

Perkloretilen'in *in vitro* Sitotoksik Etkisinin Brine Shrimp Letalite Testi ile Araştırılması

Ümit ÜNSAL¹ , Tülay AŞKIN ÇELİK² 

¹İMİ Koleji, İsmet Paşa Mahallesi Sodra Doğakent Evleri Sk. No:92 Milas/MUĞLA, ²Adnan Menderes Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, AYDIN

✉ : tcelik@adu.edu.tr

ÖZET

Perkloroetilen (PERC), kuru temizleme endüstrisinde çözücü, yağ giderici ve temizleyici olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Perkloroetilen, güçlü ve etkili bir temizleyici olup giysilerin buruşmasını ve renginin solmasını engeller. Kuru temizleme dükkanlarının en az üçte ikisi kuru temizleme işlemlerinde perkloroetilen'i kullanmaktadır. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC, 1995) Perkloroetileni insan karsinojeni olarak Grup2A içerisine almıştır ve kurutemizleme endüstrisinde çalışan insanlar için kanserojen olabileceğini belirtmiştir. PERC'in kuru temizlemede çalışan işçilerde cilt lezyonlarının yanı sıra, lenfosarkom, lösemi, kolon, akciğer ve ürogenital kanserlere neden olduğuna dair çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmada saf Perkloroetilen'in *Artemia salina* larvaları üzerindeki potansiyel sitotoksik etkisi Brine Shrimp Letalite Testi ile araştırılmıştır. Denemelerde negatif kontrol olarak tuzlu su, çözücü kontrol olarak etanol ve pozitif kontrol olarak da Mitomisin-C (MMC) kullanılmıştır. Çalışmanın sonuçları, LC₅₀ değerlerine göre, *in vitro* ortamda PERC'e 24 saat maruz bırakılan *A. salina* larvaları üzerindeki sitotoksik etkinin sadece 1000 ppm'lik PERC uygulanması sonucunda ortaya çıktığını, diğer konsantrasyon aralıklarında (10 ve 100 ppm) ise sitotoksik aktivitesinin olmadığını göstermiştir.

DOI:10.18016/ksudobil.407505

Makale Tarihiçesi

Geliş Tarihi : 19.03.2018

Kabul Tarihi : 16.04.2018

Anahtar Kelimeler

Artemia salina,

Brine Shrimp

Letalite Testi,

Perkloroetilen,

Sitotoksik etki

Araştırma Makalesi

Investigation of *in vitro* Cytotoxic Effects of Perchloroethylene by Using Brine Shrimp Lethality Assay

ABSTRACT

Perchloroethylene (PERC= tetrachlorethylene) is widely used in industry as a dry-cleaning solvent, degreaser, and cleaner. PCE is a useful solvent in the dry-cleaning industry because it is an effective cleaner and prevent shrinking and color fading of garments. At least two-thirds of dry cleaners use PCE as a solvent in their dry-cleaning operations. The International Agency for Research on Cancer (IARC) included PCE to the Group 2A probable human carcinogen, and considers it as possibly carcinogenic to the dry-cleaning industry workers. It has been showed that PERC causes human skin lesions as well as lymphosarcoma, leukemia, colon, lung and urogenital cancers in dry cleaning workers. In this study, the potential cytotoxic effect of pure Perchloroethylene on *Artemia salina* larvas was investigated by Brine Shrimp Letality Assay. In experiments saline was used as negative control, ethanol was used as solvent control and Mytomicin-C (MMC) was used as positive control. The results of this study (LC₅₀ values) showed that the cytotoxic effect on the *A. salina* larvae exposed to PERC for 24 hours *in vitro* was only due to the application of 1000 ppm of PERC, while the other concentrations (10 and 100 ppm) did not have cytotoxic activity.

Article History

Received : 19.03.2018

Accepted : 16.04.2018

Keywords

Artemia salina,

Brine Shrimp

Lethality Assay,

Perchloroethylene,

Cytotoxic effect,

Research Article

To cite : Ünsal Ü, Aşkin Çelik T 2018. Perkloretilen'in *in vitro* Sitotoksik Etkisinin Brine Shrimp Letalite Testi ile Araştırılması. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 21(5),644-649, 2018. DOI:10.18016/ksudobil.407505

