

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOKTORA TEZİ

TİLAPİA'DA (*Oreochromis mossambicus*) KURŞUN
TOKSİSİTESİ: OKSİDATİF STRES VE BAZI
FİZYOLOJİK ETKİLER

Hasan KAYA

Su Ürünleri Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 21.02.2012

Tez Danışmanı:

Doç. Dr. Mehmet AKBULUT

ÇANAKKALE

DOKTORA TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

HASAN KAYA tarafından **DOÇ. DR. MEHMET AKBULUT** yönetiminde hazırlanan “**TİLAPİA’DA (OREOCHROMIS MOSSAMBICUS) KURŞUN TOKSİSİTESİ: OKSİDATİF STRES VE BAZI FİZYOLOJİK ETKİLER**” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Mehmet AKBULUT

Yönetici

Prof. Dr. Olcay HİSAR

Jüri Üyesi

Prof. Dr. Özdemir EGEMEN

Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Ekrem Şanver ÇELİK

Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR

Jüri Üyesi

Sıra No:

Tez Savunma Tarihi: 21.02.2012

Prof. Dr. İsmet KAYA

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

Hazırlanan bu Doktora tezi Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından 2010 / 26 no' lu proje ile desteklenmiştir.

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim

Hasan KAYA

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans ve doktora eğitimim süresince fikir ve görüşleriyle bana hep destek olup yol gösteren, kendisiyle çalışmaktan her zaman onur duyduğum danışmanım Sayın Doç. Dr. Mehmet AKBULUT' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmalarım kapsamında her zaman bana yol gösteren değerli hocalarım Yrd. Doç. Dr. Ekrem Şanver ÇELİK ve Prof. Dr. Olcay HİSAR'a, her zaman desteğini gördüğüm saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Ahmet Adem TEKİNAY ve Prof. Dr. Mustafa ALPARSLAN'a teşekkürü bir borç bilirim. Deneysel çalışmalarımda bana laboratuvarımı açan ve desteklerini esirgemeyen ÇOMU Biyoloji Bölümü öğretim üyelerinden Prof. Dr. Bülent GÜNDÜZ ve Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR'e ve istatistiksel değerlendirme aşamasında katkılarından dolayı Prof. Dr. Mehmet MENDEŞ'e teşekkürlerimi sunarım.

Toksikoloji alt yapısını almamda ve biyomarkır analizlerini öğrenmemde değerli katkılarını gördüğüm Prof. Dr. Richard D. HANDY' e, Plymouth Üniversitesi (İngiltere), Ekotoksikoloji ve Stres Biyolojisi bölümü öğretim elemanlarına, Dr. Benjamin SHAW' a, değerli dostum Andrew ATFIELD' a, doktora öğrencisi Aliaa Al JUBOORY 'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam kapsamında laboratuvar çalışmalarındaki katkıları, fikirleri ve değerli dostluklarıyla hep yanımda olan çalışma arkadaşlarım Arş. Gör. Sevdan YILMAZ ve Kahraman SELVİ' ye, oda arkadaşım Uzman Dr. Deniz Anıl ODABAŞI ve Arş. Gör. Serpil Sağır ODABAŞI'na teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam süresince her anlamda desteklerini gördüğüm değerli arkadaşlarım Fatih AYDIN ve Müge DUYSAK' a teşekkürlerimi sunarım. Çalışmamın laboratuvar kısmında katkı sağlayan Dr. Bayram KIZILKAYA ve Osman Nezih KENANOĞLU' na, laboratuvarlarımı kullanmamda bana yardımcı olan değerli biyoloji bölümü yüksek lisans öğrencilerine, çalışmalarına katkı veren sevgili öğrencilerimiz, Fatma AKÇAY, Beste AKGÜL, Ethem PANDIR ve Ömer KOCAKAYA' ya teşekkürlerimi sunarım.

Oğulları olmakla her zaman gurur duyduğum rahmetli annem Naşide KAYA ve rahmetli babam Hüseyin KAYA'ya, her zaman yanımda olan sevgili kardeşlerime, hayat arkadaşım, sevgili eşim Ayçin KAYA'ya ve biricik kızım Naşide Naz KAYA'ya sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Hasan KAYA

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

Pb	: Kurşun
Cd	: Kadmiyum
Hg	: Civa
Cr	: Krom
As	: Arsenik
ROS	: Serbest oksijen radikalleri
PUFA	: Poliansantüre yağ asitleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
CAT	: Katalaz
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
GSSG	: Okside glutasyon
TBARS	: Tiyoarbutürik asitle tepkimeye giren maddeler
MDA	: Malondialdehit
GSH	: Glutasyon
GST	: Glutasyon -S- transferaz
GR	: Glutasyon redüktaz
MT	: Metallotionin
LDH	: Laktat dehidrogenaz
G6PD	: Glukoz 6 fosfat dehidrogenaz
AChE	: Asetilkolinesteraz
AST	: Aspartat aminotransferaz
ALT	: Alanin aminotransferaz
Hct	: Hematokrit
RBC	: Kırmızı Kan Hücre Sayısı
Fe	: Demir
MCV	: Ortalama Eritrosit Hacmi
MCH	: Eritrosit Başına Düşen Ortalama Hemoglobin
Hb	: Hemoglobin
MCHC	: Eritrosit Başına Düşen Ortalama Hemoglobin Konsantrasyonu
GLİ	: Glikoz
ALB	: Albumin

BLİ	: Bilurubin
TP	: Toplam protein
KRE	: Kreatinin
ÜA	: Ürik asit
LİP	: Lipaz
TG	: Trigliserit
KOL	: Kolesterol
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
ALP	: Alkalen fosfataz
CK	: Kreatin kinaz
Na⁺K⁺/ATPaz	: Sodyum Potasyum Adenozin Tri Fosfataz

ÖZET

TİLAPİA'DA (*Oreochromis mossambicus*) KURŞUN TOKSİSİTESİ: OKSİDATİF STRES VE BAZI FİZYOLOJİK ETKİLER

Hasan KAYA

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Su Ürünleri Temel Bilimler Anabilim Dalı Doktora Tezi

Danışman: Doç. Dr. Mehmet AKBULUT

21.02.2012, 184.

Bu tez çalışmasında, kurşun toksisitesinin tilapia (*Oreochromis mossambicus*) balığı üzerinde oluşturduğu oksidatif stres ve bazı fizyolojik etkiler incelenmiştir. Balıklar 0; 0,5; 2,5 ve 5 mg L⁻¹ kurşun konsantrasyonlarına 14 gün boyunca maruz bırakılarak dokuda (solungaç, karaciğer, bağırsak, kas, beyin, böbrek) biyomarkır analizleri (Na⁺/K⁺-ATPaz, Glutatyon ve TBARS) ve ağır metal birikimleri ile kanda hematolojik, biyokimyasal ve immunolojik parametreler belirlenmiştir.

Deney süresince 5 mg L⁻¹ kurşun konsantrasyonlarına maruz kalan gruplarda deneme sonuna doğru iki adet balık ölümü gözlenmiştir. Denemede kurşun ağır metalinin dokularda birikimi, ortamdaki metal derişimi ve maruz kalma süresi ile doğru orantılı olarak artış göstermiştir.

In vivo etkide kurşun konsantrasyonlarına maruz bırakılan tilapia balığında Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesi solungaç, bağırsak ve beyin dokusunda inhibisyona uğramış, böbrek ve kas dokusunda ise derişim ve süreye bağlı olarak azalmanın yanında artışlarda görülmüştür (p<0,05). Bu çalışmada glutatyon, zamana, etkide kalma süresine ve doku türüne bağlı olarak değişim gösterirken, TBARS düzeyinin 5 mg L⁻¹ kurşun konsantrasyonlarına maruz bırakılan tilapia dokularında (kas hariç) arttığı görülmüştür (p<0,05).

