştir [74]. Bizde çalışmamızda grupların ortalama katalaz (μ M formaldehit/100 mg doku) ve SOD (U/100 mg doku) değerlerini belirleyerek gruplara göre karşılaştırma yaptık. Kontrol grubu ortalama SOD değeri, 24, 72 ve 96. saat NaOM düşük ve yüksek dozlardaki SOD (72. Saat yüksek doz da anlamlı bir değişiklik olmamıştır) değerleri ortalamalarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalma saptanmıştır ($p<0.05$).

72.saat yüksek doz SOD değerleri, 24. ve 72. saat NaOM düşük ve yüksek dozlardaki SOD değerleri ortalamalarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde artış saptanmışken ($p<0.05$); 96. saat NaOM düşük ve yüksek dozlardaki SOD değerleri ortalamalarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalma saptanmıştır($p<0.05$).

96. saat NaOM yüksek doz SOD değerleri,72. Saat NaOM düşük doz ve 96. saat NaOM düşük dozlardaki SOD değerleri ortalamalarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalma saptanmıştır($p<0.05$).

SOD düzeyleri üç zaman aralığındaki her iki dozda da kontrol grubuna göre azalırken, 72. saat yüksek dozda artış eğilimi gösterip 96. saat dozlarında ise azalma eğilimindedir. SOD değerlerindeki bu değişimler antioksidan kapasitenin azalma eğiliminde olduğunu, 72. saatde artış göstererek korunduğunu ve 96. Saatte maruziyetin devam etmesi ile antioksidan kapasitenin azalma eğiliminde olduğunu gösterir.

Kontrol grubu ortalama CAT değeri, 24, 72 ve 96. saat NaOM düşük ve yüksek dozlardaki CAT değerleri ortalamalarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde artma saptanmıştır ($p<0.05$).

24. saat NaOM düşük doz CAT ortalama değeri, 72. saat NaOM yüksek doz ve 96. saat yüksek ve düşük doz CAT ortalama değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalma saptanmıştır ($p<0.05$). Bu değerler bize antioksidan kapasitenin ilk 24 saatte korunduğunu fakat maruziyetin devam etmesi ile antioksidan kapasitenin azaldığını göstermektedir.

Bulgularımıza benzer sonuçlar Sepici Dinçel ve diğerlerinin (2012) çalışmasında da görülmektedir. Karbarile maruz bırakılan tatlı su istakozlarının kas dokularında SOD, CAT, GPX antioksidan enzim düzeylerinde farklılık gözlemlenmiş ve solungaç SOD düzeylerinde kontrol grubuna göre azalma gözlemlenmiştir [76].

8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG), DNA'da pürin artıklarının ROS ile indüklenen değişiklikleridir. 8-OHdG guaninin 8-hidroksilasyonu sonrası, spesifik enzimatik bölünmeyi takiben oluşan oksidatif DNA hasarının bir ürünü ve oksidatif stresin gösterilmesinde önemlidir ve hassas bir belirleyicidir. [73].

Çalışmamızda DNA/RNA hasar düzeyi 8-OHdG (pg/100 mg doku) 24. saat NaOM düşük doz ortalaması, 72. saat NaOM yüksek doz ortalamasıyla karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı bulunmuştur ($p=0.006$). Zebra balığında NaOM'un neden olduğu gelişimsel kusurlarda oksidatif hasarın önemli bir rol oynayabileceğini düşünmekteyiz.

Sepici Dinçel ve diğerleri (2011), fenitrotyona maruz kalan sazanların (*Cyprinus carpio* L.) doku DNA hasarı ve mikronükleus testi ile genotoksisite değerlendirmesini yapmışlardır ve karaciğer dokusu için önemli ölçüde artmış 8OHdG/10⁶dG seviyesi gözlemlerken, solungaçta değişen DNA hasar miktarı ve beyin dokusunda artmış DNA hasarı tespit etmişlerdir [77].

