

# *Cyprinus carpio*'da Kurşunun Üreme Fizyolojisine Etkileri

Cengiz Korkmaz<sup>1\*</sup>, Özcan Ay<sup>1</sup>, Erdem Dönmez<sup>1</sup>,

Burcu Demirbağ<sup>2</sup>, Cahit Erdem<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mersin Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Mersin, Türkiye

<sup>2</sup>Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji Bölümü, Mersin, Türkiye

<sup>3</sup>Çukurova Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Adana, Türkiye

\* Sorumlu yazar Tel.: +90 546 401 87 05 Fax.: +90 324 341 30 25 E-posta: cengizkorkmaz@mersin.edu.tr.

## Abstract

*Cyprinus carpio* of both sexes were exposed to two concentrations of (0.13 and 0.26 ppm) lead for a period of 7, 15 and 21 days and effects on the levels of plasma sex steroids (17 $\beta$ -Estradiol (E2), 11-ketotestosteron (11-KT), 17,20 $\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one (17,20 $\beta$ P)) were examined. No significant changes were observed on serum E2, 11-KT and 17,20 $\beta$ P levels in both male and females groups. It was concluded that the selected concentrations of lead showed no endocrine disrupting effects at the analyzed exposure periods in *C. carpio*.

**Keywords:** 11-ketotestosteron, 17 $\beta$ -Estradiol, 17,20 $\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one, *Cyprinus carpio*, Lead

## Özet

Çalışmada, ağır metallere kurşunun 0.13 ve 0.26 ppm derişimlerinin 7, 15 ve 21 gün sürelerince etkisine bırakılan erkek ve dişi *Cyprinus carpio*'larda, serum 17 $\beta$ -Estradiol (E2), 11-ketotestosteron (11-KT), 17,20 $\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one (17,20 $\beta$ P) düzeyleri belirlenmiştir. Erkek ve dişi *C. carpio*'larda serum E2, 11-KT ve 17,20 $\beta$ P düzeyleri kontrol grubuna göre değişiklik göstermiş fakat bu değişimlerin anlamlı olmadığı belirlenmiştir. Yapılan araştırmada kurşunun belirlenen derişimlerinin incelenen etkide kalma sürelerinde *C. carpio*'da endokrin bozucu (EB) özellik göstermediği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** 11-ketotestosteron, 17 $\beta$ -Estradiol, 17,20 $\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one, *Cyprinus carpio*, Kurşun.

## 1. Giriş

Endokrin bozucu kimyasallar (EBK), 2002 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından; "bir organizma, ya da o organizmanın alt-popülasyonlarında endokrin sistemi bozan dolayısıyla sağlık üzerinde olumsuz etki oluşturan maddeler" olarak tarif edilmiştir [1]. EBK'ların etkileri temelde 3 grup altında toplanabilir. Bunlar; 1-Agonistik/antagonistik etki (hormon taklitçileri), 2-Doğal hormonların üretimini, taşınmasını, metabolizmalarını ya da salgılanmalarını bozucu etki, 3-Hormon reseptörlerinin üretimini veya fonksiyonunu bozucu etkilerdir [2, 3]. EBK'lar yukarıda bahsedilen etkilerden dolayı omurgalılarda cinsiyet steroidlerinin yapılarını bozarak, feminizasyona ya maskülinizasyon neden olurlar [4]. Sucul canlılar üzerinde zamansız vitellojenin (VTG) üretimi, gerilemiş yumurta ve testis gelişimi, kanda anormal steroid hormon seviyeleri, interseksüalite, yumurta atrezisinde artış, düşük yumurta ve döl verimi gibi etkiler de oluşturabilmektedirler [5].

Dünyada diklorodifeniltrikloroetan (DDT) ve metabolitleri, dioksinler, bisfenol A, poliklorlu bifeniller (PCB), organoklorlu instektisitler, imdazol, triazol, fitalatlar ve parabenler gibi çeşitli kimyasalların yanı sıra ağır metallere EBK'lar arasında yer aldığı bilinmektedir [6-11].

