

Propilparabenin *Daphnia magna* ve *Saccharomyces cerevisiae* Üzerindeki Toksik Etkilerinin Araştırılması

Investigation The Toxic Effects of Propylparaben on Daphnia magna and Saccharomyces cerevisiae

Ceyhun BEREKETOĞLU¹ 

¹İskenderun Teknik Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği, 31200, İskenderun, Hatay, Türkiye

Öz

Parabenler, gıda, kozmetik ve ilaç gibi farklı ticari ürünlerde koruyucu olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. En yaygın kullanılan parabenlerden birisi olan propilparaben (PP) mikrobiyal büyümeyi engelleyerek birçok tüketici ürünün raf ömrünü uzatmaktadır. PP dahil olmak üzere parabenlerin geniş kullanımları çevrede birikimlerine sebep olmaktadır. Bu çalışmada, PP'nin *Daphnia magna* (*D. magna*) ve *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) üzerindeki olumsuz etkilerini belirlemek için toksisite analizleri yapılmıştır. Bu amaçla, *D. magna* yavruları (< 24 saat), çok düşük konsantrasyondan (0.01 µM) çok yüksek konsantrasyona (500 µM) kadar değişen çeşitli PP konsantrasyonlarına 48 saat boyunca maruz bırakılmış ve PP'nin sağkalım üzerindeki etkisi ve LC₅₀ değerleri incelenmiştir. Buna göre, 100 µM ve üzeri PP konsantrasyonlarının *D. magna*'da yüksek seviyede toksik olduğu belirlenmiştir. LC₅₀ değerleri 24 ve 48 saat maruziyetleri için sırasıyla 58 µM ve 49.3 µM olarak bulunmuştur. Diğer taraftan, farklı PP konsantrasyonlarının (10, 50, 100, 400, 800 ve 1000 µM PP) *S. cerevisiae*'ye olan etkileri büyüme kinetiği ve hücreler üzerindeki inhibisyon seviyeleri incelenerek belirlenmiştir. Büyüme kinetiğinde 100 µM PP'ye kadar olan konsantrasyonlarda herhangi bir etki gözlemlenmezken, daha yüksek konsantrasyonlarda büyüme kinetiğinde belirgin bir düşüş tespit edilmiştir. Bununla birlikte konsantrasyon arttıkça hücre inhibisyonunda artış gözlemlenmiştir. PP'nin iki model organizmadaki etkileri karşılaştırıldığında *D. magna*'da daha yüksek toksisite tespit edilmiştir. Genel olarak, bu çalışma, PP'nin olumsuz etkileri hakkında önemli bilgiler sağlamış ve parabenlerle ilişkili toksisitenin moleküler mekanizmasını keşfetmek için daha fazla araştırmanın gerekliliğini ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: Propilparaben, toksisite, *D. magna*, *S. cerevisiae*, LC₅₀

Abstract

Parabens are widely used as a preservative in different commercial products such as food, cosmetics and pharmaceuticals. Propylparaben (PP), one of the most widely used parabens, prevents microbial growth and extends the shelf life of many consumer products. The wide use of parabens, including PP, causes their accumulation in the environment. In this study, toxicity analyzes were conducted to determine the adverse effects of PP on *Daphnia magna* (*D. magna*) and *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*). For this purpose, *D. magna* juveniles (<24 hours) were exposed to various PP concentrations ranging from very low concentration (0.01 µM) to very high concentration (500 µM) for 48 hours, and the effects of PP on survival were investigated and LC₅₀ values were determined. PP concentrations at 100 µM and above were highly toxic to *D. magna*. LC₅₀ values were 58 µM and 49.3 µM at 24 and 48 h exposures, respectively. Meanwhile, the effects of various PP concentrations (10, 50, 100, 400, 800 and 1000 µM PP) on *S. cerevisiae* were determined using growth kinetics and inhibition levels as endpoints. While no effect on growth kinetics was observed at concentrations up to 100 µM PP, higher concentrations resulted in significant decrease in growth kinetics of yeast cells. Cell inhibition increased with increase of PP concentrations. PP showed higher toxicity in *D. magna* compared to *S. cerevisiae*. Overall, this study provided important insight into the adverse effects of PP and demonstrated the need for further research to explore the molecular mechanism of parabens-associated toxicity.

