

Mn, Cd, Fe ve Mg Metallerinin *Saccharomyces cerevisiae* Mayasında Antioksidan Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi

Oğuz Ayhan KİREÇCİ 

Bitlis Eren Üniversitesi, Hizan Meslek Yüksek Okulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, BİTLİS
✉ :kireccioguzayhan@gmail.com

ÖZET

Metal iyonları, kalıcı etkilerinden dolayı hem canlı sistemler hem de çevre sağlığı yönünden önem taşımakta olup, belirli bir sınırı aşınca da son derece toksik etki gösterirler. Özellikle ağır metaller bu konuda en riskli grubu oluşturur. Bu çalışmada *Saccharomyces cerevisiae*'da, mangan (Mn), kadmiyum (Cd), demir (Fe) ve magnezyumun (Mg) antioksidan enzimler üzerindeki etkisinin ortaya konması amaçlanmıştır. Deney materyali olan *S. cerevisiae* FMC16, YEDP besiyerinde çoğaltılmış ve geliştirilmiştir. Uygulama grupları için; Mn, Cd, Fe ve Mg metallerinin her biri son derişimi 100 mL'de 1 mg olacak şekilde kültür ortamına ilave edilmiş ve uygulama yapılan (deneysel grup) ve yapılmayan (kontrol grubu) mayalarda süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon S-transferaz (GST) ve glutatyon redüktaz (GSH-Rd) enzim aktiviteleri spektrofometrik yöntemlerle belirlenmiştir. Sonuç olarak; kontrol grubuna göre tüm deneysel gruplarda SOD aktivitesinin arttığı ve bu artışın istatistiksel açıdan önemli olduğu ($p < 0.001$), ve özellikle Cd ile muamele edilen grupta SOD enzim aktitesi artışının daha belirgin olduğu gözlemlenmiştir. GST aktivitesinin uygulama yapılan tüm gruplarda kontrol grubuna göre arttığı ($p < 0.0001$) ve Fe ile muamele edilen mayalarda GST enzim aktivitesindeki artışın diğer gruplara oranla fazla olduğu, GSH-Rd aktivitesinin ise bütün metal uygulama gruplarında kontrole göre azaldığı ve bu azalmanın Cd grubunda oldukça belirgin olduğu saptanmıştır ($p < 0.0001$). Sonuçlar; *S. Cerevisiae*'da farklı metallerin antioksidan savunma sistemi üzerinde farklı etkilere sahip olduğunu göstermiştir.

DOI:10.18016/ksudobil.359165

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 29.11.2017

Kabul tarihi : 12.02.2018

Anahtar Kelimeler

Ağır metaller,
S. cerevisiae,
glutatyon redüktaz (GSH-Rd),
glutatyon S-transferaz (GST),
süperoksit dismutaz (SOD)

Araştırma Makalesi

The Effects of Mn, Mg, Cd, Fe Metals on The Avttiviy of Antioxidant Enzymes in *Saccharomyces cerevisiae*

ABSTRACT

Metal ions, despite being important for both live systems and environmental health due to their permanent effects, and may become extremely toxic effect if they exceed a certain limit. Especially heavy metals are considered as the most risky group in this regard. In this study it is intended to reveal the effect of manganese (Mn), cadmium (Cd), iron (Fe) and magnesium (Mg) on antioxidant enzymes in *Saccharomyces cerevisiae*. *S. cerevisiae* FMC16, the strain used in this experiments, was proliferated and developed on YEDP medium. For application groups; Mn, Cd, Fe and Mg metals were separately added to the culture medium at the final concentration of 1 mg at 100 mL. Superoxide dismutase (SOD), glutathione S-transferase (GST) and glutathione reductase (GSH-Rd) enzyme activities were determined spectrophotometrically in the treated (experimental group) and non-treated (control group) yeasts. As a result; it was observed that SOD activity was increased and the increase was statistically significant ($p < 0.001$) in all experimental groups compared to the control group although rise of SOD enzyme activity was more prominent especially in the group treated with Cd. While the activity of GST was found to be higher in all treated groups

Article History

Geliş : 29.11.2017

Kabul : 12.02.2018

Keywords

Heavy metals,
S. cerevisiae,
glutathione reductase (GSH-Rd),
glutathione S-transferases (GST),
superoxide dismutase (SOD)

Research Article

compared to the control ($p < 0.0001$) and the increase in Fe-treated yeast was observed to be higher than in the other groups, the level of GSH-Rd decreased in all groups compared to the control, and it was especially prominent in the Cd group ($p < 0.0001$). The results showed that, different metals have different effects on the antioxidant defense system in *S. cerevisiae*.

To Cite : Kireççi OA 2018. Mn, Cd, Fe ve Mg Metallerinin *Saccharomyces cerevisiae* Mayasında Antioksidan Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 21(4): 500-510, 2018. DOI:10.18016/ksudobil.359165

GİRİŞ

Yüzyıllar boyunca insanlar çeşitli metalleri etkilerini bilmeden değişik amaçlar için kullanmışlardır. Metaller kimyasal olarak "elektrik iletken, metalik bir parlaklığa sahip, şekil verilebilen, katyonlar oluşturan ve bazik oksitler verme eğiliminde olan maddeler" olarak tanımlanmaktadır (Atkins ve Jones, 1997). "Ağır Metal" terimi tam olarak açıklığa kavuşmamış bir konudur. Ağır metali tanımlamak için kullanılan yoğunluk ile toksisite ve ekotoksisite gibi çeşitli fizikokimyasal kavramlar arasında bir ilişki bulunamamıştır. Farklı araştırmacılar ağır metal kavramı için farklı yoğunluk değerleri bildirmiştir (Nostrand, 1964; Grant ve Grant 1987; Parker, 1989; Lozet ve Mathieu, 1991; Morris, 1992; Streit, 1994; Thornton, 1995). Ağır metaller; düşük konsantrasyonlarda dahi toksik etki yapabilirler. Genellikle kontaminasyon ve potansiyel toksisite ya da ekotoksisite ile ilişkilendirilen metaller ya da yarı metaller olarak bilinirler. Ağır metallerin yaşamsal bakımdan etkili olanları belirli konsantrasyonu aştıklarında toksik etki gösterirken Hg, Cd ve Pb gibi yaşamsal olmayanları başlangıç konsantrasyonundan itibaren toksik etkilidirler (Jarup, 2003; Bliefert, 2004; Özbolat ve Tuli, 2016).