Ağır metallere üreme ve endokrin sistem üzerine

etkilerinin araştırıldığı çalışmaların önemli bir kısmının memeli türleri üzerinde yoğunlaştığı görülmektedir [12-14]. Yapılan çalışmalarda arseniğin (As), endokrin bozucu özellik gösteren ilk metal olduğu tespit edilmiştir. Arseniğin glukokortikoid reseptörlerine bağlanıp, hormon aktivitesini etkilediği, başka bir çalışmada ise östrojen reseptörlerinin sayısını anlamlı düzeylerde azalttığı bildirilmiştir [15]. Kadmiyumun (Cd) *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda, dişi ve erkek üreme organlarında androjenlerin, östrojenlerin ve progesteron hormonunun sentezini etkilediği ve cinsiyet dönüşümüne neden olduğu belirtilmiştir [16]. Başka bir çalışmada cıvanın (Hg) hipotalamik-hipofiz-trioid eksenine etki ederek, sterogenesisi ve cinsiyet hormonlarının sentezini değiştirdiği bildirilmiştir [12, 17]. Nikelin (Ni), büyüme hormonu üzerine etki ettiği [16], kurşunun (Pb) uterusunda bulunan östrojen reseptörlerinin sayısını arttırdığı [14], Manganezin (Mn) gonodotropin salınımını azalttığı [18], çinkonun ise (Zn) sperm kalitesini (hacim, yoğunluk, motilite, canlılık süresi) düşürdüğü bildirilmiştir [14].

Sucul canlılarda ağır metallere üreme ve endokrin sistem üzerine etkileri konusunda sınırlı sayıda araştırmaların yapıldığı bilinmektedir [19, 20]. Bu nedenle yürütülen bu çalışmada, kurşunun (Pb<sup>2+</sup>) *Cyprinus carpio*'da, endokrin bozucu etkisini araştırmak için, anılan metalin sublethal derişimlerinin 7,15 ve 21 gün sürelerince etkisine bırakılan erkek ve dişi bireylerde

17 $\beta$ -Estradiol (E2), 11-ketotestosteron (11-K), 17,20 $\beta$ -dihydroxy-4-preg-3-one (17,20 $\beta$ P), düzeyleri tespit edilmiştir.

## 2. Materyal ve Yöntem

### 2.1 Çalışma Materyali

Araştırmada 54 adet dişi, 54 adet erkek olmak üzere toplamda 108 adet *C. carpio* kullanılmıştır. Deney materyali Devlet Su İşleri (DSİ) Adana 6. Bölge Müdürlüğünden temin edilerek 2 ay boyunca laboratuvar koşullarında adaptasyonları sağlanmıştır. Dinlendirilmiş çeşme suyu ile gün aşırı su değişimi yapılmış ve havalandırma merkezi sistem ile sağlanmıştır. Laboratuvar koşullarında, 12 saatlik aydınlık/karanlık periyodu sağlanmıştır. Balıklar, adaptasyon ve deney süresince, günde 2 defa vücut ağırlıklarının % 2'si kadar pond yem (Tetra® Pond Koi Sticks) ile beslenmiştir. Suyun fiziko-kimyasal özellikleri, sıcaklık  $23.08 \pm 0.9$  °C, pH  $7.12 \pm 0.13$ , çözülmüş oksijen  $7.05 \pm 0.04$  ppm ve sertlik  $211.45 \pm 6.37$  ppm CaCO<sub>3</sub> olarak belirlenmiştir. Denemelerde kullanılan balıkların ortalama ağırlıkları  $44.38 \pm 8.23$  g ve ortalama boyları da  $14.50 \pm 1.50$  cm olarak ölçülmüştür. Denemeler kontrollü olarak yürütülmüştür.

### 2.2 Deney Uygulaması

Deneyler iki tekrarlı olarak yürütülmüş ve her tekrarda 3 balık kullanılmıştır. Deneme süresince balıklar 114 cm x 114 cm x 38 cm fiberglas tanklarda tutulmuştur. *C. carpio*'da kurşunun 96 saat LC50 değeri 1.33 ppm olarak bildirilmiştir [21]. Balıklar öncelikle dişi ve erkek olmak üzere iki gruba ayrılmış, gruplarda kendi aralarında iki farklı derişim ve bir kontrol grubu oluşturmak için tekrar ayrılmışlardır. Birinci gruba kurşunun 96 saat LC50 değerinin % 10'u olan 0.13 ppm, ikinci gruba ise kurşunun 96 saat LC50 değerinin % 20'si olan 0.26 ppm subletal derişimleri 7, 15 ve 21 gün sürelerle uygulanmıştır. Akvaryum suları, kurşun konsantrasyonunda olabilecek derişimleri engellemek amacıyla 24 saat aralıkla değiştirilmiştir.

