

**KURŞUN + SELENYUM ETKİLEŞİMİNDE *Oreochromis niloticus* (L., 1758) 'un DOKULARINDAKİ METAL BİRİKİMİ İLE BEYİN ASETİLKOLİNESTERAZ AKTİVİTESİNE ETKİLERİ**

**GÜLSEMİN ŞEN**

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ  
ANA BİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**MERSİN  
HAZİRAN – 2013**

**KURŞUN + SELENYUM ETKİLEŞİMİNDE**  
*Oreochromis niloticus* (L., 1758) 'un DOKULARINDAKİ  
**METAL BİRİKİMİ İLE BEYİN**  
**ASETİLKOLİNESTERAZ AKTİVİTESİNE**  
**ETKİLERİ**

**GÜLSEMİN ŞEN**

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ**  
**ANA BİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Danışman**  
**Doç. Dr. Sahire KARAYTUĞ**

**MERSİN**  
**HAZİRAN – 2013**

Gülsemin ŞEN tarafından Doç. Dr. Sahire KARAYTUĞ danışmanlığında hazırlanan "Kurşun + Selenyum Etkileşiminde *Oreochromis niloticus* (L., 1758)'un Dokularındaki Metal Birikimi ile Beyin Asetilkolinesteraz Aktivitesine Etkileri" başlıklı bu çalışma aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından oy birliği ile Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Doç. Dr. Sahire KARAYTUĞ

*S. Karaytuğ*

Doç. Dr. Yusuf SEVGİLER

*Y. Sevgiler*

Yrd. Doç. Dr. Fahri KARAYAKAR

*F. Karayakar*

Yukarıdaki Jüri kararı Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 06/09/2013 tarih ve 2013.16...../....455.. sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Doç. Dr. Mehmet KÜÇÜKASLAN  
Enstitü Müdürü



Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, çizelge ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

## KURŞUN + SELENYUM ETKİLEŞİMİNDE *Oreochromis niloticus* (L., 1758)'UN DOKULARINDAKİ METAL BİRİKİMİ İLE BEYİN ASETİLKOLİNESTERAZ AKTİVİTESİNE ETKİLERİ

Gülsemin ŞEN

### ÖZ

Bu çalışmada amaç kurşunun *Oreochromis niloticus*'da farklı dokularda birikim potansiyeline ve kurşunun neden olduğu beyin AChE inhibisyonuna selenyumun etkilerini değerlendirmektir. Bu amaçla juvenil *O. niloticus* örnekleri 1, 7 ve 15 gün sürelerle 1 mg/L ve 2 mg/L kurşun ile 1mg/L kurşun + 2mg/L selenyum ve 2mg/L kurşun+4mg/L selenyum karışımlarının etkisinde bırakılmış, solungaç, beyin, karaciğer ve kas dokularında kurşun birikimi ile beyin asetilkolinesteraz (AChE, E.C.3.1.1.7) enzim aktivitesi belirlenmiştir.

Doku örneklerinde kurşun birikimi indüktif olarak eşleştirilmiş plazma-kütle spektrometresi yöntemiyle, beyin AChE enzim aktivitesi spektrofotometrik yöntem ile analiz edilmiştir.

Kurşunun çalışılan süre ve uygulanan ortam derişimlerinin etkisinde mortalite gözlenmemiştir. Tüm dokularda süreye bağımlı olarak kurşun birikimi meydana gelmiştir. Denenen tüm sürelerde kurşun birikimi en fazla beyin dokusunda saptanmış, bunu sırasıyla karaciğer, solungaç ve kas dokuları izlemiştir. Her üç deneme süresinin sonunda 1. gün kas dokusunda tüm Se karışımları, 7. gün solungaç dokusunda 1mg/L Pb+2mg/L Se ve 7. gün karaciğer dokusunda 2mg/L Pb+4mg/L Se karışımları dışında, selenyum dokularda kurşun birikiminde azalmaya neden olmuştur.

Uygulanan en yüksek derişiminde ve kısa süreli etkide kurşun, AChE aktivitesinde inhibisyona neden olmuştur. Selenyum karışımı kurşunun bu etkisinin giderilmesini sağlamıştır. 15. günde en yüksek derişimde kurşun ve selenyum karışımı aktivitede artışa neden olmuştur.

Selenyum, dokularda kurşun birikiminde azalmaya ve kurşunun neden olduğu AChE aktivite kaybında düzelmeye yol açmıştır. Selenyumun bu etkisinin olasılıkla kimyasal antagonizma örneği olduğu ve bu şekilde etki merkezinde kurşun derişiminin azalması yoluyla AChE aktivitesinin düzeldiği düşünülmektedir. Sinir hücrelerinde olası hasar nedeniyle uzun sürede ve yüksek derişimde kurşun ve selenyum karışımı AChE aktivitesi inhibisyonunda yol açmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Kurşun, Selenyum, AChE, *Oreochromis niloticus*

**Danışman:** Doç. Dr. Sahire KARAYTUĞ, Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Ana Bilim Dalı

## **EFFECTS OF LEAD+SELENIUM INTERACTION ON ACETYLCHOLINESTERASE ACTIVITY IN BRAIN AND ACCUMULATION OF METAL IN TISSUES OF *Oreochromis niloticus* (L., 1758)**

**Gülsemin ŞEN**

### **ABSTRACT**

The aim of this study is to evaluate the potential accumulation of lead in different tissues of *Oreochromis niloticus* and to estimate the effects of selenium in AChE inhibition caused by lead in brain. Juvenile *O. niloticus* samples were exposed to combination of 1 mg/L and 2 mg/L lead and 1mg/L lead + 2mg/L selenium and 2mg/L lead+4mg/L selenium for 1, 7 and 15 days respectively. The accumulation of lead in gill, brain, liver and muscle tissues as well as brain acetylcholinesterase (AChE, E.C.3.1.1.7) enzyme activity were also determined.

Lead accumulation in tissue samples was analyzed by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS) while brain AChE activity was analyzed by spectrophotometric method. No mortality was observed during lead exposure in relation to time period and exposed concentrations. Lead accumulation was occurred in all tissues in relation to time. Maximum lead accumulation occurred in brain tissue, followed by the liver, gills and muscle tissues in relation to time period. Selenium caused accumulation of lead in tissues (all selenium mixtures in muscle tissue on the first day, 1mg/L Pb+2mg/L selenium in gill tissue on the seventh day, in liver tissue on the seventh day except 2mg/L Pb+4mg/L selenium mixtures) at the end of each of all three test periods.

Inhibition of AChE activity was caused by the highest concentration and short-term effect of lead. Such effect of lead was eliminated by selenium mixture. Lead and selenium mixture were resulted an increase in activity on 15th day at the highest concentration.

Selenium led to decrease in the accumulation of lead in the tissues and caused to improvement in the loss of AChE activity. It is thought that such effect of selenium is possibly an example of chemical antagonism, and such that the decrease in lead concentration in central mechanism may have resulted in improved activity of AchE. High concentration and a long period of exposure of lead and selenium mixture have led to an increase in the activity of AchE due to possible damage to the nerve cells.

**Key Words:** Lead, Selenium, AChE, *Oreochromis niloticus*

**Advisor:** Assoc. Prof. Dr. Sahire KARAYTUĞ, Mersin University, Faculty of Fisheries

## **TEŞEKKÜR**

Çalışmalarım boyunca her türlü yardım ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Doç.Dr. Sahire KARAYTUĞ'a, yine kıymetli tecrübelerinden faydalandığım hocam Doç. Dr. Yusuf SEVGİLER'e, tez çalışmam süresince ME.Ü. Su Ürünleri Fakültesi'ndeki tüm laboratuvar olanaklarından faydalanmamı sağlayan dekanımız Prof. Dr. Bedii CİCİK'e ve dekan yardımcımız Yrd. Doç. Dr. Fahri KARAYAKAR'a teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Aylin DÖĞEN hocama, MEİTAM'daki derin dondurucuyu kullanmamı sağlayan sayın Prof. Dr. Serap ERGENE, Prof. Dr. Yasemin KAÇAR ve Yrd. Doç. Dr. Ata ÖZÇİMEN hocalarıma, metal analizlerinde kolaylık sağlayan MEİTAM yetkililerine, Dr. Mehmet Ali KURT'a ve yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşım Mahitap Duygu DURU'ya teşekkürlerimi sunarım. Yüksek Lisans Tezini [MEÜ BAP-FBE TB (GŞ) 2012-2 YL] numaralı proje ile maddi olarak destek sağlayan Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>ÖZ</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>iii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iv</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	<b>v</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>vi</b>
<b>SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>vii</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ARAŞTIRMASI</b> .....	<b>5</b>
2.1. KURŞUN .....	5
2.2. SELENYUM .....	6
2.3. ASETİLKOLİNESTERAZ ENZİMİ (AChE) .....	8
2.4. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	10
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM</b> .....	<b>14</b>
3.1. MATERYAL.....	14
3.1.1. Kimyasal Maddeler .....	14
3.1.2. Cihazlar ve Diğer Gereçler.....	15
3.2. YÖNTEM.....	16
3.2.1. Analiz Yöntemleri .....	17
3.2.1.1. Asetilkolinesteraz Yöntemi .....	17
3.2.1.2. Protein Yöntemi .....	19
3.2.2. İstatistiksel Değerlendirme.....	21
<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>22</b>
4.1. DOKULARDAKİ KURŞUN BİRİKİMİNE SELENYUMUN ETKİSİ .....	22
4.2. BEYİN DOKUSUNDA KURŞUN VE SELENYUM KARIŞIMLARININ AChE AKTİVİTESİNE ETKİLERİ .....	27
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	<b>30</b>
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>34</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>49</b>

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b><u>Sayfa</u></b>
Çizelge 3.2.1. Deneme gruplarında kullanılan metaller ve derişimleri.....	16
Çizelge 3.2.1.1 Asetilkolinesteraz Yöntemi.....	18
Çizelge 4.1.1. <i>O. niloticus</i> 'da solungaç dokusunda 1., 7. ve 15. günlerde farklı derişimlerde kurşunun birikimi üzerine farklı selenyum derişimlerinin etkisi ( $\mu\text{g Pb/g k.a.}$ ) .....	24
Çizelge 4.1.2. <i>O. niloticus</i> 'da beyin dokusunda 1., 7. ve 15. günlerde farklı derişimlerde kurşunun birikimi üzerine farklı selenyum derişimlerinin etkisi ( $\mu\text{g Pb/g k.a.}$ ).....	25
Çizelge 4.1.3. <i>O. niloticus</i> 'da karaciğer dokusunda 1., 7. ve 15. günlerde farklı derişimlerde kurşunun birikimi üzerine farklı selenyum derişimlerinin etkisi ( $\mu\text{g Pb/g k.a.}$ ) .....	26
Çizelge 4.1.4. <i>O. niloticus</i> 'da kas dokusunda 1., 7. ve 15. günlerde farklı derişimlerde kurşunun birikimi üzerine farklı selenyum derişimlerinin etkisi ( $\mu\text{g Pb/g k.a.}$ ).....	27
Çizelge 4.2.1. <i>O. niloticus</i> 'da beyin dokusunda 1., 7. ve 15. günlerde farklı derişimlerde kurşun ve selenyum karışımlarının AChE spesifik aktivitesine ( $\mu\text{M/dak/mg protein}$ ) etkileri .....	28



## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b><u>Sayfa</u></b>
Şekil 3.2.1.2.1. Protein analizi standart grafiği .....	20
Şekil 4.2.1. <i>O. niloticus</i> 'da beyin dokusunda AChE spesifik aktivitesinin 1. günde Pb ve Se karışımlarında kontrol grubuna göre yüzde değişimi.....	29
Şekil 4.2.2. <i>O. niloticus</i> 'da beyin dokusunda AChE spesifik aktivitesinin 15. günde Pb ve Se karışımlarında kontrol grubuna göre yüzde değişimi.....	29

## **SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ**

Asetilkolinesteraz : AChE

Asetilkolin : ACh

Pb : Kurşun

Se : Selenyum

## 1. GİRİŞ

Canlılar için yaşamsal önemi olan metaller endüstri ve uygarlığın temelini oluşturmaktadır. Taş Devrinde bakırı işlemeyi öğrenen insan giderek değişik metallerle uğraşarak bir taraftan kendisi bu metallerin etkisinde kalmış, diğer taraftan da çevresini kirletmeye başlamıştır. Son yıllarda da nüfusun hızla artmasıyla artan ihtiyaçların giderilmesi için teknolojik ve endüstriyel alanlardaki gelişmelere paralel olarak maden işletmelerinin sayı ve kapasitelerinin artırılması, çarpık kentleşme, tarımda verimi arttırmak amacıyla kimyasal bileşiklerin yaygın kullanımı gibi antropojenik faktörlerle, jeokimyasal ve atmosferik olaylar da ağır metallerin sucul ortamdaki derişimlerinin daha da artmasına katkı sağlamıştır [1,2].

Farklı tanımlamaları olmalarına rağmen ağır metaller yaygın olarak fiziksel özellik açısından yoğunluğu  $5 \text{ g/cm}^3$ 'den daha büyük olan metaller olarak tanımlanmaktadır. Bu grupta yer alan kurşun, kadmiyum, krom, demir, kobalt, bakır, nikel, cıva ve çinko başta olmak üzere altmıştan fazla metal doğaları gereği, yerkürede genellikle karbonat, oksit ve sülfür halinde kararlı bileşik olarak veya silikatlar içinde bulunurlar [3].

Endüstrinin gelişmesiyle birlikte su, hava ve toprağın toksik maddelerle kirlenmesi önemli bir çevre sorunu olarak değerlendirilmektedir. Yeryüzündeki su devamlı bir döngü halindedir. Suyun bu döngüsü sırasında insanların etkisi sonucu ortaya çıkan ve suya karışan maddeler suyun fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini değiştirerek su kirliliğine neden olmaktadır [4].

Ağır metallerin ve diğer ksenobiyotiklerin neden olduğu çevresel kirlilik dünyada çok önemli bir problem haline gelmiştir [5]. Metal birikiminin büyük çoğunluğu sularda olmaktadır. Sulardaki birikim, çözünme şeklinde olabileceği gibi, çözünmeden suların dibinde çökme şeklinde de olabilir. Bu şekilde bir kirlenme endüstriyel ve zirai atıklardan meydana geldiği gibi herhangi bir yolla atmosfere verilen metal türü maddelerden de meydana gelebilir. Atmosfere verilen bu maddeler yeryüzüne döner ve akarsular yolu ile su yataklarına sürüklenirler. Metaller, organik kirlenmeler gibi kimyasal ve biyolojik yollarla parçalanmazlar, bir metal bileşiği

başka bir metal bileşiğine dönüşür. Dönüşüm ne olursa olsun metal iyonu kaybolmaz [6]. Metallerin birçoğu çevrede bitki ve hayvanlarda birikerek besin zincirinin en üst kısmında bulunan insana kadar ulaşmaktadırlar [7].