14 gün boyunca kurşun konsantrasyonlarına maruz bırakılan *Oreochromis mossambicus*'un kurşun konsantrasyonuna ve zamana bağlı olarak kan parametrelerinde değişimler görülmüştür. Hematolojik parametrelerden hemoglobin, hematokrit, eritrosit ve nötrofil sayısında azalma (p<0,05); MCH, MCHC ve monosit sayısında artma (p<0,05) saptanmıştır. Biyokimyasal kan parametrelerinden, lipaz, ALP, LDH, AST, toplam protein, glikoz, bilirubin, üre, ürik asit, trigliserid, kreatinin, klorür ve magnezyumda artma

($p < 0,05$); LDL ve kalsiyumda azalma; ALT, CK, kolesterol, albumin, demir ve fosforda ise dalgalanmalar gözlenmiştir ($p < 0,05$). İmmunolojik parametrelerden fagositik aktivite, fagositik indeks, NBT, lizozim aktivitesi ve myeloperoksidaz da ise azalma görülmüştür ($p < 0,05$).

Çalışmada elde edilen sonuçlara göre, kurşun ağır metalinin *O. mossambicus*' ta oksidatif stres ve doku hasarlarına sebep olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kurşun, *Oreochromis mossambicus*, Na^+/K^+ -ATPaz, Glutatyon, TBARS, Kan Parametreleri, Dokuda Birikim

ABSTRACT

TOXICITY OF LEAD ON TILAPIA (*Oreochromis mossambicus*): OXIDATIVE STRESS AND SOME PHYSIOLOGICAL EFFECTS

Hasan KAYA

Çanakkale Onsekiz Mart University
Graduate School of Natural and Applied Sciences

Chair for Faculty of Fisheries Thesis of PhD

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Mehmet AKBULUT

21.02.2012, 184.

In this thesis study, the oxidative stress and some physiological effects of lead on tilapia (*Oreochromis mossambicus*) have been investigated. Fish were exposed to different lead concentration of 0; 0,5; 2,5 and 5 mg L⁻¹ during 14 days. Biomarker (Na⁺/K⁺-ATPase, Glutathione, TBARS) and metal accumulation analysis in some tissues (gill, liver, intestine, muscle, brain, kidney) and blood parameters (haematological, biochemical and immunological parameters) have been studied.

During the experiments, it was observed that 2 fish dead in the groups of exposing to lead concentration of 5 mg L⁻¹ towards the end of the experiment, lead accumulation in tissues in the experiment increased in direct proportional duration of exposure and ambient metal concentrations.

In vivo effects, Na⁺/K⁺-ATPase enzyme activity in some tissues (gill, intestine and brain) in the tilapia exposed to lead concentrations were inhibited while it fluctuated in terms of concentration and duration in some tissues (kidney and muscle).

In this study, GSH level has shifted depending on time, exposure duration and tissue types while TBARS level increased in tilapia tissues (except mussel) exposing to lead concentrations of 5 mg L⁻¹ (p<0.05).

During 14 days, changes of blood parameters in *O. mossambicus* exposed to lead concentration were observed depending on exposure time and concentration. Haematological parameters such as haemoglobin, hematocrit, erythrocyte, neutrophil number decreased (p<0.05) while MCH, MCHC and monosit number increased (p<0.05). Biochemical blood parameters such as lipase, ALP, LDH, AST, total protein, glucose, bilirubin, urea, uric acid, triglyceride, creatinin, chloride and magnesium increased (p<0.05). LDL and calcium levels decreased (p<0.05); ALT, CK, cholesterol, albumin,

iron and phosphore fluctuated ($p < 0.05$). Immunological activities such as phagositic activity, phagositic index, NBT, lysozyme activity and myeloperoxidase activity decreased ($p < 0.05$).

Conclusion, it was determined that lead heavy metal caused to oxidative stress and tissue damages in *O. mossambicus*.

Keywords: Lead, *Oreochromis mossambicus*, Na^+/K^+ -ATPase, Glutathione, TBARS, Blood parameters, Tissue acculumulation

İÇERİK	Sayfa
TEZ SINAVI SONUÇ FORMU.....	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÖZET	vii
ABSTRACT.....	ix
BÖLÜM 1-GİRİŞ.....	1
1.1. Kurşun Metali ile İlgili Genel bilgiler	2
1.1.1. Kurşunun Kimyasal Özellikleri.....	2
1.1.2. Kurşun Kaynakları, Kullanımı ve Tarihçesi.....	3
1.1.3. Kurşun Toksisitesi ve Belirtileri	6
1.1.4. Kurşunun Sucul Ekosistem Üzerine Etkileri	10
1.2. Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Mekanizmaları.....	18
1.2.1. Serbest Radikal Türleri (ROS).....	19
1.2.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Etkileri	20
1.2.3. Serbest Radikallerin Lipid Peroksidasyona Etkileri	22
1.2.4. Antioksidan Savunma Sistemleri	24
1.2.4.1. Enzimatik Antioksidanlar	24
1.2.4.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	25
1.3. Na⁺/K⁺-ATPaz Enzimi ve Önemi.....	29
BÖLÜM 2 – ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	32
BÖLÜM 3 - MATERYAL VE YÖNTEM	39
3.1. Deneme Dizayını.....	39
3.2. Deneme Balığı.....	40
3.3. Besleme Yemi	41
3.4. Pb(NO₃)₂ Çözeltisinin Hazırlanması ve Akvaryumlara Uygulanması.....	42
3.5. Kan Örneklerinin Alınması ve İncelenmesinde Kullanılan Yöntemler.....	42
3.5.1. Hematolojik Analizler	43
3.5.1.1. Eritrosit Sayımı	43
3.5.1.2. Lökosit Sayımı.....	43
3.5.1.3. Hemoglobin Miktarının Tayini.....	43
3.5.1.4. Hematokrit Seviyesinin Tespiti.....	43

3.5.1.5. Eritrosit İndeksleri	44
3.5.1.5.1. Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV).....	44
3.5.1.5.2. Eritrosit Başına Düşen Ortalama Hemoglobin (MCH).....	44
3.5.1.5.3. Eritrosit Başına Düşen Ortalama Hemoglobin Konsantrasyonu (MCHC)	44
3.5.1.5.4. Periferik Yayma (Smear)	44
3.5.2. Biyokimyasal Analizler.....	44
3.5.3. İmmunolojik Analizler	45
3.5.3.1. Fagositik Aktivite	45
3.5.3.2. Nitroblue Tetrazolium (NBT) Analizleri	45
3.5.3.3. Lizozim Aktivitesi	45
3.5.3.4. Myeloperoksidaz Aktivitesi.....	45
3.6. Doku Homojenatlarının Biyomarkır Analizi İçin Hazırlanması	46
3.7. Biyomarkır Analizleri.....	46
3.7.1. Na ⁺ /K ⁺ -ATPaz Enzim Aktivitesi.....	46
3.7.1.1. Dokularda Toplam Protein Analizi.....	48
3.7.1.2. Na ⁺ /K ⁺ -ATPaz Enzim Aktivitesinin Hesaplanması	50
3.7.2. Glutasyon Analizi (GSH).....	50
3.7.2.1. Glutasyon Seviyesinin Hesaplanması	53
3.7.3. Tiyobarbütirik Asitle Tepkimeye Giren Maddeler (TBARS)	54
3.7.3.1. TBARS Düzeyinin Hesaplanması.....	56
3.8. Metal Analizi	57
3.9. İstatistiksel Değerlendirme	57
BÖLÜM 4 - ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	58
4.1. Bulgular	58
4.1.1. Deneme Gözlemleri ve Bazı Otopsi Bulguları.....	58
4.1.2. Biyomarkır Bulguları	60
4.1.2.1. Na ⁺ /K ⁺ -ATPaz Enzim Aktivitesi Bulguları	60
4.1.2.2. Glutasyon (GSH) Bulguları.....	66
4.1.2.3. TBARS Bulguları.....	72
4.1.3. Tilapia Dokularında Kurşun Ağır Metali Birikimi.....	78
4.1.4. Kan Parametre Bulguları.....	84
4.1.4.1. Hematolojik Bulgular	84
4.1.4.1.1. Eritrosit Morfolojisinde Meydana Gelen Değişimler	95