### 2.3 Hormon analizi

Deneme süreleri sonunda her akvaryumdan rastgele alınan 3 balık fenoksi-etanol (Sigma Aldrich) ile bayıltılmış ve kuyruk yüzgeçlerinden alınan kan örnekleri santrifüj tüplerine alınmışlardır. Kan örnekleri +4 °C'de 3000 g, devirde 10 dakika santrifüjlendikten sonra serumlar alınmış ve hormon analizinde kullanılabilecek kadar -80 °C'de bekletilmiştir.

Serum 11-KT, E2 ve 17,20 $\beta$ P seviyelerinin belirlenmesinde ticari kitler (11-KT EIA kit, Cayman, USA; Estradiol EIA kit, Cayman, USA; SunRed Biotech Company, China) kullanılmıştır. Kit protokolüne göre hazırlanan örnekler uygun dalga boyunda okutularak standart eğri oluşturulmuş ve oluşturulan standart eğri ile örnekler için konsantrasyon değerleri hesaplanmıştır.

Kan örneklerinin elde edilmesinden sonra disekte edilen deney materyallerinin, karaciğer ve gonad dokuları örneklenerek ayrı ayrı petri kaplarına konulmuştur.

Örneklenen dokular etüvde 150°C sabit sıcaklıkta 72 saat süreyle kurutulmuş ve sabit tartıma hazır hale getirilmiştir. Etüvden çıkarılan dokular, 0.0001 gr hassas

terazide (Sartorius CP-2248) kuru ağırlıkları alınarak yakma işlemi için deney tüplerine aktarılmış, üzerlerine 2:1 oranında nitrik asit (HNO<sub>3</sub> Merck, %65, Ö.A 1.40) ve perklorik asit (HClO<sub>4</sub> Merck, %60, Ö.A 1.53) karışımı eklenerek 120°C'de 8 saat süre ile yakılması sağlanmıştır [22]. Yakma işlemi tamamlandıktan sonra örnekler polietilen tüplere aktarılmış ve toplam hacimleri saf su ile 10 ml'ye tamamlanarak PbCl<sub>2</sub> analizine hazır hale getirilmiştir. Dokulardaki PbCl<sub>2</sub> düzeyleri Agilent 7500ce model ICP-MS ile tespit edilmiştir.

Analizlerde SPSS 11.5 paket programı kullanılmıştır. Veriler aritmetik ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir. Kontrol ve deney grupları arasındaki fark OneWay ANOVA testi kullanılarak belirlenmiştir.  $p < 0.05$  düzeyi önemli kabul edilmiştir.

## 3. Bulgular ve Tartışma

### 3.1 Bulgular

Kurşunun 0.13 ve 0.26 ppm subletal derişimlerinin etkisinde 7, 15 ve 21 gün sürelerince erkek *C. carpio*'da HSI değerleri kontrol grubuna göre derişiklik gösterdiği fakat bu derişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ( $p < 0.05$ ). Erkek *C. carpio*'da HSI (%) değerleri Tablo 1'de sunulmuştur.

**Tablo 1** Kurşunun farklı subletal derişimlerinin etkisinde erkek *C. carpio*'larda 7, 15. ve 21. günlerde HSI (%) değerleri.

Derişim (ppm)	Süre (Gün)		
	7. Gün	15. Gün	21. Gün
0 ppm Pb	$0,58 \pm 0,12^{ax}$	$0,75 \pm 0,19^{ax}$	$0,59 \pm 0,12^{ax}$
0.13 ppm Pb	$0,55 \pm 0,11^{ax}$	$0,52 \pm 0,05^{ax}$	$0,81 \pm 0,29^{ax}$
0.26 ppm Pb	$0,45 \pm 0,18^{ax}$	$0,74 \pm 0,07^{ax}$	$0,88 \pm 0,17^{ax}$

\* SNK; Dikey sütunlar kurşunun farklı subletal derişimlerinin, yatay sütunlar ise etkiye kalma süresi arası ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Veriler arasında  $P < 0,05$  düzeyinde istatistik ayrım vardır.