Sanayi ve kentsel atıkların deşarj edildiği kanalizasyon suları, boşaltıldığı nehir ve gölleri kirletmekte, sucul ortamda yaşayan canlı organizmaları tehdit etmektedir [8].

Toprağa, havaya ve suya karışan ağır metallerin canlı organizmaya alınımı farklı yollarla olmaktadır. Deri, akciğerler, gastrointestinal sistem, solungaç gibi organlarla olabileceği gibi enjeksiyonla da olabilir. Bu yollarla giren metal konsantrasyonları detoksifikasyon kapasitesini aştığı andan itibaren farklı dokularda birikir ve zararlı etkilerini gösterirler. Ancak etkileri konsantrasyonları yanında metal iyonunun yapısına, çözünürlük değerine, redoks ve kompleks oluşturma yeteneğine, vücuda alınış şekline, ortamın sıcaklığına, pH' sına [2,9] ve süreye [10] göre değişim gösterdiği gibi türe, türün büyüklüğüne, cinsiyetine [11,12] göre de değişim göstermektedir.

Ağır metallerin, iyon veya bileşik formlar halinde bulunmaları organizmalar tarafından kolayca absorbe edilmelerine neden olmakta ve absorpsiyon sonrası proteinler, enzimler ve nükleik asitler gibi makromoleküllere bağlanarak hücrelerin yapısal ve işlevsel fonksiyonlarını olumsuz yönde etkilemektedirler [13].

Kurşun (Pb), metabolik işlevi olmayan ve canlı organizmaların her ortamda karşılaşabildikleri, bir elementtir. Kurşun ve biyolojik sistemler arasındaki etkileşimler, insan sağlık koşullarına olumsuz etkilere sebep olmaktadır [14]. Kurşunun; asetilkolinesteraz ve monoamin oksidaz enzimlerinin aktivitesini düşürerek nöronlarda impuls iletimini engellediği [15], çeşitli doku ve organlarda kolesterol, lipit, protein ve askorbik asit düzeyini değiştirdiği [16,17], anemiye neden olduğu [18-20], dokularda patolojik değişimler yaptığı [21,22], embriyo ve larva gelişimini yavaşlattığı [23] belirtilmiştir.

Selenyum (Se), elektronik endüstrisinde “rektifier” olarak fotosellerde, solar pillerde, cam, seramik endüstrisinde, kauçuğun vulkanizasyonunda, çelik yapımında, boya ve verniklerde, bakırın rafinasyonunda kullanılmaktadır. Çeşitli canlılarda iz element olarak bulunan selenyum, metabolizmada ubikinon (Koenzim Q) biyosentezinde, glutatyon peroksidaz ve keratinin yapısında, antikor sentezinin stimülasyonunda yer almaktadır [24].

Se, organizmaların dokularında metallerin birikimini engelleyen önemli bir elementtir. Ortamda Se bulunması durumunda metal birikiminin omurgasız hayvanlarda [25] ve balıklarda [26] azaldığı saptanmıştır.

Kirleticilerin su ortamında yaşayan biyota üzerindeki etkilerini görebilmek için organ, doku ve hücre düzeyinde yapılan çalışmalar önem kazanmaktadır.

Solungaç, balıklarda solunumu sağlayan ve işlevinden ötürü kirleticilerden en çok etkilenen organdır ve çözülebilir toksik maddelerin ana girişlerinden biridir. Solungaçların kimyasallardan etkilenmesi balığın solunum sisteminde olumsuzluklar ortaya çıkararak ölüme varan ciddi zararlara neden olmaktadır [27, 28].

Beyin canlının tüm metabolik fonksiyonlarını kontrol eder ve çevresel kirleticilerden kaynaklanan oksidatif hasarda hedeftir [29].

Karaciğer, birçok yaşamsal fonksiyonu kontrol eden anahtar organdır. Anabolik ve katabolik olaylarda görev alması nedeniyle fizyolojide önemli bir yere sahiptir. Toksik maddelerin detoksifikasyonunda görev alan en önemli organlardan biri olan karaciğerin, bu yeteneğine rağmen toksik bileşenlerin yüksek derişimlerinin etkisinde bu mekanizmasını devre dışı bırakabildiği bildirilmiştir [30,31].

Ağır metalleri bağlamada aktif bir doku olmayan kas dokusu, sıklıkla tüketildiği için düzenli analizlerinin yapılması toplum sağlığı açısından gerekli bir dokudur [32].

Asetilkolinesteraz enzimi (AChE; E.C.3.1.1.7), balıkların sinir ve nöromuskular sistemlerindeki başlıca enzimdir [64] ve akuatik organizmalarda nörotoksik etkilerin bir biyomarkırı olarak geniş bir şekilde kullanılmaktadır. AChE

aktivitesinin metal etkisinde inhibe olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir [33].

Türkiye’de su ürünlerinin, beslenmede öncelikli hayvansal protein kaynağı oluşu nedeniyle taşıdığı önemi büyüktür. Bu nedenle son yıllarda, daha ekonomik ve kaynak zenginliği yönünden oldukça elverişli olan su ürünlerine başka bir deyişle iç sular ve denizlerde balıkçılığa yönelme söz konusudur [34].

Balıklar, su kirliliğini belirlemede biyoindikatör türler olarak tercih edilmektedirler [35]. Bu araştırmada kullanılan *Oreochromis niloticus*, dünyada yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan ve besin kalitesi bakımından da oldukça değerli olan bir balık türüdür. Kültür koşullarında bakıma ve beslenmeye uygun olmaları, üremelerinin kolay olması, kirlenme ve hastalıklara karşı dirençli olmaları kültür balıkçılığındaki önemlerini arttırmaktadır [36].

## 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1. KURŞUN

Periyodik cetvelin 4A grubunun bir elementi olan kurşunun atom numarası 82; atom ağırlığı 207,19'dur. Doğada diğer metallere, özellikle gümüş ve kalayla bir arada bulunur. Pek çok mineral kurşun içerse de, en önemli ticari mineral (kurşun sülfür)'dir. Diğer önemli mineralleri seruzit (kurşun karbonat) ve anzelezit (kurşun sülfat)'tir. Mavimsi beyaz parlak bir metaldir. Çok yumuşak, çok iyi dövülebilir, biçimlendirilebilir ve nispeten iletkenliği düşük bir metaldir. Korozyona karşı oldukça dayanıklı olan kurşun havayla temas ettiğinde matlaşır [37].

Kurşun bileşiklerinde +2 ve +4 yükseltgenme basamaklarında bulunur. İkincisi kararsızdır ve bileşikleri yükseltgendir. Saf metal olarak kurşun, levha, yapı kaplamaları, tel ve kablo imalatında kullanılmaktadır. Sık ve yaygın olan bileşikler ise, nemlenmeye karşı astar boya olarak sülügen; patlayıcı fitili olarak kurşundioksit; boya imalatında kurşun klorür; kauçuk sanayinde ve üstübeç olarak kurşun beyazı kullanılmaktadır [38,39]. Ayrıca, tetraetil ve tetrametil kurşun gibi organometalik bileşikler, genellikle ısıya karşı kararsız olduklarından patlamalı motorlarda, patlama önleyici olarak kullanılırlar [7,40,41].

Kurşun, kalsiyuma kimyasal benzerlik gösterdiğinden kalsiyumla birlikte işlenerek kemik dokuya bağlanır. Buna rağmen, kemikler dışında dokular da balıklarda Pb depolama bölgeleridir. Kaslar arasına kurşun asetatın enjeksiyonundan sonra kurşun tuzları, aktif kalsifikasyon bölgesi olan operkulum, omurga, kuyruk yüzgeçleri ve pullarda depolanır [42].

Kurşun öncelikle voltaja duyarlı kalsiyum kanallarının açılmasını bloke ederek kalsiyumun presinaptik inhibisyona uğrayan hücre içerisine girmesine engel olur ve uyarılmış nörotransmitter serbest kalır. Diğer yandan elde edilen sonuçlar, kurşunun nöronal intraselüler ortama girdiğini göstermiştir [43].

Kurşun vücut içine alındığında, mimetik rol üstlenerek kalsiyum-aracılı sinaptik vezikül salım mekanizmalarını aktive eder. Araştırmalar kurşunun özellikle, kalsiyum-kalmodulin yolu kullanımıyla protein kinaz II'nin aktivasyonunu kolaylaştırdığını göstermiştir [44]. Genel etki, nörotransmitterlerin spontane artışıdır.

Kurşunun kan beyin bariyerini geçme yeteneği, kalsiyum iyonlarının yerine geçme özelliğine büyük ölçüde bağlıdır. Moleküler düzeyde, kurşun hücre fonksiyonlarındaki kalsiyumun düzenleyici görevine müdahale eder ve pek çok intraselüler biyolojik aktiviteyi bozar. Deneysel çalışmalar, ayrıca kurşunun özellikle beyin, kemik iliği, karaciğer ve akciğer hücrelerinde genotoksik etkilere sebep olduğunu göstermiştir [45].

## 2.2. SELENYUM

Selenyum hayvanlar için esansiyel bir mikronutrienttir [46,47]. Selenyumun farklı miktarlarda alınımı organizmanın farklı fonksiyonlarını etkilemektedir. İz konsantrasyonlarına büyüme ve gelişme için ihtiyaç duyulmakta; orta konsantrasyonlarında depo edilebilmekte ve homeostatik fonksiyonların korunmasını sağlayabilmekte; yüksek konsantrasyonlarda ise toksik etkilere neden olmaktadır.

Tarımsal drenaj suları, arıtma çamurları, kömür santrallerinden uçan tozlar, petrol rafinerileri, fosfat ve metal cevherleri madenciliği gibi tarımsal ve endüstriyel faaliyetler sucul çevredeki selenyum derişimini arttıran kaynaklardır [48,49].

Selenyum, glutatyon peroksidaz enziminin yapısında bulunmaktadır [50]. Glutatyon peroksit, hidrojen peroksit ve lipid peroksitlerin indirgenmesini katalize ederek sitoplazmik yapıların oksidatif hasarına karşı hücrel savunma yapar [51]. Selenyum, balıklar ve sucul canlılar için özellikle farklı kimyasal, fiziksel, toksikolojik özellikleri için gerekli olan redoks durumu ve formunda önemli bir etkiye sahiptir [52]. Selenyum, toksik besin seviyeleri ve temel besin gereksinimleri arasındaki güvenilir farktan ve kükürte olan kimyasal benzerliğinden dolayı diğer toksik elementlerden ayrılırlar [53-55].



Selenyumun besleyici rolü, glutatyon peroksidazın her molünde 4 g Se atomunun varlığıyla ilişkilidir [56]. Selenyumun iz miktarlardaki varlığı, nükleik asit ve lipitleri hepatoselüler parçalanmanın yanı sıra peroksidasyondan da korur [57]. Bu nedenle selenyumun, eritrosit ve diğer selüler membranlardaki serbest radikal hasarını önlemek için intraselüler antioksidant olarak rol oynadığı düşünülmektedir [58,59]. Balıklarda selenyum eksiklik belirtileri, düşük üreme, hepatik yaralanma, kas lezyonları, glutatyon peroksidaz aktivitesinin düşmesi ve mortalite artışıdır [60,61].

Selenyum nanometrik maddeler ve izole edilmiş atomlardan farklı özellikler gösterdiğinden, nanoteknolojide tedavide ve besinlerde kullanımı açısından umut vadetmektedir [62].

Selenyum temel kimyasal ve fiziksel özellikleri (hidrojen sülfid, tiyosülfat, sülfid ve sülfatla analog formları ve aynı valans değerine sahip olma) bakımından kükürtle benzerdir ve memelilerle yapılan çalışmalar, sentez ettikleri protein bakımından iki element arasında bir farklılık olmadığını göstermiştir. Sülfür-sülfür bağları, proteinlerin 3'lü (heliks) yapılarını oluşturmaları için gereklidir. Selenyum yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu, sülfür yerine geçer ve gerekli disülfid bağlarının oluşumunu engelleyerek triselenyum (Se-Se-Se) bağları ya da selenotrisülfid (S-Se-S) bağları formlarının oluşumuna sebep olur. Bu olaylar, hücrel biyokimyasının bozulduğu protein molekülleri ve disfonksiyonel enzimlerin meydana gelmesiyle sonuçlanır [63,64].

Protein biyosentezinde selenyum kaynaklı bozukluklar, çeşitli sonuçlar doğurabilir. Balıklarda görülen en önemli semptom, üremede teratogenez oluşumudur. Juvenil ve yetişkin bireylerde ise, proteinlerin formlarındaki bozulmalar, balıkların iç organları ve dokularında kronik selenozis semptomları olan patolojik değişikliklere sebep olur [65].

Sucul besin zincirinde selenyum biyoakümülyasyonu, selenyumun düşük konsantrasyonlarının toksik seviyelere ulaşmasına neden olmaktadır ve selenyumla kontamine olmuş sediment onlarca yıl boyunca besin zinciri döngüsüne katılmaktadır [66]. Sistemdeki diğer kirleticiler ve diğer bazı faktörler tarafından azalabilen ya da

artabilen gerçek selenyum derişimlerinin toksik olabileceğine dikkat edilmelidir. Selenyum bazı metallere etkileşime girerek biyolojik etkileri değiştirebilir. Ayrıca sıcaklık, besin, hastalık, farklı türlerin duyarlılığı selenyumun farklı kimyasal formlarının ilgili toksisitelerindeki farklılıklar ve diğer çevresel stres faktörleri selenyum derişimlerinin toksikoz üretmesine etki eder [67].

### 2.3. ASETİLKOLİNESTERAZ ENZİMİ

Asetilkolin, kolinerjik nöronların gövdesinde kolin ile asetilkoenzim A'dan gelen asetil'in kolinasetiltransferaz (ChAT) tarafından birleştirilmesi yoluyla oluşmaktadır. Oluşan asetilkolin, aksonal transport yoluyla sinir uçlarına taşınır ve sinaptik aralığa salınır [68].