4.1.4.2. Biyokimyasal Parametreler	100
4.1.4.2.1. Serum Enzim Bulguları.....	100
4.1.4.2.2. Glikoz, Serum Proteinleri ve Bilurubin Bulguları.....	107
4.1.4.2.3. Serum Yağ Bulguları.....	112
4.1.4.2.4. Serum Üre, Ürik Asit ve Kreatinin Bulguları.....	116
4.1.4.2.5. Serum Elektrolit Bulguları	120
4.1.4.3. İmmunolojik Parametreler	125
4.1.4.3.1. Fagositik Aktivite Bulgular.....	125
4.1.4.3.2. Fagositik İndeks Bulguları.....	126
4.1.4.3.3. NBT Bulguları	127
4.1.4.3.4. Lizozim Aktivitesi Bulguları.....	128
4.1.4.3.5. Miyeloperoksidaz Aktivitesi Bulguları	129
4.2. Tartışma.....	131
4.2.1. Na ⁺ /K ⁺ -ATPaz Enzim Aktivitesi.....	131
4.2.2. Glutatyon (GSH)	134
4.2.3. TBARS	137
4.2.4. Dokularda Kurşun Birikimi	139
4.2.5. Kan Parametreleri	141
4.2.5.1. Hematolojik Parametreler	141
4.2.5.2. Biyokimyasal Parametreleri	143
4.2.5.2.1. Serum Enzimleri	143
4.2.5.2.2. Glikoz, Serum Proteinleri ve Bilurubin.....	144
4.2.5.2.3. Serum Yağları	145
4.2.5.2.4. Üre, Ürik Asit ve Kreatinin.....	146
4.2.5.2.5. Serum Elektrolitleri.....	147
4.2.5.3. İmmunolojik Analizler	149
BÖLÜM 5 - SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	151
5.1. Sonuçlar	151
5.2. Öneriler.....	152
KAYNAKLAR	154
Ekler	I
Çizelgeler	IV
Şekiller	V
Özgeçmiş	IX

BÖLÜM 1**GİRİŞ**

Günümüzde doğal dengeyi, insan ve hayvan hayatını tehdit eden en önemli tehlikelerin başında çevre sorunları gelmektedir. Ekosistem-insan dengesinin bozulmasına yol açan bu sorunların başlıca nedenleri; hızla gelişen nüfus artışı, sanayileşme ve çevre faktörünün göz ardı edilmesidir. Başlıca metaller ve pestisitlerden oluşan toksik maddeler; doğal veya antropojenik yollarla sucul ekosisteme taşınabilmeleri, çevre koşullarına dayanıklı olmaları ve kolaylıkla besin zincirine girerek biyomagnifikasyon göstermeleri sebebiyle kimyasal kirleticiler arasında ayrı bir önem taşırlar (Klassen ve ark., 1986). Yeryüzünde belirlenen en toksik 20 maddeden beşini (Cd, Pb, Hg, Cr ve As) ağır metallerin oluşturması da bunun önemli bir göstergesidir (ATSDR, 2006; Fırat, 2007).

“Ağır metal” nispeten yüksek yoğunluğa sahip, düşük konsantrasyonlarda bile toksik olan metal anlamındadır. Gerçekte ise “ağır metal” tanımı; fiziksel özellik açısından yoğunluğu 5 g/cm^3 ’ten daha yüksek olan metaller için kullanılır. Bu grup kurşun (Pb) dahil 60’tan fazla metal içerir (Kahvecioğlu ve ark., 2006).

Kurşun; canlı fizyolojisi için gerekli olmayan fakat özgün fiziksel ve kimyasal özellikleri nedeniyle insanlık tarihi boyunca kullanılmış bir ağır metaldir (Eisler, 1988). Günümüzde kurşunun en fazla kullanıldığı yer %71 ile pil sanayisidir (Skerfving ve Bergdahl, 2007). Kurşun kaynaklı toksisitenin farkına varıldıkça boya üretimi ve kurşunlu benzin gibi kullanımlarına yasaklama veya düzenleme getirilmiştir. Kullanımı azaltılmasına rağmen kurşun, antropojenik ve doğal kaynaklar yoluyla sucul ekosistemlere girmeye devam etmekte ve öncelikli kirletici olma durumunu korumaktadır (USEPA, 2006). Antropojenik aktiviteler sonucu tatlı su ve deniz ekosistemlerinde oluşan bu kirlenme, sucul canlılar ve balıklardaki kurşun toksisitesinin ana nedenidir (Rogers ve Wood, 2004).

Metal iyonlarının iyi bir oksidatif stres indükleyicisi olduğu bilinmektedir (Lushchak, 2011). Balıkların metallere maruz kalması oksidatif strese neden olan serbest oksijen radikallerini (ROS) artırır. Artan ROS Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi inhibisyonuyla birlikte osmoregülasyonda işlev bozukluklarına ve doku hasarlarına yol açabilir (Atlı ve Canlı, 2007). Gelişmekte olan kanıtlar kurşun toksisitesi sonucu oluşan ROS’nin DNA hasarı yaptığını ve antioksidan savunma enzimlerinin tükenmesine yol açtığını bildirmektedir (El-Ashmawy ve ark., 2006; Monteiro ve ark., 2011). Enzimatik ve

enzimatik olmayan antioksidanlar metaller tarafından meydana getirilen oksidatif strese karşı biyolojik savunmada önemli rol oynarlar. Oksidatif stres biyomarkırları ağır metallerin balıklar üzerine etkilerini ortaya koymak için kullanılan önemli biyoindikatörlerdir (Fırat, 2007).

Balık sağlığı ve fizyolojik durumunun izlenmesinde ve incelenmesinde kullanılan bir diğer önemli parametrede kandır. Metallerin sublethal etkisinde balığın kanında hematolojik ve biyokimyasal parametrelerin ölçülmesi, balığın hayatta kalma, büyüme ve üreme gibi süreçleri hakkında önemli bilgiler sağlar (Hinton, 1993).

1.1. Kurşun Metali ile İlgili Genel bilgiler

Kurşun, canlı organizmalar için gerekli bir element değildir aksine metabolitik aktiviteleri olumsuz etkileyen bir ağır metaldir. Dünyada yılda 4 milyon tondan fazla kurşun; pil, benzin ve gübre katkı maddesi, pigmentler ve alaşımlar için üretilmektedir. Antropojenik faaliyetler için yoğun bir şekilde üretilen kurşun (özellikle son 40 yıldır), çevrede kurşun kalıntılarının artmasına ve kurşunun biyojeokimyasal döngüsünün bozulmasına yol açmıştır. Kurşunun tüm kimyasal formları canlılar için toksik olup, değişik yollarla vücuda alınabilirler (Eisler, 1981).

1.1.1. Kurşunun Kimyasal Özellikleri

Periyodik cetvelin 4A grubunda bulunan kurşun mavimsi-gri renkte yumuşak bir metaldir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Kurşun ağır metalinin kimyasal özellikleri (Nriagu, 1978a)

Sembol	Pb
Atom ağırlığı	207.2
Atom numarası	82
Erime noktası	327,5 °C
Proton ve elektron sayısı	82
Nötron sayısı	125
Sınıflandırma	Ağır metal
Yoğunluk (25°C'de)	11,4 g/cm ³

Kurşun karmaşık bir kimyaya sahiptir. Kurşun nitrat, kurşun asetat gibi anorganik tuzlarının bir kısmı suda çözünür. Kurşun sülfat gibi bir kısım tuzları ise suda çözünmez. Kurşunun sudaki çözünürlüğü çeşitli ortam ve bileşenlerine göre değişiklik göstermektedir. Örneğin suda kurşunun yüksek çözünürlük gösterdiği durumlar; düşük pH, askıda katı madde ve element (Fe, Zn, Mg) içeriğidir (Harrison ve Laxen 1981; Scoullos 1986).