İpiçürük'ün yaptığı çalışmada farklı konsantrasyonlar da çinko/bakır (Zn/Cu) piritiyona maruz bırakılan zebra balıklarında meydana gelen olası toksik etkiler DNA hasarı ve

oksidatif hasar belirteçlerinde gözlenen değişiklikler ile açıklanarak bu biyokimyasal parametreler endokrin bozucu biyobelirteç olarak değerlendirmiştir. Çalışmada Zn ve Cu piritiyonun maruziyet süresi arttıkça toksik etkinin de arttığı gözlemlenmiştir. Yapılan deneyler sonucunda lipid peroksidasyonu düzeyinde artmış toksik etkinin akut dönemde değil artan maruziyet süresine bağlı olarak ortaya çıktığı gözlemlenmiştir [71].

Olin Corporation tarafından Primer sıçan hepatosit kültürleriyle yapılan DNA sentezi testinde; sıçanlar, konsantrasyonları 7.1, 22, 71 ve 220 mg / ml olan NaOM'e maruz bırakılmış ve en yüksek iki konsantrasyonun sitotoksik olduğu sonucuna ulaşmışlardır. DNA onarım sentezinin NaOM ile indüksiyonu gözlemlenmemişlerdir [42].

Sodyum omadinin, denizler ve tatlı sular gibi sucul ortamlarda, ortamdaki diğer maddelerle etkileşime girmesi sinerjistik veya antagonistik etkiler yaratabileceğinden, bu maddelerle birlikte de çalışılmalıdır.

Kullanılan NaOM dozuna bağlı olarak tüm zaman aralıklarında antioksidan enzim olan katalaz miktarındaki artış ilk 24 saatte diğer zaman dilimlerine göre daha belirgindir. Bu değerler maddeye bağlı artmış 2. basamak antioksidan enzim sisteminin adaptasyonunu göstermektedir. SOD enzim düzeylerindeki tüm zaman aralıklarındaki azalmayı takiben reaktif oksijen radikallerinin kontrol altına alındığı, azaltıldığı ve organizmanın koruyucu diğer antioksidan sistemlerinin etkin olduğunu düşünebiliriz. Maddenin belirgin DNA hasarına neden olmaması da akut etkileri ve adaptif mekanizmaları desteklemektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sucul ekosisteme, kimyasal bir madde girişinin, sucul canlılar üzerindeki etkisinin araştırılması son zamanlarda daha da bir önem kazanmıştır. Bu maddelerin sucul canlı organizmalarda moleküler düzeyde oluşturduğu değişimlerden başlayarak su dışı yaşama da etki ettiği göz önünde bulundurularak, araştırmaların özellikle ticari kaygılarla kullanılan kimyasallar üzerinde yoğunlaşmasını gerektirmektedir.

Sodyum omadin, antifouling maddedir; canlılarda antibakteriyal ve antifungal etkiler için yaygın kullanılan bir biyosittir. Bu çalışmada, sucul toksisitesi ve insanlar üzerine muhtemel olumsuz etkileri zebra türü balıklarda toksik maruziyet konsantrasyonunda, genotoksik ve antioksidan sistem üzerine etkilerinin araştırılarak bilime, korunma ve tedavi yöntemlerine katkı sağlanması amaçlanmıştır.

Oksidatif stresin, çeşitli hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynadığının belirlenmesi, son yıllarda çevresel kirleticiler ile ilişkili olarak konuya verilen önemin giderek artmasına neden olmuştur. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi DNA'nın yapısında hasara yol açabilir. Artmış ROS, DNA'nın yanı sıra, lipid ve proteinler gibi makro moleküllerin oksidatif hasarını da hızlandırabilir.

Sodyum omadin ile ilgili literatürde nadir bilgiye rastlanmaktadır. Yapılan deneyler sonucunda çalışma grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında zebra balıklarında DNA hasarı, SOD ve CAT enzim düzeyleri tüm vücut dokusunda belirlenmiştir.

Sonuç olarak subletal konsantrasyonlarda NaOM maruziyetin zebra balıklarında akut genotoksik etki göstermediği ve antioksidan sistem üzerine etki ederek hasara yol açtığı, maruziyet süresinin devamı ile tamir mekanizmalarının etkin olabileceği düşünülmüştür.