Keywords: Propylparaben, toxicity, *D. magna*, *S. cerevisiae*, LC₅₀

I. GİRİŞ

Parabenler, antimikrobiyal aktiviteye sahip mükemmel bir koruyucu olan p-hidroksibenzoik asidin alkil esterleridir ve ilaç, gıda ve kozmetik gibi çeşitli tüketici ürünlerinde küf ve mayaları kontrol etmek için kullanılmaktadır [1-4]. Her yıl dünya çapında yaklaşık 8000 ton paraben tüketilmekte olup bu bileşikler, üretimi ve bertarafı sırasında çevreye sızabilmektedir. Bu nedenle, düzenli depolama alanlarında, atık su arıtma tesislerinde ve kanalizasyon çamurunda tespit edilebilmektedirler [5]. Ayrıca, paraben ve metabolitleri hava, toz,

atık su, yüzey suları, ve insan idrarı gibi yerlerde de tespit edilmiştir [1, 2]. Paraben maruziyeti, sindirim, inhalasyon veya deri absorpsiyon yoluyla gerçekleşebilmektedir [6]. Bununla birlikte, bu bileşiklerin çeşitli *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda endokrin bozucu aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir [2, 6-8]. Günümüzde, yüksek üretim kapasiteleri, sürekli kullanımları ve çevreden uzaklaştırma oranına kıyasla yüksek salınım oranları nedeniyle parabenler ekosisteme yönelik potansiyel bir tehdit oluşturmaya başlamıştır [2].

Propilparaben (PP), bu ailenin bir üyesi olup mikrobiyal büyümeyi engelleyerek çeşitli tüketici ürünlerin raf ömrünü uzatmak amacıyla yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [9, 10]. PP, geniş bir pH aralığında stabil bir molekül olup suda yüksek bir çözünürlüğe sahiptir. Böylece sulu bir fazda etkili bir konsantrasyon seviyesine ulaşma potansiyeli taşımaktadır [11]. Aerobik koşullar altında biyolojik olarak kolayca parçalanabilir ve biyolojik birikim potansiyeli düşük - orta düzeydedir [12, 13]. PP'nin yaygın kullanımı, sucul ortamlarda tespit edilmesiyle sonuçlanmıştır. Bildirilen PP konsantrasyonları sırasıyla ham atık suda ~20 µg/L, arıtılmamış sızıntı sularında 1,82 µg/L, çamurda 174 ng/g kuru ağırlık (ka), çöktürmelerde 60 ng/g ka'dır [1, 9, 14, 15]. Ayrıca içme suyundaki PP varlığı 9 ng/L seviyesinde belirlenmiştir [14].

Yapılan çalışmalarda, PP'ye maruz kalmanın insan spermelerinin canlılığını değiştirdiği ve sıçanların ön midesinde hücre proliferasyonunu uyardığı gösterilmiştir [16, 17]. PP'nin erkek gök kuşağı alabalığı ve Japon pirinç balığında vitellojenin sentezini tetiklediği rapor edilmiştir [18, 19]. İplik kurdu (*Caenorhabditis elegans*) ile yapılan diğer bir çalışmada PP'nin konsantrasyona bağlı toksisite gösterdiği ve organizmanın boy uzunluğunu azalttığı ve üremeği tetiklediği bildirilmiştir [20]. Yakın zamanda yapılan bir başka çalışmada PP'nin konsantrasyona bağlı bir şekilde zebra balığında gelişim anomalilerine ve gen ekspresyon seviyelerinde değişimlere sebep olduğu tespit edilmiştir [21]. Çalışmamızda yer alan organizmalardan biri olan *D. magna*'da yapılan çalışmalarda da PP'nin artan konsantrasyonlarına bağlı olarak toksisite gösterdiği bildirilmiştir [22-24]. PP'nin *in vivo* ve *in vitro* etkileri geniş çapta incelenmesine rağmen, elde edilen veriler halen yetersiz ve/veya sonuçsuz kalmaktadır.

Daphnia magna (*D. magna*; su piresi), toksikolojik çalışmalarda önemli bir *in vivo* model organizma olup dünya çapında ekotoksikolojik testler için en yaygın kullanılan sistemlerden biridir [25]. *D. magna*, yosun, bakteri ve protozoaları besin olarak kullanırken balıklar için birincil yem olduğu için ekolojik besin ağlarında önemli bir tür olarak kabul edilir [26]. Bununla birlikte, *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*; maya), yaşlanma, hücre döngüsü, nörodejeneratif hastalıklar, gen ekspresyonunun düzenlenmesi ve birçok farklı

biyolojik süreci araştırmak için çeşitli çalışmalarda kullanılan ökaryotik bir model organizmadır [27]. *S. cerevisiae* basit büyüme koşullarına, hızlı üreme oranlarına sahiptir ve kolaylıkla manipüle edilebilir. Dahası, insanlar dahil yüksek ökaryotlarla birçok yapısal ve işlevsel benzerliği bulunmaktadır [28]. Bu nedenle, bu iki organizma potansiyel olarak kirleticilerin toksisitesinin altında yatan moleküler mekanizmaları ortaya çıkarmak ve daha yüksek ökaryotlardaki verileri tahmin etmek için kullanılabilir.

Bu çalışmada, PP'nin toksik etkilerini değerlendirmek için biyolojik model olarak kullanılan *D. magna* ve *S. cerevisiae* kontrollü koşullar altında laboratuvarında PP'nin farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılmıştır. Çalışmamızda PP'nin konsantrasyona bağlı olarak her iki organizmada da toksik olduğu, büyümeyi inhibe ettiği ve yüksek dozlarda öldürücü olduğu tespit edilmiştir.

II. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

Bu çalışmada kullanılan propilparaben (PP; saflik - % 98) Sigma-Aldrich'ten (St Louis, MO) satın alınmıştır. Maruziyet deneylerinde kullanılan konsantrasyonları elde etmek için PP, dimetilsülfoksit (DMSO; Sigma) içinde çözülmüştür. DMSO'nun deneylerdeki maksimum konsantrasyonu % 0.1 olacak şekilde ayarlanmıştır.

2.2. Yöntem

2.2.1. *D. magna* kültürü, bakımı ve maruziyeti

PP'nin etkisini incelemek için Daphtoxkit (MicroBioTests Inc., Belçika) kullanılmıştır. *D. magna* yumurtaları musluk suyunda durularak aktive edilmiş ve ardından 6000 lüks sürekli aydınlatma altında ve 20–22 °C sıcaklıkta, standart suda (67,75 mg/L NaHCO₃, 294 mg/L CaCl₂, 123,25 mg/L MgSO₄ ve 5,75 mg/L KCl) 72–90 saat inkübe edilerek yumurtadan çıkmaları sağlanmıştır. Yumurtadan yeni çıkan yavrular (<24 saat), maruziyetten 2 saat önce *Spirulina* mikroalg süspansiyonu ile beslenmiştir.

2.2.2. *D. magna* akut toksisite analizi

Hayatta kalma deneyi için *D. magna* yavruları (< 24 saat), her bir kuyuda 10-20 hayvan olmak üzere 6 kuyucuklu plakalarda (BD Falcon) PP'ye maruz bırakılmıştır. Her maruziyet üç tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. *D. magna*, % 0.1 DMSO (kontrol) veya PP (0.01, 0.1, 1, 5, 10, 25, 50, 100, 250, ve 500 µM) içeren 10 mL standart suya maruz bırakılmıştır. 24 ve 48 saatlerde hayatta kalma oranları kayıt altına alınmıştır. Bir yavru, mikroskop ile incelemede, hareketsizleşmişse ve organ hareketi gözlenmemişse ölü kabul edilmiştir. Daha sonra, ölüm oranının % 50 olduğu (LC₅₀ değerleri) PP konsantrasyonları (µM) ve *D. magna*'nın ölüm oranı arasındaki ilişkiyi gösteren regresyon eğrileri kullanılarak belirlenmiştir.

2.2.3. *S. cerevisiae* suş, büyüme koşulları ve PP maruziyeti

S. cerevisiae BY4742 (Mata; his3Δ1; leu2Δ0; lys2Δ0; ura3Δ0) Euroscarf koleksiyonundan (Frankfurt, Almanya) temin edilmiştir. Aksi belirtilmedikçe, hücreler 30° C ve 180 rpm orbital çalkalama ile kültüre edilmiştir. Ön kültürler için, 25 mL maya ekstraktı – pepton – glikoz (yeast extract – peptone – glucose; YPD) ortamı (% 2 [w/v] d-glikoz, % 2 [w/v] pepton, % 1 [w/v] maya ekstraktı), YPD petri kabından elde edilen tek bir hücre kolonisi ile aşılınmış ve gece boyunca inkübe edilmiştir. Ön kültürün % 1'lik bir hacim fraksiyonu daha sonra 500 mL'lik erlenmeyer flasklarda bulunan 100 mL YPD sıvı besiyerini aşılama için kullanılmış ve 600 nm'de (OD600 nm) logaritmik fazın ortası olan optik yoğunluğa kadar büyütülmüştür. Daha sonra kültürler çeşitli nihai konsantrasyonlarda (10, 50, 100, 400, 800 ve 1000 µM) PP eklenmiştir. Ortamdaki son DMSO konsantrasyonu, büyümeyi etkilemeyen % 0.1'de (v/v) tutulmuştur. % 0.1 (v/v) DMSO içeren, ancak PP içermeyen başka bir kültür ise kontrol olarak kullanılmıştır. Kullanılan PP konsantrasyonları için büyüme eğrisi, 600 nm'de optik yoğunluk izlenerek oluşturulmuştur.

2.2.4. *S. cerevisiae*'da inhibisyon oranlarının belirlenmesi

PP maruziyetinden sonra inhibisyon oranlarını belirlemek için hücre canlılığı, daha önceki çalışmalarda belirtilen yöntemlere göre metilen mavisi çözeltisi (% 0.01 metilen mavisi, % 2 sodyum sitrat) ile boyama yoluyla ölçülmüştür [29, 30]. Kısaca, 3 saat boyunca PP'ye maruz bırakılan maya kültürlerinden örnekler alınmış, uygun şekilde seyreltilmiş ve eşit hacimde metilen mavisi çözeltisi ile karıştırılmıştır. Ölü (mavi boyalı) ve canlı (boyanmamış) hücrelerin sayısı, karıştırıldıktan sonra 10 dakika içinde mikroskop altında belirlenmiştir. Maya büyümesinin inhibisyon yüzdesi (ölümcül olmayan PP dozları altında), $[(N^0 - N^x) / N^0] \times 100$ olarak tanımlanmıştır. Burada N^x ve N^0 , sırasıyla X µM PP içeren ve içermeyen kültürlerdeki maya hücrelerinin sayısıdır [29].