Kolinesteraz inhibitörleri bir nörotransmitter olan asetilkolin'in hidrolizini katalizlemektedir. Farklı türlerdeki kolinesterazlar, inhibitörlerine duyarlılıklarına ve substrat seçiciliklerine göre farklılık gösterirler [69]. Bu farklılıklar, çeşitli kolinesterazları sınıflandırmada kriter olarak kullanılmaktadır. Substrat tercihlerine bağlı olarak 2 farklı tip enzim sınıflandırılmıştır [70]. Bunlardan biri asetilkolin gibi asetil esterleri hidrolize eden asetilkolinesteraz ( AChE ) ya da asetilkolin asetilhidralaz ( E.C.3.1.1.7. ) olarak tanımlanan enzimdir, diğeri ise butirikolin gibi diğer ester tiplerini hidrolize eden pseudokolinesteraz ya da spesifik olmayan kolinesteraz olarak da adlandırılan butirikolinesteraz ( BChE ) ya da açilkolin açilhidralaz ( E.C.1.1.8.) olarak tanımlanan enzimdir. BChE doğal bileşiklerin detoksifikasyonunda rol alan bir enzimdir [71]. Kolinesterazlar, kuarterner yapıları ve benzer katalitik aktiviteleriyle polimorfizm gösterirler; ancak hidrodinamik parametreleri ve iyonik ve hidrofobik etkileşimleriyle birbirlerinden farklılık göstermektedirler.

Asetilkolinesteraz enzimi, asetilkolinin hidrolizinden sorumludur, bu nedenle kolinerjik sinir sistemi için önemli bir enzimdir. AChE'nin aktif bölgesi, negatif yüklü anyonik alan ve elektrofilik ve nükleofilik grupların katalitik atıklarını içeren esteratik alan ve kuarterner azot bağlı kısmın bulunduğu pozitif yüklü alan olmak üzere 2 alt bölgeden oluşmaktadır [72]. Periferik anyonik kısım olarak bilinen 2. anyonik kısım, bis kuarterner bileşiklere bağlayıcı bazında görev alır [73]. Nükleofilin nükleofilikliği arttıran histidin atıklarıyla serin atıkları olduğu varsayılmaktadır [74]. AChE bir serin hidrolazı olarak adlandırılır ve bu nedenle, esteratik alt bölgedeki Asp-His-Ser katalitik üçlüsünü içerdiği varsayılmaktadır [75].

Asetilkolinesteraz enziminin baskılanması kas-sinir kavşağında asetilkolinin birikmesine ve devamlı etkin halde kalmasına neden olmaktadır. Bu ise postsinaptik sinir hücrelerinin sürekli depolarizasyonuna yol açmaktadır. Böylece periferik sinir sisteminde muskarinik bölgeler, sempatik-parasempatik ganglionlarda nikotinik bölgeler, kas-sinir kavşağındaki nikotinik bölgeler etkilendiği gibi merkezi sinir sistemi de etkilenmektedir. Genel olarak muskarinik bölgeler üzerine etkisi devamlı iken nikotinik etkili bölgelere önce uyarıcı etki yapar ardından hiperpolarizasyon bloğu yapmak suretiyle baskılayıcı etkiye neden olmaktadır [76].

Asetilkolinesteraz enzimi inhibisyonunun, nöromusküler kavşaklarda ve sinir sinapslarında asetilkolininin birikimine sebep olması anormal sonuçlar doğurur, en önemli sonuçlardan biri kas dokuda aşırı aktivasyonun oluşumudur [77]. Balıklarda bu aşırı aktivasyon, hiperaktivite ve anoreksiya gibi davranışsal değişimlere ve asfiksi gibi fizyolojik etkilere yol açar ve bu durum ölümle sonuçlanabilmektedir [78].

## 2.5. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Reichert ve ark. (1979), kurşunun etkisine bırakılan *Oncorhynchus kisutch*'da solungaç, karaciğer ve böbreklerde yüksek düzeyde birikim olduğunu belirtmişlerdir [79].

Bir tatlı su balığı olan *Anabas testidunes*'de kurşunun 30. gün sonunda en fazla böbrek dokusunda biriktiğini bunu sırasıyla solungaç ve karaciğer dokusunun izlediğini, kas dokusunda ise birikimin çok düşük olduğunu saptamışlardır [17].

Roger ve ark. (2003), *Oncorhynchus mykiss*'de kurşunun akut toksik mekanizması ile ilgili yaptıkları araştırmada kurşunun sırasıyla solungaç>böbrek>karaciğer şeklinde dokularda biriktiği gözlenmiştir [80].

*Oreochromis niloticus*'da akut kurşun toksisitesinin bazı fizyolojik parametrelere etkisinin araştırıldığı çalışmada, kurşun birikiminin dokularda sırasıyla karaciğer>kan>solungaçlar>böbrek>kas>dalak>sindirim kanalı ucunda biriktiği saptanmıştır [81].

*Onchorynchus mykiss*'de selenyumun kadmiyumun toksik etkilerini giderici özelliğinin araştırılmasına yönelik yapılan çalışmada kontrol, Cd, Se ve Cd+Se şeklinde dört uygulama grubu oluşturulmuştur. Cd'un tek başına uygulandığı grubun karaciğerinde önemli miktarda Cd biriktiği gözlenirken, Cd+Se uygulanan grubun karaciğerinde Cd birikiminde yaklaşık olarak %18'lik bir azalma olduğu belirlenmiştir [82].

Hamilton ve ark. (2001), *Xyrauchen texanus*' ta arsenik – selenyum etkileşimi ile ilgili çalışmalarında, selenyumun karaciğer, kas ve böbrek dokularındaki arsenik birikimini azalttığını saptamışlardır [83].

Belzile ve ark. (2006) selenyumun - civa etkisine baktıkları çalışmada, selenyumun düşük seviyelerdeki civanın *Perca flavescens* ve *Sander vitreus*' un kas

dokusundaki toplam birikim üzerine etkisini sınırlamada önemli bir role sahip olduğunu belirlemişlerdir [84].

Ergin ratların beyinde yapılan *in vitro* çalışmalarda düşük kurşun derişimlerinde (5-20 µg/L) AChE aktivitesinde değişiklik gözlenmezken, yüksek kurşun derişimlerinde (50-100 µg/L) AChE aktivitesinde önemli oranda inhibisyon gözlenmiştir [85].

*Danio rario*'da metaller tarafından karboksilaz ve asetilkolinesterazın *in vivo* ve *in vitro* inhibisyonuna bakılan çalışmada, *in vitro* koşullarda bakır, demir, kurşun ve kadmiyumun yüksek derişimlerde (10-20 mmol/L) AChE aktivitesini inhibisyona uğrattığı belirtilmiştir [86].

*Seriola dumerili*'de malathion ve kadmiyum etkisinde metallotionein seviyesi ve AChE aktivitesinin incelendiği bir çalışmada, kadmiyum etkisinde 2. günde sadece 50 µg/kg derişimde AChE aktivitesinde artış gözlenirken, 100 ve 250 µg/kg derişimde sırasıyla %37 ve %85 inhibisyona neden olduğu saptanmıştır [87].

Civa kirliliğine uğramış Rushikalya nehrinden toplanan *Arius nenga*, *Sillago sihama* ve *Scotophagus argus* türlerinde beyin dokusunda biriken civa düzeylerinin AChE aktivitesinde %26,48 inhibisyona sebep olduğu belirtilmiştir [88].

Romani ve ark. (2003)'nın subletal bakır derişimlerinin etkisine bırakılan *Sparus auratus* örneklerinde AChE aktivitelere baktıkları çalışmada, 20 günün sonunda 0,1 mg/L Cu derişimine bırakılan balıkların beyin dokusundaki AChE aktivitelere değişim gözlenmezken 0,5 mg/L Cu derişiminde kontrole göre önemli derecede artış olduğu belirtilmiştir [89].

*Mytilus edulis* ile yapılan bir çalışmada deney ortamına selenyum eklenmesiyle civanın neden olduğu DNA hasarlarının azaldığı belirlenmiştir. Araştırmacılar selenyumun Hg toksisitesine karşı koruyucu etkiyi Se'un Hg ile kompleks oluşturarak, bağlanma yeri için Hg ile rekabet ederek ve oksidatif hasarı engelleyerek yapabildiğini belirtmişlerdir [25].

Liu ve ark. (2013)'nın ratlarda kurşun kaynaklı zihinsel disfonksiyonlara sodyum selenitin etkisine baktıkları çalışmada, 0.2 ppm civarında selenyum uygulamasının kurşun etkisinin sebep olduğu uzamsal hafıza bozukluklarına karşı koruyuculuk gösterdiğini ve sodyum selenit ilavesinin kurşun kaynaklı oksidatif stresi azalttığını belirtmişlerdir [90].

Chakraborty ve ark.(1987)'nin *Rattus norvegicus*'da kurşun ve selenyum etkilerine bakılan çalışmada, kurşun asetatın yol açtığı kromozomal hasara karşı sodyum selenitin koruyucu işlev görüğünü belirtmişlerdir [91].

Ratların beyin dokusunda kurşun kaynaklı değişimlere selenyumun etkisine bakılan bir çalışmada, kurşun uygulamasının DNA, RNA ve protein değerlerinde önemli düşüşe sebep olurken, kurşunla beraber selenyum uygulanmasının DNA ve RNA içeriği değerlerinde gelişme gösterdiği belirtilmiştir [92].

Arseniğin yüksek ve düşük derişimlerinin bulunduğu ortama selenyum ilavesiyle *Channa punctatus*' da AChE inhibisyonunun düzelmesinde Se'un önemli bir rol oynadığı saptanmıştır. Araştırmada AChE enziminin aktif bölgesine bağlanmada As ve Se'un rekabete girdiği ve Se'un As'den daha yüksek affiniteye sahip olması nedeniyle As'in enzim üzerine yapacağı inhibüsyon etkisini engellemede önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir [93].

Richetti ve ark. (2011), *Danio rerio*' da ağır metal etkisi ile ilgili yaptıkları bir çalışmada, civa klorit ve kurşun asetatın AChE aktivitesinde önemli bir düşüşe sebep olduğunu tespit etmişlerdir. [94].

Burgeot ve ark. (1996), *Mullus barbatus*, *Sefanus hepatus*, *Sefanus cabrilla* ' da yaptıkları çalışmada tarımsal ve endüstriyel faaliyetlerden yoksun bölgelerden toplanan örneklerde AChE aktivitesinde inhibisyon düşük çıkarken, endüstriyel ve evsel atıkların yüksek düzeyde deşarj edildiği bölgelerdeki örneklerde AChE aktivitesindeki inhibisyon yüksek olmuştur [95].

Kurşun ve bakır etkisindeki *Oncorhynchus mykiss*' de selenyum ( $Se^{+4}$ )'ün koruyucu etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, selenyumun Se-GSH-Px ve SOD aktivitelerinin yükselttiği, MDA seviyelerinde ise azalma olduğu gözlenmiştir.

Ayrıca; selenyumun varlığı WBC, MCV ve MCH sayılarını arttırıp; eritrosit sayısı, hemoglobin miktarı ve hematokrit değerlerini düşürerek hematolojik parametreleri normal seviyelerine getirmiştir [96].

Saskatchewan bölgesindeki nehirlerde uranyum maden işletmesinin sebep olduğu selenyum birikiminin araştırıldığı çalışmada, selenyum seviyelerinin toksik seviyelere ulaştığı ve bununda balıkların üreme faaliyetlerinde hasara yol açtığı bildirilmiştir [97].

Lemly ve ark. (2002)'de tamamladıkları Belews gölündeki 20 tür üzerinde 20 yılda yaptığı araştırmaları sonucunda selenyum toksik etkisinin; solungaç lamellerinde şişliğe; ovaryum, kalp, böbrek ve karaciğer dokularında değişimlere, omurga, baş, ağız ve yüzgeçlerde teratojenik deformasyonlara, gözde katarakt ve ekzoftalmusa; hematokrit ve hemoglobin miktarında düşmeye ve lenfosit sayısında artışa ve üreme yetmezliğine neden olduğunu bildirmiştir [98].

Bu çalışmada, balıklarda birikim potansiyeli [99] ve AChE enzim inhibe edici etkisi [94] olduğu bilinen kurşunun selenyum varlığında *Oreochromis niloticus*'un farklı dokularında birikim potansiyeli ile beyin dokusunda AChE aktivitesine etkileri ile ilgili bir literatüre rastlanmamıştır. Bu çalışmada amaç, *O. niloticus*'da selenyum varlığında, kurşunun farklı dokularda birikim potansiyelinin ve beyin AChE aktivitesinin değerlendirilmesidir. Buldukları sularda kurşunu da içeren farklı metallerin etkisinde kalan balıklarda bu metallerin etkileşiminin anlaşılması bilinçsizce çevreye salınan bu tip kirleticilerin biyotada neden olduğu etkilerin anlaşılması bakımından yararlıdır.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. MATERYAL

Materyal olarak juvenil tilapyaalar (*Oreochromis niloticus* (L.,1758)) kullanılmıştır. Balıklar Ç.Ü. Su Ürünleri Fakültesi Tatlısu Balıkları Üretim ve Araştırma İstasyonu'ndan sağlanmıştır. Deneyler, Mersin Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi Uygulama Birimleri'nde yer alan  $25 \pm 1$  °C durağan sıcaklığa sahip, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık fotoperiyodu uygulanan Temel Bilimler Araştırma Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Toksikite denemelerinde yaklaşık aynı boy ( $12,40 \pm 0,57$  cm boy) ve ağırlıkta ( $29,59 \pm 2,68$  g) balıklar kullanılmıştır.

Laboratuvara getirilen balıklar, araştırmaya başlamadan denemelerden önce her biri 40X100X40 cm boyutlarında olan, içerisinde 120L dinlendirilmiş çeşme suyu bulunan 7 adet cam akvaryum içerisinde 60 gün süreyle bekletilerek laboratuvar koşullarına uyumları sağlanmıştır. Denemede kullanılan dinlendirilmiş çeşme suyunun fizikokimyasal parametreleri; çözülmüş O<sub>2</sub>  $8,54 \pm 0,37$  mg/L, pH  $8,32 \pm 0,20$ , sıcaklık  $21,07 \pm 0,66$ °C, toplam alkalinite  $325 \pm 0,80$  mg/L, toplam sertlik  $230 \pm 6,36$  mg/L CaCO<sub>3</sub> şeklinde belirlenmiştir.