GİRİŞ

Günümüzde Avrupa'da çok yaygın olan kuru temizleme endüstrisi, Türkiye'de de hızla yaygınlaşmaktadır. Tekstil ürünlerini temizlerken ürünlerde hasarın oluşmasının önlenmesi, görünümünün ilk günkü yeniliğinde muhafaza edilmesi ve renklerinin değişmemesi amaçlanır. Tekstil ürünlerinin üzerinde bulunan kir ve lekeleri çıkarma işlemleri genellikle sulu yıkama ile yapılmaktadır. Ancak bazı tekstil ürünleri su ya da alkali olan deterjanlara karşı hassastır ve bu da ürünün bozulmasına yol açmaktadır. Bunun yanı sıra yağ ve petrol bazlı lekeler de sulu yıkama ile çıkarılamamaktadır. Bu nedenle su ile yıkamaya alternatif olarak geliştirilen kuru temizleme ile tekstil ürünlerinin kirlerden arındırılması, lekelerin çıkarılması hedeflenmektedir. Kuru temizlemenin temel amacı organik solventler kullanarak çamaşırları kirlerden temizlemektir. Solventler, yağ esaslı kirleri çözmek suretiyle temizlerken mekanik, mekanik hareketlerle de toz gibi diğer kirleri uzaklaştıran organik çözücüdürler. Leke çıkarmak için kullanılan kuru temizleme solventleri PERC, hidrokarbonlar, silika bazlı çözücüler ve diğer ticari maddelerdir. Kuru temizlemede kullanılan organik çözücüler genelde renksiz ve şeffaf olup, kendilerine has bir kokusu vardır (Blair ve ark., 1990).

Kuru temizleme endüstrisi 19. yüzyılda ilk olarak Avrupa'da faaliyete başlamıştır. Başlangıçta en çok kullanılan kuru temizleme solventleri petrol bazlı olup benzen, kerosen, nafta ve benzin içermekteydi. Petrol bazlı solventler, çok uçucu özelliğe sahip olduklarından dolayı kuru temizlemede kullanıldıklarında patlama ve yangın oluşturma riskleri oldukça yüksektir. Daha sonraları kullanılan trikloretilen ve karbon tetraklorid gibi çözücülerin de zararlı etkilerinin olduğu ortaya çıkmıştır. Bu sıvıların yerini sırasıyla kerosen benzeri etilen ve 1950'li yıllardan itibaren de renksiz, alev almayan ve patlayıcı olmayan sentetik bir sıvı olan perkloretilen (PERC, C₂Cl₄) ve 1990'lı yıllardan sonra da (Blair ve ark., 1990) propilen glikoleter, sıvı karbondioksit, n-propil bromür, silikon bazlı solvent, dibutoksimetan ve hidrokarbon esaslı yeni solventler almışlardır (Oran, 2016).

Kuru temizlemede kullanılan PERC (= tetrakloroetilen), hidrofilik olmasından dolayı, tekstil liflerini bozmayan bir özelliğe sahiptir. Kumaş liflerinin temizleme sırasında bünyelerine aldığı PERC kumaşı bozmadan, kumaş üzerinde ve bünyesinde su gibi nemlilik bırakmadan, kumaşı şişirip, kısaltmadan ve çektirmeden kumaşı kendi normal boyutunda bırakarak 70 °C'de kolayca buharlaşmaktadır. PERC, buharlaştığında keskin ve tatlı sert bir koku çıkartmaktadır (Anonim, 2004).

PERC buharlaşma yoluyla atmosfere girer. Yapılan çalışmalar Avrupa'da kuru temizleme endüstrisinde

çalışan yaklaşık 1,5 milyonun üzerindeki kuru temizleme işçisinin her yıl ortalama olarak 59 ppm ve uygulamaya bağlı olarak daha yüksek düzeyde PERC'e maruz kaldığını göstermektedir (Ünsal, 2013). Türkiye'de kuru temizlemede endüstrisinde çalışan işçi sayısı ve maruz kalınan PERC miktarı kesin olarak bilinmediği için, ülkemizdeki işçilerin durumu hakkında kesin bir şey söylemek mümkün değildir. PERC'e uzun süre temas etme sonucunda deride yaygın tahriş, solunum sisteminde düzelmeyen alerjik rahatsızlıklar ile böbrek ve karaciğerde hasarların görüldüğü, PERC'e maruz kalan hamilelerde nedensiz düşüklerin daha sık gözlemlendiği, hem kadınlarda hem de erkeklerde doğurganlık oranının azaldığı bildirilmektedir (Fişek ve Piyal, 1989; Karakaya, 1996).