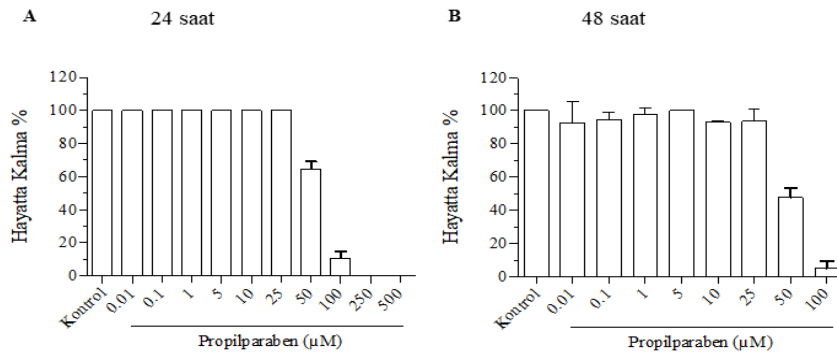
III. BULGULAR VE TARTIŞMA

Ekosistemin antropojenik bileşiklerle kirlenmesi ve bu

çevresel kirleticilerin canlılar üzerindeki potansiyel toksik etkileri gün geçtikçe toplumsal kaygıları arttırmaktadır. Parabenler dâhil birçok bileşik ve metabolitleri canlıları olumsuz etkileyebilir. Bu nedenle, en çok kullanılan parabenlerden bir tanesi olan PP'nin olası toksik etkileri iki önemli biyolojik model *D. magna* ve *S. cerevisiae* kullanılarak araştırılmıştır.

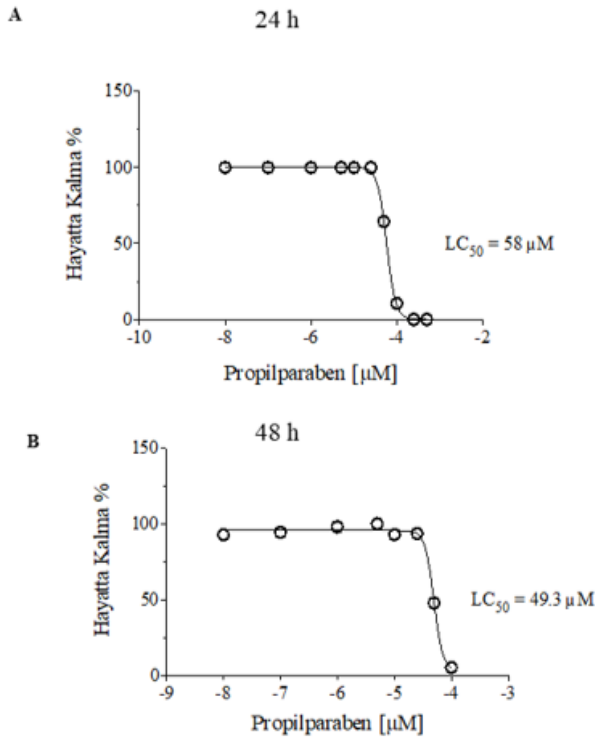
3.1. PP'nin *D. magna* üzerindeki toksik etkileri

D. magna üzerindeki etkisini belirlemek için, PP'nin çok düşük konsantrasyonundan (0.01 µM), çok yüksek konsantrasyonuna (500 µM) kadar çeşitli konsantrasyonlar kullanılarak akut toksisiteye neden olup olmadığını değerlendirmek için hayatta kalma testi yapılmıştır. *D. magna*'nın yumurtadan çıktıktan sonra 24 saatlik maruziyeti, 250 ve 500 µM PP konsantrasyonlarında bütün yavruların ölümü ile sonuçlanmıştır (Şekil 1A). Bununla birlikte, aynı maruziyette 50 ve 100 µM PP konsantrasyonlarında da önemli derecede toksik etki tespit edilmiş olup, hayatta kalma oranları sırasıyla % 64.51 ve % 10.52 olarak bulunmuştur (Şekil 1A). Diğer taraftan daha düşük PP konsantrasyonlarında 24 saatlik maruziyet sonunda herhangi bir etki gözlemlenmemiştir (Şekil 1A). Bununla birlikte, 48 saatlik maruziyet sonunda 50 ve 100 µM PP konsantrasyonlarında hayatta kalma oranları sırasıyla % 47.79 ve % 5.13'e kadar düşmüştür (Şekil 1B). İlk 24 saat sonunda herhangi bir etki göstermeyen 10 ve 25 µM PP konsantrasyonları ise 48 saat sonunda toksik etki göstermiş ve hayatta kalma oranları sırasıyla %92.97 ve % 93.65 olarak bulunmuştur (Şekil 1B). Elde edilen veriler PP'nin *D. magna* üzerindeki toksik etkisinin konsantrasyona bağlı olarak değiştiğini göstermiştir. Çalışmada elde edilen verilere benzer şekilde, daha önce Japon pirinç balığı embriyolarında yapılmış bir çalışmada, 4000 µg/L (~ 22,2 µM) PP'nin embriyolarda anlamlı seviyede bir ölüme neden olmadığı (%7 ± 2.6 ölüm) gösterilmiştir [9]. Zebra balığı embriyolarında yapılan bir başka çalışmada ise 25 µM ve üstü PP konsantrasyonlarının anlamlı düzeyde öldürücü olduğu belirlenmiştir [21]. Bu çalışma ve önceki çalışmalar birlikte ele alındığında, PP toksisitesine farklı türlerin duyarlılık seviyelerinin değişken olabileceğini göstermektedir.