##### 3.1.1. Kimyasal Maddeler

5,5'-Ditiyo-bis (2-Nitrobenzoik Asit) (DTNB) Sigma

Asetilkolintiyoiyodür Sigma

Bakır Sülfat (CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O) Sigma

di-Potasyum Hidrojen Fosfat K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> Merck

di-Sodyum Hidrojen Fosfat Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O Merck

Etopropazin Sigma

Folin-Ciocalteu's Fenol Ayıracı Sigma



Potasyum Dihidrojen Fosfat  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  Merck

Potasyum klorür KCl Merck

Sığır Serum Albumini Sigma

Sodyum Dihidrojen Fosfat  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  Merck

Sodyum Hidroksit NaOH Merck

Sodyum Karbonat  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  Merck

Sodyum Klorür NaCl Merck

Sodyum Potasyum Tartarat Merck

Nitrik Asit  $\text{HNO}_3$  Sigma

Perklorik Asit  $\text{HClO}_4$  Sigma

### **3.1.2. Cihazlar ve Diğer Gereçler**

Analitik Terazî Denver TP 214

Distile Su Cihazı Mes Mp Mini Pure

Homojenizatör WiseStir HS 30E

Oksijenmetre

Otomatik Pipetler Isolab, Axypet, Brand

Masa Tipi pH metre Hanna Instruments HI 2211-02

Soğutmalı Santrifüj Beckman Coulter Microfuge 22R Centrifuge

Terazi Neck JCS-B

UV-Visible Spektrofotometre Shimadzu UV 1208

Vortex IKALAB Dancer Vortex

### 3.2. YÖNTEM

Araştırmadaki subletal derişimler literatür bilgileri [100,101] göz önünde bulundurularak kurşun için ( $Pb(NO_3)_2$ ) 1 ve 2 mg/L; Selenyum için ise ( $Na_2SeO_3$ ) 2 ve 4 mg/L olarak belirlenmiştir. Denemeler 3 seri halinde yürütülmüş ve her seride 40x100x40 cm boyutlarında 7 adet cam akvaryum kullanılmıştır. 3 tekrarlı olarak yürütülen araştırmada balıklar 1, 7 ve 15 gün sürelerle Çizelge 3.2.1'de gösterilen kurşun ve selenyum ortam derişimlerinin etkisine bırakılmıştır.

Çizelge 3.2.1. Deneme gruplarında kullanılan metaller ve derişim

METAL	DERİŞİM
Kontrol	-
$Pb(NO_3)_2$	1 mg/L
$Pb(NO_3)_2$	2 mg/L
$Pb(NO_3)_2 + Na_2SeO_3$	1+2 mg/L
$Pb(NO_3)_2 + Na_2SeO_3$	2+4 mg/L

Akvaryumlarda havalandırma, merkezi havalandırma sistemi ile sağlanmıştır. Balıklar günde bir kez toplam biyomasın %2'si kadar hazır balık yemi (Çamlı Balık Yemi San., İzmir, Ham Protein: %45; Ham Yağ: %19; Nem: %12) ile beslenmiştir. Adsorbsiyon, presipitasyon ve evaporasyon gibi nedenlerle deney çözeltilerinin derişiminde zaman içerisinde derişimler olabileceğinden, deneyler süresince deney ve kontrol akvaryumlarındaki su iki günde bir kez tamamı boşaltılarak aynı ortam koşullarında bulunan dinlenmiş su ile hızla deriştirilerek ortam yenilenmiştir.

1, 7 ve 15. günlerde örnekleme yapılmış ve her diseksiyondan hemen önce balıklar akvaryumlardan çıkarılarak buzda bayıltılmış, beyin omurilik bağlantıları kesilerek öldürülen balıklardan öncelikle beyin dokuları çıkartılıp %0,59'luk serum

fizyolojik ile yıkandıktan sonra yaş ağırlığı tartılarak AChE analizleri gerçekleştirilinceye kadar  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır. Solungaç, beyin, karaciğer, ve kas dokuları da metal birikim analizleri için  $150^{\circ}\text{C}$  ayarlı etüvde 72 saat süreyle bekletilerek sabit tartıma getirilmiş, süre sonunda kuru ağırlıkları belirlenen dokular deney tüplerine aktararak 2 mL nitrik asit (Merck, %65, d:1.40) ve 1 mL perklorik asit (Merck, %60, d:1.53) eklenerek 3 saat süreyle yakılmıştır [102,103]. Yakımı tamamlanan örnekler kapaklı tüplere aktarılmış, saf su ile 5 mL ye tamamlanarak metal analizi için hazır hale getirilmiştir. Doku ve organlardaki metal analizi İndüktif Olarak Eşleştirilmiş Plazma-Kütle Spektrometresi (ICP-MS) (Agilent 7500ce) ile belirlenmiştir.

AChE enzim aktivitesinin belirlenmesi için derin dondurucudan çıkartılan dokular üzerine 1/10 oranında 0.05 M Na-K Fosfat tamponu ( $\text{pH}=7.4$ ) eklenerek 10.000 rpm'de 3 dk buz içerisinde homojenize edildikten sonra  $+4^{\circ}\text{C}$ 'de  $9.500\times\text{g}$ 'de 30 dk santrifüjlenerek elde edilen süpernantlarda AChE enzim aktivitesi spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmiştir.

### **3.2.1. Analiz Yöntemleri**

#### **3.2.1.1. Asetilkolinesteraz Yöntemi**

Kolinesterazlar, asetilkolinin tiyokolin ve asetata parçalanması tepkimesini katalizlerler. Ürün olarak açığa çıkan tiyokolin ile DTNB'nin reaksiyonu sonucu sarı renk veren 5-tiyo-2-nitrobenzoik asit oluşur. Oluşan rengin şiddeti 412 nm'de ölçülür [104].

Asetiltiyokolin iyodür  $\longrightarrow$  Tiyokolin

Tiyokolin + DTNB  $\longrightarrow$  5-tiyo-2 nitrobenzoik asit (sarı renk)

### Ayıraçlar:

1. 0.1 M Na-K Fosfat Tamponu (pH 8.0)
2. 0.1 M Na-K Fosfat Tamponu (pH 7.0)
3. 0.01 M DTNB
4.  $8.52 \times 10^{-3}$  M Etopropazin (BChE İnhibitörü)
5. 0.015 M Asetilkolintiyoiyodür

### Yöntem

Asetilkolinesteraz enzim aktivitesini ölçmek için çözeltiler kör ve örnek olmak üzere farklı küvetlere aşağıdaki şekilde eklenir (Çizelge 3.2.1.1 ).

Çizelge 3.2.1.1. Asetilkolinesteraz Yöntemi

Çözeltiler ve Ayıraçlar	Kör (µL)	Örnek (µL)
Fosfat Tamponu (0.1M, pH 8.0)	2700	2550
Örnek	200	200
DTNB (0.01M) (0.1M, pH 7.0 Na-K Fosfat)	100	100
Etopropazin ( $8.52 \times 10^{-3}$ M)	---	50
Çalkalanır ve 30°C'de 5 dakika inkübe edilir.		
Asetilkolintiyoiyodür (0.015M)	---	100

Örnek ve kör küvetlerinin 412 nm dalga boyunda, 0. ve 5. dakikadaki absorbansları ölçülür.

## Hesaplama

$$\text{AChE aktivitesi (U/mL)} = \frac{\Delta OD}{t} \times \frac{V_t}{V_0} \times 13.6$$

$\Delta OD$  = Zamana göre absorbans değişimi

t = Zaman

$V_t$  = Toplam hacim

$V_0$  = Örnek hacmi

AChE Spesifik Aktivitesi (U/mg protein) = AChE Aktivitesi / Protein Miktarı

### 3.2.1.2. Protein Yöntemi

Beyin dokusunda protein miktarları AChE spesifik enzim aktivitelerini hesaplamak amacıyla çalışılmıştır. Proteinlerin çoğu tirozin, triptofan veya her iki amino asiti de içerirler. Bu amino asitler serbest veya katlanmamış bir polipeptid zincirinde mavi renk oluşturmak üzere fosfotungstik asit-molibdik asit ayırıcını (Folin-Ciocalteu's ayırıcı) indirgerler. Bu yöntemde proteinler bakır-peptid bağ-protein kompleksini oluşturmak üzere alkali çözeltide  $\text{Cu}^{+2}$  ile reaksiyona girerler. Ortama Folin-Ciocalteu's ayırıcı eklendiğinde indirgeme süreci içerisinde bakır-protein kompleksleri ile tirozin, triptofan rezidüleri birleşirler. Renklendirilmiş çözeltinin absorbansı 750 nm dalga boyunda ölçülür [105].

### Ayırıcılar

1. Alkali  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  çözeltisi
2. Bakır sülfat-Sodyum potasyum tartarat çözeltisi %1  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  %2 Na-K tartarat kullanılacağı zaman bu çözeltiler eşit hacimde karıştırılarak hazırlanır.
3. Alkali çözelti (Günlük olarak hazırlanır.): 50 mL alkali  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  çözeltisi 1 mL bakır sülfat-Sodyum potasyum tartarat çözeltisi ile karıştırılarak hazırlanır.

4. Folin-Ciocalteu's ayracı: 1 mL Folin-Ciocalteu 1.5 mL saf su olacak şekilde hazırlanır.

### Standart Grafiğın Hazırlanması

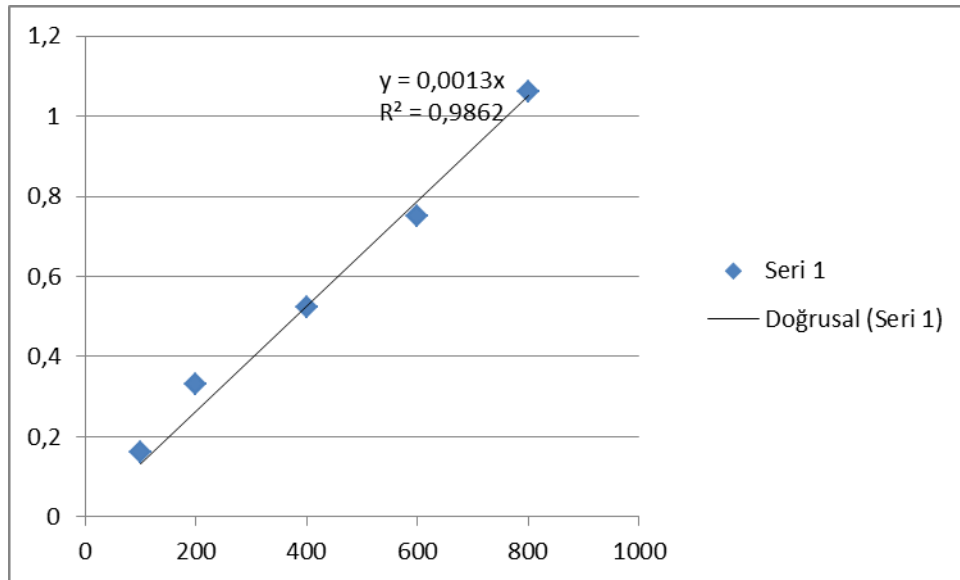
Sığır serum albumini kullanılarak 1000 µg/mL'lik stok protein çözeltisi hazırlanır. Çalışma için bu çözelti 100, 200, 300, 400, 500 µg/mL derişimlerde seyreltilerek grafik çiziminde bu standartların absorbans değerleri kullanılmıştır.

### Yöntem

Örnek çözeltilerden 0.3 mL alınır, üzerine 3 mL alkali çözelti ilave edilip 15 dakika oda sıcaklığında bekletilir. 0.3 mL Folin-Ciocalteu's ayracı eklenerek 30 dakika oda sıcaklığında bekletilir ve bu süre sonunda 750 nm dalga boyunda spektrofotometrede okunur. Aynı işlem 0.3 mL saf su kullanılarak kör için uygulanır.

### Hesaplama

Örneklerin içerdiği protein miktarı yumurta albumini kullanılarak çizilen standart grafikten değerlendirilir (Şekil 3.2.1.2.1).



Şekil. 3.2.1.2.1. Protein analizi standart grafiğı

### 3.2.2. İstatistiksel Değerlendirme

Denemelerde elde edilen verilerin istatistiksel analizleri SPSS 16.0 istatistik programı kullanılarak yapılmıştır. Veriler öncelikle homojen dağılımlarını test etmek üzere Levene's homojenlik testine tabi tutulmuşlardır. Aynı sürede etki grupları arasındaki istatistiksel ayırım öncelikle tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. ANOVA analizinde önem gösteren veriler, homojen dağılım göstermişse Duncan çoklu karşılaştırma testi, homojen dağılım göstermemişse Tamhane's T2 testi ile analiz edilmiştir. Gruplar arası farklar  $P<0,05$  olarak değerlendirilmiştir.

#### 4. BULGULAR

Biyolojik olarak balık davranışları ile fizyolojik ve ekolojik süreçler arasında bir bağ bulunmaktadır. Bu nedenle karmaşık balık davranışları, duysal, hormonal, nörolojik ve metabolik sistemlerin entegrasyonunun ürünü olduğundan, sucül kirleticilerin etkilerini gözlemlemek açısından çok önemlidir [9]. Bu çalışmada deneme süresi boyunca mortalite gözlenmemiştir. Ağır metal etkisindeki balıklarda, etki süresinin başlangıcında yüzmede koordinasyon bozukluğu, besine karşı duyarsızlık, operkulum hareketlerinde artış gibi çeşitli davranış değişiklikleri meydana gelmekte, etkide kalma süresinin uzaması ile davranışlarda gözlenen değişimler ortadan kalkmaktadır [106]. Bu çalışmada da yüzmede koordinasyon bozukluğu, operkulum hareketinde artış ve renkte kararma gibi değişiklikler gözlenmiştir. Etkide kalma süresinin uzaması ile bu değişikliklerin düşük derişimlerde (1mg/L Pb, 2mg/L Se, 1mg/L Pb+2mg/L Se) ortadan kalktığı, yüksek derişimlerde (2mg/L Pb, 4mg/L Se, 2mg/L Pb+4mg/L Se) ise yem alımının 10. günden sonra tamamen durduğu ve saldırganlaşma gibi davranış değişikliklerinin devam ettiği saptanmıştır.

##### 4.1. DOKULARDA KURŞUN BİRİKİMİNE SELENYUMUN ETKİSİ

*O. niloticus*'da 1., 7. ve 15. gün sonunda solungaç, beyin, karaciğer ve kas dokularında selenyumun kurşun birikimi üzerine etkileri sırasıyla Çizelge 4.1.1-4.1.4'te verilmiştir.

Kurşun, etkisine bırakılan tüm balıkların dokularında süreye bağımlı birikim göstermiştir. Denenen tüm sürelerde Pb birikimi en fazla beyin dokusunda saptanmış olup, bunu sırasıyla karaciğer, solungaç ve kas dokuları izlemiştir.

Her üç deneme süresinin sonunda 1. gün kas dokusunda tüm Se karışımları, 7. gün solungaç dokusunda 1mg/L Pb+2mg/L Se ve 7. gün karaciğer dokusunda 2mg/L Pb+4mg/L Se karışımları dışında, Se dokularında Pb birikiminde azalmaya neden olmuştur.