PERC'in potansiyel genotoksik etkisi bakteri, maya ve memeli hücreleri gibi farklı *in vitro* test sistemlerinde araştırılmıştır (ECETOC, 1990., IARC, 1995., ATSDR., 1997). PERC'in, *in vitro* muameleyi takiben farklı hücrelerde mikronukleus oluşumuna ve kardeş kromatid değişimine (SCEs) (Ünsal, 2013) ve tümör dokularında genotoksik etkilere neden olduğuna dair çalışma örnekleri bulunmaktadır (Spencer ve ark., 2002). Wallis (1986), farelere intraperitoneal (i.p) yolla 4–8 mmol/kg (663–1326 mg/kg) PERC uygulandıktan 1 saat sonra, farelerin karaciğer ve böbrek dokularında artan oranlarda tek iplikli DNA zincir kırıklarının ortaya çıktığını ancak akciğer dokularında bu tür bir hasara rastlanmadığını bildirmiştir. Potter ve ark., (1996), erkek F344 sıçanlarına gavaj yolu ile 1.000 mg/kg PERC verildikten sonra sıçanların böbrek hücrelerinde, DNA zinciri kırılmalarında herhangi bir artış olmadığını belirlemişlerdir. 5 mM (~830 mg/L) tetrakloretilen'in insan kan hücrelerinde kardeş kromatid değişimlerine (SCE) neden olduğu (Muzzullo ve ark., 1987) ve hücre canlılığını % 40 oranında azalttığı (Hartmann ve Speit, 1995), kültüre edilen Çin hamster ovaryum hücrelerinde (Wang ve ark., 2001) ve insan periferik kan hücrelerinde mikronukleuslara da neden olduğu (White ve ark., 2001) bildirilmiştir.

Artemia salina Crustacea alt şubesi, Branchiopoda sınıfı, Anostraca takımına bağlı primitif kabuklular arasında yer alan, doğada tropik ve ılıman bölgelerde doğal ve yapay tuz göllerinde yaşayan bir kabuklu türüdür. Ergin bireyleri % 1 ile % 235 tuzluluk arasında ve 10-35 °C arasında yaşayabilirler. *A. Salina*, yaşam devri boyunca dayanıklı yumurtalar (kistler) oluşturması nedeniyle, su canlılarının özellikle de balıkların beslenmesinde 1920'den bu yana canlı yem olarak kullanılmaktadır (Anonim, 2008). *A. salina* larvaları, günümüzde biyolojik aktiviteleri araştırılan örneklerin toksik etkilerinin araştırılmasında oldukça geniş bir şekilde kullanılmaktadır. *Artemia*, ekotoksikite testleri için kullanılan önemli bir test organizmasıdır (Nunes ve ark., 2006). Toksik maddelerin *A. salina* larvalarına üzerindeki öldürücü etkisi, hızlı ve basit bir yöntem

olan “Brine Shrimp Letalite Testi”in kullanılmasına olanak sağlamaktadır (Choudhary ve Thomsen, 2001, Libralato ve ark., 2016). Bu test, Michael ve arkadaşları tarafından 1959 yılında geliştirilmiş ve pek çok kimyasal maddenin veya bitki ekstraktlarının potansiyel toksik etkileri için kullanılan, elverişli bir yöntem olarak benimsenmiştir (Insanu ve ark., 2012, Rajabi ve ark., 2015). Toksikite testlerinde materyal olarak *A. salina* kullanmanın temel avantajları şunlardır: (1) hızlı bir yöntem olması (kist halinden larva oluncaya kadar geçen süre 28-72 saattir), (2) maliyetin ucuz olması, (3) ticari dayanıklı kistlerden (yumurta) çıkan larvaların homojen olması, (4) kültür gereksiz yıl boyu kullanılabilir olması (Nunes ve ark., 2006; Manfra ve ark., 2012), (5) biyolojisi ve ekolojisi hakkında bilgi sahibi olunması, (6) laboratuvar koşullarında manipülasyonunun ve bakımının kolay olması, (7) küçük bir ortamda ve mikro plaklarda (well plate) bile rahatça üretilebilmeleri ve (8) çeşitli test koşullarına yüksek oranda uyum göstermesi (Nunes ve ark., 2006; Kokkali ve ark., 2011). Ayrıca, *A. salina* larvaları ile yapılan bu testin modifiye edilmiş şekli ile alınan sonuçlar, memeli hücre kültürleri ile yapılan toksisite testlerinde alınan sonuçlarla karşılaştırıldığında birbirleriyle uyumlu sonuçların elde edilmektedir (Lewan ve ark., 1992).