Şekil 1. PP'nin *D. magna* sağkalımı üzerindeki etkileri. Hayatta kalma oranlarının belirlenmesi için *D. magna* yavruları PP'ye maruz bırakılmıştır. (A) 24 saat, (B) 48 saat sonunda hayatta kalma seviyeleri.

LC₅₀ değeri, organizma popülasyonunun % 50'sinin ölmesine sebep olan kimyasal konsantrasyonudur [23]. Çalışmada daha önce de belirtildiği gibi farklı konsantrasyonlardaki PP'ye maruz bırakılan *D. magna* için LC₅₀ değeri belirlenmeye çalışılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre 24 ve 48 saatlik maruziyetler için LC₅₀ değeri sırasıyla 58 µM ve 49.3 µM olarak bulunmuştur (Şekil 2A ve 2B). Bu sonuçlara göre maruziyet süresi arttıkça *D. magna* için PP'nin toksisite seviyesi artmakta ve buna paralel olarak LC₅₀ değeri düşmektedir. Daha önce *D. magna* ile yapılan akut toksisite çalışmasında 24 saatlik maruziyet sonunda LC₅₀ değeri yaklaşık 117.1 µM olarak bulunmuştur [23]. *D. magna* ile yapılan bir başka çalışmada ise 48 saatlik akut toksisite maruziyeti sonunda LC₅₀ değeri yaklaşık 68.3 µM olarak tespit edilmiştir [22]. Bu farklar, *D. magna* kaynağı ve deney ortamı, sıcaklık, kültür için kullanılan suyun kimyasal bileşimi ve besin kaynağı dahil maruz kalma koşullarının farklılığından kaynaklanıyor olabilir. Bununla birlikte, iplik kurduna yapılan bir çalışmada 24 saatlik PP maruziyeti sonunda LC₅₀ değeri 261.7 µM olarak bulunmuştur [20]. Bulgular karşılaştırıldığında *D. magna*'nın iplik kurduna göre PP hassasiyeti daha yüksek olup, PP'nin türe bağlı etki seviyesinin değiştiği söylenebilir.

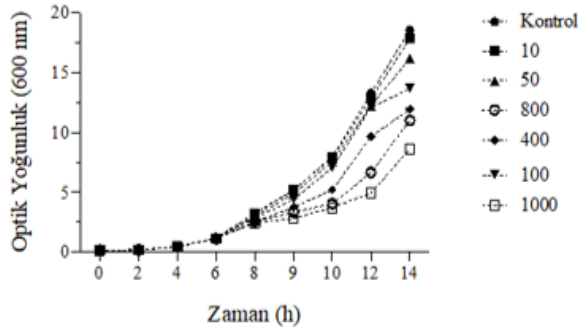


Şekil 2. *D. magna* için PP LC₅₀ değerleri. *D. magna* yavruları PP'nin farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılmış ve LC₅₀ değerleri regresyon analizi ile belirlenmiştir. (A) 24 saat, (B) 48 saat için LC₅₀ değerleri.

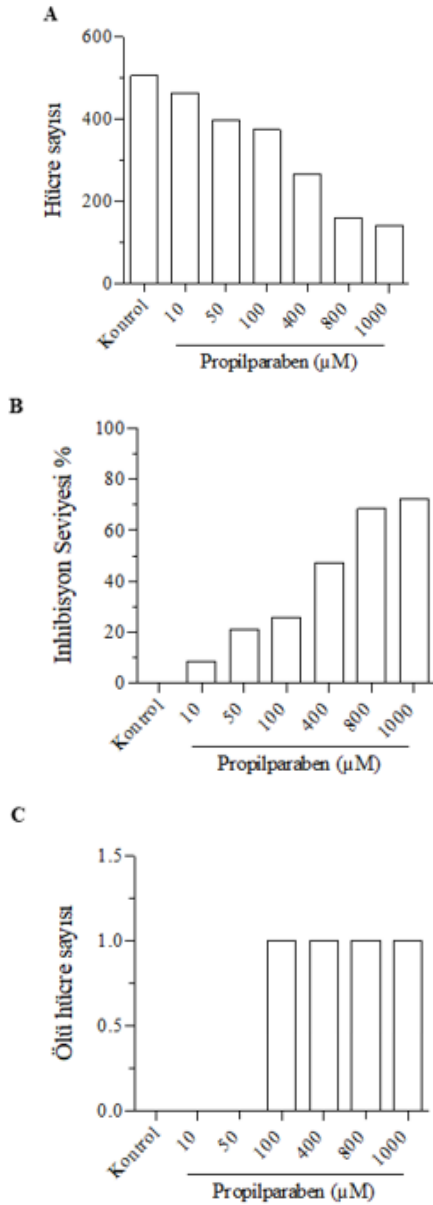
3.2. PP'nin *S. cerevisiae* üzerindeki toksik etkileri