Solungaç dokusunda 1mg/L Pb+2mg/L Se ve 2mg/L Pb+4mg/L Se karışımlarında kurşun birikimindeki azalma sırasıyla 1. gün sonunda %73 ve %74; 7. gün sonunda %5 ve %61; 15. gün sonunda ise %28 ve %39 olarak gerçekleşmiştir.

Beyin dokusunda 1mg/L Pb+2mg/L Se ve 2mg/L Pb+4mg/L Se karışımlarında kurşun birikimindeki azalma sırasıyla 1. gün sonunda %14 ve %54; 7. gün sonunda %40 ve %31; 15. gün sonunda ise %60 ve %70 olarak gerçekleşmiştir.

Karaciğer dokusunda 1mg/L Pb+2mg/L Se ve 2mg/L Pb+4mg/L Se karışımlarında kurşun birikimindeki azalma sırasıyla 1. gün sonunda %18 ve %42; 15. gün sonunda ise %76 ve %55 olarak gerçekleşmiştir. 7. gün sonunda 1mg/L Pb+2mg/L Se, Pb birikimini %52 azaltmasında karşın, 2mg/L Pb+4mg/L Se karışımında birikim, %42 oranında artmıştır.

Kas dokusunda 1. gün sonunda 1mg/L Pb+2mg/L Se ve 2mg/L Pb+4mg/L Se karışımlarında kurşun birikiminde sırasıyla %33 ve %158 artış meydana gelmiştir. 1mg/L Pb+2mg/L Se ve 2mg/L Pb+4mg/L Se karışımlarında kurşun birikimindeki azalma sırasıyla 7. gün sonunda %65 ve %48; 15. gün sonunda ise %44 ve %19 olarak gerçekleşmiştir.

**Çizelge 4.1.1.** *O. niloticus*'da solungaç dokusunda 1., 7. ve 15. günlerde farklı derişimlerde kurşunun birikimi üzerine farklı selenyum derişimlerinin etkisi ( $\mu\text{g Pb/g}$  k.a.)

DERİŞİM	SÜRE (GÜN)		
	1. Gün	7. Gün	15. Gün
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$
<b>Kontrol</b>	D.A. <sup>a</sup>	D.A. <sup>a</sup>	D.A. <sup>a</sup>
<b>1mg/L Pb</b>	7,84 $\pm$ 0,33 <sup>bx</sup>	44,59 $\pm$ 1,85 <sup>by</sup>	76,79 $\pm$ 2,08 <sup>bz</sup>
<b>1mg/L Pb+2mg/L Se</b>	2,16 $\pm$ 0,31 <sup>cx</sup>	42,28 $\pm$ 1,10 <sup>by</sup>	55,36 $\pm$ 0,47 <sup>cz</sup>
<b>2mg/L Pb</b>	11,86 $\pm$ 0,75 <sup>bx</sup>	78,28 $\pm$ 1,76 <sup>by</sup>	110,33 $\pm$ 0,52 <sup>bz</sup>
<b>2mg/L Pb+4mg/L Se</b>	3,06 $\pm$ 0,52 <sup>cx</sup>	30,70 $\pm$ 0,04 <sup>cy</sup>	67,83 $\pm$ 0,29 <sup>cz</sup>

\*: a, b ve c harfleri Se karışımının kontrol ve karşılık gelen Pb grubu arasındaki; x, y ve z harfleri ise süreler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır ( $P < 0.05$ ,  $N = 3$ ).

$\bar{X} \pm S\bar{x}$  : Aritmetik ortalama  $\pm$  Standart hata

**Çizelge 4.1.2.** *O. niloticus*'da beyin dokusunda 1., 7. ve 15. günlerde farklı derişimlerde kurşunun birikimi üzerine farklı selenyum derişimlerinin etkisi ( $\mu\text{g Pb/g}$  k.a.)

DERİŞİM	SÜRE (GÜN)		
	1. Gün	7. Gün	15. Gün
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$
<b>Kontrol</b>	D.A. <sup>a</sup>	D.A. <sup>a</sup>	D.A. <sup>a</sup>
<b>1mg/L Pb</b>	47,97 $\pm$ 0,85 <sup>bx</sup>	173,70 $\pm$ 3,23 <sup>by</sup>	251,23 $\pm$ 0,86 <sup>bz</sup>
<b>1mg/L Pb+2mg/L Se</b>	41,13 $\pm$ 2,62 <sup>cx</sup>	104,57 $\pm$ 0,72 <sup>cy</sup>	100,57 $\pm$ 0,20 <sup>cy</sup>
<b>2mg/L Pb</b>	83,64 $\pm$ 0,62 <sup>bx</sup>	233,97 $\pm$ 0,06 <sup>by</sup>	363,30 $\pm$ 2,97 <sup>bz</sup>
<b>2mg/L Pb+4mg/L Se</b>	38,19 $\pm$ 1,85 <sup>cx</sup>	162,67 $\pm$ 3,20 <sup>cy</sup>	109,53 $\pm$ 0,44 <sup>cz</sup>

\*: a, b ve c harfleri Se karışımının kontrol ve karşılık gelen Pb grubu arasındaki; x, y ve z harfleri ise süreler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır ( $P < 0.05$ ,  $N = 3$ ).

$\bar{X} \pm S\bar{x}$  : Aritmetik ortalama  $\pm$  Standart hata

**Çizelge 4.1.3.** *O. niloticus*'da karaciğer dokusunda 1., 7. ve 15. günlerde farklı derişimlerde kurşunun birikimi üzerine farklı selenyum derişimlerinin etkisi ( $\mu\text{g Pb/g}$  k.a.)

DERİŞİM	SÜRE (GÜN)		
	1. Gün	7. Gün	15. Gün
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$
<b>Kontrol</b>	D.A. <sup>a</sup>	D.A. <sup>a</sup>	D.A. <sup>a</sup>
<b>1mg/L Pb</b>	12,99 $\pm$ 0,85 <sup>bx</sup>	112,13 $\pm$ 1,40 <sup>by</sup>	139,94 $\pm$ 2,76 <sup>bz</sup>
<b>1mg/L Pb+2mg/L Se</b>	10,72 $\pm$ 0,37 <sup>cx</sup>	53,36 $\pm$ 0,36 <sup>cy</sup>	33,83 $\pm$ 1,91 <sup>cz</sup>
<b>2mg/L Pb</b>	8,72 $\pm$ 0,83 <sup>bx</sup>	98,20 $\pm$ 1,10 <sup>by</sup>	146,00 $\pm$ 3,46 <sup>bz</sup>
<b>2mg/L Pb+4mg/L Se</b>	5,04 $\pm$ 0,44 <sup>cx</sup>	139,00 $\pm$ 2,82 <sup>cy</sup>	66,26 $\pm$ 1,25 <sup>cz</sup>

\*: a, b ve c harfleri Se karışımının kontrol ve karşılık gelen Pb grubu arasındaki; x, y ve z harfleri ise süreler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır ( $P < 0.05$ ,  $N = 3$ ).

$\bar{X} \pm S\bar{x}$  : Aritmetik ortalama  $\pm$  Standart hata

**Çizelge 4.1.4.** *O. niloticus*'da kas dokusunda 1., 7. ve 15. günlerde farklı derişimlerde kurşunun birikimi üzerine farklı selenyum derişimlerinin etkisi ( $\mu\text{g Pb/g}$  k.a.)

DERİŞİM	SÜRE (GÜN)		
	1. Gün	7. Gün	15. Gün
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$
<b>Kontrol</b>	D.A. <sup>a</sup>	D.A. <sup>a</sup>	D.A. <sup>a</sup>
<b>1mg/L Pb</b>	5,25 $\pm$ 0,50 <sup>bx</sup>	20,24 $\pm$ 0,64 <sup>by</sup>	42,16 $\pm$ 3,10 <sup>bz</sup>
<b>1mg/L Pb+2mg/L Se</b>	6,98 $\pm$ 0,10 <sup>cx</sup>	7,16 $\pm$ 0,23 <sup>cx</sup>	23,81 $\pm$ 2,43 <sup>cy</sup>
<b>2mg/L Pb</b>	15,47 $\pm$ 0,59 <sup>bx</sup>	16,48 $\pm$ 1,25 <sup>bx</sup>	40,02 $\pm$ 1,66 <sup>by</sup>
<b>2mg/L Pb+4mg/L Se</b>	39,97 $\pm$ 1,15 <sup>cx</sup>	8,56 $\pm$ 0,29 <sup>cy</sup>	32,37 $\pm$ 0,58 <sup>cz</sup>

\*: a, b ve c harfleri Se karışımının kontrol ve karşılık gelen Pb grubu arasındaki; x, y ve z harfleri ise süreler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayırım vardır ( $P < 0.05$ ,  $N = 3$ ).

$\bar{X} \pm S\bar{x}$  : Aritmetik ortalama  $\pm$  Standart hata

#### 4.2. BEYİN DOKUSUNDA KURŞUN VE SELENYUM KARIŞIMLARININ AChE AKTİVİTESİNE ETKİLERİ

*O. niloticus*'da beyin dokusunda 1., 7. ve 15. gün sonunda kurşun ve selenyum karışımlarının AChE aktivitesi üzerine etkisi Çizelge 4.2.1'de gösterilmiştir.

Beyin dokusunda 1. günde Pb denenen en yüksek derişiminde AChE spesifik aktivitesinin %48 oranında azalmasına neden olmuştur (Şekil 4.2.1). 4mg/L Se uygulaması, 2mg/L Pb'nin neden olduğu AChE aktivite kaybını engellemiştir.

Karışım grubunda aktivite, kontrole yakın düzeyde olmakla birlikte, 2mg/L Pb verilen gruba göre %77 oranında artış göstermiştir.

7. günde tüm deneme gruplarında AChE aktivitesinde herhangi bir değişim belirlenmemiştir. 15. günde 1mg/L Pb+2mg/L Se karışım grubunda AChE aktivitesi kontrole ve 1mg/L Pb grubuna göre sırasıyla %41 ve %50 artış göstermiştir (Şekil 4.2.2). Bu sürede Pb, AChE aktivitesinde herhangi bir değişime neden olmamıştır.

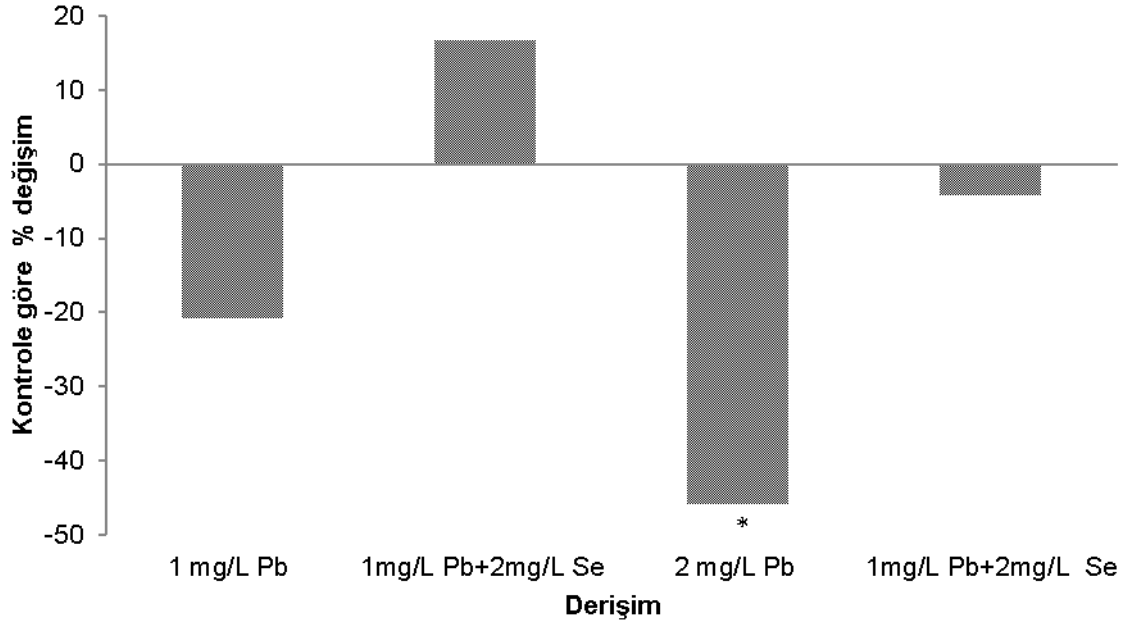
**Çizelge 4.2.1.** *O. niloticus*'da beyin dokusunda 1., 7. ve 15. günlerde farklı derişimlerde kurşun ve selenyum karışımlarının AChE spesifik aktivitesine ( $\mu\text{M}/\text{dak}/\text{mg}$  protein) etkileri

DERİŞİM	AChE Spesifik Aktivitesi		
	1. Gün	7. Gün	15. Gün
	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$
<b>Kontrol</b>	0,24±0,01 <sup>a</sup>	0,23±0,03	0,17±0,01 <sup>a</sup>
<b>1mg/L Pb</b>	0,19±0,00 <sup>ab</sup>	0,17±0,02	0,16±0,01 <sup>a</sup>
<b>1mg/L Pb+2mg/L Se</b>	0,28±0,03 <sup>ab</sup>	0,18±0,05	0,24±0,03 <sup>b</sup>
<b>2mg/L Pb</b>	0,13±0,01 <sup>b</sup>	0,14±0,00	0,10±0,01 <sup>a</sup>
<b>2mg/L Pb+4mg/L Se</b>	0,23±0,02 <sup>ab</sup>	0,13±0,01	0,15±0,01 <sup>a</sup>

\*: a ve b harfleri derişimler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır.

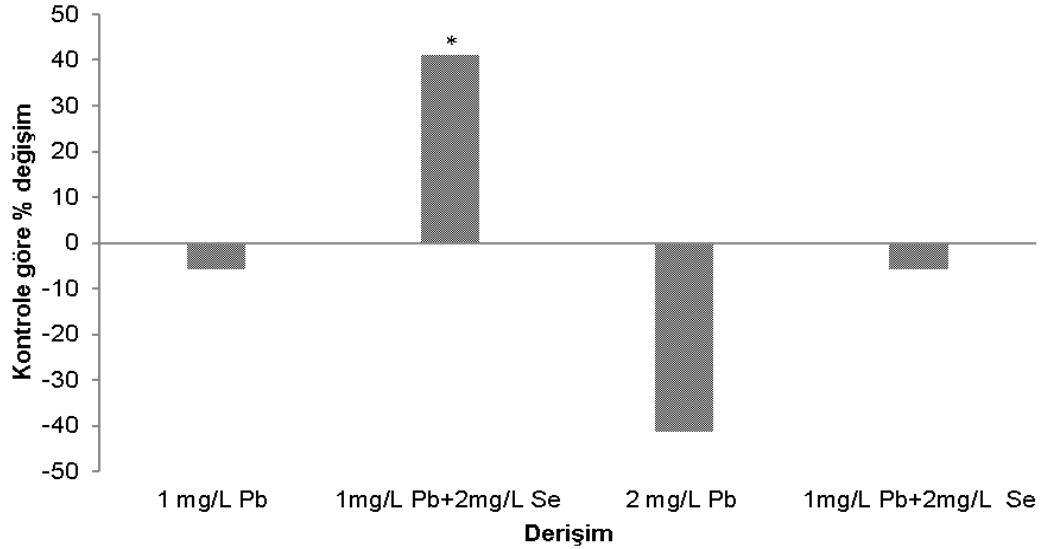
Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ( $P<0.05$ ,  $N = 3$ ).