Kurşun bileşiklerinin sudaki çözünürlüğünü etkileyen en önemli faktör pH' dır. Kurşun, düşük pH'da (asidik sularda) daha yüksek çözünürlük göstermektedir. Örneğin; pH'ı 5,5 olan bir suda 10 g Pb L⁻¹ kurşun çözünürken, pH'ı 9 olan bir suda 0,001 g L⁻¹ kurşunun çözüldüğü EPA (1980) tarafından bildirilmiştir.

Sulara giren kurşunun sediment yataklarında karbonat ve hidroksit formlarında bulunduğu bilinmektedir (May ve McKinney, 1981). Sedimentte birikim gösteren kurşun ani bir pH düşüşü ya da iyon kompozisyonunda meydana gelebilecek bir değişikliklerle serbest kalıp yer değiştirebilmektedir (Demayo ve ark., 1982) .

1.1.2. Kurşun Kaynakları, Kullanımı ve Tarihçesi

Kurşun; yer kabuğunda bulunma sıklığı 16 mg kg⁻¹ ile nispeten nadir olarak bulunabilen doğal metaller arasında yer alır (EPA, 1980). Kurşunun en çok rastlanılan cevherleri, sülfür minerali galen (PbS) ile onun oksitlenmiş ürünleri olan serüsit (PbCO₃) ve anglezittir (PbSO₄). Bu mineraller arasında en önemli olanı galendir (May ve McKinney, 1981). Kurşun metalinin inorganik ve organik formları Çizelge 2' de verilmiştir.

Çizelge 2. Kurşunun inorganik ve organik formları (Dündar ve Arslan, 2005)

İnorganik ve Organik Kurşun Formları	
Bileşikler	Kurşun Monoksit (PbO) Kurşun Tetraoksit (Pb ₃ O ₄) Kurşun Karbonat (PbCO ₃) Kurşun Silikat (PbSiO ₃) Kurşun Sülfür (PbS) Kurşun sülfat (PbSO ₄) Kurşun Kromat (PbCrO ₄)
Kurşun Alkileri	Kurşun Tetra Etil Kurşun Tetra Metil Kurşun Stearat
Alaşım	Kurşun antimon alaşımları

Kurşun ağır metali genellikle madencilik, eritme ve rafineri faaliyetlerinin yapıldığı yerlerde, yoğun araç trafiği alanlarında, kanalizasyon bölgelerinde, kentsel ve yoğun sanayi bölgelerinde en yüksek konsantrasyonlarda bulunur (Jenkins, 1980; Demayo, 1982).

Kurşun ve bileşikleri yaklaşık 7000 yıldır, zehir etkisi ise 2500 yıldır insanlar tarafından bilinmektedir (Barth ve ark., 1973). Bu metal antik uygarlıklar tarafından gümüş üretimi esnasında yan ürün olarak keşfedilmiş ve tarih boyunca kurşun üretimi ve kullanımı giderek artış göstermiştir. M.Ö. 5000-7000 yılları arasında Mısırlılar kurşundan; lehim, cam, çanak-çömlek, süs eşyası, sikke, ağırlık, çapa ve su borusu yapımı gibi birçok alanda faydalanmışlardır (Nriagu, 1978a).

Kurşun yaklaşık 500'lü yıllarda Romalılar tarafından; su borularında, kozmetik ve şarapların tatlandırılmasında yoğun olarak kullanılmıştır (Harrison ve Laxen, 1981). Bu kullanımlarının çevredeki kurşun düzeyini 5 kat arttırdığı tahmin edilmektedir (Eisenreich ve ark., 1986). Ayrıca Romalıların gerileme dönemini kurşun düzeyindeki artışın hızlandırmış olabileceği bilim adamları tarafından öne sürülmektedir. Kurşun zehirlenmesi sonucu, yönetici sınıfının düşünme kapasitesinin düşmesi, doğum oranlarındaki azalış ve kısalan yaşam süresinin bu çöküşün temelini oluşturduğu iddia edilmektedir. Bu teori kurşunla tatlandırılan ve fazla tüketilen şaraplar sonucunda kullanılan fazla kurşunun kemik kalıntılarında ortaya konması ile desteklenmektedir (De Michele, 1984).

Romalıların çökmesiyle kurşun kullanımı hızla yavaşlamıştır. 14.yüzyılda barutun Avrupa'ya girmesiyle birlikte yeniden yoğun olarak kullanılmaya başlanmıştır. 1721'de ilk kurşun madeni İngiliz girişimciler tarafından "Falling Creek" adıyla Virginia'da kurulmuştur (EPA, 1979). 18. Yüzyılda sanayi devrimiyle beraber mevcut kurşun üretimi yaklaşık 10 kat artmıştır (Eisenreich ve ark., 1986). 1920'lerde kurşun bileşikleri (Kurşun tetraetil) benzine ilave edilmeye başlanmıştır ve bu kullanım alanı kurşunun ekolojik sisteme yayılmasında önemli rol oynamıştır (227,250 ton/yıl ABD). Günümüzde kurşunsuz benzin kullanımı ile atmosfere yayılımı azalmaktadır. Dünyada en yaygın kurşun kullanımı Kuzey Amerika'dadır ve yıllık tüketim 1,300,000 ton seviyelerindedir. Bu kullanım koşullarında atmosfere atılan miktar yıllık 600,000 tona ulaşmaktadır (Kahvecioğlu ve ark., 2006).

Kurşun 20. yy.' da yüksek oranlarda paslanmaya karşı oksit boya hammaddesi olarak kullanılmıştır. Almanya ve diğer gelişmiş ülkelerde 1971' de boya maddelerindeki kurşun kullanımına, 1979' da ise yemek saklama kutularındaki kurşun kullanımına sınırlayıcı yasalar çıkarılmıştır. Kurşunun diğer önemli kullanım alanları ise; teneke kutu kapakları, kurşun-kalay alaşımlı kaplar, seramik sırları, böcek ilaçları ve akülerdir

(Kahvecioğlu ve ark., 2006). Kurşunlu benzin ve boya maddelerinin yanı sıra, gıda ve suda kurşun toksisite kaynağı olabilir. Su borularında kullanılan kurşun kaynakları kurşunun suya karışmasına sebep olabilmektedir. Ülkemizde ve dünyada içme suyunda bulunmasına izin verilen kurşun değerleri bazı standartlar ile belirlenmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 3. Türkiye’de ve dünyada içme suyunda bulunmasına izin verilen kurşun değerleri (mg L^{-1})

Kaynak	WHO (2004)	USEPA (2004)	Avrupa Birliği (EC) (1998)	Türk Standartları Enstitüsü TSE 266 (2005)
İçme suyu	0,01	0,005	0,01	0,01

Ayrıca endüstriyel ve şehir merkezlerine yakın yerlerde yetişen yiyecekler; tahıllar, baklagiller, bahçe meyveleri ve birçok et ürünü bünyesinde normal seviyelerin üzerinde kurşun bulundurur. Kozmetik malzemelerde bulunan birçok pigment ve diğer ana maddeler de kurşun bulundururlar. Diğer taraftan sigara ve böcek ilaçları da kurşun kaynakları arasında sayılabilirler. Endüstriyel olarak kuyumculuk sektöründe altın rafinasyon ve geri kazanımı esnasında uygulanan “Kal” işlemi illegal olarak önemli oranda kurşunun oksit halinde atmosfere atılmasına neden olmaktadır (Kahvecioğlu ve ark., 2006). İnsan gıdası olarak önemli bir yere sahip olan su ürünlerinde izin verilen kurşun değerleri bazı standartlar ile belirlenmiştir (Çizelge 4).