Çalışma kapsamında elde edilen veriler doğrultusunda NaOM'in uzun süreli veya yüksek dozlarda kullanımının, besin zinciri yoluyla insanlar ve hayvanlar üzerinde akut ve subakut toksik etkilerinin görülebileceği düşünülmüştür. Elde edilen bulgular NaOM ile ilgili sucul canlılarda yapılacak çalışmalara da zemin hazırlamıştır.

Mevcut literatürde tüm canlı hayvanlarda kimyasal aracılı kötü etkilerin tanımı mevcut değildir, türe özgü memeli ve memeli olmayan (omurgasız, balık, amfibi ve kuş) canlılarda OECD ve EPA'nın ilgili yönergeleri de yetersiz kalmaktadır. İlerleyen zamanda ise NaOM kullanımını yoğun olarak başlamakla birlikte henüz etki mekanizması tam olarak açıklanamadığından zararları net olarak ortaya konulmuş değildir. Bu çalışma ile literatüre temel veri sağlanmıştır. Literatür bilgisi daha çok çinko-bakır pyrithione üzerine yoğunlaşmaktadır.

Dünyanın dörtte üçünün sularla kaplı olmasından yola çıkarak Türkiye'nin üç tarafının da denizlerle çevrili bir yarımada ülkesi olması deniz trafiğimizin hayli yoğun olduğunun bir göstergesidir. Deniz araçlarının karasularımızdan yoğun bir şekilde geçiş sağlaması sularımızın da bir şekilde bu kimyasallara maruz kaldığını gösterir. Bu konuda gerekli adımların atılması ancak bu alanda yapılan araştırmaları artması ile olacaktır.

KAYNAKLAR

1. CEFIC. (1996). Harmful effects of the use of antifouling paints for ships: A review of existing antifouling paints and the development of alternative systems. *International Maritime Organization's Marine Environmental Protection Committee*, 38(14), 4.
2. Birkhoj, M., Nellemann, C., Jarfelt, K., Jacobsen, H., Andersen, H.R., Dalgaard, M. and Vinggaard, A.M. (2004). The Combined antiandrogenic effects of five commonly used pesticides. *Toxicology Applied Pharmacology*, 201, 10-20.
3. Streisinger, G., Walker, C., Dower, N., Knauber, D. and Singer, F. (1981). Production of clones of homozygous diploid zebra fish (*Brachydanio rerio*). *Nature*. 291, 293-296.
4. Doğanlı, C., Oxvig, C. and Lykke-Hartmann K. (2013). Zebrafish as a novel model to assess Na⁺/K⁺-ATPase-related neurological disorders. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 37, 2774-2787.
5. Gündüz, T. (1998). *Çevre Sorunları*. (İkinci baskı). Ankara: Gazi Kitabevi, 27.
6. İnternet: Çevre Kanunu. (1983). Çevre Kirliliği. URL: www.mevzuat.gov.tr/MevzuatMetin/1.5.2872.doc , Son Erişim Tarihi: 19 Mayıs 2019.
7. Karpuzcu, M. (1991). *Çevre kirlenmesi ve kontrolü*. (Onikinci Baskı). İstanbul: Kubbealtı Neşriyatı Yayıncılık, 105-109.
8. Keleş, R. ve Hamamcı, C. (1993). *Çevre bilim*. (Birinci baskı). Ankara: İmge Yayınları, 35.
9. İnternet: Eco Center. Tehlikeli Çevresel Kirleticiler. URL: <http://www.uniecoaula.eu/index.php/tr/2-uncategorised/807-2-hazardous-environmental-contaminants-3>, Son Erişim Tarihi: 21 Nisan 2019.
10. İnternet: Mühendis Beyinler. (2019). Endüstriyel Atıklar. URL: <https://www.muhandisbeyinler.net/wp-content/uploads/2018/03/endustriyel-atik-800x469.jpg>, Son Erişim Tarihi: 23 Ekim 2019.
11. İnternet: NKFU. (2019). Sanayinin Çevreye Verdiği Zararlar. URL: <https://www.nkfu.com/sanayinin-cevreye-verdigi-zararlar/> , Son Erişim Tarihi: 23 Ekim 2019.
12. İnternet: Gazete Karınca. (2019). Suç Petrol Şirketlerinin URL: <https://gazetekarınca.com/2017/12/suc-petrol-sirketlerinin-dunyadaki-su-kaynaklari-kalici-kirlilik-tehdidi-altinda/>, Son Erişim Tarihi: 23 Ekim 2019.
13. İnternet: McLaughlin D. (2012). Fooling with Nature, URL: <http://www.pbs.org/wgbh/pages/frontline/shows/nature/disrupt/sspring.html>, Son Erişim tarihi: 23 Ekim 2019.
14. De Martinis, B.S. and Pires Bianchi, M. (2002). Methodology for urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine analysis by hplc with electrochemical detection. *Pharmacological Research*, 46 (2), 129-131.