PP'nin *S. cerevisiae* BY4742 suşu üzerindeki etkisini araştırmak için maya hücreleri PP'ye maruz bırakılarak inceleme altına alınmıştır. Bu analizler için maya kültürleri, logaritmik fazın ortasından başlayarak 3 saat boyunca PP'ye maruz bırakılmıştır. Maruz kalma süresi, maya hücrelerinin kimyasallara karşı moleküler cevaplarının tipik olarak maruziyetten birkaç saat sonra ortaya çıktığını gösteren önceki çalışmaların sonuçlarına dayanmaktadır [29, 31, 32].

PP'nin toksik seviyesini belirlemek için, maya hücrelerini çeşitli PP konsantrasyonlarına (10, 50, 100, 400, 800 ve 1000 µM PP) maruz bırakılmış ve metilen mavisi çözeltisi ile boyama yöntemiyle hücre canlılığı ölçülmüştür. 100 µM PP'ye kadar olan konsantrasyonlarda büyüme kinetiğinde (optik yoğunluk) etki gözlemlenmemiştir. Ancak daha yüksek konsantrasyonlarda konsantrasyon arttıkça büyüme kinetiğinin düşüş gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 3). Bunun tersine, hücre sayısı ölçümlerine bakıldığında en düşük konsantrasyondan itibaren konsantrasyondaki artışa paralel olarak inhibisyon seviyesinde bir artış (hücre sayısında düşüş) olduğu belirlenmiştir (Şekil 4A ve 4B). Elde edilen verilere bakıldığında en düşük konsantrasyon olan 10 µM PP'de %8.5 inhibisyon gözlemlenirken, en yüksek konsantrasyon olan 1000 µM PP'de ise %72.1 inhibisyon tespit edilmiştir (Şekil 4B). Diğer taraftan kullanılan hiçbir konsantrasyonda anlamlı seviyede bir hücre ölümüne rastlanmazken 100 µM PP üzeri konsantrasyonlarda birer hücre ölümü tespit edilmiştir (Şekil 4C). Çalışmada yer alan *D. magna* ve *S. cerevisiae* PP toksisitesi bakımından karşılaştırıldığında maya hücrelerinin çok daha dirençli olduğu söylenebilir. 100 µM PP konsantrasyonun *D. magna*'da yüksek seviyede toksik olduğu (24 ve 48 saat sonunda hayatta kalma oranları sırasıyla % 10.52 ve % 5.13) belirlenirken, aynı konsantrasyonun *S. cerevisiae*'de öldürücü olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 1 ve 4). Bununla birlikte, *D. magna* ve birçok farklı organizma ile yapılan çalışmalar dikkate alındığında [8, 20-23] *S. cerevisiae* hücrelerinin PP toksisitesi karşısında yüksek bir toleransa sahip olduğu söylenebilir. Bu görece yüksek PP toleransının altında yatan olası moleküler mekanizmalar arasında *S. cerevisiae* tarafından geliştirilen adaptif mekanizmaların yer alabileceği düşünülmektedir. *S. cerevisiae* değişken çevresel ve fizyolojik koşullar altında işlev gören birçok gen duplikasyonuna sahiptir. Bu gen duplikasyonları merkezi metabolizmada yoğunlaşmış olup, merkezi metabolizmada yer alan metabolik yollar hücrenin canlılığını devam ettirmede diğer metabolik yollardan daha aktiftir. Ayrıca, maya hücrelerinde bulunan ve farklı stres koşullarında devreye giren alternatif sinyal yolları da bulunmaktadır [33]. Bununla birlikte, gen ve protein ekspresyonu gibi farklı son noktalarda analizler yaparak bu adaptif mekanizmaların PP toksisitesindeki etkin rollerinin tespit edilmesi gerekmektedir.



Şekil 3. Farklı PP konsantrasyonları maruziyetinde *S. cerevisiae* BY4742 suşu büyüme kinetiği. Maya hücreleri çeşitli PP konsantrasyonlarına maruz bırakılmış ve 600 nm'de optik yoğunluk ölçülerek kaydedilmiştir.



Şekil 4. PP maruziyetinin *S. cerevisiae* BY4742 suşu üzerindeki etkileri. (A) Hücre sayısı, (B) İnhibisyon seviyesi (%), (C) Ölü hücre sayısı.