Bu çalışmada kuru temizleme dükkânlarında kimyasal ve çözücü madde olarak yaygın bir şekilde kullanılan saf haldeki PERC'nin potansiyel sitotoksik etkisi; hızlı, kolay ve düşük maliyetli olması nedeniyle Brine Shrimp (*Artemia salina*) Letalite Testi yöntemi ile değerlendirilmiştir.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışmanın materyalini oluşturan JBL marka *A. salina* kistleri, Aydın'da ticari faaliyet gösteren yerel bir akvaryumcudan ticari olarak satın alınmıştır.

Brine Shrimp Letalite Testi ile perkloretilen'in *in vitro* sitotoksik etkisinin belirlenmesi için Solis ve ark.,'nın (1993) yöntemi modifiye edilerek uygulanmıştır. *A. salina* yumurtaları, içerisinde tuzlu su bulunan (3,6 g/100 mL) 500 ml'lik bir cam akvaryumda, bol oksijen verilerek ve suyun sıcaklığı 28 °C, pH'ı 7-8 olacak şekilde inkübasyona bırakılmıştır. Kistlerden çıkacak larvaların kabın dış yüzeyine doğru yönelebilmesi için yapay bir ışık kaynağı kullanılmıştır. 48 saatlik inkübasyon sonucunda yumurtadan çıkıp olgunlaşan

Artemia larvaları pastör pipeti yardımı ile toplanarak, içerisinde 4,5 ml deniz suyu içeren 96'lık mikro plaklara, (her bir kuyucukta 10'ar adet larva olacak şekilde) konulmuştur. Denemelerde PERC'in üç farklı konsantrasyonu (10 ppm, 100 ppm ve 1000 ppm) kullanılmıştır. 24 saat PERC ile muamele edildikten sonra, ölen ve yaşayan larvalar stereo mikroskop altında sayılıp, ölü ve yaşayan larva sayısı kaydedilmiştir. Ölüm yüzdesi aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Ölüm} = \frac{(\text{Test} - \text{Kontrol})}{\text{Kontrol}} \times 100$$

Denemelerde negatif kontrol olarak tuzlu su, çözücü kontrol olarak aynı miktar kadar ethanol (PERC ethanol ile çözdürüldüğü için (1:1, v/v)) ve pozitif kontrol olarak da Mitomycin-C (10 ppm) kullanılmıştır.

İstatistiksel Analiz

Sonuçlar SPSS 16.0 istatistik paket programında Probit analizi ile değerlendirilmiş ve LC₅₀ değerleri ile % 95 güvenilirlik sınırları hesaplanmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu çalışmada PERC'in *in vitro* sitotoksik aktivitesi, Brine Shrimp Letalite Testi ile araştırılmıştır. Brine Shrimp Letalite Testi ile denenen kimyasalların *A. salina* larvalarının yarısının ölümüne yol açan konsantrasyonu (LC₅₀), aktif konsantrasyon olarak kabul edilmiştir (McLaughlin ve ark., 1998). Nguta ve ark., (2011)'a göre, LC₅₀ değerleri 100 ppm'in altında olan ham kimyasallar oldukça toksiktir; LC₅₀ değerleri 100 ppm-500 ppm arasında olanlar orta derecede toksik, LC₅₀ değerleri 500 ppm-1000 ppm arasında olanlar zayıf toksik ve 1000 ppm'in üzerindeki LC₅₀ değerlerine sahip kimyasallar ise, toksik olmayan kimyasallar olarak kabul edilir. Çalışmada Probit analizi ile elde edilen veriler incelendiğinde, PERC'in 10 ppm-100 ppm arasında bulunan LC₅₀ değerlerinin, alt ve üst güvenlik sınırları itibarıyla toksisite sınırları içerisinde yer aldığını, bu konsantrasyon aralıkları içinde toksik olmadığını ortaya koymuştur. (Çizelge 1). Ancak PERC'in 1000 ppm'lik konsantrasyonu ile muamele edilen *A. salina* larvalarının %50'sinden fazlasının öldüğü belirlenmiştir (LC₅₀<1000). Bu sonuç PERC'in yüksek konsantrasyonda *A. salina* larvaları üzerinde zayıf da olsa toksik etkisinin olduğunu göstermektedir (Tablo 1).