Çinko, bakır, demir, krom, selenyum ve mangan gibi elementlerin insan ve hayvanlarda hastalıkları önleme etkilerinin yanı sıra maya metabolizması üzerindeki etkileri de bilimsel çalışmalara konu olmaktadır (Guan-Zetic ve ark., 2001).

Canlı organizmalar metabolik fonksiyonları için moleküler oksijeni kullanmak zorundadırlar. Oksijen kullanımı bakımından canlılar sadece aerobik ve anaerobik olarak ayrılmazlar. Bunların yanında fakültatif (seçici) olarak adlandırılan canlı türleri de bulunur ki bu türler, çoğunlukla anaerobik bir yaşam sergilemelerine rağmen gereksinim duydukları zaman moleküler oksijeni de kullanabilirler. Bu türlere en iyi örnek ise *Saccharomyces cerevisiae* mayasıdır. *S. cerevisiae* normal şartlarda anaerobik bir canlıdır ancak aerobik şartlarda da hayatta kalabilmekte hatta çoğalabilmektedir.

Aerobik hücrelerde serbest radikallerin en önemlilerini moleküler oksijen ile onun radikal türevleri (süperoksit anyonu ve hidroksil radikalleri), peroksitler ve geçiş metalleri (Fe^{++} , Cu^{++}) kapsar.

Serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı hücre veya organizmalar koruyucu mekanizmalara sahiptirler. Bu mekanizmalardan bir kısmı serbest radikal oluşumunu, bir kısmı ise oluşmuş serbest radikallerin zararlı etkilerini önler. Bu işlevleri yapan maddelerin tümüne birden genel olarak antioksidanlar denir (Bast ve ark., 1997). Aerobik organizmalar reaktif oksijen türlerinin sebep olduğu toksisiteye karşı hem kimyasal hem de enzimatik korunma sistemlerine sahiptir (Jeong ve ark., 2009; Ajila ve Prasada, 2008; Gülçin ve ark., 2004).

Mayalar; günümüzde biyoteknolojik, toksikolojik ve biyokimyasal çalışmalarda oldukça sık kullanılan organizmalar içerisinde yer almaktadır. Araştırmada materyali olan *S. cerevisiae*'nin metal biyosorbsiyonunda etkili olarak kullanıldığı bilinmektedir hatta elektrolit atıklarındaki metalleri bile uzaklaştırabilirler (Stoll ve Duncan, 1996; Dönmez ve Aksu, 1999). Ancak günümüze kadar yapılan araştırmalar ile ağır metallerin *S. cerevisiae* mayasının antioksidan enzim sistemi üzerine olan etkileri tam olarak ortaya konulamamıştır. Bu çalışmada; *S. cerevisiae*'nin gelişme ortamına ilave edilen Mg, Mn, Cd ve Fe metallerinin antioksidan enzimler üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Saccharomyces cerevisiae'nin Gelişme ve Uygulama Ortamının Hazırlanması

Deneyde kullanılan *S. cerevisiae* FMC16'nın gelişimi ve çoğalması için YEDP (100 mL için 1 g yeast ekstrakt, 2 g baktopepton, 2 g glukoz) besiyeri ortamı hazırlandı. Her grup için tekrar sayısı (n) 6 idi. Besiyeri ortamı hazırlandıktan sonra aşağıdaki gruplara ayrıldı;

Kontrol grubu: Bu gruptaki *S. cerevisiae* hücreleri için, 200 mL saf su içinde 2 g maya ekstraktı, 4 g baktopepton ve 4 g glukoz içeren besiyeri ortamı hazırlandı.

Metal Uygulama Grupları: Bu gruptaki *S. cerevisiae* hücreleri için, gelişme ortamını içeren besiyeri hazırlandıktan sonra Mg, Mn, Cd ve Fe metallerinin her birinden 2 mg 200 mL kültür ortamına ilave edildi. Aşılama işleminden sonra kültürlerize edilmiş hücreler 30 °C'de 72 saat inkübasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda kültür ortamlarının absorbansları 517

nm'de ölçüldü. İşlem sonunda hücreler 6000 rpm'de 5 dakika süreyle +4 °C'de santrifüj edilerek toplandı ve hücre pelletlerinin yaş ağırlığı belirlendi. Ardından biyokimyasal işlemler yapıldı.

Hücre pelletleri, 20 mM Tris HCl-baz (pH= 7.4) ve 20 mM EDTA karışımı ile homojenize edilip santrifüj edildikten sonra süpernatant kısmı ile antioksidan enzimlerin ölçümleri yapıldı.

Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesi Tayini

Stres altında oluşan süperoksit radikalleri nitroblue tetrazolium (NBT) ile reaksiyona girerek mavi renkli formazon oluşumuna neden olur. Ortamda süperoksit dismutaz varlığında formazon oluşumu inhibe edilir. Renk oluşumu ile enzim konsantrasyonu arasında ters orantı bulunmaktadır. Süperoksit dismutaz enziminin aktivitesinin belirlenmesinde Sairam ve ark., (2002) tarafından belirtilen yöntem, modifiye edilerek kullanılmıştır. Buna göre; elde edilen ekstraksiyon sıvısından alınan örnek üzerine 1'er mL substrat tamponu ve katalizör eklenmiştir. 15 W'lık ışık kaynağı altında 15 dakika bekletilen karışımın 560 nm dalga boyunda yaptığı absorban spektrofotometrik olarak ölçülmüştür 1 ünite süperoksit dismutaz NBT indirgenme hızının % 50 inhibisyonu olarak değerlendirilmiştir (Sun ve ark., 1988). Enzim aktivitesi; enzim ünitesi /mg protein olarak hesaplanmıştır.