Çizelge 4. Su Ürünlerinde izin verilen kurşun değerleri ($\mu\text{g g}^{-1}$ yaş ağırlık)

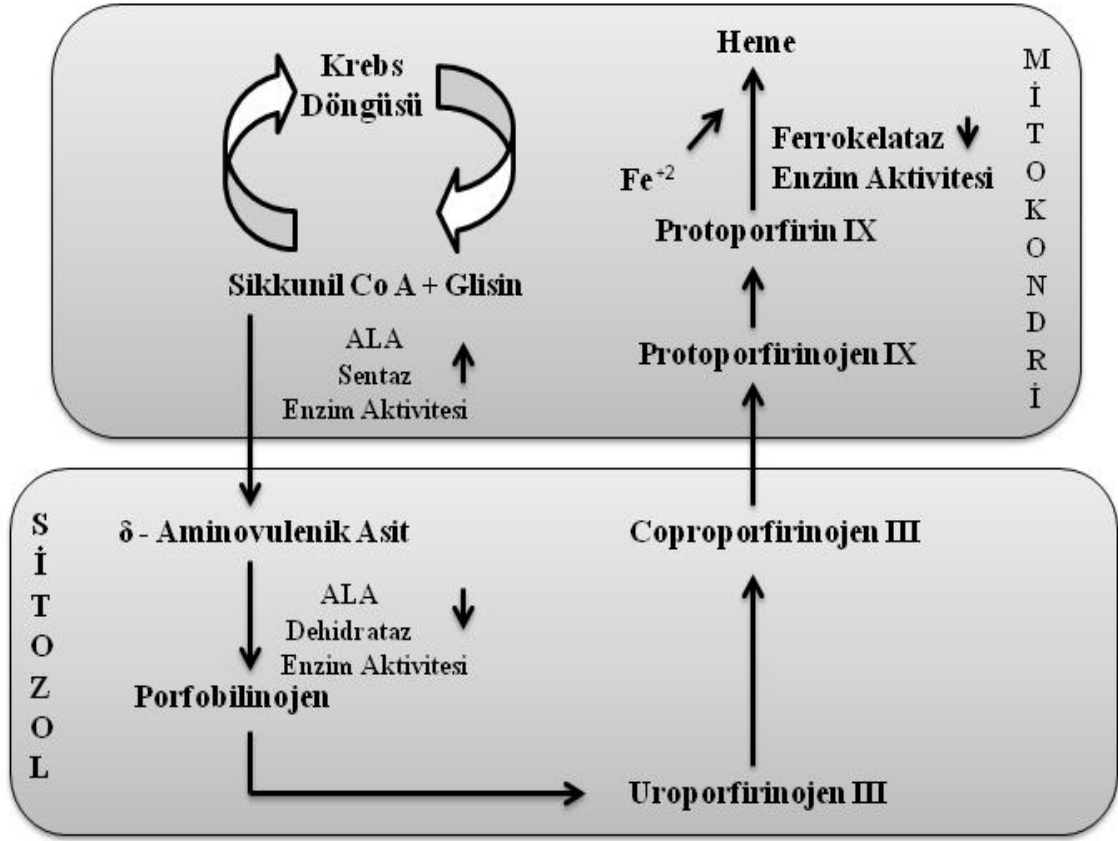
Kaynak	Türk Gıda Kodeksi (2008)	WHO (1973)
Balık eti	0,3	0,3
Çift Kabuklu Yumuşakçalar (Midye, vd.)	1,5	-
Kabuklular (Yengeç, istakoz vd.)	0,5	-
Kafadan Bacaklılar (Ahtapot, kalamar vd.)	1	-

1.1.3. Kurşun Toksikitesi ve Belirtileri

Kurşun böbreğin, kemik dokunun, merkezi sinir sisteminin ve hematopoetik sistemin yapısını ve fonksiyonunu değiştirir. Ayrıca biyokimyasal aktivitelerin olumsuz etkilenmesine, üreme bozukluklarına, nörofizyolojik, histopatolojik ve teratojenik (anormal yapı oluşumu) etkilere sebep olur (Boggess, 1977; Nriagu, 1978b; De Michele, 1984).

Kurşun ağır metali vücut içerisine solunum, deri ve sindirim yolu ile alınır. Tetraetil kurşun gibi organik bileşiklerin vücut içerisindeki absorpsiyonu inorganik bileşiklerinkinden daha hızlıdır. Vücuda giren kurşun emilir, başlangıçta kan dolaşımına girer ve kırmızı kan hücrelerine bağlanır. Kan akımı içerisindeki absorpsiyonda kurşunun % 95'i eritrositlere bağlanır, % 5'i ise plazmada kalır. Kurşun etkisindeki organizmalarda düşük moleküllü proteinler olduğu ve kurşunun bu proteinlere bağlandığı tespit edilmiştir (Nevşat, 1995). Kırmızı kan hücrelerinden plazmaya daha sonra hücreler arası alana geçen kurşun hücre dokusuna ya da hücre içi alanlara diffüze olur. Yumuşak dokulara kolaylıkla diffüze olan kurşun; böbrek, beyin, solungaç, kemik doku, karaciğer gibi dokularda birikim yapar (Berman, 1980; Nevşat, 1995). Vücuda alınan kurşunun insanlarda yarılanma ömrünün kanda 20 gün, tüm vücutta 28 gün ve kemik dokuda 600-3000 gün arası olduğu tahmin edilmektedir (Harrison ve Laxen, 1981). Muhtemelen kurşun; kemik veya yumuşak doku, kan, mide - bağırsak, safra yolu ve dışkıyla vücuttan uzaklaştırılmaktadır (De Michele, 1984).

Kurşun ağır metali hematopoetik sistemi etkileyerek hemoglobin sentezinde düzensizliklere sebep olur. Bunun sonucunda yaşama ömrü azalan eritrositler oluşur ve bu durum anemi ile sonuçlanır. Hem (hemoglobin) sentezinde iki önemli enzim kurşun toksisitesine karşı çok hassastır. Bunlardan ilki porphobilinogen formu olan aminolevulinik asit (ALA) ten katalizlenen δ aminolevulinik asit dehidrataz (ALAD), ikincisi ise Fe^{+2} ye protoporphyrin eklenmesiyle oluşan ferrokatalazdır. İkinci reaksiyon Glutasyon ve askorbik asit varlığı gerektirmektedir (Barth ve ark., 1973). Kurşun balıklarda büyüme ve eritrositlerde hem sentezinde görev alan δ aminolevulinik asit dehidrataz enziminin (ALAD) inhibisyonuna (Şekil 1) sebep olmaktadır (Hodson, 1976; Demayo ve ark., 1982; Schmitt ve ark., 1984; Ruparelia ve ark., 1989).



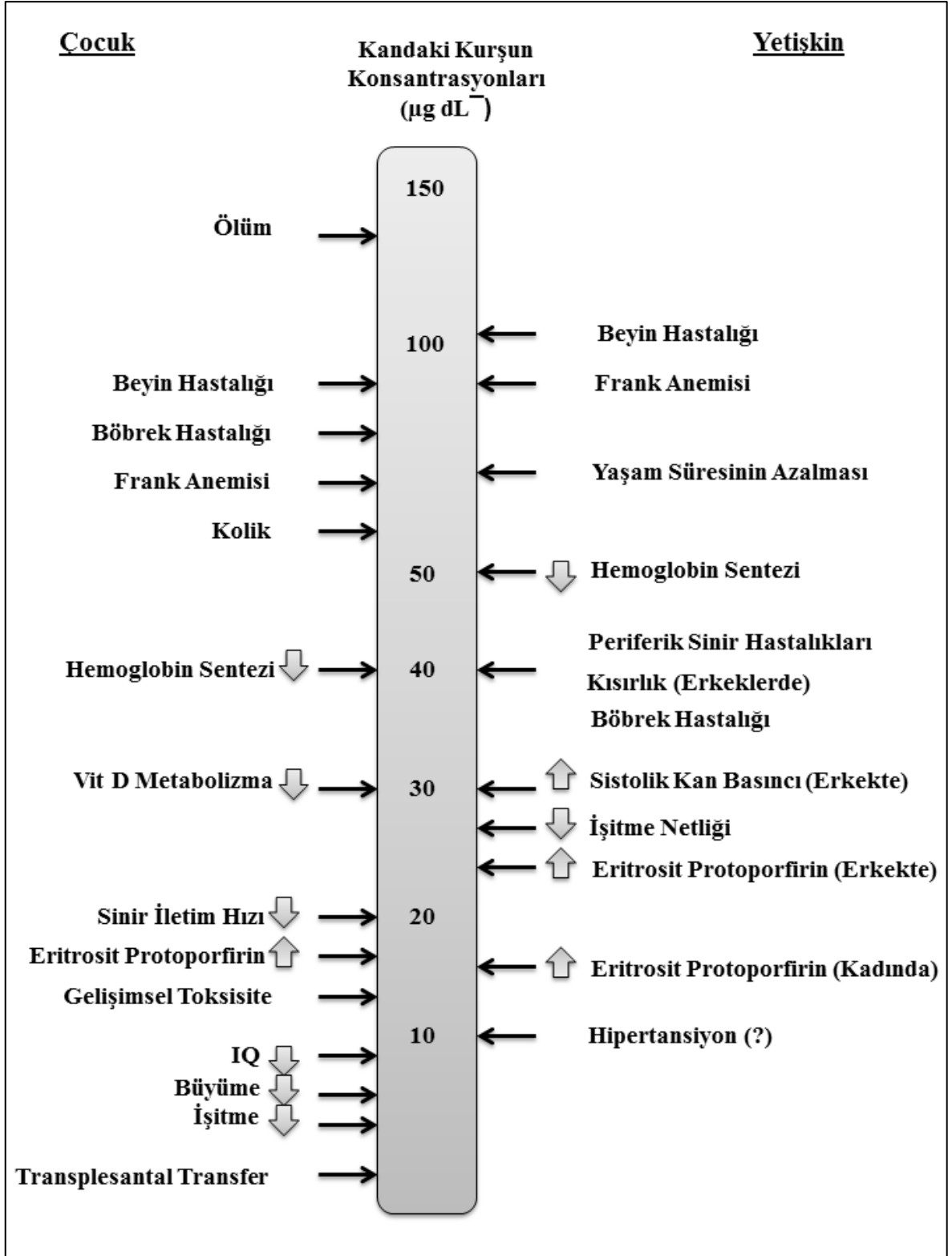
Şekil 1: Kurşunun hem sentezi üzerine etkileri (Gürer ve Ercal, 2000)