Tablo 1: PERC ile 24 saat muamele edilen *A. salina* larvalarında belirlenen LC₅₀ değerleri

Muamele grupları	Süre (h)	Konsantrasyon (ppm)	LC ₅₀ (ppm)
Kontrol (tuzlu su)	24	0	>1000
Etanol (çözücü kontrol)	24	100	>1000
MMC	24	10	<1000
PERC	24	10	>1000
		100	>1000
		1000	<1000

PERC: Perkloroetilen; MMC: Mitomisin-C p>0.05

Kerster ve Schaeffer (1983) farklı kimyasal maddelerin teratojenik etkilerini Brine Shrimp Letalite Testi ile araştırdıklarında; kadmiyum, cıva, kurşun, çinko, bromoform, n-butiltalal, 1,2-dikloroetan, nitrobenzen, tetrakloroetilen (perkloroetilen), toluen, 1,2,4-triklorobenzen ve 1,1,3-trikloroetan'ın *A. salina* larvaları üzerinde teratojenik etkide bulunduğunu, krom (III), krom (VI), bakır, klorobenzen, kloroform, dimetil sülfoksit (DMSO) ve fenol'ün ise teratojenik etkisinin olmadığını belirlemişlerdir. Bu çalışmanın sonuçları da yüksek konsantrasyondaki (1000 ppm) perkloroetilen'in *A.salina* larvaları üzerinde toksik etkisinin olduğunu göstermiştir. Perkloroetilen'in genotoksik etkilerine dair prokaryot ve ökaryotlarda gen mutasyonlarına, memeli hücrelerinde ise kromozom ve DNA hasarlarına neden olup olmadığını belirlemek üzere yapılan *in vitro* çalışma örnekleri vardır (ECETOC, 1990., IARC, 1995).

Yapılan bu çalışmaların sonuçları, perkloroetilen'in test edilen sistemlerde mutajenik olmadığını göstermiştir. Tespit edilen birkaç zayıf mutajenik aktivitenin test örneklerinde bulunan mutajenik stabilizatörlerden kaynaklanmış olabileceği belirtilmiştir (PSLAR,1993., IARC, 1995). İntraperitoneal olarak tetrakloroetilen ile muamele edilen A-susu farelerinde akciğer tümörlerinin sıklığında artış olmadığı (Theiss ve ark., 1977; Maronpot ve ark., 1986), ve tetrakloroetilen'in kanserojen olmadığı (Van Duuren ve ark. 1979) ve tetrakloroetilen'in karaciğer tümörünün oluşmasında tümör ilerletici olarak potansiyeli olduğuna dair veriler olmasına karşın, bu veriler yetersizdir (Milman ve ark., 1988; Lundberg ve ark., 1987). Hamile farelerin tetrakloroetilenle maruz bırakılmaları sonucunda, farelerin embriyonik ve fetal dokularında tetrakloroetilen kalıntıları olduğu bulunmuştur (Ghantous ve ark., 1986). Ancak bu çalışmalardan elde edilen sınırlı verilere dayanarak, gebe farelerde doza bağlı olarak embriyo ve fetüste düşük oranda toksik etkiler göstermesine rağmen, bu çalışmadan elde edilen sınırlı veri nedeni ile tetrakloroetilenin teratojenik etkisinin olduğunu söylemek zordur. Bir dizi genetik son noktanın (end-points) incelenmesine dayanarak yapılan gerek *in vitro* ve gerekse *in vivo* çalışmalar tetrakloroetilen'in genotoksik olmadığını göstermiştir (PSLAR, 1993). Aranyi ve ark., (1986), 3 saat boyunca 50 ppm (339mg/m³) tetrakloroetilen ile muamele edilen CD1 farelerinde, tetrakloroetilen'in streptococcal zatürreye karşı direnç gelişmesinde etkili olduğunu ve kontroller ile karşılaştırıldığında akciğerlerdeki bakterisidal aktivitenin azaldığını rapor etmişlerdir. 25 ppm (170 mg/m³)'lik tetrakloroetilen ile muamele edilen farelerde ise, kontrole karşılaştırıldığında önemli bir farkın olmadığı da belirlemişlerdir. Yine *in vitro* olarak

PERC'e maruz bırakılan Çin hamster yumurtalık hücrelerinde herhangi bir kardeş kromatid değişimine veya kromozom hasarına rastlanılmamıştır (Galloway ve ark., 1987).