15. İnternet: Environmental Protection Agency. (1996). Sodium Omadine. URL: <https://archive.epa.gov/pesticides/reregistration/web/pdf/0209.pdf> , Son Erişim tarihi: 23 Ekim 2019.
16. İnternet: Online Library. (1994). Sodium Pyrrithione. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/3527600418.mb381173kske0010> , Son Erişim Tarihi: 23 Ekim 2019.
17. İnternet: Wikipedia. Pyrrithione. URL: <https://en.wikipedia.org/wiki/Pyrrithione> , Son Erişim Tarihi: 04 Mayıs 2019.
18. Yıldırım, F., Yılmaz, K., Uyar, Z. ve Erkoç, F. (2017). Investigation of acute toxicity of sodium omadine on dreissena polymorpha (zebra mussel). *The Turkish Journal of Occupational / Environmental Medicine and Safety*, 210, 16.
19. İnternet: Pubchem. Sodium Pyrrithione. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Pyrrithione-sodium> , Son Erişim Tarihi: 04 Mayıs 2019.
20. Cheeseman, K.H. and Slater, T.F. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin*, 149, 481-493.
21. Derviş E. (2011). Oral antioksidanlar, *Dermatoz Dergisi*, 2(1), 263-267.
22. Akkuş, İ. (1995). Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. (Birinci baskı). Konya: Mimoza Yayınları, 1-75.
23. Southorn, P.A. and Powis, G. (1988). Free radicals in medicine. *Mayo Clinic Proceedigs*, 63, 381-389.
24. Shi, G.H., Cui, Q.Q., Pan, Y.T., Sheng, N., Sun, S.J., Guo, Y. and Dai, J.Y. (2017). Chlorinated polyfluorinated ether sulfonate, a pfos alternative, induces embryotoxicity and disrupts cardiac development in zebrafish embryos. *Aquatic Toxicology*, 185, 67-75.
25. Wu, Y. and Zhou, Q. F. (2012). Dose-and time-related changes in aerobic metabolism, chorionic disruption, and oxidative stress in embryonic medaka (*oryzias latipes*): underlying mechanisms for silver nanoparticle developmental toxicity. *Aquatic Toxicology*, 124, 238-246.
26. Dasgupta, S., Choyke, S., Ferguson, P.L. and McElroy, A.E. (2018) Antioxidant responses and oxidative stress in sheepshead minnow larvae exposed to Corexit 9500® or its component surfactant, DOSS. *Aquatic Toxicology*, 194, 10-17.
27. Vaizozoğlu, S. A. (2005). Pestisitler. Ankara: Aygöl Ofset, 8-27.
28. Gitto, E., Pellogroni, S., Gitto, P., Barberi, I. and Reiter, R. J. (2009). Oxidative stres of the newborn in the pre anda postnatal period and the clinical utility of melatonin. *Journal of Pineal Research*, 46, 128-139.
29. Gilbert, D. L. and Colton, C. A. (2002). *Reactive oxygen species in biological systems*. New York: Mc Graw –Hill, 856-867.