Kurşun organizmada sinir hücreleri ve ganglionlara zarar verir. Hücre yapılarını ve enzimatik fonksiyonları değiştirir (Nriagu, 1978b). Beyinde birikim üzerine yapılan çalışmalarda; kurşunun beyinde dağılımının doza ve zamana bağlı olarak değiştiği, genelde birikimin beynin hipokampus bölgesinde olduğu bildirilmiştir (Collins ve ark., 1982; Czech ve Hoiium, 1984).

1960'lı yıllarda insan kanında $60 \mu\text{g dL}^{-1}$ kurşun konsantrasyonu güvenli kabul edilmekteydi. Kurşun toksisitesi anlaşılmaya ve araştırılmaya başlandıkça bu değer 1985'de $25 \mu\text{g dL}^{-1}$ 'ye, 1991'de ise $10 \mu\text{g dL}^{-1}$ 'ye kadar indirildi (CDC, 1991). Fakat günümüzde yapılan çalışmalar $10 \mu\text{g dL}^{-1}$ 'nin altında kurşun konsantrasyonunun da insanlar için toksisite oluşturduğunu ve kanda kabul edilebilir, güvenli bir kurşun konsantrasyonu olmayacağını göstermektedir (Canfield ve ark., 2003; Chiodo ve ark., 2004; Ahamed ve Siddiqui, 2007).

Yakın zamana kadar zararsız olduğu düşünülen düşük doz kronik kurşun maruziyeti, artık büyüme ve sinirsel gelişimi baskılayıcı ve dejenere edici olarak kabul edilmektedir (Ahamed ve Siddiqui, 2007). Kurşuna en duyarlı kişiler olarak ise süt çocukları, hamile kadınlar ve kurşunla çalışan meslek grupları sayılabilir. Çocuklarda

kurşunun etkisi daha fazla görülür (Şekil 2). Bunun sebebi oyun nedeniyle sokak ve ev tozları ile daha fazla temas etmeleri, ellerini ağızlarına sık götürdükleri için daha fazla kurşunun gastrointestinal sisteme (GIS) geçmesi, GIS'den kurşunun daha fazla emilmesi, vücuttan daha az atılması ve demir eksikliği anemisi varsa emilimin daha da artması olarak düşünülebilir (Gürer ve Ercal, 2000). Ayrıca annenin aldığı kurşun, bebekte sinir sistemi bozukluklarına ve gelişme geriliklerine yol açmaktadır.



Şekil 2: İnorganik kurşunun çocuk ve yetişkinler üzerine etkileri (Royce ve Needelman, 1990; Gürer ve Ercal, 2000)

1.1.4. Kurşunun Sucul Ekosistem Üzerine Etkileri

Kurşun, maden sahalarında, sanayi bölgesi ve evsel atıkların bırakıldığı bölgelerden toplanan tatlı su alglerinde, makro omurgasızlar ve balıklarda yüksek konsantrasyonlarda bulunabilmektedir. Sucul ekosistemde kurşun en fazla, sedimentten beslenen balıklar, bentik makro omurgasızlar ve alglerde birikim gösterirken en az birikim predatörlerde görülmektedir. Sucul ekosistemde kurşun besin zincirinde biyomagnifikasyon göstermez (Demayo ve ark., 1982; Flegal, 1985; Eisler, 1988). Kurşun konsantrasyonları balıklarda yaş artışına ve birikim gösterdiği sert dokuya (kemik ve diş) bağlı olarak artış göstermektedir (Eisler, 1984).

Genel olarak sucul ekosistemde yaşayan her bir canlının kurşun toksisitesine tepkisi farklıdır (Vighi 1981). Örneğin; *Daphnia* türleri $1 \mu\text{g L}^{-1}$ 'nin üzerinde kurşuna maruz kaldıklarında üremelerinde olumsuz etkiler oluşur (Berglind ve ark., 1985). Tetrametil kurşunun $3,5 \mu\text{g L}^{-1}$ 'si alabalıklarda akut toksisite gösterir (Wong ve ark., 1978). Denizel alglerde $5,1 \mu\text{g L}^{-1}$ kurşun büyümeyi inhibe eder (NRCC, 1973). Ayrıca tüm türler için kurşun toksisitesi; yüksek su sıcaklığı ve düşük pH aralığında, nispeten yumuşak sularda, canlının en genç yaşam safhasında ve uzun süre kurşuna maruz kalındığında daha fazla toksik etki göstermektedir (Çizelge 5, Eisler, 1988).

Kurşun, sucul ortamdaki tüm canlılar için toksiktir. Kurşun toksisitesi, canlının fizyolojik durumuna, türüne, suyun fiziko-kimyasal parametrelerine bağlı olarak değişebilmektedir. Sucul ekosistemde sadece suda çözünebilen belirli kurşun formları toksik iken serbest katyonik formları kompleks formlarından daha toksik etki yapmaktadır (Wong ve ark., 1978). Kurşun toksisitesi suyun kalsiyum konsantrasyonu ile ilişkilidir. Azalan kalsiyum konsantrasyonlarında kurşun daha fazla toksik etki göstermektedir. Yüksek kalsiyum içeren sert ve acı sularda kurşun toksisitesinin daha az olabileceği söylenebilir. Varanasi ve Gmur (1978), yaptıkları çalışmalarında Coho salmonda (*Oncorhynchus kisutch*) sudan ya da besinle alınan kalsiyum artışının iskelet ve derideki kurşun alımını ve birikimi azalttığını bildirmiştir.