PERC'in deri üzerindeki sitotoksik potansiyelinin insan epidermal keratinosid (NHEK) hücreleri kullanılarak araştırıldığı bir çalışmanın sonuçları, PERC'nin farklı konsantrasyonlarda (0.01-31.6 mM) NHEK hücreleri üzerinde sitotoksik etkisinin bulunduğunu göstermiştir (Zhu ve ark., 2005). Tetrakloroetilen'in 0, 20, 40, 60 ve 80 mg/L dozları ile 96 saat (akut) ve 0, 1.5, 3, 6, 12 ve 25 mg/L dozları ile de 10 gün (sub-kronik) süreyle muamele edilen bir günlük Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) embriyoları üzerindeki potansiyel toksik etkileri araştırılmıştır. Çalışmada, yumurta/embriyo canlılığı, kuluçka kapasitesi ve morfolojik ve gelişimsel anormallikler dikkate alınmıştır. Subkronik dozlarla muamele edilen yumurtalarda embriyolardaki sağ kalım doz artışına bağlı olarak önemli derecede azalmıştır. *Oryzias latipes* embriyolarında gözlenen en önemli olumsuz gelişimsel etkiler arasında; yolk-kese ödemi, dolaşım sisteminin anormal gelişimi, perikardiyal ödem, skolyoz kanama ve kalp morfolojisinde kusurlar gözlenmiştir. Çalışmanın sonuçları, TCE'nin uygulama dozuna bağlı olarak *Oryzias latipes* embriyolarında teratojenik etkisinin olduğunu ortaya göstermiştir (Spencer ve ark., 2002).

Bu etkilerin yanısıra, PERC'in subkronik ve kronik inhalasyonuna maruz kaldıktan sonra, hayvanların karaciğer ve böbreklerinde kanserojen olmayan belirtilerin ortaya çıktığı, insanlarda görülen kronik nonkarsinojenik etkilerin baş ağrısı, renk görme bozukluğu, görsel mekansal işlev bozuklukları, hafıza, konsantrasyon ve entelektüel fonksiyonlarda azalma gibi nörolojik etkiler olduğu rapor edilmiştir (ATSDR 1997., USEPA 2003., Lee, 2008:). Yine insanlarda PERC'e mesleki olarak maruz kalma sonucunda kadınlarda adet döngüsünde bozukluklar ve düşük yapma gibi üreme üzerindeki bazı olumsuz etkilerin olduğu da rapor edilmiş olsa da, çalışmaların kısıtlılıkları nedeniyle PERC'in toksik etkileri hakkında kesin bir yargıya varılamamıştır (ATSDR 1997).

SONUÇ

Bu çalışmanın sonuçları *in vitro* ortamda PERC'e 24 saat maruz bırakılan *A.salina* larvaları üzerindeki sitotoksik etkinin sadece 1000 ppm'lik konsantrasyonda ortaya çıktığını, diğer konsantrasyon aralıklarında (10 ve 100 ppm) ise sitotoksik etkisinin bulunmadığını göstermiştir. Ancak bu sonucun PERC'in farklı organizma ve hücreler üzerinde denenmesi ile elde edilecek verilerle desteklenmesi gerekmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı FEF-12030 No.lu Proje ile destekleyen Adnan Menderes Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne ve bu çalışma süresince verdiği destek ve yardımlardan dolayı Araş. Görev. Dr. Özlem Sultan ASLANTÜRK'e teşekkür ederiz. Bu eser, "Perkloretilen (PERC)'in Sitotoksik ve *in-vitro* Genotoksik Etkisinin Farklı Test Sistemleri İle Araştırılması" adlı Yüksek Lisans Tezinin bir bölümünün sonuçlarını kapsamaktadır.