30. Moe, R. A., Kirpan, J. and Linegar, C. R. (1960). Toxicology of hydroxypyridinethione. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2, 156–170.
31. Halliwell, B. (1974). Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase: solutions to the problem of lung with oxygen. *New Phyto*, 73, 1075-1086.
32. Natio, Y., Lee, M.C., Kato, Y., Nagai, R. and Yonei, Y. (2010). Oxidative stres markers. *Anti-Aging Medicine*, 7(5), 36-44.
33. Yazıcı, C. ve Köse, K. (2004). Melatonin: karanlığın antioksidan gücü. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 13, 56-65.
34. Finaud, J., Lac, G. ve Filaire, E. (2006). Oxidative stress relationship with exercise and training. *Sports Medicine*, 36, 327-358.
35. Parke, D. V. (1999). *Nutritional Antioxidants and Disease Prevention; Mechanism of Action*. In: *Antioxidants in Human Health and Disease*. (First edition). United Kingdom. CABI Publishing, 195-198.
36. Nishikimi, M., Fukuyama, R., Minoshima, S., Shimizu, N. and Yagi, K. (1994). Cloning and chromosomal mapping of the human nonfunctional gene for L-gulonogammalactone oxidase, the enzyme for L-ascorbic acid biosynthesis missing in man. *The Journal of Biological Chemistry*, 269, 13685–13688.
37. Yagi, K. (1987). Lipid peroxides and human diseases. *Chemistry and Physics of Lipids*, 45, 337–351.
38. Van Bebber, I.P., Boekholz, W.K., Goris, R.J., Schillings, P.H., Dinges, H.P., Bahrami, S., Redl, H. and Schlag, G. (1989). Neutrophil function and lipid peroxidation in a rat model of multiple organ failure. *The Journal of Surgical Research*, 47, 471–475.
39. Bloomer, R.J. and Goldfarb, A.H. (2004). Anaerobic exercise and oxidative stress. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 29, 245-263.
40. Szweda, P.A., Friguet, B. and Szweda, L.I. (2002). Proteolysis free radicals and aging. *Free Radical Biology and Medicine*, 33, 29–36.
41. Erel, O. (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry Journal*, 38, 1103-11.
42. Olin, C. (1987 a). Sodium Omadine, rat hepatocyte primary culture/DNA repair test. *Pharmakon Research International*, 35, 78.
43. Tsutsui, H., Ide, T., Shiomi, T., Kang, D., Hayashidani, S., Suematsu, N., Wen, J., Utsumi, H., Hamasaki, N. and Takeshita, A. (2001). 8-oxodGTPase, which prevents oxidative stress-induced DNA damage, increases in the mitochondria from failing hearts. *Circulation*, 104 (24), 2883-5.
44. Floyd, R. A. (1990). The role of 8-hydroxyguanine in carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 11 (9), 1447-50.