$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$  = Aritmetik ortalama  $\pm$  Standart sapma

Kurşunun 0.13 ppm ve 0.26 ppm subletal derişimlerinin etkisinde erkek ve dişi *C. carpio*'ların karaciğer ve gonad dokularında birikim düzeyleri Tablo 1, Tablo 2, Tablo 3 ve Tablo 4'de görülmektedir.

**Tablo 1.** Kurşunun farklı subletal derişimlerinin etkisinde erkek *C. carpio*'ların karaciğer dokularında birikim düzeyleri (ppm).

Derişim (ppm)	Süre (Gün)		
	7. Gün	15. Gün	21. Gün

	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}^*$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}^*$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}^*$
<b>0 ppm Pb</b>	<0.003 ± 0.00 <sup>ax</sup>	<0.003 ± 0.00 <sup>ax</sup>	<0.003 ± 0.00 <sup>ax</sup>
<b>0.13 ppm Pb</b>	<0.003 ± 0.00 <sup>ax</sup>	0.05 ± 0.01 <sup>by</sup>	0.16 ± 0.02 <sup>bz</sup>
<b>0.26 ppm Pb</b>	0.14 ± 0.02 <sup>bx</sup>	0.26 ± 0.03 <sup>cy</sup>	0.71 ± 0.07 <sup>cz</sup>

\* SNK; Dikey sütunlar (a,b ve c) kurşunun farklı subletal derişimlerinin, yatay sütunlar (x,y ve z) ise etkide kalma süresi arası ayrımı belirtmek amacı ile kullanılmıştır. Veriler arasında P<0,05 düzeyinde istatistik ayrım vardır.

$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$  = Aritmetik ortalama ± Standart sapma

**Tablo 2.** Kurşunun farklı subletal derişimlerinin etkisinde erkek *C.carpio*'ların testis dokularında birikim düzeyleri (ppm).

Derişim (ppm)	Süre (Gün)		
	7. Gün	15. Gün	21. Gün
<b>0 ppm Pb</b>	<0.003 ± 0.00 <sup>ax</sup>	<0.003 ± 0.00 <sup>ax</sup>	<0.003 ± 0.00 <sup>ax</sup>
<b>0.13 ppm Pb</b>	<0.003 ± 0.00 <sup>ax</sup>	0.04 ± 0.01 <sup>by</sup>	0.06 ± 0.01 <sup>bz</sup>
<b>0.26 ppm Pb</b>	0.18 ± 0.03 <sup>bx</sup>	0.08 ± 0.01 <sup>cy</sup>	0.09 ± 0.01 <sup>by</sup>

\* SNK; Dikey sütunlar kurşunun farklı subletal derişimlerinin, yatay sütunlar ise etkide kalma süresi arası ayrımı belirtmek amacı ile kullanılmıştır. Veriler arasında P<0,05 düzeyinde istatistik ayrım vardır.

$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$  = Aritmetik ortalama ± Standart sapma

**Tablo 3.** Kurşunun farklı subletal derişimlerinin etkisinde dişi *C.carpio*'ların karaciğer dokularında birikim düzeyleri (ppm).

Derişim (ppm)	Süre (Gün)		
	7. Gün	15. Gün	21. Gün
<b>0 ppm Pb</b>	<0.003 ± 0.00 <sup>ax</sup>	<0.003 ± 0.00 <sup>ax</sup>	<0.003 ± 0.00 <sup>ax</sup>
<b>0.13 ppm Pb</b>	<0.003 ± 0.00 <sup>ax</sup>	0.06 ± 0.01 <sup>by</sup>	0.12 ± 0.02 <sup>bz</sup>
<b>0.26 ppm Pb</b>	0.06 ± 0.01 <sup>bx</sup>	0.04 ± 0.00 <sup>cy</sup>	0.24 ± 0.04 <sup>cz</sup>

\* SNK; Dikey sütunlar kurşunun farklı subletal derişimlerinin, yatay sütunlar ise etkide kalma süresi arası ayrımı belirtmek amacı ile kullanılmıştır. Veriler arasında P<0,05 düzeyinde istatistik ayrım vardır.

$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$  = Aritmetik ortalama ± Standart sapma

**Tablo 4.** Kurşunun farklı subletal derişimlerinin etkisinde dişi *C.carpio*'ların ovaryum dokularında birikim düzeyleri (ppm).