IV. SONUÇ

Parabenler, ticari ürünlerde koruyucu olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Bununla birlikte, toksisiteyi yeterli bir seviyede değerlendirilmemiştir. Bu çalışmada, iki model organizma *D. magna* ve *S. cerevisiae*'de en yaygın kullanılan parabenlerden biri olan PP'nin toksisitesi araştırılmıştır. Elde edilen veriler PP'nin ekosistemdeki canlılar için zararlı olabileceğini göstermektedir. PP, *D. magna*'da yüksek toksisite profili göstermiş, *S. cerevisiae* hücrelerinde önemli derecede inhibisyon etkisi yaratmıştır. Sonuçlar, PP'nin *S. cerevisiae* ile karşılaştırıldığında *D. magna*'da daha yüksek toksisiteye sahip olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak, bu çalışmadaki bulgular, PP'nin konsantrasyona bağlı bir şekilde *D. magna* ve *S. cerevisiae* için toksik olduğunu göstermektedir. Ekosistemde parabenlerin seviyesi her geçen gün artmaktadır, bu nedenle kullanımlarını düzenlemek için etki mekanizmaları ayrıntılı olarak incelenmelidir. Bu kapsamda, bu çalışmada sunulan bilgiler, parabenlerin etkilerine ilişkin fikir vermektedir. Bununla birlikte, parabenlerin toksisitesine dair moleküler mekanizmaları ortaya çıkarmak için daha ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Marmara Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü Moleküler Ekoloji Araştırma Grubu, Örebro Üniversitesi (İsveç), Yaşam Bilimleri Merkezi Moleküler Biyoloji Araştırma Grubu ve İskenderun Teknik Üniversitesi tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Haman, C., Dauchy, X., Rosin, C. ve Munoz, J. F., (2015). Occurrence, fate and behavior of parabens in aquatic environments: a review. *Water Research*, 68, 1-11.
- [2] Martín, J. M. P., Peropadre, A., Herrero, Ó., Freire, P. F., Labrador, V. ve Hazen, M. J., (2010). Oxidative DNA damage contributes to the toxic activity of propylparaben in mammalian cells. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 702, 86-91.
- [3] Golden, R., Gandy, J. ve Vollmer, G., (2005). A review of the endocrine activity of parabens and implications for potential risks to human health. *Critical Reviews in Toxicology*, 35, 435-58.
- [4] Calafat, A. M., Ye, X., Wong, L.-Y., Bishop, A. M. ve Needham, L. L., (2010). Urinary concentrations of four parabens in the US population: NHANES 2005–2006. *Environmental Health Perspectives*, 118, 679-85.
- [5] Gao, Y., Ji, Y., Li, G. ve An, T., (2016). Theoretical investigation on the kinetics and mechanisms of hydroxyl radical-induced transformation of parabens and its consequences for toxicity: Influence of alkyl-chain length. *Water Research*, 91, 77-85.
- [6] Kodani, S. D., Overby, H. B., Morisseau, C., Chen, J., Zhao, L. ve Hammock, B. D., (2016). Parabens inhibit fatty acid amide hydrolase: A potential role in