45. İnternet: TechWorm. DNA'nın Yapısı ve Özellikleri. URL: <https://www.techworm.com/dna-nedir-dnanin-yapisi-ve-ozellikleri-nelerdir/>, Son Erişim Tarihi: 23 Ekim 2019.
46. Bigot, K., Leemput, J., Vacher, M., Campalans, A., Radicella, J. P. and Lacassagne, E. (2009). Expression of 8-oxoguanine DNA glycosylase (Ogg1) in mouse retina. *Molecular Vision*, 15, 1139-52.
47. Shin, C. S., Moon, B. S., Park, K. S., Kim, S. Y., Park, S. J., Chung, M. H. and Lee, H. K. (2001). Serum 8-hydroxy-guanine levels are increased in diabetic patients. *Diabetes Care*, 24(4), 733-7.
48. Berwick, M. and Vineis, P. J. (2000). Markers of DNA repair and susceptibility to cancer in humans. *National Cancer Institute*, 92(11), 874-97.
49. Bohr, V. (2002). Repair of Oxidative DNA Damage in Nuclear and Mitochondrial DNA, and Some Changes with Aging in Mammalian Cells. *Free Radical Biology & Medicine Journal*, 32(9), 804-12.
50. Yndestad, A., Neurauter, C. G., Oie, E., Forstrom, R. J., Vinge, L. E, Eide, L., Luna, L., Aukrust, P. and Bjoras, M. (2009). Up-regulation of myocardial DNA base excision repair activities in experimental heart failure. *Mutation Research*, 666(1-2), 32-8.
51. Richter, C. (1997). Free Radical Mediated DNA-Oxidation. *Free Radical Toxicology*, 51,89-111.
52. Dizdaroglu, M. (1991). Chemical determination of free radical-induced damage to DNA. *Free Radical Biology & Medicine Journal*, 10(3-4), 225-42.
53. Loft, S., Høgh Danielsen, P., Mikkelsen, L., Risom, L., Forchhammer, L. and Møller P. (2008). Biomarkers of oxidative damage to DNA and repair. *Biochemical Society Transactions*, 36 (5), 1071-6.
54. Xu, G.W., Yao, Q.H., Weng, Q.F., Su, B.L., Zhang, X. and Xiong, J.H. (2004). Study of urinary 8-hydroxydeoxyguanosine as a biomarker of oxidative DNA damage in diabetic nephropathy patients. *Journal of Pharmaceutical Biomedical Analysis*, 36(1), 101-4.
55. Wiseman, H., Kaur, H. and Halliwell, B. (1995). DNA damage and cancer: measurement and mechanism. *Cancer Letters*, 93(1), 113-20.
56. European standards committee on oxidative DNA damage. (2002). Inter-laboratory validation of procedures for measuring 8-oxo-7,8-dihydroguanine/8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine in DNA. *Free Radical Biology & Medicine Journal*, 36(3), 239-45.
57. Arnao, M. B., Acosta, M. and Cano, A. (2002). *Amino Acid Analysis by HPLC*. New York: Encyclopedia, 26-9.
58. İnternet: Kalite Kontrol Laboratuvarı.URL: <http://www.kayabek.net/dosya/kalitekontrol-laboratuari.pdf> , Son Erişim Tarihi: 23 Kasım 2019.

59. Devanaboyina, U. and Gupta, R. C. (1996). Sensitive detection of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in DNA by 32P-postlabeling assay and the basal levels in rat tissues. *Carcinogenesis*, 17(5), 917-24.
60. Gupta, R.C. and Arif, J.M. (2001). An improved (32)P-postlabeling assay for the sensitive detection of 8-oxodeoxyguanosine in tissue DNA. *Chemical Research Toxicology*, 14(8), 951-7.
61. Pflaum, M., Will, O. and Epe, B. (1997). Determination of steady-state levels of oxidative DNA base modifications in mammalian cells by means of repair endonucleases. *Carcinogenesis*, 18(11), 2225-31.
62. Collins, A.R. (2009). Investigating oxidative DNA damage and its repair using the comet assay. *Mutation Research*, 681(1), 24-32.
63. Laale, H.W. (1977). The Biology and Use of Zebrafish, *Brachydanio rerio* in Fisheries Research. *Journal of Fish Biology*, 10, 121-173.
64. Alpaz, A. (1984). *Akvaryum Tekniği ve Balıkları*. (İkinci Baskı). İzmir: Acargil Matbaası, 285-286.
65. Hisoaka, K.K. and Battle, H.I. (1958). Normal Developmental Stages of Zebrafish (*Brachydanio rerio*). *Journal of Morphological Sciences*, 102, 311-328.
66. Karp, G. and Berlilil N.J. (1976). Development. *Mc Gravv-Hill*, 4, 92-130.
67. Joshi, M.H., Balamurugan, P., Venugopalan, V.P. and Rao, T.S. (2011). Biofouling. Dense fouling in acid transfer pipelines by an acidophilic rubber degrading fungus. *Free Radical Biology & Medicine Journal*, 27(6), 621-9.
68. Sun, Y., Oberley, L.W. and Li, Y. (1988) A Simple Method for Clinical Assay of Superoxide Dismutase, *Clinical Chemistry*, 34(3), 497-500.
69. Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126.
70. Joshi, M.H., Balamurugan, P., Venugopalan, V.P. and Rao T.S. (2011). Dense fouling in acid transfer pipelines by an acidophilic rubber degrading fungus. *Biofouling*, 27(6), 621.
71. İpiçürük, N. (2018). Çevresel Kirletici Çinko ve Bakır Piritiyonun (Zn/Cu Pyrithione) Zebra Balıklarında (*Danio Rerio*) Genotoksik ve Oksidatif Hasar Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 65-76.
72. Knox, R.J., Magoski, N.S., Wing, D., Barbee, S.J., Kaczmarek, L.K. and Neurobiol J. (2004) Activation of a calcium entry pathway by sodium pyrithione in the bag cell neurons of *Aplysia*. *Neurobiology*, 60(4), 411-23.
73. De Martinis, B.S. and De Lourdes Pires Bianchi, M. (2002). Methodology for urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine analysis by hplc with electrochemical detection. *Pharmacological Research*, 46 (2), 129-31.