Çizelge 5. Kurşunun bazı sucul organizmalar üzerine lethal ve sublethal etkileri (Eisler,1988)

Ekosistem,taksonomik grup ve türler	Konsantrasyon ($\mu\text{g Pb L}^{-1}$)	Maruz kalma süresi	Etki ^a	Kaynaklar ^b
Tatlısu				
Alg ve Makrofitler				
Alg, <i>Selenastrum capricornutum</i>	5	28 gün	BCF 92,000	1
Alg, <i>S. capricornutum</i>	50	28	BCF 26,000	1
Alg, <i>Chlamydomonas reinhardii</i>	207	3 saat	BCF 26; bazı fotosentez inhibasyonu	2
Alg, <i>C. reinhardii</i>	1000	3 saat	BCF 20; 50% bazı fotosentez inhibasyonu	2
Alg, <i>C. reinhardii</i>	4,140	24 saat	Lethal	2
Alg, <i>Microcystis aeruginosa</i>	450	8 gün	Hareketsiz hale getirme	3
Omurgasızlar				
<i>Daphnia magna</i>	1	19 gün	Üreme bozukluğu, 10%	4
<i>D. magna</i>	10	19 gün	Üreme bozukluğu, 50%	4
<i>D. magna</i>	30	21 gün	Üreme bozukluğu, 16%	3, 5
Salyangoz, <i>Lymnaea palustris</i>	12-54	Yaşam süresi	MATC	3
Salyangoz, <i>L. palustris</i>	3,8	Yaşam süresi	Ölüm yok	8
Salyangoz, <i>L. palustris</i>	19	Yaşam süresi	Önemli derecede ölüm oranı	8
Salyangoz, <i>L. palustris</i>	36	Yaşam süresi	Biyokütlede azalma, 50%	8
Salyangoz, <i>L. palustris</i>	48	Yaşam süresi	Biyokütlede azalma, 100%	8
Salyangoz, <i>L. palustris</i>	54	Yaşam süresi	Kuluçka başarısı azalmıştır	8
Protozoa, <i>Entosiphon sulcatum</i>	20	72 saat	Sabitleme	3
Amfipod, <i>Gammarus pseudolimnaeus</i>	28.4	60 gün	LC ₅₀	5

Çizelge 5 (Devamı)				
Amfipod, <i>G. pseudolimnaeus</i>	124	96 saat	LC ₅₀	9
Sucul omurgasızlar	32	28 gün	BCF 1,000 ile 9,000	5
Protozoa, <i>Uronema sp.</i>	70	20 saat	Hareketsiz hale getirme	3
Chironomidae, <i>Tanytarsus dissimilis</i>	258	10 gün	LC ₅₀	3
Isopod, <i>Asellus meridianus</i>				
Tolere edilmeyen gerginlik	280	48 saat	LC ₅₀	5
Kurşundan kirlenmiş nehir	3500	48 saat	LC ₅₀	5
<i>Daphnia hyalina</i>	600	48 saat	LC ₅₀	6
Salyangoz, <i>Viviparus ater</i>	1000	7 gün	Nöronal sitoloji	10
Salyangoz, <i>V. ater</i>	117,000	96 saat	LC ₅₀	10
Sucul böcekler, 5 tür	3,500 ile 64,000	7 ile 14 gün	LC ₅₀	5
Isopod, <i>Asellus aquaticus</i>				
Tolere edilmeyen gerginlik, 100 mg Pb/L ile 5 gün için ön işlem	794,000	48 saat	LC ₅₀	11
Ön işlem yok	330,000	48 saat	LC ₅₀	11
Balık				
Gökkuşluğu alabalığı, <i>Salmo gairdneri</i>				
Tetrametil Pb				
Ağırlık 1 gr	3,5	72 saat	LC ₅₀	12
Ağırlık 1 gr	3,5	7 gün	BCF 726 bütün alabalık için	12
Ağırlık 1 gr	3,5	14 gün	LC ₅₀	12
Ağırlık 20 gr	24	8 ile 14 gün	Bazı ölümler 8. günde; BCF barsak lipitleri için 10. günde 17,300 ve 14. günde 12,540	
Pb ²⁺	13	32 hafta	Anemi; kan ALAD aktivitesi azalır	3

Pb²⁺	14	14 gün	Dayanıklılıkta azalma	3
Çizelge 5 (Devamı)				
Pb²⁺	10	30 gün	ALAD inhibisyonu, 21%	13
Pb²⁺	75	30 gün	ALAD inhibisyonu, 74%	13
Pb²⁺	300	30 gün +7 haftasonu maruz kalma	ALAD inhibisyonu, 86%; anemi oluşumu	13
Pb²⁺	13	4 hafta	Eritrosit ALAD inhibasyonu	6
Gözlü yumurta	10,000	56 saat	LC ₅₀	14
Gözlü yumurta	20,000	20 saat	LC ₅₀	14
Su sertliği (mg CaCO₃/L)				
28				
Toplam Pb	7.2–14.6	Yaşam süresi	MATC	15
Çözünmüş	4.1–7.6	Yaşam süresi	MATC	15
Çözünmüş Pb	1,200	96 saat	LC ₅₀	5
35	71–146	Yaşam süresi	MATC	3
353				
Toplam Pb	506,500	96 saat	LC ₅₀	15
Çözünmüş Pb	1395	96 saat	LC ₅₀	15
Çözünmüş Pb	120–360	Yaşam süresi	MATC	15
Çözünmüş Pb	18.2–31.7	Yaşam süresi	MATC	15
28	14.6	19 ay	Omurga bozuklukları; kuyruk yüzgeci erozyonu	6
353	31	19 ay	Omurga bozuklukları; kuyruk yüzgeci erozyonu	6
28	7.2	19 ay	Zararlı etki yok	6
353	18.2	19 ay	Zararlı etki yok	6
Göl alabalığı, <i>Salvelinus namaycush</i>	48–83	Yaşam süresi	MATC	16
Su sertliği 33 (mg CaCO ₃ /L)				
Zebra balığı, <i>Brachydanio rerio</i>	50	24 saat	Yavru pigmentasyon	17

Yumurta			desenleri geri dönülmez biçimde değişmiş	
Çizelge 5 (Devamı)				
Yumurta	72	24 saat	Kuluçka inhibesi	17
Dere alabalığı, <i>Salvelinus fontinalis</i> Su sertliği 44 (mg CaCO ₃ /L)				
Toplam Pb	58–119	3 nesil	MATC	3, 5, 18
Çözünmüş Pb	39–84	3 nesil	MATC	5,18
Toplam Pb	4,100	96 saat	LC ₅₀	18
Çözünmüş Pb	3,362	96 saat	LC ₅₀	18
Toplam Pb	134	21 gün	Büyümede azalma	6
Toplam Pb	119	3 nesil	İlk nesil: BFC Karaciğer için 571, böbrek için 1,806. İkinci nesil: BCF karaciğer için 420, böbrek için 1,504; %34 ciddi spinal deformiteler. Üçüncü nesil: %21 spinal deformiteler, vücut ağırlığında azalma	18
Toplam Pb	235	2 nesil	Tüm spinal deformiteler	18
<i>Lepomis macrochirus</i> , Su sertliği 41 (mg CaCO ₃ /L)	70-120	Yaşam süresi	MATC	16
<i>Ictalurus punctatus</i> , Su sertliği 36 (mg CaCO ₃ /L)	75-136	Yaşam süresi	MATC	16
<i>Catostomus commersoni</i> , Su sertliği 34 (mg CaCO ₃ /L)	119-253	Yaşam süresi	MATC	5
Cyprinid, <i>Puntius conchoni</i>	127	4 ay	Gonadal patoloji	19
Cyprinid, <i>P. conchoni</i>	379	96 saat	LC ₅₀	19
Goldfish, <i>Carassius auratus</i>	200	4-5 ay	ALAD inhibasyonu	6
<i>Esox lucius</i>	253–483	Yaşam	MATC	5