$\bar{X} \pm S\bar{x}$  : Aritmetik ortalama  $\pm$  Standart hata



Şekil 4.2.1. *O. niloticus*'da beyin dokusunda AChE spesifik aktivitesinin 1. günde Pb ve Se karışımlarında kontrol grubuna göre yüzde değişimi

\*: Kontrol grubuna göre istatistik ayrımı göstermektedir ( $P<0.05$ ).



Şekil 4.2.2. *O. niloticus*'da beyin dokusunda AChE spesifik aktivitesinin 15. günde Pb ve Se karışımlarında kontrol grubuna göre yüzde değişimi

\*: Kontrol grubuna göre istatistik ayrımı göstermektedir ( $P<0.05$ ).

## 5. TARTIŞMA

Balıklarda ağır metal gibi toksik maddelerin atılım mekanizmaları, alınımı karşılamadığı durumlarda, bunların doku ve organlarda birikimine neden olmaktadır. Metal birikim miktarı, metalin etki süresine ve derişimine bağılı olarak artmaktadır. Balıklarda farklı ağır metaller farklı doku ve organlarda farklı oranlarda birikirler [107] ve belirli bir metalin hangi doku veya organda öncelikle depo edileceğı türlere göre değışim göstermektedir [108]. *Procamburus clarkii*'de dokularda kurşun birikiminin kurşunun ortam derişimine ve süreye bağılı olarak arttığı belirtilmiştir [109]. *Carassius auratus*'da kurşun birikimiyle ilgili yapılan çalışmada ortamdaki kurşun derişiminin artışına paralel olarak dokudaki birikimin de arttığı saptanmıştır [110].

Ağır metallerin letal olmayan derişimlerde, genellikle balıkların karaciğer gibi metabolik olarak aktif olan organlarında daha fazla biriktiğı bildirilmiştir [102]. Karaciğer dokusu ağır metallerin taşınmasında ve detoksifikasyonunda görev yapan metal bağılayıcı proteinlerin başlıca sentez yerlerinden biri olması nedeniyle, kurşun detoksifikasyonundaki işlevi oldukça fazladır. *Cyprinus carpio*'da dokularda kurşun birikiminin farklılık gösterdiği ve böbrek ile karaciğer gibi organlarda kurşun birikiminin yüksek düzeylere ulaştığı saptanmıştır [111]. *C. carpio*'da karaciğer dokusunda kurşun birikimi ortam derişimi ve etkide kalma süresine bağılı olarak artış gösterirken kas dokusunda belirli bir derişimden sonra süreye bağılı olarak sürekli azalma göstermiştir ve karaciğerde kas dokusuna oranla birikim daha fazladır [112].

Sucul ekosistemlere ulaşan kurşun, balıklar tarafından solungaçlar ve sindirim yolu ile alınabilir. Yumuşak dokulara kolaylıkla geçebilen kurşun; böbrek, beyin, solungaç, kemik ve karaciğer gibi dokularda birikim yapar [113]. Nil tilapyası (*Oreochromis niloticus*)'nda 0.1mg/L Pb ve 1.0mg/L Pb derişimlerinde en yüksek kurşun birikimi böbrek dokusunda iken, bunu solungaç, karaciğer ve kas dokusu izlemiştir [114]. *O. mykiss*'de diğere dokulara oranla solungacın kurşunun toksik etkisinde ilk hedef organ olduğu ve birikimin bu dokuda yüksek düzeye ulaştığı belirtilmiştir [80].



Kurşun solungaç, karaciğer ve böbrek gibi dokuların yanı sıra beyin ve kemik dokularında da önemli oranda birikmektedir [115,116]. *Tilapia zillii*'de kurşunun böbrek dokusundan sonra en fazla beyin dokusunda biriktiği belirtilmiştir [117].

Balıklarda kas dokusu ağır metalleri biriktirmede metabolik olarak aktif bir doku değildir. *C. carpio* ve *O. niloticus*'un kas dokusunda kurşun birikiminin denenen tüm ortam derişim ve sürelerde diğer organlara oranla oldukça düşük olduğu saptanmıştır [118,119].

Bu çalışmada kurşun birikiminin süre ve derişime bağılı olarak arttığı ve dokulardaki birikimin sırasıyla beyin, karaciğer, solungaç ve kas dokularında olduğu tespit edilmiştir. Kalsiyum iyonlarının ( $Ca^{+2}$ ) yerine geçen kurşunun kan beyin bariyerini hızla aşarak beyin dokusunda yoğunlaştığı ve bu nedenle beyin dokusunda birikimin fazla olduğu düşünülmektedir. *Anabas testudineus*'da beyin ve kemik dokularında yüksek düzeyde kurşun biriktiği belirlenmiştir [17].

Balıklardaki ağır metal birikimi doku ve organa bağılı olarak değiştiği gibi, ortamda bulunan metaller arasındaki etkileşime bağılı olarak da değişir [120]. Burkina Faso'da tatlı su rezervuarında bulunan balıklarla yapılan çalışmada arsenik ve civanın selenyuma antagonistik etki gösterdiği saptanmıştır [121]. *O. aureus*'ta kurşunun kadmiyum ve civa ile etkileşiminde böbrekte kurşun birikiminin kurşunun tek başına olan etkisinden daha az, karaciğer ve kas dokularında ise daha fazla olduğu saptanmıştır [122]. *C. carpio*'da bakır-çinko karışımının etkisinde incelenen doku ve organlardaki metal birikimi, bakır ve çinkonun tek başına etkisinden daha düşük düzeyde olmuştur [123].

Kurşun ve selenyum kompleksi kurşun selenit (PbSe) olarak tanımlanmış olup böyle bir kompleks oluşumunun vücutta serbest kurşun iyonlarının varlığını azalttığı bildirilmiştir [124,125]. Selenyumun kadmiyum, kurşun, gümüş gibi ağır metallerle kompleks oluşturduğu ve böylece bu metallerin hücrel bileşiklere daha az zarar vermesine neden olduğu belirtilmiştir [92]. Bu çalışmada selenyumun dokulardaki kurşun birikimini azalttığı saptanmıştır. Bunun sebebi selenyumun kurşuna kimyasal antagonistik etki göstermesi olabilir.

AChE inhibisyonu beyinde asetilkolinin birikimini artırarak kolinerjik reseptörlerin aşırı uyarılmasına neden olur. Sonuçta sinir ve kas kontrolünde genel

bir düşüş meydana gelir. Buna bağlı olarak, kirleticilerin etkisinde görülen nörotoksik etkiler, normal davranışdaki değişiklikler ile ilişkilendirilmiştir [126].

Bu çalışmada kurşunun uygulanan en yüksek derişiminde ve yalnızca ilk 24 saat sonunda AChE aktivitesinde inhibisyona sebep olduğu saptanmıştır. Birçok farklı yoldan canlı bünyesine alınan ağır metaller her organ ve dokuda farklı düzeyde birikirler. Canlı bünyesinde çeşitli metabolik yollara katıldıktan sonra vücut dışına atılabilen metallere fizyolojik öneme sahip olanlar depolanır. Depolanan metal toksik ise enzimlerin yapısını bozabilmektedir [127]. Önemli bir enzim inhibitörü olan kurşun, özellikle selenyum ve sülfür içeren enzimlerde denatürasyona ve aktivite kaybına neden olmaktadır [128,129]. *Danio rerio*'nun beyin dokusunda AChE aktivitesinin kurşun ve civa gibi metaller tarafından inhibe edildiği belirlenmiştir [94]. Kurşun etkisinde AChE aktivitesindeki inhibisyonun imidazol, sülfidril ve karboksil gruplar gibi proteinlerin işlevsel gruplarına metallerin bağlanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir [130]. İşlevsel gruplardaki bu tip değişimlerle katalitik aktivite kaybı gerçekleşir [131].

Se oksidatif stresin önlenmesinde önemli bir rol oynayan antioksidan özellikteki GPx enziminin yapısında bulunur. Se'nin biyolojik önemi bu enzimin bir kofaktörü olmasından kaynaklanmaktadır. Her alt ünitesinde selenosistein şeklinde bir adet Se atomu içeren GPx, hücre içinde hidrojen peroksitin (  $H_2O_2$  ) suya indirgenmesinde rol oynamaktadır [132]. As'nin yüksek ve düşük derişimlerinin bulunduğu ortama Se ilavesiyle *Channa punctatus*'da AChE inhibisyonunun da azalma meydana geldiği belirlenmiştir [93]. *In vivo* civa toksisitesine Se'nin thioeredoksin redüktaz aktivitesinin inhibisyonuna karşı koruyucu rol aldığı saptanmıştır [133].

Bu çalışmada kurşunun neden olduğu AChE enzim inhibisyonuna karşı selenyumun koruyucu etkisinin kurşun ile göstermiş olduğu kimyasal antagonizm nedeniyle olabileceği düşünülmektedir. Bilindiği üzere, bir toksikantın hedefinde etkili olabilmesi için öncelikle o hedefte yeteri miktarda birikmesi gerekir [134].

Bu çalışmada 15. günde en yüksek derişimdeki kurşun ve selenyum karışımının AChE aktivitesinde artışa neden olduğu saptanmıştır. Sodyum selenit gibi inorganik selenyum formları, tavuk sinir kas preparasyonunda, membranın dış kısmında, membran proteinlerinin sülfidril gruplarına bağlanarak kasta devamlı

kasılmaya neden olmakta ve bu etki ekstraselüler  $Ca^{2+}$  miktarı ile azalmaktadır [135]. Yüksek doz sodyum selenitin *Caenorhabditis elegans*'da presinaptik asetilkolin salınımında düzensizliğe neden olduğu ve nöronlarda hasara yol açtığı belirlenmiştir [136]. Pestisid imidakloprid etkisindeki sıçanlarda beyin dokusunda AChE aktivite artışının hücre içine  $Ca^{2+}$  alınımı ile indüklenen apoptotik olaylar nedeniyle meydana gelebileceği bildirilmiştir [137]. Asetilkolin miktarında azalma sağlayan AChE aktivitesindeki artışın asetilkolin reseptörlerinde işlev kaybı sonucu nörodejenerasyona işaret ettiği de belirtilmektedir.

Sonuç olarak;

1. Kurşun uygulanan derişiminde en çok beyin dokusunda, daha sonra sırasıyla karaciğer, solungaç ve kas dokularında birikim göstermiştir.
2. Selenyumun kurşuna kimyasal antagonistik etki yaparak dokularda kurşun birikimini azalttığı düşünülmektedir. Bu şekilde kurşunun kısa süreli etkisinde yüksek derişimde neden olduğu AChE inhibisyonuna karşı da selenyumun yararlı etki gösterdiği belirlenmiştir.
3. Kurşun etkisindeki balıklarda selenyumun uzun sürede ve yüksek derişimde neden olduğu AChE aktivite artışının nörodejenerasyona işaret ettiği düşünülmektedir.
4. Selenyumun kurşuna karşı koruyucu etkisi derişime ve süreye bağımlı olabilir. Bunun için daha yeni çalışmalara gereksinim vardır.

## KAYNAKLAR

- [1] Grobler, E., Du-Perez, H.H. and VanVuren, J.H.J., „Toxic Effects of inc and Iron on the Routine Oxygen Consumption of *Tilapia sparrmanii* (Cichilidae)”, *Comp. Biochem. Physiol.*, 94(1): 207-214, (1989).
- [2] Vural, N., “Toksikoloji”, Ankara Üniversitesi Eczacılık Yayınları, Ankara, 504-512, (2005).
- [3] Kahvecioğlu, Ö., Kartal, G., Güven, A., Timur, S., "Metallerin Çevresel Etkileri-I", TMMOB Metalurji Mühendisleri Odası Metalurji Dergisi, 136: 47-53, (2003).
- [4] Özmen H., “Su Kirliliğini Kimyasal Olarak Belirleme Yöntemleri ve Kirlilik Parametreleri”, Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü Su Kirliliği Hizmet İçi Eğitim Semineri Notları, Elazığ, 175-182, (1982).
- [5] Fonesca, M.G., Oliveria, M.M., Arakaki, L.N.H. “Removal of Cadmium, Zinc, Manganese and Chromium Cations From Aqueous Solution by a Clay Mineral”, *Journal of Hazardous Materials*, 137: 288-292, (2006).
- [6] Rainbow, P.S., “Biomonitoring of Heavy Metal Availability in the Marine Environment”, *Marine Pollution Bulletin*, Vol.31:183-192, (1995).
- [7] Denizli, A., “Ağır Metal Toksikolojisi”, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 237: 5-16, (2008).
- [8] Yıldız, K., Sipahioglu, S., Yılmaz M., “Çevre Bilimi”, Gündüz Eğitim ve Yayıncılık, Ankara, 26-28, 104-107, (2000).
- [9] Jezierska, B., Witeska, M., “The Metal Uptake And Accumulation In Fish Living In Poluted Waters”, *Soil and Water Pollution Monitoring, Protection and Remediation*, NATO Science Series, 69: 107-114, (2006).
- [10] Kong, I.C., Bitton, G., Koopman, B., Jung, K.H., “Heavy Metal Toxicity Testing in Environmental Samples”, *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 142: 119-147, (1995).