Glutatyon S-Transferaz (GST) Enzim Aktivitesi Tayini

Glutatyon S-transferaz tayini Habig (1974) tarafından geliştirilen metoda göre yapılmıştır. GST'nin bütün izozimleri için 1-chloro-2,4-dinitrobenzen (CdNB) substrat olarak kullanılır. GST enzimi tarafından CdNB, indirgenmiş glutatyon (GSH) ile konjuge edilerek glutatyonun oksidasyonuna bağlı olarak 340 nm'de absorban yükselmektedir. Enzim aktivitesinin tayini için 3 dakika boyunca 340 nm'de yükselen absorbanlar okunarak 340 nm'de (ϵ_{340} : 9,6 mM/cm) 1 dakikada süpernatantta bulunan 1 mg toplam protein başına oluşturulan tioeter miktarı belirlenmiştir.

Glutatyon Redüktaz (GSH-Rd) Enzim Aktivitesi Tayini

Glutatyon redüktaz enzim aktivitesi Carlberg ve Mannervik (1985) tarafından geliştirilen metoda göre yapılmıştır. Bu metoda göre, aktivite, pH'ı 7 olan 100 mM fosfat tamponu, 1 mM GSSG, 1 mM EDTA, 0,1 mM NADPH ve 25-50 µL enzimden oluşan karışımda 340 nm'de 3 dakika süreyle meydana gelen absorban değişimlerine göre spektrofotometrik olarak hesaplanmıştır.

İstatistik Analizi

Deney sonucunda elde edilen veriler SPSS 15.0 istatistik programı ile değerlendirildi. Kontrol grubu ile deney gruplarının ortalamaları arasındaki farklılıklar önce tek-yönlü ANOVA testi ile belirlenirken, her bir grubun diğerine göre farklılıkları ise post hoc LSD testi yapılarak tesbit edildi. Değerler ortalama \pm standard sapma (mean \pm S.D.) şeklinde belirtildi.

BULGULAR

Metal Uygulama Gruplarının SOD Enzim Aktivitesi Üzerine Etkileri

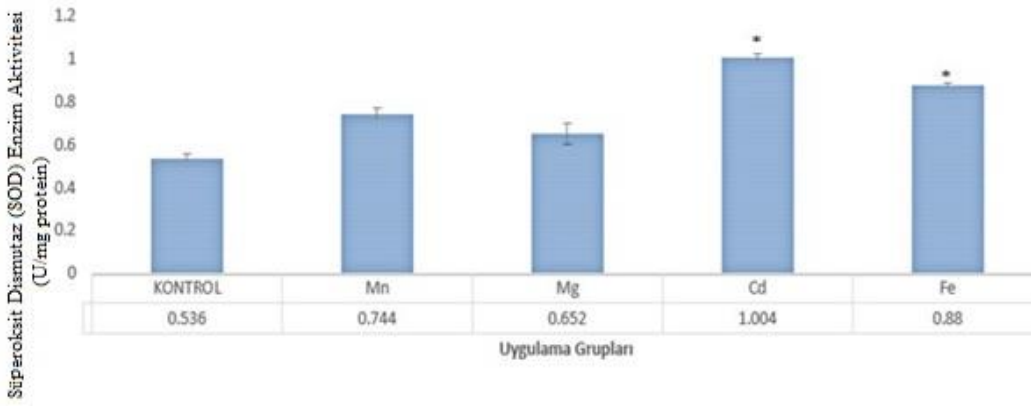
Çalışmada tüm metal uygulamalarının SOD enzim aktivitesi üzerine aktiviteyi artırıcı etkileri bulunduğu belirlenmiştir. Kontrol grubuyla kıyaslandığı zaman; Mn ve Mg uygulaması sonrasında ölçülen aktivite kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemsiz olduğu gözlenmiştir ($p \geq 0.05$). Cd ve Fe uygulamalarında belirlenen SOD enzim aktivitesi artışının kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.0001$). Şekil 1 ve Çizelge 1 incelendiğinde; en yüksek SOD enzim aktivitesinin Cd uygulamasında gerçekleştiği görülmektedir (1.004 U/mg protein). Ayrıca Mg uygulamasında meydana gelen aktivite artışının ise kontrol grubuna yakın olduğu gözlenmiştir.

Mn, Mg, Cd ve Fe uygulamalarının yapılması ile kontrol grubuna göre yüksek SOD enzim aktivite belirlenmiştir. Cd ve Fe uygulamalarında meydana gelen SOD enzim aktivitesi artışının istatistiksel açıdan kontrol grubuna göre önemli olduğu belirlenmiştir (* $p < 0.0001$).

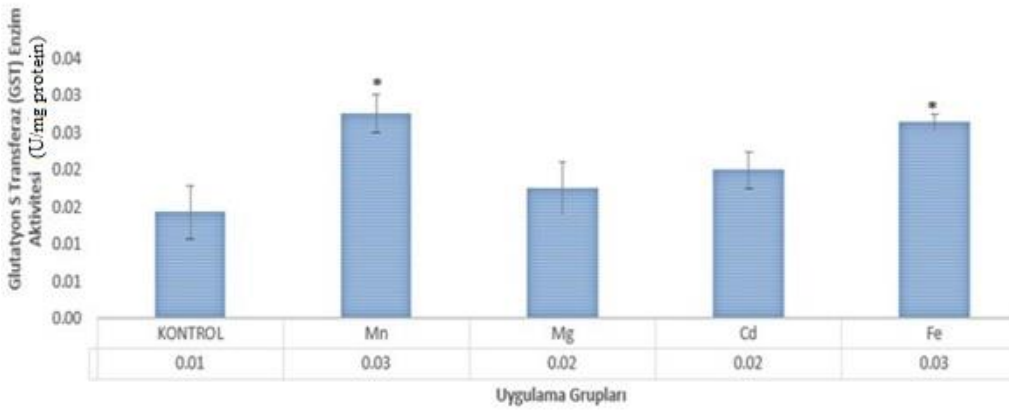
Metal Uygulama Gruplarının Glutatyon S Transferaz (GST) Enzim Aktivitesi Üzerine Etkileri

Analiz sonuçlarına göre; GST enzim aktivitesinin metal uygulamalarına bağlı olarak arttığı belirlenmiştir (Şekil 2 ve Çizelge 1). En yüksek GST enzim aktivitesi Mn ve Cd uygulamalarında belirlenmiştir (0.03 U/mg protein). Aynı zamanda bu iki uygulamadan elde edilen GST enzim aktivitesinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.0001$). Şekil 2 incelendiğinde; deney materyalinin normal yetiştirme koşullarında GST enzim aktivitesinin ortalama 0.01 U/mg protein olduğu anlaşılmaktadır.