Derişim (ppm)	Süre (Gün)		
	7. Gün	15. Gün	21. Gün
<b>0 ppm Pb</b>	<0.003 ± 0.00 <sup>ax</sup>	<0.003 ± 0.00 <sup>ax</sup>	<0.003 ± 0.00 <sup>ax</sup>
<b>0.13 ppm Pb</b>	<0.003 ± 0.00 <sup>ax</sup>	0.06 ± 0.01 <sup>by</sup>	0.04 ± 0.01 <sup>by</sup>
<b>0.26 ppm Pb</b>	0.03 ± 0.00 <sup>bx</sup>	0.03 ± 0.00 <sup>cx</sup>	0.08 ± 0.01 <sup>cy</sup>

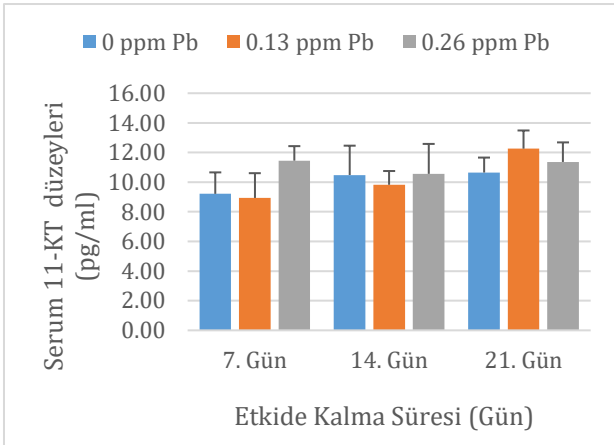
\* SNK; Dikey sütunlar kurşunun farklı subletal derişimlerinin, yatay sütunlar ise etkide kalma süresi arası ayrımı belirtmek amacı ile kullanılmıştır. Veriler arasında P<0,05 düzeyinde istatistik ayrım vardır.

$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$  = Aritmetik ortalama ± Standart sapma

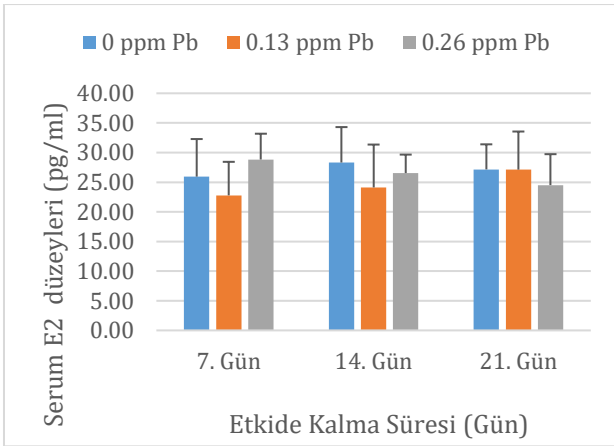
Araştırmada erkek ve dişi *C.carpio*'ların karaciğer ve gonad dokularının kontrol gruplarının tümünde kurşun derişimlerinin tespit edilebilir limitlerin altında olduğu belirlenmiştir. Kurşunun erkek *C.carpio*'ların karaciğer ve testis dokularında birikim düzeylerinin 15. ve 21. günlerde kontrol grubuna göre artış gösterdiği ve bu artışların

istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ). Buna ek olarak kurşunun dişi *C. carpio*'ların karaciğer ve ovaryum dokularında birikim düzeylerinin deney sonunda kontrol grubuna göre artış gösterdiği ve bu artışların istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ).

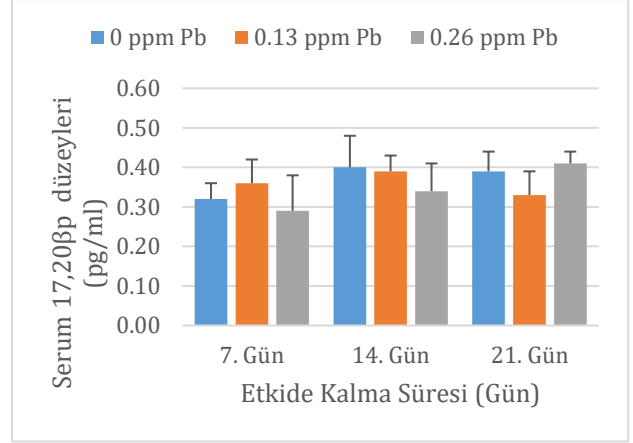
Kurşunun 0.13 ve 0.26 ppm subletal derişimlerinin etkisinde 7, 15 ve 21 gün süresince erkek ve dişi *C. carpio*'da serum 11-KT, E2 ve 17,20βP seviyelerinin kontrol grubuna göre değişiklik gösterdiği fakat bu değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ( $p < 0.05$ ). Erkek ve dişi bireylerin serum hormon düzeyleri Şekil 1, Şekil 2, Şekil 3, Şekil 4, Şekil 5 ve Şekil 6'da görülmektedir.