74. Dasgupta, S., Choyke, S., Ferguson, P.L. and McElroy, A.E. (2018). Antioxidant responses and oxidative stress in sheepshead minnow larvae exposed to Corexit 9500® or its component surfactant, DOSS. *Aquatic Toxicology*, 194, 10-17.
75. Halliwell B. (1995). Antioxidant characterization, Methodology and mechanism. *Biochemical Pharmacology*, 49(10),1341-1348.
76. Karasu Benli, A.C., Sahin, D., Memmi, B.K., Sepici-Dinçel, A. (2012). Karbarile maruz kalan tatlı su istakozlarında (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823) antioksidan enzim düzeyleri. *Turkish Journal of Biochemistry*, 37 (2),162-166.
77. Sepici-Dinçel, A., Sahin, D., Karasu Benli, A.C., Sarikaya, R., Selvi, M., Erkoc, F. and Altan, N. (2011). Genotoxicity assessment of carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings by tissue DNA damage and micronucleus test, after environmental exposure to fenitrothion. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 21(5),388–392.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : YILMAZ SEZER, İlknur
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 24.05.1986, Ankara
 Medeni hali : Evli
 Telefon : 0 (507) 745 87 45
 e-mail : ilknrylmz@gmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi / ÇEVRE Bilimleri	Devam ediyor
Lisans	A.İ.B.Ü / KİMYA Bölümü	2009
Lise	Ankara Mehmetçik Anadolu Lisesi	2004

Staj

2008- BAYER Çevre Sağlığı İlaçları

2007-HIFZISSIHHA Çevre ve Sağlık Hizmetleri Su Analizi

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2018-Halen	Türk Hava Yolları A.O.	Memur
2010-2018	TGS Yer Hizmetleri A.Ş.	Memur

Yabancı Dil

İngilizce (İyi Seviyede)

Almanca (Başlangıç Seviyede)

Yayınlar

1. Tural R, Yılmaz I, Günal A.C, Sepici Dincel A. (26-30 Ekim 2018).Can Antifouling Pollutant Sodium Omadine Be An Endocrine Disruptor. TBD Uluslararası Biyokimya Kongresi 2018, 29. Ulusal Biyokimya Kongresi, Bodrum
2. Tural R, Yılmaz I, Günal A.C, Sepici Dincel A. (2018). The genotoxic and antioxidant effects of environmental pollutant sodium omadine on zebra fish (*Danio rerio*). FEBS Open Bio 8 (Suppl. S1) (2018), P:372

Katıldığı Kurslar ve Seminerler

Dış Ticaret Elemanı Kursu

Hizmette Müşteri Memnuniyeti

NLP (Beyin Dili Programı)

TS-EN ISO 14001 Kuruluş İçi Çevre Denetçisi-

TS-EN ISO 14001 Çevre Yönetimi Sistemi

OHSAS 18001:2007 İş Sağlığı ve Güvenliği Yönetim Sistemi

TS-EN ISO 9001:2000 Kalite Yönetim Sistemi

Hobiler

Kitap okumak, Doğa Yürüyüşü, Voleybol, Seyahat



GAZİ GELECEKTİR..