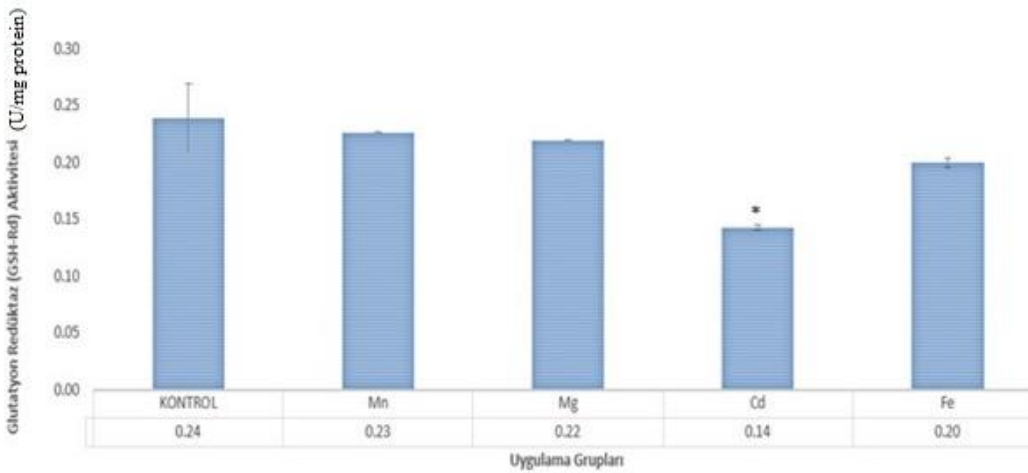
Mn, Mg, Cd ve Fe uygulamaları sonucunda GST enzim aktivitesinin kontrol grubuna göre arttığı belirlenmiştir. Mn ve Fe uygulamalarında belirlenen GST enzim aktivitesi artışının kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir (* $p < 0.0001$). Mg ve Cd uygulamaları da GST enzim aktivitesini kontrol grubuna 2 kat artırmıştır.



Şekil 1. Uygulama gruplarının *S. cerevisiae*'da SOD enzim aktivitesi üzerine etkileri.



Şekil 2. Uygulama gruplarının *S. cerevisiae*'da GST enzim aktivitesi üzerine etkileri



Şekil 3. Uygulama gruplarının *S. cerevisiae*'da GSH-Rd enzim aktivitesi üzerine etkileri

Çizelge 1. Uygulama gruplarının *S. cerevisiae*'da incelenen tüm antioksidan enzim aktivitesi üzerine etkileri

Uygulama Grupları	Enzim Aktiviteleri (U/mg protein)		
	SOD	GST	GSH-Rd
Kontrol	0.536±0.01	0.01±0.001	0.24±0.02
Mn	0.744±0.01	0.03±0.001*	0.23±0.01
Mg	0.652±0.04	0.02±0.001	0.22±0.01
Cd	1.004±0.01*	0.02±0.001	0.14±0.02*
Fe	0.88±0.01*	0.03±0.001*	0.20±0.01

(*p<0.0001)

Metal Uygulama Gruplarının Glutasyon Redüktaz (GSH-Rd) Enzim Aktivitesi Üzerine Etkileri

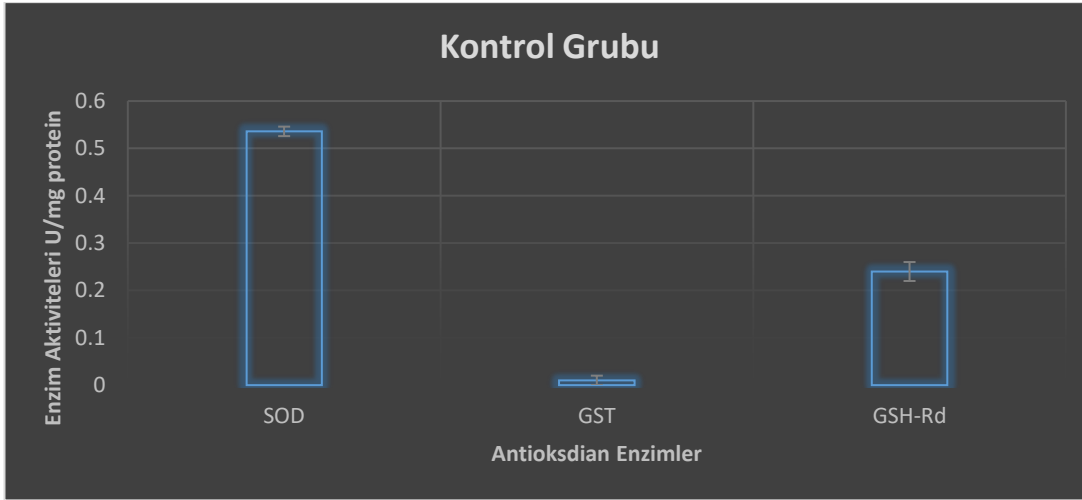
Metal uygulamalarına bağlı olarak; maya hücrelerinde GSH-Rd enzim aktivitesinin kontrol grubundan daha düşük seviye olduğu belirlenmiştir (Şekil 3 ve Çizelge 1). Kontrol grubunda 0.24 U/mg protein olan ortalama GSH-Rd aktivitesinin Mn uygulamasında 0.23 U/mg protein, Mg uygulamasında 0.22 U/mg protein, Fe uygulamasında 0.20 U/mg protein ve Cd uygulamasında ise 0.14 U/mg protein olduğu tespit edilmiştir. Cd uygulamasında belirlenen GSH-Rd enzim aktivitesinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel açıdan önemli ölçüde düşük olduğu anlaşılmıştır ($p<0.0001$).