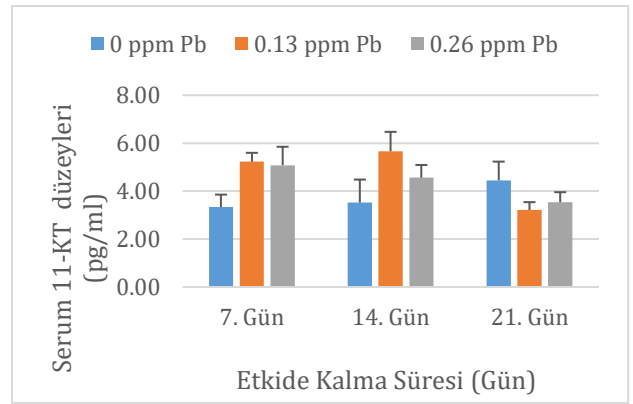
Şekil 1. Kurşunun farklı subletal derişimlerinin etkisinde erkek *C. carpio*'larda serum 11-KT düzeyleri (pg/ml).



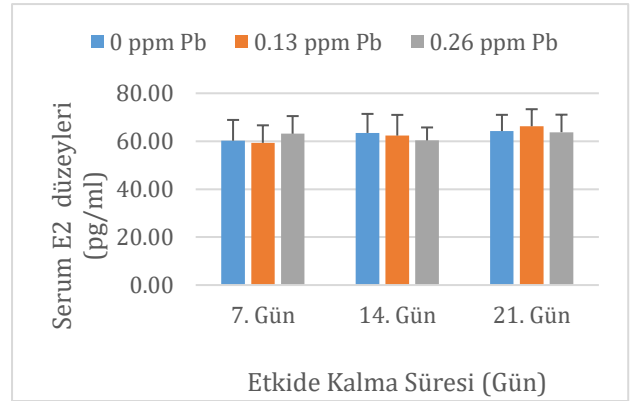
Şekil 2. Kurşunun farklı subletal derişimlerinin etkisinde erkek *C. carpio*'larda serum E2 düzeyleri (pg/ml).



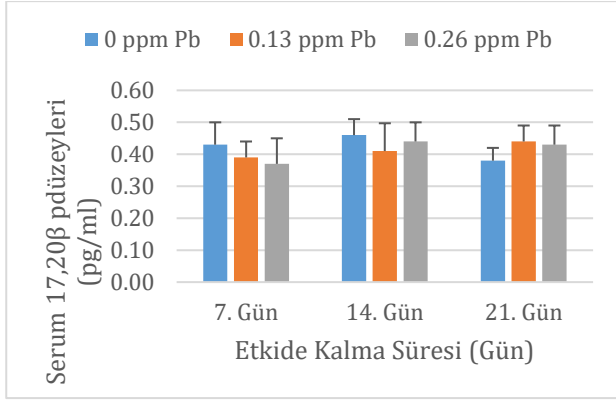
Şekil 3. Kurşunun farklı subletal derişimlerinin etkisinde erkek *C. carpio*'larda serum 17,20βP düzeyleri (pg/ml).



Şekil 4. Kurşunun farklı subletal derişimlerinin etkisinde dişi *C. carpio*'larda serum 11-KT düzeyleri (pg/ml).



Şekil 5. Kurşunun farklı subletal derişimlerinin etkisinde dişi *C. carpio*'larda serum E2 düzeyleri (pg/ml).