- [11] Gerlach, S.A., “Marine Pollution”, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York, (1981).
- [12] Mulvey, M., Diamond, S.A., “Genetic factors and tolerance acquisition in populations exposed to metal and metalloids”, Metal ecotoxicology, (Editor: Newman McIntosh), New York: CRC-Press, 301–322, (1991).
- [13] Landis G.W., Yu M.H. “ Heavy metals”, Environ. Toxicol., Lewis Pub., USA, 177s, (1999).
- [14] Hızel, S., Şanlı, C., “Çocuklarda beslenme ve kurşun etkileşimi”, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi, 49:333-338, (2006).
- [15] Katti, S.R., Sathyanesan, A.G. “ Lead Nitrate Induced Changes in the Brain Constituents of the Freshwater Fish *Clarias batrachus*”, Neuro Toxicol., 3:47-52, (1986).
- [16] Katti, S. R., Satyanesan, A.G. “Lead Nitrate Induced Changes in Lipid and Cholesterol Levels in the Freshwater Fish (*Clarias batrachus*)”, Toxicology Letters, 19:93-96, (1983).
- [17] Tulası, S. J. Reddy, P. U. ,Rao, J. V. R., “Accumulation of Lead and Effects on Total Lipids and Lipid Derivatives in the Freshwater Fish, *Anabas Testudines*”, Ecotoxicolgy and Environmental Safety, 23: 33-38, (1992).
- [18] Pain, D.J. “Haematological Parameters as Predictors of Blood Lead and Indicators of Lead Poisoning in the Black Duck (*Anas rubripes*)” Environ. Pollution, 60:67-81, (1989).
- [19] Abdulla, M., Chmielnicka, J. “New Aspects of the Distribution and Metabolism of Essential Trace Elements, After Exposure to Toxic Metals”, Biol. Trace Elem. Res., 23: 25-53, (1990).
- [20] Murgueytio, A.M., Evans, R.G., Sterling, D., Serrano, F., Roberts, D., “Behaviors and Blood Lead Levels of Children in a Lead-Mining Area and Comparison Community”, Environmental Health, 60(6): 14-20, (1998).

- [21] Sastry, K.V., Gupta, P.K. “Histopathological and Enzymological Studies on the Effects of Chronic Lead Nitrate Intoxication in the Digestive System of a Freshwater Teleost, *Channa punctatus*”, Environ. Res.17: 472-479, (1978).
- [22] Rubio, R., Tineo, P., Torreblanca, A., Ramo, J.D., Mayans, J.D. “Histological and Electron Microscopical Observations on the Effects of Lead on Gills and Midgut Gland of *Procambarus clarkii*”, Toxicol. Environ. Chem., 31-32: 347-352, (1991).
- [23] Dave, G., Xiu, R. “ Toxicity of Mercury, Copper, Nichel, Lead and Cobalt to Embryos and Larvae of Zebrafish, Brachy *Danio rerio*”, Arch. Environ. Contam. Toxicol., 21: 126-134, (1991).
- [24] Vural,N., “Toksikoloji”, Ankara Üniversitesi Eczacılık Yayınları, Ankara, 555s, (2005).
- [25] Tran, D., Moody, A.J., Fisher, A.S., Foulkes, M.E., Jha, A.N. “Protective Effects of Selenium on Mercury-Induced DNA Damage in Mussel Haemocytes”, Aquatic Toxicology, 84: 11-18, (2007).
- [26] Kehrig, H.A., Seixas, T.G., Palermo, E.A., Baeta, A.P., Castelobranco, C.W., Malm, O., Moreira, I. “ The Relationship Between Mercury and Selenium in Plankton and Fish From a Tropical Food”, Web. Environ. Sci. Pollut. Res. 16: 10-24, (2009).
- [27] Val, A. L., and Kapoor B. G., “Fish Adaptations”, Science Publishers inc, 208- 220, (1987).
- [28] Lawrence, A. J., Hemingway K. L., “Effects of Pollution on Fish”, UK. P, 14(2):144- 153, (2003) .
- [29] Hai, D.Q., Varga, S.H., Matkovics, B., “Organophosphorus effects on antioxidant system of carp (*Cyprinus carpio*) and catfish (*Ictalurus nebulosus*)”, Comparative Biochemistry and Physiology, 117C: 83-88, (1997).

- [30] Heath, A. G., “Water Pollution and Fish Physiology”, CRC pres., USA:96-102, (1987).
- [31] Brusle, J., Anadon G. G., “The structure and function of fish liver. In: Fish Morphology”, J.S.D. Munshi & H.M. Dutta, Science Publishers Inc. CRC yayınları, 77-83, (1996).
- [32] Isani, G., Andreani, G., Cocchioni, F., Fedeli, D., Carpena, E., Falcioni, G., “Cadmium Accumulation and Biochemical Responses in *Sparus aurata* Following Sublethal Cd Exposure”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 224-230, (2009).
- [33] Alves Costa, J.R.M., Mela, M., Assis, H.C.S., Pellethier, E., Randi, M.A.F., and Riberio, C.A.O.” Enzymatic Inhibition and Morphological Changes in *Hoplias malabaricus* from Dietary Exposure to Lead (II) or Methylmercury”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 67: 82-88, (2007).
- [34] Sarıeyüpoğlu, M., Say, H., “Elazığ Şehir Kanalizasyonunun Baraj Gölüne Döküldüğü Bölgeden Yakalanan *Barbus capito pectoralis*'te Ağır Metal Birikimlerinin Araştırılması”, Su Ürünleri Sempozyumu, 121-130, (1991).
- [35] Fabacher, D.L., Little, E.E. “Diversity of Fish, Early Observations and Descriptions, Fish in Experimentation”, (Editör: Ostrander, G.K.) , The handbook of experimental animals, The Laboratory Fish. Academic Press, London, 678s, (2000).
- [36] Saruhan, E., Toral, O. “ Bir Tropik Balık Türü Olan *Tilapia Nilotica* (Lin. 1758) Çukurova Bölgesindeki Geliştirme Sorunları Üzerine Bir Tartışma”, Tübitak 7. Bilim Kongresi ,İstanbul, 105s, (1980).
- [37] Shukla, G.S., Singhal, R.L., “The present status of biological effects of toxic metals in the environment: lead, cadmium, and manganese”, *Can J Physiol Pharmacol*, 62(8):1015-31, (1984).

- [38] Denizli, A., Yavuz, H., “Ağır Metal Toksikolojisi”, Standart Dergisi, 477: 76-82, (2001).
- [39] Göktepe, A., Ayan, Z., Artvinli, M., Şahin, A., Barış, Y., “İnsan Sağlığı ve Jeoloji”, Yeryuvarı ve İnsan, 1: 11-14, (1983).
- [40] Harrison, R.M., “Lead Pollution Causes and Control”, Laxen D.P.H., London ve New York, 17s, (1981).
- [41] Albert, L.A., Badillo F. “Environmental Lead in Mexico Springer- Verlag”, “Reviews of Environmental Contamination and Toxicology”, New York, 117s, (1991).
- [42] Van Oosten, J., “The skin and scales”, The Physiology of Fishes, Vol:1, Academic Press, New York, 207s., (1957).
- [43] Bressler, J.P., Goldstein, G.W., “Mechanisms of lead neurotoxicity”, 41(4):479-84, (1991).
- [44] Pages, N., Deloncle, R., “İnorganic Lead, Neurotransmitters, and Neuropeptides in Mineral and Metal Neurotoxicology, CRC Press: New York, 262-274, (1997).
- [45] Sanders, T., Liu, Y., Buchner, V., Tchounwou, P.B., “Neurotoxic Effects and Biomarkers of Lead Exposure: A Review”, Rev Environ Health., 24(1): 15–45, (2009).
- [46] Klasing KC., “Comparative avian nutrition”, New York: Oxford University Press, (1998).
- [47] Eisler, R., “Selenium”, Handbook of chemical risk assessment: health hazards to humans, plants, and animals, Boca Raton, FL: Lewis Publishers, CRC Press, 3:1649 –1705, (2000).
- [48] Heinz, G.H., Hoffman, D.J., LeCaptain, L.J., “Toxicity of seleno-Lmethionine, seleno-DL-methionine, high selenium wheat, and selenized yeast to mallard ducklings”, Arch Environ Contam Toxicol, 30:93–99, (1996).



- [49] Lemly, A.D., “Selenium assessment in aquatic ecosystems – a guide for hazard evaluation and water quality criteria.”, New York: Springer-Verlag, (2002).
- [50] Rotruck, J.T., Pope, A.L., Ganther, H.E., “Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase”, *Science* 179: 585–590, (1973).
- [51] Watanabe, T., Kiron, V., Satoh, S., “Trace minerals in fish nutrition”, *Aquaculture*, 151:185-207, (1997).
- [52] Maier, K.J., Knight, A.W., “Ecotoxicology of selenium in freshwater systems”, *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, 134,:31–48, (1994).
- [53] Stadtman, T.C., “Selenium biochemistry”, *Science*, 183: 915-922, (1974).
- [54] Sorensen, E.M.B., “Metal Poisoning in Fish”, CRC Press, Boca Raton, 374s., (1991).
- [55] Skorupa, J.P., “Selenium poisoning of fish and wildlife in nature: lessons from twelve real-world examples”, *Environmental Chemistry of Selenium* , (Editör: Marcel Dekker), New York, 315–354, (1998).
- [56] Flohe, L., Günzler, W.A., Shock, H.H., “Glutathione Peroxidase: A selenoenzyme”, *FEBS Lett*, 32:132-134, (1973).
- [57] Anundi, I., Högberg, J., Stood, A.H., “Glutathione depletion in isolated hepatocyte: Its relation to lipid peroxidation and cell damage” ,*Acta pharmacology and Toxicology*, 45:45, (1979).
- [58] Chow, C.K., Chen, C.J., “Dietary selenium and ge-related susceptibility of rat erythrocytes to oxidative damage”, *J.Nutr.*,110:2460, (1980).
- [59] Stadtman, T.C., “Selenium-dependent enzymes”, *Ann. Rev. Biochem.*, 49:63, (1980).
- [60] Poston, H.A., Combs, G.F., Leibovitz, L., “Vitamin E and Selenium interrelations in the diet of Atlantic Salmon (*Salmo salar*): gross histological and biochemical deficiency signs”, *J.Nutr.*, 106:892, (1976).

- [61] Hilton, J.W., Hodson, P.V., Slinger, S.J., “The requirement and toxicity of selenium in rainbow trout (*Salmo gairdneri*)”, *J.Nutr.*, 110:2527, (1980).
- [62] Wang, H.L., Zhang, J.S., Yu, H.Q., “Elemental selenium at nano size possesses lower toxicity without compromising the fundamental effect on selenoenzymes: comparison with selenomethionine in mice”, *Free Radical Biology & Medicine*, 42, 1524–1533, (2007).
- [63] Sang-Hwan, O.H., Howard, E., Ganther, William, G., Hoekstra, “Selenium as a component of glutathione peroxidase isolated from ovine erythrocytes”, *Biochemistry*, 13 (9): 1825–1829, (1974).
- [64] Sunde, R.A., “The biochemistry of selenoproteins”, *Journal of the American Oil Chemists’ Society*, 61(12): 1891-1900, (1984).
- [65] Sorensen, E.M.B., “The effects of selenium on freshwater fish”, *Reviews in Environmental Toxicology*, Elsevier Press, New York (1986).
- [66] Lemly, D.A., “Symptoms and implications of selenium toxicity in fish: the Belews Lake case example”, *Aquatic Toxicology*, 57: 39–49, (2002).
- [67] Lemly, A.D., “A teratogenic deformity index for evaluating impacts of selenium on fish populations”, *Ecotox. Environ. Safety*, 37: 259-266, (1997).
- [68] Geula, C., Mesulam, M.M., “Cholinergic systems and related neuropathological predilection patterns in Alzheimer Disease”, *Lippincott Williams and Wilkins*, New York, 269-292, (1999).
- [69] Chuiko GM. “Comparative study of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in brain and serum of several freshwater fish: Specific activities and in vitro inhibition by DDVP, an organophosphorus pesticide”, *Comp Biochem Physiol.*, 127C: 233-242, (2000).
- [70] Silver, A., “The biology of cholinesterases”, *North Holland Publishing Co. Ltd.*, Amsterdam, (1974).

- [71] Massoulie, J., Pezzementi, L., Bon, S., Krejci, E., Vallette, F., “Molecular and cellular biology of cholinesterases”, *Prog. Neurobiol.*, 41: 31-91, (1993).
- [72] Nachmansohn, D., Wilson, I.B., “The enzymatic hydrolysis and synthesis of ach”, *Advan. Enzymol.*, 12: 259-339, (1951).
- [73] Bergmann, F., Wilson, I.B., Nachmansohn, D., “The inhibitory effect of stilbamidine, curare and related compounds and its relationship to active groups of acetylcholine esterase. Action of stilbamidine upon nerve impulse conduction”, *Biochem. Biophys. Acta.*, 6: 217-224, (1950).
- [74] Cunningham, L.W., “Proposed mechanism of action of hydrolytic enzymes”, *Science*, 125:1145-1146, (1957).
- [75] Saxena, G., Dube S. N., Flora S. J. S. “Heavy Metals İnduced Central Cholinergic System Disorders and Their Possible Mechanisms”, *Recent Trends in the Acetylcholinesterase System* (Editör: M. Parveen ve S. Kumar), 23-42, (2005).
- [76] Yılmaz, H.Y., “Kolinergic etkili maddelerle zehirlenmeler”, [http://cat.cu.edu.tr/Egitim/KolinergicZehirlenmeler\\_Kitap.pdf](http://cat.cu.edu.tr/Egitim/KolinergicZehirlenmeler_Kitap.pdf)(2013).
- [77] Roex, E.W.M., Keijzers, R., van Gestel, C.A.M., “Acetylcholinesterase inhibition and increased food consumption rate in the zebrafish, *Danio rerio*, after chronic exposure to parathion”, *Aquat Toxicol.*, 64:451–460, (2003).
- [78] Beauvais, S.L., Jones, S.B., Brewer, S.K., Little, E.E., “Physiological measures of neurotoxicity of diazon and malathion to larval rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and their correlation with behavioural measures”, *Environ Toxicol Chem.*, 19:1875–1880, (2000).
- [79] Reichert, W. L., Federigh, D. A. ,Malins, D. C. “ Uptake and Metabolism of Lead and Cadmium in Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*)” *Comp. Biochem. Physiol.*, 63 C: 229-234, (1979).