Mn, Mg, Cd ve Fe uygulamaları sonucu GSH-Rd enzim aktivitesinin kontrol grubuna göre azalma eğilimi gösterdiği belirlenmiştir. Mn ve Mg uygulamalarında kontrol grubuna çok yakın aktivite değerleri elde edilirken Cd ve Fe uygulamalarında ise GST-Rd enzim aktivitesindeki azalmanın daha fazla olduğu ve Cd uygulamasında meydana gelen aktivite azalmasının kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli olduğu saptanmıştır ($*p<0.0001$).

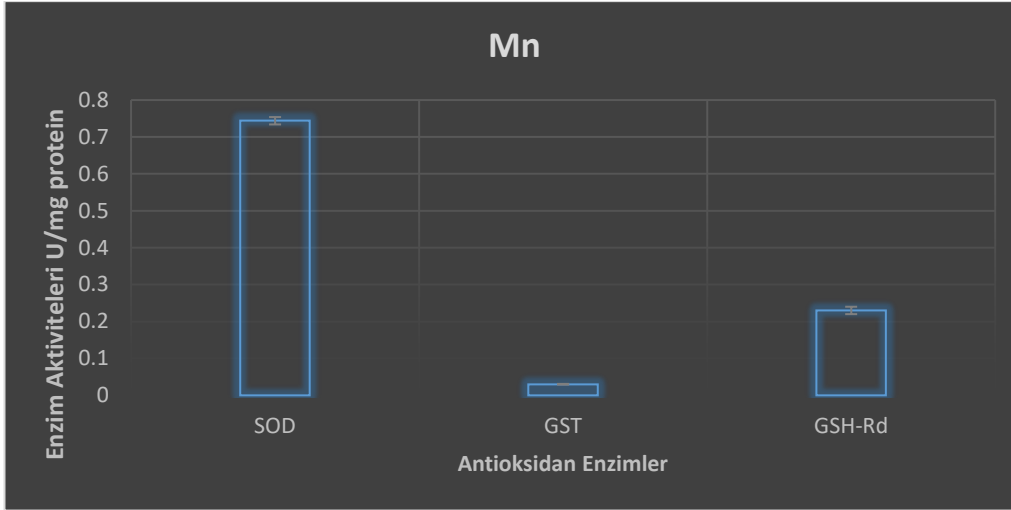
Metal Uygulamalarının Analiz Edilen Tüm Antioksidan Enzim Aktiviteleri üzerine Etkileri

Şekil 5 incelendiğinde; Mn uygulamasının SOD enzim aktivitesi üzerine aktivite artırıcı etkisinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Mg uygulaması da Mn uygulamasında olduğu gibi SOD enzim aktivitesini GST ve GSH-Rd aktivitelere göre daha fazla artırmıştır (Şekil 6). *S. cerevisiae* hücrelerinin Mn, Mg ve Fe uygulamalarına karşı oluşturduğu antioksidan cevapları birbirine yakındır ve en fazla SOD enzim aktivitesinde artış oluşmuştur (Şekil 5, Şekil 6 ve Şekil 7). Cd uygulaması da benzer şekilde SOD enzim aktivitesinde daha yüksek seviyede artış sağlarken GST ve GSH-Rd enzim aktivitelerindeki artışın SOD aktivitesinden daha az olduğu anlaşılmıştır (Şekil 8). Çizelge 1 incelendiğinde ise Cd uygulamasının GSH-Rd enzim aktivitesinde diğer metallerin sağladığı aktivitele azalışlarına göre daha fazla azalma oluşturduğu görülmektedir.

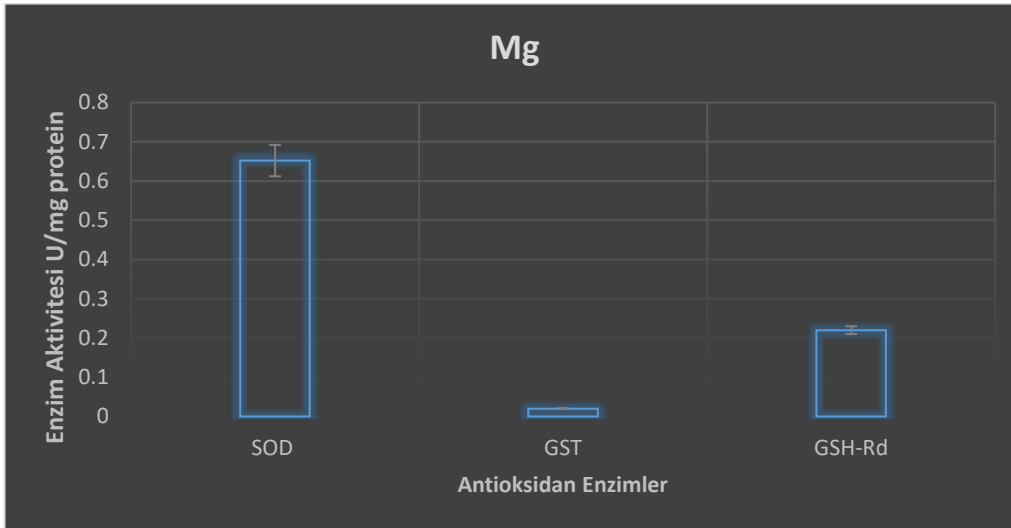
Cd uygulaması sonucunda SOD aktivitesinin diğer metal uygulamalarına göre de en yüksek seviyeye ulaştığı belirlenirken GSH-Rd aktivitesinde elde edilen değer diğer metal uygulamaları içinde en düşük seviyede olduğu anlaşılmıştır. GST aktivitesi ise artmıştır.