KAYNAKLAR

- Anonim 2004. Tetrachloroethylene. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/tetrachloroethylene#section=Top>. Hazırlanma Tarihi. 16.09.2004. Erişim Tarihi, 05.04.2018.
- Anonim 2008. Artemia Kültürü. MEGEP (Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi). T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, Ankara.
- Aranyi C, O'Shea WJ, Graham JA, Miller FJ. 1986. The Effects of Inhalation of Organic Chemical Air Contaminants on Murine Lung Host Defences. *Fund. Appl. Toxicol.* 6: 713-720.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), 1997. Toxicological Profile for Tetrachloroethylene. (Public Health Service Report, No. TP-92/18).
- Blair A, Steward PA, Tolbert PE, Graunan D, Moran,FX, Vaught J, Ryner J.1990. Cancer and Other Causes of Death Among a Cohort of Dry Cleaners. *British Journal of Industrial Medicine.* 47:162-168.
- Choudhary IM, Thomsen WJ. 2001. Bioassay Techniques For Drug Development, Harwood Academic Publishers, 8-10.
- ECETOC Technical Report. Brussels, European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals. 1990. Tetrachloroethylene: Assessment of human carcinogenic hazard. No. 37.
- Fişek AG, Piyal B. 1991. İşçi Sağlığı Kılavuzu. Türk Tabipleri Birliği Yayını, Ankara.
- Hartmann A, Speit G. 1995. Genotoxic Effects of Chemicals in The Single Cell Gel (SCG) Test with Human Blood Cells in Relation to the Induction of Sisterchromatid Exchanges (SCE). *Mutat. Res.* 346:49-56.
- Galloway SM, Armstrong MJ, Reuben C, Colman S, Brown B, Cannon C, Bloom AD, Nakamura F, Ahmed M, Duk S, et al. 1987. Chromosome Aberrations and Sister Chromatid Exchanges in Chinese Hamster Ovary Cells: Evaluations of 108 Chemicals. *Environ Mol Mutagen.* 10 (Suppl 10):1-35.
- Ghantous, H, BRG. Danielsson, L. Dencker, J, Gorczak, O. Vesterberg. 1986. Trichloroacetic Acid Accumulates in The Murine Amniotic Fluid after Tri- and Tetrachloroethylene Inhalation. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 58: 105-114.
- IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. World health Organization, International Agency for Research on Cancer. 1995. Dry Cleaning, Some Chlorinated Solvents and Other Industrial Chemicals. 63.:159-221, France.
- Insanu M, Anggadiredja J, Kayser O. 2012. Curcacycline A and B—New Pharmacological Insights to an Old Drug. *Int J Appl Res Nat Prod.*, 5: 26-34.
- Karakaya AE. 1996. İş Yerlerinde Maruz Kalınan Kimyasallar ve Endüstri Toksikoljisi. İşçi Sağlığı ve İş Güvenliği Bülteni, sayı:35, Ankara.
- Kerster, HW, Schaeffer, DJ. 1983. Brine Shrimp (*Artemia salina*) Nauplii as a Teratogen Test System. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 7(3):342-9.
- Kokkali V, Katramados I, Newman JD. 2011. Monitoring The Effect of Metal Ions on The Mobility of *Artemia salina* nauplii. *Biosensors* 1 (2): 36-45.
- Lee JS. 2008. Tetrachloroethylene (PCE) CAS Registry Number: 127-18-4. Development Support Document Final, April 15, 2008, Accessible 2013 Revised Odor Value: September 14, 2015.
- Lewan L, Andersson M, Morales-Gomez P. 1992. The Use of *Artemia salina* in Toxicity Testing. *ATLA*, 20:297-301.
- Libralato G, Prato E, Migliore L, Cicero AM, Manfra L. 2016. A Review of Toxicity Testing Protocols and Endpoints with *Artemia* spp. *Ecological Indicators*, 69: 35-49.
- Lundberg I, Hogberg, J, Kronevi, T, Holmberg, B. 1987. Three Industrial Solvents Investigated for Tumor Promoting Activity in The Rat Liver. *Cancer Lett.* 36: 29-33.
- Manfra L, Savorelli F, Pisapia M, Magaletti E, Cicero AM. 2012. Long-term Lethal Toxicity Test with The Crustacean *Artemia franciscana*. *JoVE*, 62: 2182-2185.
- Maronpot RR., Shimkin MB, Witschi H.P, Smith LH, Cline JM. 1986. Strain A-Mouse Pulmonary Tumor Test Results for Chemicals Previously Tested in The National Cancer Institute Carcinogenicity Tests. *JNCI* 76: 1101-1112.
- Mclaughlin JL, Rogers LL, Anderson JE. 1998. The Use of Biological Assays to Evaluate Botanicals. *Drug Inf J.*, 32: 513-24.
- Milman HA., Story DA, Riccio ES, Sivak A, Tu AS, Williams A.S, Tong C, Tyson CA. 1988. Rat Liver Foci and *in vitro* Assays to Detect Initiating and Promoting Effects of Chlorinated Ethanes and Ethylenes. *Annal. N.Y. Acad. Sci.* 534: 521-530.
- Muzzullo MS, Grilli G, Lattanzi G, Prodi G, Turina MP, Colacci A. 1987. Evidence of DNA Binding Activity of Perchloroethylene. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, 58(2): 215-235.
- Nguta, JM., Mbaria, JM., Gakuya, DW., Gathumbi, PK., Kabasa, JD., Kiama, SG. 2011. Biological