- [80] Roger, J. T., Richards, J. G., Wood, C. M. “Ionoregulatory Disruption as the Toxic Mechanism for Lead in the Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*)”, *Aquatic Toxicology*, 64(2): 215-234, (2003).
- [81] Ashraf. A.El-Badawi, “Effect of lead toxicity on some physiological aspects of Nile tilapia fish; *Oreochromis niloticus*”, *Proc.2nd Inter Conf. Res. Div., NRC, Cairo, Egypt*, 249 – 277, (2005).
- [82] Orun, I., Talas, Z.S., Ozdemir, I., Alkan, A., Erdoğan, K. “Antioxidative Role of Selenium on Some Tissues of (Cd<sup>+2</sup>, Cr<sup>+3</sup>) –Induced Rainbow Trout”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71: 71-75, (2005).
- [83] Hamilton, S.J., Holley, K.M., Buhl, K.J., Bullard, F.A., Weston, L.K., McDonald, S.F., “The evaluation of contaminant impacts on razorback sucker held in flooded bottomland sites near Grand Junction, Colorado–1997”, *Final report, US Geological Survey, Yankton, SD*, 229 ,(2001).
- [84] Belzile, N., Chen, Y.W., Gunn, J.M., Tong, J., Alarie, Y., Delonchamp, T., Lang, C.Y., “The effect of selenium on mercury assimilation by freshwater organisms”, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 63: 1–10, (2006).
- [85] Reddy, G.R., Basha, M.R., Devi ,C.B., Suresh, A., Baker, J.L., Shafeek, A., Heinz, J., Chetty, C.S., “Lead induced effects on acetylcholinesterase activity in cerebellum and hippocampus of developing rat” *Int. J. Devl Neuroscience* 21: 347–352, (2003).
- [86] de Lima, D., Roque, G.M., de Almeida, E.A., “In vitro and in vivo inhibition of acetylcholinesterase and carboxylesterase by metals in zebrafish (*Danio rerio*)”, *Marine Environmental Research*, xxx:1-7, (2012).
- [87] Jebali, J., Banni, M., Guerbej, H., Almeida, E.A., Bannaoui, A., Boussetta, H., “Effects of malathion and cadmium on acetylcholinesterase activity and metallothionein levels in the fish *Seriola dumerilli*”, *Fish Physiol Biochem.*, 32(1):93-98, (2006).

- [88] Shaw, B.P., Panigrahi, A.K., “Brain AChE activity studies in some fish species collected from a mercury contaminated estuary”, *Water, Air, and Soil Pollution*, Volume 53, Issue 3-4: 327-334, (1990).
- [89] Romani, R., Antognelli, C., Baldracchini, F., De Santis, A., Isani, G., Giovannini, E., Rosi, G., “Increased acetylcholinesterase activities in specimens of *Sparus auratus* exposed to sublethal copper concentrations” *Chemico-Biological Interactions*, 145: 321-329(2003).
- [90] Liu, M., Xu, Y., Chen, Y., Li, J., Zhao, F., Zheng, G., Jing, J., Ke, T., Chen, C., Luo, W., “The effect of sodium selenite on lead induced cognitive dysfunction”, *NeuroToxicology*, Volume 36:82–88, (2013).
- [91] Chakraborty, I., Sharma, A., Talukder, G., “Antagonistic and synergistic effects of lead and selenium in *Rattus norvegicus*”, *Toxicology Letters* Volume 37, Issue 1: 21–26, (1987).
- [92] Nehru, B., Dua, R., Iyer, A., “Effect of selenium on lead-induced alterations in rat brain”, *Biological Trace Element Research*, 57(3): 251-258, (1997).
- [93] Roy, S., Chattoraj, A., Bhattacharya, S., “Arsenic-induced changes in optic tectal histoarchitecture and acetylcholinesterase–acetylcholine profile in *Channa punctatus*: Amelioration by selenium”, *Comparative Biochemistry and Physiology*, 144C :16–24, (2006).
- [94] Richetti, S.K., Rosemberg, D.B., Ventura-Lima, J., Monserrat, J.M., Bogo, M.R., Bonan, C.D., “Acetylcholinesterase activity and antioxidant capacity of zebrafish brain is altered by heavy metal exposure”, *NeuroToxicology*, 32:116–122, (2011).
- [95] Burgeot, T., Bocquene, G., Porte, C., Santella, M., Garcia, D.L., Galgani, F. “Bioindicators of pollutant exposure in the northwestern Mediterranean Sea”, *Marine Ecology Progress Series*, 131: 125-141, (1996).

- [96] Ateş, B., Orun, I., Talas, Z.S., Durmaz, G., Yılmaz, I. ,“Effects of sodium selenite on some biochemical and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) exposed to Pb<sup>+2</sup> and Cu<sup>+2</sup>”, Fish Physiol Biochem., 34(1):53-9, (2008).
- [97] Muscatello, J.R., Janz, D.M., “Selenium accumulation in aquatic biota downstream of a uranium mining and milling operation”, Sci Total Environ., 407(4):1318-25, (2009).
- [98] Oladimeji, A.A., Offem, B.O., “Toxicity of lead to *Clarias lazera*, *Oreochromis niloticus*, *Chironomus tentans* and *benacus sp.*”, Water, Air, and Soil Pollution, Volume 44, Issue 3-4:191-201, (1989).
- [99] Atli, G., Canli, M., “Responses of metallothionein and reduced glutathione in a freshwater fish *Oreochromis niloticus* following metal exposures”, Environmental Toxicology and Pharmacology, 25(1): 33-38, (2008).
- [100] Ranzani-Paiva, J.S.T., Lombardi, J.V., Gonçalves, A., “Acute Toxicity Of Sodium Selenite and Sodium Selenate To Tilapia, *Oreochromis niloticus*, Fingerlings”, A. Bol. Inst. Pesca, 37(2): 191 – 197, ( 2011).
- [101] Brown, B., Ahsenullah, M., “Effect of Heavy Metals on Mortality and Growth”, Mar. Poll. Bull., 2(12):182-187, (1971).
- [102] Kargın, F., Erdem, C., “Bakır-Çinko Etkileşiminde *Tilapia nilotica* (L.)'nın Karaciğer, Solungaç ve Kas Dokularındaki Metal Birikimi”, Turk. J. Zool., 16:343-348, (1992).
- [103] Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Featherstone, R.M., “A new and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity”, Biochemical Pharmacology, 7:88-95, (1961).
- [104] Lowry, O.H., Rosebroucgh, N.J., Farr, A. L., Randall., R., “Protein Measurement With Folin Phenol Reagent”, J. Biol. Chem., 193-265, (1951).

- [105] Hilmy, A.M., El-Domiatty, N.A., Daabees, A.Y. ve Abdel –Latife, H.A., “Toxicity in *Tilapia zilli* and *Clarias lazera* (Pisces) induced by Zinc seasonally”, *Comp. Biochem. Physiol.*, 86C:263-265, (1987).
- [106] Belinsky, D.L., Kurhein, H. V, Yeboah F., Penn, A.F., Chan, H.M., *Journal of Food Composition and Analysis*, 9,2,148-162, (1996).
- [107] Flos, R., Tort, L., Balasch, J., “Effects of Zinc Sulphate on Haematological Parameters in the *Dogfish Scyliorhinus canicula* and Influences of MS-222”, *Mar. Environ. Res.* 21: 289-298, (1987).
- [108] Kargin, F., Erdem, C., “ Accumulation of Copper in Liver, Spleen, Stomach, Intestine, Gill and Muscle Tissues of *Cyprinus carpio*”, *Doğa-Tr. J. of Zoology*, 15: 306-314, (1991).
- [109] Anderson, M. B., Preslan, J. E., Jolibos, L., Bollinger, J. E., George, W. J., “Bioaccumulation of Lead Nitrate in Red Swamp Crayfish (*Procambarus clarkii*)”, *Journal of Hazardous Materials*, 54: 15-29, (1997).
- [110] Tao, S., Liu, C., Dawson, R., Cao, J., Li, B., “Uptake of particulate lead via the gills of fish (*Carassius auratus*)”, *Arch Environ Contam Toxicol.*, 37(3):352-357, (1999).
- [111] Bervoets, L., Campenhout, K.V., Reynders; H., Knapen, D., Covaci, A., Blust, R., “Bioaccumulation of Micropollutants and Biomarker Responses in Caged Carp (*Cyprinus carpio*)”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 720-728, (2009).
- [112] Nevsat, K.E. “*Cyprinus carpio*'nun karaciğer, solungaç ve kas dokularındaki kurşun birikimi üzerine ortam derişimi ve sürenin etkileri”, *Y.Lisans Tezi, Çukurova Üni., Fen. Bil., Adana*, 15-20, (1995).
- [113] Berman, E., “Lead in “Toxic Metals and Their Analysis”, *Heyden and Son LTD., London*, 177-182, (1980).

- [114] Çoğun, H.Y., Şahin, M. ,“Nil Tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758)'da Kurşun Toksisitesinin Azaltılmasında Zeolitin Etkisi”, Kafkas Univ Vet Fak Derg 18 (1): 135-140, (2012).
- [115] Varanasi, L., Markey, D., “Uptake and Release of Lead and Cadmium in Skin and Mukus of Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*)”, Comp. Biochem. Physiol. 60C:187-191, (1978).
- [116] Demichele, S.J., “Review, Nutrition of Lead”, Comp. Biochem. Physiol., 78A(3): 401, (1984).
- [117] Karataş, S., Kalay, M., “*Tilapia zilli*'nin Solungaç, Karaciğer, Böbrek ve Beyin Dokularında Kurşun Birikimi”, Turk J. Vet. Anim. Sci, 26: 471-477, (2002).
- [118] Blevins, R. D., Pancorbo, O. C., “Metal Concentrations in Muscle of Fish from Aquatic Systems in East Tennessee”, U. S. A. Water, Air and Soil Pollution, 29: 361-371, (1986).
- [119] Kargin, F., “Metal Concentrations in Tissues of the Freshwater fish *Capoeta barroisi* From the Seyhan River (Turkey)”, Water, Air and Soil Pollution, 60 (5): 822-828, (1998).
- [120] Pagenkopf, G.K., “Gill Surface Interaction Model for Trace-Metal Toxicity to Fishes, Role of Complexation, pH and Water Hardness”, Environ. Sci. Technol. 17, 342-347, (1983).
- [121] Ouédraogo, O., Amyot, M. “Mercury, arsenic and selenium concentrations in water and fish from sub-Saharan semi-arid freshwater reservoirs (Burkina Faso)”, Science of the Total Environment 444:243–254, (2013).
- [122] Allen, P., “Soft-tissue accumulation of lead in the blue tilapia, *Oreochromis aureus* (Steindachner), and the modifying effects of cadmium and mercury”, Biol Trace Elem Res., 50(3):193-208, (1995).



- [123] Cicik, B., “Bakır-Çinko Etkileşiminin Sazan (*Cyprinus carpio* L.)'nın Karaciğer, Solungaç ve Kas Dokularındaki Metal Birikimi Üzerine Etkileri”, Ekoloji Çevre Dergisi 12(48): 32-36, (2003).
- [124] Ganther, H.E., Goudie, C., Sunde, M.L., Kopecky, M.J., Wagner, P., “Selenium: relation to decreased toxicity of methylmercury added to diets containing tuna”, Science, 175(26):1122-1124, (1972).
- [125] Frost, D.U., “Applied Neurochemistry”, D.D. Nemphill, ed., University of Missouri Press, Columbia, 4:259, (1993).
- [126] Pereira, V.M., Bortolotto, J.W., Kist, L.W., Azevedo, M.B., Fritsch, R.S., Oliveira, R.L., Pereira, T.C., Bonan, C.D., Vianna, M.R., Bogo, M.R., “Endosulfan exposure inhibits brain AChE activity and impairs swimming performance in adult zebrafish (*Danio rerio*)” Neurotoxicology.33(3):469-75, (2012).
- [127] Yazkan, M., Özdemir, F., Gölükçü, M., “Cu, Zn, Pb and Cd contents in some molluscs and crustacean in the Gulf of Antalya”, Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 28: 95-100, (2004).
- [128] WHO., “Major Poisoning episodes from environmental chemicals” Geneva: 3-15, (1992).
- [129] Göker, Ş., “İstanbul çocuklarında kan kurşun taraması” İstanbul: İÜ Cerrahpaşa Tıp Fak Uzmanlık tezi, (1996).
- [130] Najimi, S., Bouhaimi, A., Daubèze, M., Zekhnini, A., Pellerin, J., Narbonne, J.F., “Use of acetylcholinesterase in *Perna perna* and *Mytilus galloprovincialis* as a biomarker of pollution in Agadir Marine Bay (South of Morocco)”, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 58 (6): 901-908, (1997).
- [131] Sant’Anna, M.C., Soares, V.de M., Seibt, K.J., Ghisleni, G., Rico, E.P., Rosemberg, D.B., “Iron exposure modifies acetylcholinesterase activity in

- zebrafish (*Danio rerio*) tissues: distinct susceptibility of tissues to iron overload”, *Fish Physiology and Biochemistry* 37(3): 573-581, (2011).
- [132] Büyükakyüz N., Altuğ T., Yaltırık M., “Kanser proflaksisinde antioksidan maddelerden E vitamini ve selenyumun önemi”, *Dişhekimliğinde Klinik Derg.* 12: 136-139, (2000).
- [133] Branco, V., Canário, J. , Lu, J., Holmgren, A., Carvalho, C., ,“Mercury and selenium interaction *in vivo*: Effects on thioredoxin reductase and glutathione peroxidase”, *Free Radical Biology & Medicine*, 52: 781–793, (2012).
- [134] Casarett, L.J., Klaassen, K.D., Amdur, M.O., Doull, J., “Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons”, 7<sup>th</sup> Ed., (2007).
- [135] Lin-Shiau, S.Y., Liu, S.H., Fu, W.M., “Neuromuscular actions of sodium selenite on chick biventer cervicis nerve muscle preparation”, *Neuropharmacology* 29 (5):493–501, (1990).
- [136] Annette O. Estevez, Catherine L. Mueller, Kathleen L. Morgan, Nathaniel J. Szewczyk, Luke Teece, Antonio Miranda-Vizueté, Miguel Estevez, “Selenium induces cholinergic motor neuron degeneration in *Caenorhabditis elegans*”, *NeuroToxicology*, 33(5): 1021-1032, (2012).
- [137] Abou-Donia, M.B., Goldstein, L.B., Bullman, S., Tu, T., Khan, W.A., Dechkovskaia, A.M., Abdel-Rahman, A.A., “Imidacloprid induces neurobehavioral deficits and increases expression of glial fibrillary acidic protein in the motor cortex and hippocampus in offspring rats following *in utero* exposure”, *Journal of Toxicology and Environmental Health*; 71A: 119-130,(2008).

## ÖZGEÇMİŞ VE ESERLER LİSTESİ

**Adı Soyadı:** Gülsemin ŞEN

**Doğum Tarihi:** 12/06/1987

**Öğrenim Durumu:** Lisans

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lise		Mustafa Kemal Lisesi	2001-2004
Lisans	Su Ürünleri Mühendisliği	Mersin Üniversitesi	2005-2010
Yüksek Lisans	Su Ürünleri A.B.D.	Mersin Üniversitesi	2010-...

**(Varsa) Görevler:**

Görev Unvanı	Görev Yeri	Yıl
Arş. Gör.	Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü	2011-...