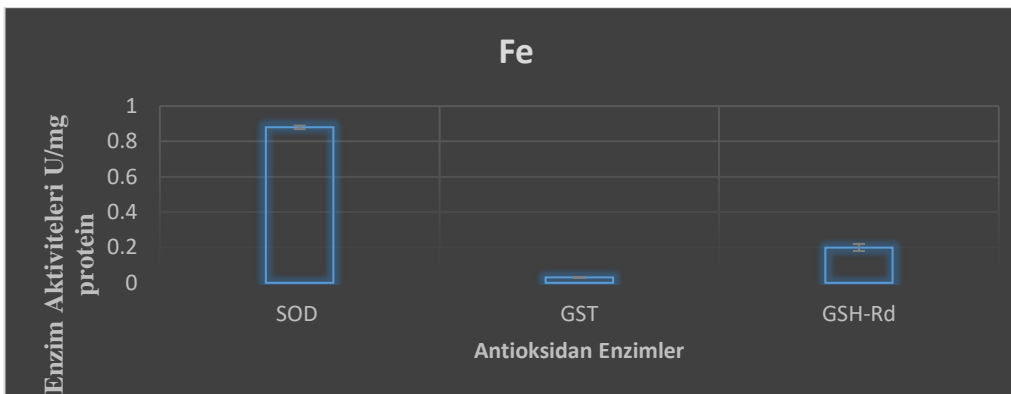
Şekil 4. Kontrol grubunda belirlenen tüm antioksidan enzim aktiviteleri. Kontrol grubunda en yüksek enzim aktivitesinin SOD olduğu belirlenirken bunu GSH-Rd ve GST enzim aktiviteleri izlemiştir.



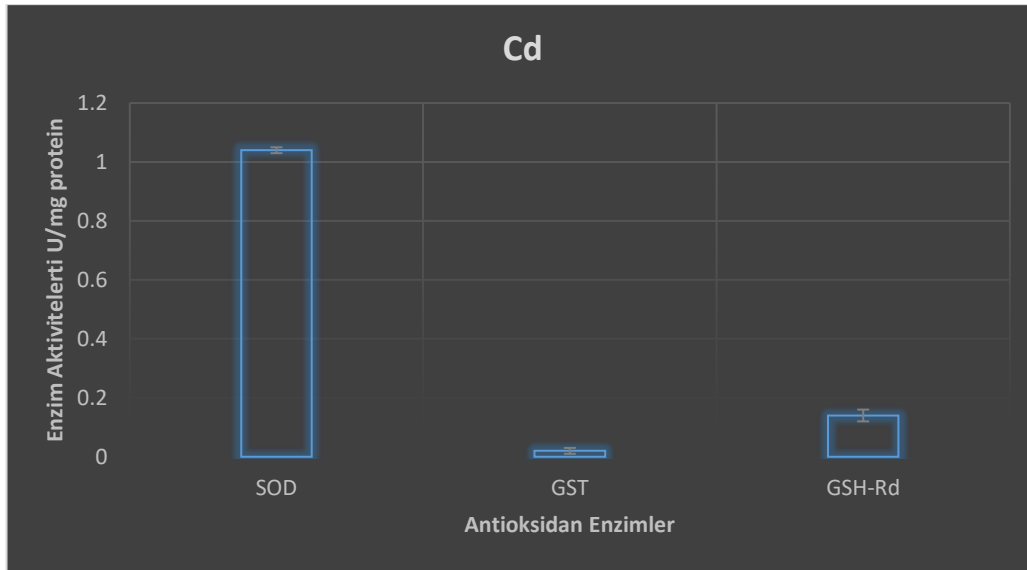
Şekil 5. Mn uygulamasının analiz edilen tüm antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisi (U/mg protein). Mn uygulaması sonucunda SOD ve GST enzim aktivitelerinde artış meydana gelmiştir. GSH-Rd aktivitesinin GST aktivitesinden yüksek, SOD aktivitesinden düşük olduğu belirlenmiştir.



Şekil 6. Mg uygulamasının analiz edilen tüm antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisi (U/mg protein). Mg uygulaması sonucunda SOD aktivitesi GST ve GSH-Rd aktivitesine göre daha fazla artış göstermiştir.



Şekil 7. Fe uygulamasının analiz edilen tüm antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisi (U/mg protein). Fe uygulaması sonucunda SOD enzim aktivitesi artmıştır. Keza GST enzim aktivitesinde de artış elde edilmiştir. Ancak GSH-Rd aktivitesinin ise GST aktivitesinden yüksek olduğu belirlenmiştir.



Şekil 8. Cd uygulamasının analiz edilen tüm antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisi (U/mg protein).

TARTIŞMA ve SONUÇ

S. cerevisiae'de diğer ökaryotlar gibi süperoksit radikalini etkisiz hale getiren iki süperoksit dismutaz enzimine sahiptir. Bunlardan ilki total SOD aktivitesinin %5-15'ini oluşturan SOD2 geni tarafından kodlanan Mn-SOD'dur ve bu enzim mitokondride süperoksit radikalini etkisiz hale getirir. İkincisi ise toplam SOD aktivitesinin %90'ını oluşturan ve SOD1 geni tarafından kodlanan Cu, Zn-SOD'dur. Lee ve ark., (2001), *S. Cerevisiae* mayasının yabani ve mutant tiplerini kullanarak iyon radyasyonuna karşı yaptıkları çalışmalarında; süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon redüktaz enzim aktivitelerinin mutant tipte yabani tipe göre belirgin seviyede arttığını bildirmiştir. Yapılan diğer çalışmalarla da hücre hasarı ile SOD aktivitesindeki artış ya da azalış arasında bir korelasyon olduğu belirtilmiştir (Lee ve ark., 2001; Scott ve ark., 1989; Marklund ve ark., 1984). Çalışmamızda SOD enzim aktivitesinin tüm ağır metal uygulama gruplarında kontrol grubuna göre arttığı belirlenmiştir. Antioksidan enzimlerin en önemlilerinden biri olan SOD miktarındaki artış maya hücrelerinin radikallere karşı gösterdiği savunma mekanizmasını açıklamaktadır. Sonucumuz; Lee ve ark., (2001) tarafından bildirilen ve *S. cerevisiae* mayasında iyon radyasyonuna karşı süperoksit radikalini koruyucu etkisini araştırdıkları çalışmalarının sonucuyla uyumludur. Adamis ve ark., (2004), mutant *S. cerevisiae* hücrelerinde sitozolik SOD1 eksikliğinde kontrol şuşuna göre 2 kat fazla kadmiyum artışı olduğunu, mitokondrial SOD2 eksikliğinde ise daha düşük metal absorpsiyonu olduğunu bildirmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlara göre Cd uygulamasında yüksek SOD aktivitesi belirlenmiştir. Adamis ve ark., (2004) tarafından elde edilen bilgiye göre; SOD, Cd'a karşı koruyucu role sahiptir. Mevcut çalışmada elde edilen