- paraben-enhanced 3T3-L1 adipocyte differentiation. *Toxicology Letters*, 262, 92-9.
- [7] Kusk, K. O., Krüger, T., Long, M., Taxvig, C., Lykkesfeldt, A. E., Frederiksen, H. vd., (2011). Endocrine potency of wastewater: contents of endocrine disrupting chemicals and effects measured by in vivo and in vitro assays. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30, 413-26.
- [8] Boberg, J., Taxvig, C., Christiansen, S. ve Hass, U., (2010). Possible endocrine disrupting effects of parabens and their metabolites. *Reproductive Toxicology*, 30, 301-12.
- [9] González-Doncel, M., García-Mauriño, J. E., San Segundo, L., Beltrán, E. M., Sastre, S. ve Torija, C. F., (2014). Embryonic exposure of medaka (*Oryzias latipes*) to propylparaben: effects on early development and post-hatching growth. *Environmental Pollution*, 184, 360-9.
- [10] Szeląg, S., Zabłocka, A., Trzeciak, K., Drozd, A., Baranowska-Bosiacka, I., Kolasa, A. vd., (2016). Propylparaben-induced disruption of energy metabolism in human HepG2 cell line leads to increased synthesis of superoxide anions and apoptosis. *Toxicology in Vitro*, 31, 30-4.
- [11] Soni, M., Burdock, G., Taylor, S. ve Greenberg, N., (2001). Safety assessment of propyl paraben: a review of the published literature. *Food and Chemical Toxicology*, 39, 513-32.
- [12] Butkovskiy, A., Rijnaarts, H., Zeeman, G. ve Leal, L. H., (2016). Fate of personal care and household products in source separated sanitation. *Journal of Hazardous Materials*, 320, 427-34.
- [13] Siddique, S., Kubwabo, C. ve Harris, S. A., (2016). A review of the role of emerging environmental contaminants in the development of breast cancer in women. *Emerging Contaminants*, 2, 204-19.
- [14] Carmona, E., Andreu, V. ve Picó, Y., (2014). Occurrence of acidic pharmaceuticals and personal care products in Turia River Basin: from waste to drinking water. *Science of the Total Environment*, 484, 53-63.
- [15] Peng, X., Ou, W., Wang, C., Wang, Z., Huang, Q., Jin, J. vd., (2014). Occurrence and ecological potential of pharmaceuticals and personal care products in groundwater and reservoirs in the vicinity of municipal landfills in China. *Science of the Total Environment*, 490, 889-98.
- [16] Shibata, M-A., Yamada, M., Hirose, M., Asakawa, E., Tatematsu, M. ve Ito, N., (1990). Early proliferative responses of forestomach and glandular stomach of rats treated with five different phenolic antioxidants. *Carcinogenesis*, 11, 425-9.
- [17] Bao-Liang, S., Hai-Ying, L. ve Dun-Ren, P., (1989). In vitro spermicidal activity of parabens against human spermatozoa. *Contraception*, 39, 331-5.
- [18] Inui, M., Adachi, T., Takenaka, S., Inui, H., Nakazawa, M., Ueda, M. vd., (2003). Effect of UV screens and preservatives on vitellogenin and choriogenin production in male medaka (*Oryzias latipes*). *Toxicology*, 194, 43-50.
- [19] Pedersen, K. L., Pedersen, S. N., Christiansen, L. B., Korsgaard, B. ve Bjerregaard, P., (2000). The preservatives ethyl-, propyl- and butylparaben are oestrogenic in an in vivo fish assay. *Pharmacology & Toxicology*, 86, 110-3.
- [20] García-Espiñeira, M. C., Tejada-Benítez, L. P. ve Olivero-Verbel, J., (2018). Toxic effects of bisphenol A, propyl paraben, and triclosan on *Caenorhabditis elegans*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15, 684.
- [21] Bereketoglu, C. ve Pradhan, A., (2019). Comparative transcriptional analysis of methylparaben and propylparaben in zebrafish. *Science of the Total Environment*, 671, 129-39.
- [22] Dobbins, L. L., Usenko, S., Brain, R. A. ve Brooks, B. W., (2009). Probabilistic ecological hazard assessment of parabens using *Daphnia magna* and *Pimephales promelas*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28, 2744-53.
- [23] Lee, J., Bang, S. H., Kim, Y-H. ve Min, J., (2018). Toxicities of four parabens and their mixtures to *Daphnia magna* and *Aliivibrio fischeri*. *Environmental Health and Toxicology*, 33.
- [24] Terasaki, M., Makino, M. ve Tatarazako, N., (2009). Acute toxicity of parabens and their chlorinated by-products with *Daphnia magna* and *Vibrio fischeri* bioassays. *Journal of Applied Toxicology*, 29, 242-7.
- [25] Jordão, R., Garreta, E., Campos, B., Lemos, M. F., Soares, A. M., Tauler, R. vd., (2016). Compounds altering fat storage in *Daphnia magna*. *Science of the Total Environment*, 545, 127-36.
- [26] Colbourne, J. K., Pfrender, M. E., Gilbert, D., Thomas, W. K., Tucker, A., Oakley, T. H. vd., (2011). The ecoresponsive genome of *Daphnia pulex*. *Science*, 331, 555-61.
- [27] Karathia, H., Vilaprinyo, E., Sorribas, A. ve Alves, R., (2011). *Saccharomyces cerevisiae* as a model organism: a comparative study. *PLoS One*, 6:e16015.
- [28] Duina, A. A., Miller, M. E. ve Keeney, J. B., (2014). Budding yeast for budding geneticists: a primer on the *Saccharomyces cerevisiae* model system. *Genetics*, 197, 33-48.
- [29] Bereketoglu, C., Arga, K. Y., Eraslan, S. ve Mertoglu, B., (2017). Genome reprogramming in *Saccharomyces cerevisiae* upon nonylphenol exposure. *Physiological Genomics*, 49, 549-66.
- [30] Winter, D., Podtelejnikov, A. V., Mann, M. ve Li, R., (1997). The complex containing actin-related proteins Arp2 and Arp3 is required for the motility and integrity of yeast actin patches. *Current Biology*, 7, 519-29.
- [31] Gasch, A. P. ve Werner-Washburne, M., (2002). The genomics of yeast responses to environmental stress and starvation. *Functional & Integrative Genomics*, 2, 181-92.
- [32] Gil, F. N., Gonçalves, A. C., Jacinto, M. J., Becker, J. D. ve Viegas, C. A., (2011). Transcriptional profiling in *Saccharomyces cerevisiae* relevant for predicting alachlor mechanisms of toxicity. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30, 2506-18.

[33] Maltsev, N., Glass, E. M., Ovchinnikova, G. ve Gu, Z., (2005). Molecular mechanisms involved in robustness of yeast central metabolism against null mutations. *Journal of Biochemistry*, 137, 177-87.