**Şekil 6.** Kurşunun farklı subletal derişimlerinin etkisinde erkek *C. carpio*'larda serum 17,20βp düzeyleri (pg/ml).

### 3.2 Tartışma

0.13 ve 0.26 ppm kurşun etkisinde erkek ve dişi *C. carpio*'larda serum 11-KT, E2 ve 17,20βp düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Bunun, *C. carpio*'da kurşunun belirlenen derişimler ve etkide kalma sürelerinde anılan parametreler üzerinde etki gösterebilecek düzeylere ulaşamaması nedeniyle gerçekleştiği düşünölmektedir. Wong, Silverberg [23], 19 ay süresince, 7.2 ppb ve 18.2 ppb kurşun etkisine bırakılan balıklarda hiçbir toksik etkinin görülmediğini rapor etmişlerdir. Choe, Kim [19], *in vitro* bir çalışmada kurşun nitrat ve kurşun asetatın yüksek östrojenik aktivite göstermediğini rapor etmişlerdir. Sellin and Kolok [24], embriyolojik gelişim aşamasında Cd etkisine bırakılan erkek *Pimephales promelas*'larda 11-KT seviyelerinin değişim göstermediğini belirtmişlerdir. Friedmann, Watzin [25], yüksek cıva içeriğine sahip olduğu bilinen bölgelerden örneklenen *Esox lucius*'larda cıva birikim düzeyleri ile hormon seviyeleri arasında bir korelasyonun olmadığını ve cıvanın endokrin sistem bozucu özellik göstermeyebileceğini belirtmişlerdir. Bunun yanı sıra yapılan çalışmalarda kurşunun, endokrin sistemi bozucu özelliklerinin, üreme dönemindeki memeli ve balık türlerinde, üreme öncesi dönem ile karşılaştırıldığında çok daha belirgin ve etkili olduğu belirtilmiştir [14, 25]. Çalışmamızda kullanılan *C. carpio*'ların üreme öncesi dönemde olmalarının da, kurşunun hormon seviyeleri üzerine olası etkilerinin görülmeýişinin bir diğer nedeni olabileceği düşünölmektedir.

Kurşun ATSDR tarafından "öncelikli tehlikeli maddeler listesinde" ilk 10 sırada kabul edilmekte ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından EBK olarak sınıflandırmaktadır. Yapılan çalışmalarda kurşunun özellikle memeliler üzerinde endokrin bozucu etkiler gösterdiği, üreme döneminde ki balık türlerinde spermatogenesis ve oogenesisi baskıladığı rapor edilmiştir.

Çalışmadan elde edilen sonuçlar ışığında; kurşunun belirlenen derişimler ve sürelerde *C. carpio*'da endokrin sistemi bozucu özellik göstermediği tespit edilmiştir. Kurşunun belirlenen subletal derişimlerinin *C. carpio*'nun doku ve organlarında toksik düzeylere

ulaşamaması kurşunun olası endokrin bozucu etkilerinin ortaya çıkmamasına neden olmuş olabilir. Bunun yanı sıra deneklerin üreme periyotlarında olmayışları olası endokrin bozucu etkilerin ortaya çıkışını baskılamış olabilir.

Bundan sonra yapılacak çalışmalarda kurşunun *C. carpio* ya da diğer balık türlerinde daha yüksek derişimlerde etkilerini belirlemek ve denek gruplarını üreme periyodu içerisinde bireylerden tercih etmek anılan metalin endokrin bozucu özelliklerini tespit edebilme açısından önem taşımaktadır.

### Teşekkürler

Bu proje Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından "2016-2-TP3-1835" proje numarası ile desteklenmiştir. Projenin gerçekleşmesi noktasında vermiş olduğu desteklerden ötürü Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine teşekkür ederiz.