Cd uygulamasına bağlı yüksek SOD aktivitesi literatürün ifade ettiği SOD enziminin Cd'a karşı koruyucu rolü olduğunu bilgisi ile uygunluk göstermektedir. Villegas ve ark., (2009), mayalarda yüksek bakır konsantrasyonlarında artmış SOD ve CAT aktivitesi bulunduğunu belirtmiştir. Bu çalışmada, GST-Rd enzim aktivitesinin metal uygulamalarına bağlı olarak kontrol grubuna göre azaldığı ve bu durumun Cd uygulaması dışında istatistiksel açıdan önemsiz ($p \geq 0.05$) olduğu belirlenmiştir (Çizelge 1). Sonuçlarımız; Cardoso ve ark., (2008) tarafından bildirilen ve demir iyonlarının glutatyon redüktaz aktivitesini azalttığını bildirdikleri çalışmalarıyla uyumludur. Mevcut çalışmaya göre; Fe uygulaması GST-Rd enzim aktivitesinde kontrol grubuna kıyasla azalmaya neden olmuştur ($p \geq 0.05$) ve bu sonuç yukarıda belirtilen literatür ile uygunluk göstermektedir. Her ne kadar SOD ve GST aktivitelerinin metal uygulamalarında artması antioksidan savunma mekanizmasının toksik maddeleri uzaklaştırmak için aktif hale geçtiğini gösterse de, GSH-Rd enzim aktivitelerinin azalması maya hücrelerinin yoğun stress şartlarıyla karşı karşıya kaldığını düşündürmektedir. Çünkü SOD O_2^- anyonunu, daha az reaktif türler olan O_2 ve H_2O_2 'ye dönüştürür. Oluşan H_2O_2 ise başta katalaz enzimi olmak üzere, GST ve GSH-Rd gibi enzimler aracılığıyla parçalanarak zararsız O_2 ve H_2O 'ya parçalanır. Elde edilen sonuçlar GSH-Rd aktivitesinin SOD aktivitesine bağlı olarak oluşabilecek yüksek miktarlardaki H_2O_2 'nin parçalanmasında yetersiz kaldığını işaret etmektedir. Ayrıca bunun nedeni; uygulama konsantrasyonları da olabilir. Kadmiyumun belli dozlarda uygulanması sonucu glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve glukoz-6-fosfat dehidrojenaz gibi antioksidan özelliğe sahip bazı enzimlerin aktivitelerinin azaldığı ifade edilmiştir (Asagba ve ark., 2002). Muthukumar ve Nachiapan

(2010), *S. cerevisiae*'ya uygulanan 100 µM Cd'nin glutasyon peroksidaz enzim aktivitesini kontrol grubuna göre %26 oranında artırdığını bildirmiştir. Mevcut çalışmada Cd uygulamasının GSH-Rd aktivitesini kontrol grubuna kıyasla azaldığı belirlenmiştir. Bu farklı sonucun uygulanan Cd konsantrasyonuna bağlı olduğu düşünülmektedir. Asagba ve ark., (2002) tarafından belirtilen sonuca göre Cd belli dozlarda enzim aktivitelerinde azalma gerçekleştirmektedir. Nedjoud ve ark., (2013) çinko uygulamasının *S. cerevisiae* mayasında GST enzim aktivitesini kontrol grubuna göre artırdığını ortaya koymuşlardır.

Sonuç olarak; *S. cerevisiae*'ya uygulanan metallerin antioksidan savunma sistemi üzerine etkilerinin araştırıldığı bu çalışma ile esansiyel olsun ya da olmasın metallerin konsantrasyonuna bağlı olarak canlı açısından risk teşkil ettiği sonucuna varılmıştır. Çalışma sonucuna göre SOD ve GST enzim aktivitelerinde artışlar meydana gelmiştir. Ayrıca GSH-Rd aktivitesinin ise azaldığı gözlenmiştir. Uygulanan metaller antioksidan savunma üzerinde uyarıcı etki yaparken bir diğer antioksidan enzim aktivitesinde azalma meydana getirmiştir. Dolayısıyla antioksidan savunma cevaplarının değişmesine neden olmuştur. Canlı organizmalarda antioksidan savunma sisteminin prensiplerini ortaya koymak oldukça güçtür ve ortam şartlarındaki değişimlerden etkilenmeleri doğaldır. Bu nedenle deney materyalimiz olan *S. cerevisiae* hücrelerinden çeşitli sonuçlar elde edilmesi olağandır. Çünkü; canlılar yaşamlarını uygun şekilde sürdürebilmek için iç ve dış ortamlarında dengeyi yakalamak zorundadır. Meydana gelen ortamsal değişimler stres oluşmasına neden olur ve stres cevapları meydana gelir. Bu cevaplar canlıdan canlıya değişiklik gösterebilmektedir. Elde ettiğimiz sonuçlara göre; farklı metaller, antioksidan enzim aktivitelerini farklı şekilde etkilemiştir. Mevcut çalışmanın sonuçları; hücre ve dolayısıyla organlarda birikim yapan ve uzun vadede toksik etkileri kaçınılmaz olan metallerin antioksidan savunma sistemi üzerine etkilerinin oldukça değişken olabildiğini göstermektedir. Buna bağlı olarak; toksik etkiye sahip maddelerin organizmaya verebileceği olası zararlar ile arşlaşmamak için, bu maddelere çok fazla maruz kalınmaması gerektiği bir kez daha ortaya konmuştur.