- Screening of Kenya Medicinal Plants using *Artemia salina* L. (Artemiidae). *Pharmacologyonline* 2: 458-478.
- Nunes BS, Carvalho FD, Guilhermino LM, Van Stappen G. 2006. Use of The Genus *Artemia* in Ecotoxicity Testing. *Environ Pollut.*, 144: 453-62.
- Oran, Ö. 2016. Kuru Temizleme Atölyelerinde Çalışanların Maruz Kaldığı Kimyasal Risk Faktörlerinin İncelenmesi. Çalışma ve Sosya Güvenlik bakanlığı, İş Sağlığı ve Güvenliği Genel Müdürlüğü, İş Sağlığı ve Güvenliği Uzmanlık Tezi, 110 s.
- PSLAR, Priority Substances List Assessment Report Tetrachloroethylene. 1993. Canadian Environmental Protection Act. ISBN 0-662-21066-2 Cat. No. En-40-215/28E.
- Potter CL, Chang LW, De Angelo AB, Daniel FB. 1996. Effects of Four Trihalomethanes on DNA Strand Breaks, Renal Hyaline Droplet Formation and Serum Testosterone in Male F-344 Rats. *Cancer Lett.*, 106 (2) : 235-242.
- Rajabi S, Ramazani A, Hamidi M, Tahereh N. 2015. *Artemia salina* as A Model Organism in Toxicity Assessment of Nanoparticles. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 23: 20. DOI 10.1186/s40199-015-0105-x.
- Solis PN, Wright CW, Anderson MM, Gupta MP, Phillipson JD 1993. Amicrowell Cytotoxicity Assay using *Artemia salina*. *Plant Med.*, 59: 250-252.
- Spencer HB, Hussein WR, Tchounwou PB. 2002. Effects of Tetrachloroethylene on The Viability and Development Of Embryos of The Japanese Medaka, *Oryzias latipes*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 42: 463-469. DOI: 10.1007/s00244-001-0050-1.
- Theiss JC, Stoner GD, Shimkin MB, Weisberger EK. 1977. Test for Carcinogenicity of Organic Contaminants of United States Drinking Waters by Pulmonary Tumor Response in Strain A Mice. *Cancer. Res.* 37: 2717-2720.
- United States Environmental Protection Agency (USEPA).2003. Neurotoxicity of Tetrachloroethylene (Perchloroethylene): Discussion Paper, EPA/600/P-03/005A. Washington, D.C. Available from: <http://cfpub.epa.gov/ncea/cfm/recorddisplay.cfm?deid=75193>.
- Ünsal Ü. 2013. Perkloretilen (PERC)'in Sitotoksik ve *in vitro* Genotoksik Etkisinin Farklı Test Sistemleri İle Araştırılması. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi,130 s.
- Van Duuren BL, Goldschmidt BM, Loewengar G, Smith AC, Melchionne S , Seldman I, Roth D. 1979. Carcinogenicity of Halogenated Olefinic and Aliphatic Hydrocarbons in Mice. *JNCI* 63: 1433-1439.
- Walles SA. 1986. Induction of Single-Strand Breaks in DNA of Mice by Trichloroethylene and Tetrachloroethylene. *Toxicol Lett.*, 31:31-35.
- Wang JL, Chen WL, Tsai SY, Sung PY, Huang RN. 2001. An *in vitro* Model for Evaluation of Vaporious Toxicity of Trichloroethylene and Tetrachloroethylene to CHO-K1 Cells. *Chem Biol Interact.*, 137(2):139-154.
- White IN, Razvi N, Gibbs AH, Davies AM, Manno M, Zaccaro C, De Matteis F, Pähler A, Dekant W. 2001. Neoantigen Formation and Clastogenic Action of HCFC-123 and Perchloroethylene in Human MCL-5 cells. *Toxicol Lett.*, 124:129-138.
- Zhu Qi-Xing, Shen T, Ding R, Liang Zhao-Zhao, Zhang, Xue-Jun. 2005. Cytotoxicity of Trichloroethylene and Perchloroethylene on Normal Human Epidermal Keratinocytes and Protective Role of Vitamin E. *Toxicology*, 209: 55-67.