### Kaynaklar

1. Goksöyr, A., *Endocrine disruptors in the marine environment: mechanisms of toxicity and their influence on reproductive processes in fish*. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A, 2006. **69**(1-2): p. 175-184.
2. Dawson, A., *Mechanisms of endocrine disruption with particular reference to occurrence in avian wildlife: a review*. Ecotoxicology, 2000. **9**(1-2): p. 59-69.
3. Rotchell, J. and G. Ostrander, *Molecular markers of endocrine disruption in aquatic organisms*. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B, 2003. **6**(5): p. 453-496.
4. Kloas, W., I. Lutz, and R. Einspanier, *Amphibians as a model to study endocrine disruptors: II. Estrogenic activity of environmental chemicals in vitro and in vivo*. Science of the Total Environment, 1999. **225**(1-2): p. 59-68.
5. Jobling, S. and C.R. Tyler, *Endocrine disruption in wild freshwater fish*. Pure and applied chemistry, 2003. **75**(11-12): p. 2219-2234.
6. Roy, D., et al., *Biochemical and molecular changes at the cellular level in response to exposure to environmental estrogen-like chemicals*. Journal of Toxicology and Environmental Health Part A, 1997. **50**(1): p. 1-30.
7. Mantovani, A., et al., *Problems in testing and risk assessment of endocrine disrupting chemicals with regard to developmental toxicology*. Chemosphere, 1999. **39**(8): p. 1293-1300.
8. Oishi, S., *Effects of propyl paraben on the male reproductive system*. Food and Chemical Toxicology, 2002. **40**(12): p. 1807-1813.
9. Tseng, C.-H., et al., *Long-term arsenic exposure and ischemic heart disease in arseniasis-hyperendemic villages in Taiwan*. Toxicology letters, 2003. **137**(1-2): p. 15-21.
10. Choi, S.M., S.D. Yoo, and B.M. Lee, *Toxicological characteristics of endocrine-disrupting chemicals:*

*developmental toxicity, carcinogenicity, and mutagenicity*. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B, 2004. **7**(1): p. 1-23.

11. Kunz, P.Y. and K. Fent, *Estrogenic activity of UV filter mixtures*. Toxicology and applied pharmacology, 2006. **217**(1): p. 86-99.

12. Darbre, P., *Metalloestrogens: an emerging class of inorganic xenoestrogens with potential to add to the oestrogenic burden of the human breast*. Journal of Applied Toxicology, 2006. **26**(3): p. 191-197.

13. Dyer, C.A., *Heavy metals as endocrine-disrupting chemicals*, in *Endocrine-Disrupting Chemicals*. 2007, Springer. p. 111-133.

14. Iavicoli, I., L. Fontana, and A. Bergamaschi, *The effects of metals as endocrine disruptors*. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B, 2009. **12**(3): p. 206-223.

15. Davey, J.C., et al., *Arsenic as an endocrine disruptor: effects of arsenic on estrogen receptor-mediated gene expression in vivo and in cell culture*. Toxicological Sciences, 2007. **98**(1): p. 75-86.

16. Georgescu, B., et al., *Heavy metals acting as endocrine disrupters*. Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies, 2011. **44**(2): p. 89-93.

17. Tan, S. and K. Mahaffey, *Evidence for mercury as an endocrine disrupter: an overview of the literature*,(2003).

18. Pine, M., et al., *Manganese acts centrally to stimulate luteinizing hormone secretion: a potential influence on female pubertal development*. Toxicological Sciences, 2005. **85**(2): p. 880-885.

19. Choe, S.-Y., et al., *Evaluation of estrogenicity of major heavy metals*. Science of the Total Environment, 2003. **312**(1-3): p. 15-21.

20. Mishra, A.K. and B. Mohanty, *Effect of sublethal hexavalent chromium exposure on the pituitary - ovarian axis of a teleost, Channa punctatus (Bloch)*. Environmental toxicology, 2012. **27**(7): p. 415-422.

21. Alam, M. and O. Maughan, *The effect of malathion, diazinon, and various concentrations of zinc, copper, nickel, lead, iron, and mercury on fish*. Biological trace element research, 1992. **34**(3): p. 225-236.

22. Muramoto, S., *Elimination of copper from Cu - contaminated fish by long - term exposure to EDTA and fresh water*. Journal of Environmental Science & Health Part A, 1983. **18**(3): p. 455-461.

23. Wong, P., et al., *Lead and the aquatic biota*. The biogeochemistry of lead in the environment. Part B. Biological effects. Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam, 1978: p. 279-342.

24. Sellin, M.K. and A.S. Kolok, *Cadmium exposures during early development: do they lead to reproductive impairment in Fathead minnows?* Environmental toxicology and chemistry, 2006. **25**(11): p. 2957-2963.

25. Friedmann, A., et al., *Effects of environmental mercury on gonadal function in Lake Champlain northern pike (Esox lucius)*. Bulletin of environmental contamination and toxicology, 1996. **56**(3): p. 486-492.