KAYNAKLAR

Adamis PDB, Gomes DS, Pereira MD, Mesquita JF, Pinto MLCC, Panek AD, Eleuthero ECA 2004. The effect of superoxide dismutase deficiency on cadmium stress. *Jornal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 18: 1–6 (2004).
Ajila CM, Prasada Rao UJS 2008. Protection against hydrogen peroxide induced oxidative damage in rat

erythrocytes by *Magnifera indica* L. peel extract. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 303-309.
Asagba SO, Isamah GK, Ossai EK, Ekakitie, AO 2002. Effect of oral exposure to cadmium on the levels of vitamin A and lipid peroxidation in the eye. *Bullet in Enviromental Contamination and Toxicology*, 68: 18-21.
Atkins P, Jones L 1997. *Chemistry—Molecules, Matter and Change*, 3rd ed., W. H. Freeman, New York.
Bast A, Haenen GRMM, Cees JAD 1997. Oxidants and antioxidants: State of the art. *The American Journal of Medicine*, 91 (Suppl 3C): 30,3C-2S_3C-13S.
Bliefert C 2004. *Umweltchemie*. Auflage, Wiley-UCH.
Cardoso LA, Ferreira ST, Hermes-Lima M 2008. Reductive inactivation of yeast glutathione reductase by Fe(II) and NADPH. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 151: 313–321.
Carlberg I, Mannervik B 1985. Glutathione reductase. *Methods in Enzymology*, 113: 484-490.
Dönmez G, Aksu Z 1999. The effect of copper(II) ions on growth and bioaccumulation properties of some yeasts. *Process Biochemistry*, 35: 135-142
Grant R, Grant C (Eds.) 1987. *Grant and Hackh's Chemical Dictionary*, McGraw-Hill, New York.
Guan-Zetic VG, Stehlik-Tomas V, Grba S, Lutlisky L, Kozlek D 2001. Chromium uptake by *Saccharomyces cerevisiae* and isolation of glucose tolerance factor from yeast biomass. *Journal of Biosciences*, 26 (2): 217–223.
Gülçin I, Küfrevioğlu ÖI, Oktay M, Büyükkuroğlu ME 2004. Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *Journal of Ethnopharmacology*, 90: 205–215.
Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB 1974. Glutathione-S-Transferases: The First Enzymatic Steo In Mercapturic Acid Formation. *Journal of Biological Chemistry*, 249: 7130-7139.
Jarup L 2003. Hazards of heavy metal contamination. *British Medical Bulletin*. 68:167-82.
Jeong JB, Park JH, Lee HK, Ju SY, Hong SC, Lee JR, Chung GY, Lim JH, Jeong HJ 2009. Protective effect of the extracts from *Cnidium officinale* against oxidative damage induced by hydrogen peroxide via antioxidant effect. *Food and Chemical Toxicology*, 47: 525-529.
Lee JH, Choi IY, Kil IS, Kim SY, Yang ES, Park J 2001. Protective role of superoxide dismutases against ionizing radiation in yeast. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1526: 191–198.
Lozet J, Mathieu C 1991. *Dictionary of Soil Science*, 2nd ed., Balkema AA, Rotterdam.
Marklund SL, Westman NG, Roos G, Carlsson J 1984. Radiation resistance and the CuZn superoxide dismutase, Mn superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase activities of seven human cell lines. *Radiation Research*, 100: 115-123.

- Morris C (Ed.) 1992. Academic Press Dictionary of Science and Technology, Academic Press, San Diego.
- Muthukumar K, Nachiappan V 2010. Cadmium-induced oxidative stress in *Saccharomyces cerevisiae*. Indian Journal of Biochemistry & Biophysic, 47: 383-387.
- Nedjoud G, Fadila K, Mouna A, Zohra G, Sana G 2013. Effect of zinc on growth, metabolism and activity of antioxidant enzymes in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Global Journal Of Biodiversity Science And Management, 3(2): 243-248
- Nostrand V 1964. International Encyclopaedia of Chemical Science. Van Nostrand, New Jersey.
- Özbolat G, Tuli A 2016. Ağır Metal Toksisitesinin İnsan Sağlığına Etkileri. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi, 25(4): 502-521.
- Parker PS (Ed.) 1989. McGraw-Hill Dictionary of Scientific and Technical Terms, 4th ed., McGrawHill, New York.
- Sairam RK, Rao KV, Srivastava GC 2002. Differential response of wheat genotypes to term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science, 163: 1037– 46.
- Scott MD, Meshnick SR, Eaton JW 1989. Superoxide dismutase amplifies organismal sensitivity to ionizing radiation. Journal of Biological Chemistry, 264: 2489–2501.
- Stoll A, Duncan JR 1996. Enhanced heavy metal removal from wastewater by viable, glucose pretreated *Sacchromyces cerevisiae* cells. Biotechnology Letters, 18(10): 1209-1212.
- Streit B 1994. Lexikon der Okotoxikologie, VCH, Weinheim.
- Sun Y, Oberley LW, Li Y 1988. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. Clinical Chemistry, 34: 497-500.
- Thornton I 1995. Metals in the Global Environment—Facts and Misconceptions, ICME, Ottawa.
- Villegas LB, Amoroso MJ, De Figueroa LIC 2009. Responses of *Candida fukuyamaensis* RCL-3 and *Rhodotorula mucilaginosa* RCL-11 to copper stress. Journal of Basic Microbiology, 49: 395-403.