Su sertliği 34 (mg CaCO ₃ /L)	süresi			
Çizelge 5 (Devamı)				
<i>Gasterosteus aculeatus</i>	300	96 saat	LC ₁₀₀	6
<i>Micropterus dolomieu</i>				
Su sertliği 152 (mg CaCO ₃ /L)				
Deniz				
Alg ve makrofitler				
Diatom, <i>Skeletonema costatum</i>	0.05	12 gün	Büyüme üzerine olumsuz etkisi yok	21
Diatom, <i>S. costatum</i>	5.1	12 gün	Büyüme inhibasyonu,% 50	3
Diatom, <i>S. costatum</i>	10	12 gün	Büyüme inhibasyonu,% 100	21
Alg, <i>Phaeodactylum tricorutum</i> , Pb²⁺	20	<1 h	BCF 582,000	22
Pb²⁺	>5,000	96 saat	LC ₅₀	23
Tetrametil Pb1	1,300	96 saat	LC ₅₀	23
Trimetil Pb	800	96 saat	LC ₅₀	23
Trietil Pb	100	96 saat	LC ₅₀	23
Tetraetil Pb	100	96 saat	LC ₅₀	23
Fitoplankton, karışık populasyonlar	21	4 gün	Biyoküttelede azalma	3
Alg, <i>Dunaliella tertiolecta</i>				
Tetraetil Pb	150	96 saat	Büyümede inhibisyon	3
Tetrametil Pb	1,650	96 saat	Büyüme inhibisyon	3
Omurgasızlar				
Amerika istiridyesi, <i>Crassostrea virginica</i> ,	1.0	140 gün	BCF 6,600	24
İstiridyeye, <i>Mytilus edulis</i>	>500,000	96 saat	LC ₅₀	23
Pb²⁺, yetişkin				
Pb²⁺, larva	476	96 saat	LC ₅₀	3
Trietil Pb	1,100	96 saat	LC ₅₀ ; BCF 10	23
Trimetil Pb	500	96 saat	LC ₅₀ ; BCF 23	23
Tetrametil Pb	270	96 saat	LC ₅₀ ; BCF 170	23
Tetraetil Pb	100	96 saat	LC ₅₀ ; BCF 120	23

Pb²⁺	10	63 gün	BCF, böbrek için 12,580 ve yumuşak kısımlar için 1,580	25
Çizelge 5 (Devamı)				
Pb²⁺	500	150 gün	BCF yumuşak kısımlar için 25,670	26
<i>Mya arenaria</i> Yumuşak kısımlar Sıcaklık, °C				
0-10	14	42 gün	BCF 158	27
0-10	70	42 gün	BCF 180	27
16-22	14	42 gün	BCF 351	27
16-22	70	7 gün	BCF 237	27
<i>Mysid, Mysidopsis bahia</i>	17-34	Yaşam süresi	MATC	3
Kum kurdu, <i>Neanthes arenaceodentata</i> Tuzluluk, o/oo ppt				
15	20	23 gün	Üremede inhibisyon	28
20	3,100	28 gün	Üremede inhibisyon	28
Sıcaklık, °C				
15	10,700	96 saat	LC ₅₀	28
20	7,700	96 saat	LC ₅₀	28
<i>Karides, Crangon crangon</i> Pb²⁺	375,000	96 saat	LC ₅₀	23
Trimetil Pb	8,800	96 saat	LC ₅₀ ; BCF 1	23
Trietil Pb	5,800	96 saat	LC ₅₀ ; BCF 2	23
Tetrametil Pb	110	96 saat	LC ₅₀ ; BCF 20	23
Tetraetil Pb	20	96 saat	LC ₅₀ ; BCF 650	23
Amerikan istakozu <i>Homarus americanus</i>	50	30 gün	Azalmış ALAD aktivitesi	3
Amerikan istakozu	50	30 gün	Antennal bezinde biyokimyasal değişikler; BCF antennal bezi için 2,760 ve solungaç için 58	29
Protozoan, <i>Cristigera sp.</i>	150	12 gün	Büyümede azalma	3
Amphipod, <i>Ampelisca abdita</i>	547	96 saat	LC ₅₀	3
Yengeç, <i>Cancer magister</i>	575	96 saat	LC ₅₀	38
Deniz kestanesi,	1,100	48 saat	Gelişimi üzerine	30

<i>Anthocidaris crassispina</i> (embriyolar)	olumsuz etkisi yok			
Çizelge 5 (Devamı)				
Balık				
Pisibalgı, <i>Pleuronectes platessa</i>				
Tetrametil Pb	50	96 saat	LC ₅₀ ; BCF 60	23
Tetraetil Pb	230	96 saat	LC ₅₀ ; BCF 130	23
Trietil Pb	1,700	96 saat	LC ₅₀ ; BCF 2	23
Trimetil Pb	24,600	96 saat	LC ₅₀ ; BCF 1	23
Dietil Pb	75,000	96 saat	LC ₅₀	23
Pb²⁺	180,000	96 saat	LC ₅₀	23
Dimetil Pb	300,000	96 saat	LC ₅₀	23

a: BCF = biyokonsantrasyon faktörü; MATC = maksimum kabul edilebilir toksikant konsantrasyonu

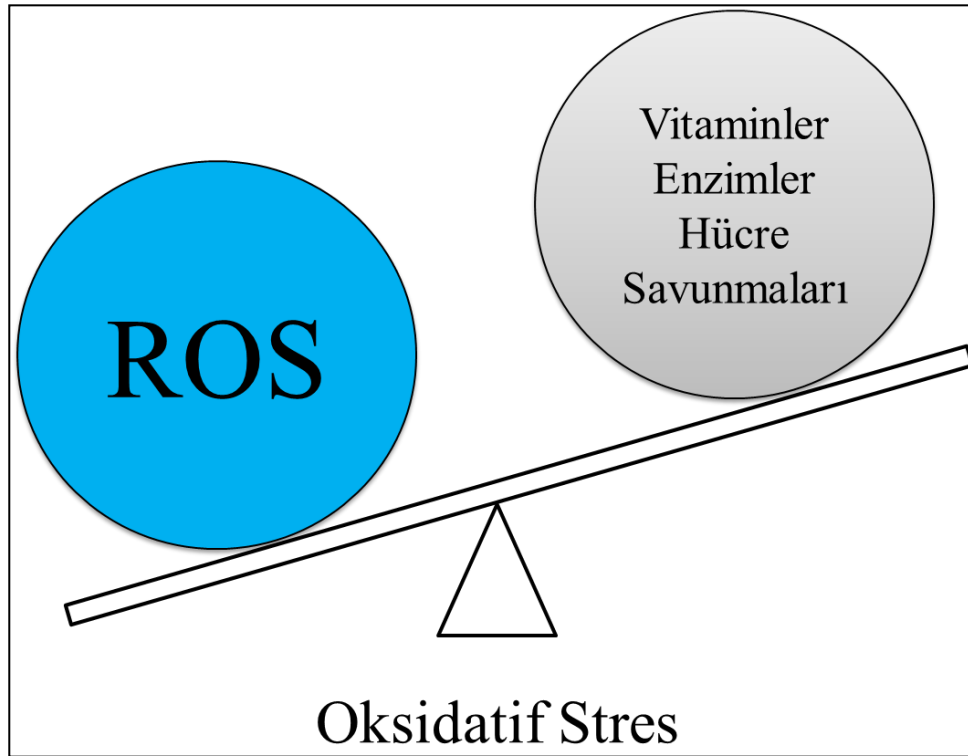
b: **Kaynaklar;** 1) Vighi, 1981; 2) Irmer ve ark., 1986; 3) EPA, 1985; 4) Berglind ve ark., 1985; 5) Demayo ve ark., 1982; 6) Wong ve ark., 1978; 7) NRCC, 1973; 8) Borgmann ve ark., 1978; 9) Spehar ve ark., 1978; 10) Fantin ve ark., 1985; 11) Fraser, 1980; 12) Wong ve ark., 1981; 13) Johanson-Sjoberck ve Larsson, 1979; 14) Rombaugh, 1985; 15) Davies ve ark., 1976; 16) EPA, 1980; 17) Ozoh, 1980; 18) Holcombe ve ark., 1976; 19) Kumar ve Pant, 1984; 20) Coughlan ve ark., 1986; 21) Rivkin, 1979; 22) Schulz-Baldes ve Lewin, 1976; 23) Maddock ve Taylor, 1980; 24) Zaroogian ve ark., 1979; 25) Schulz-Baldes, 1974; 26) Schulz-Baldes, 1972; 27) Eisler, 1977; 28) Reish ve Gerlinger, 1964; 29) Gould ve Grieg, 1983; 30) Kobayashi, 1971.

Kurşunun lethal dozları (diğer birçok ağır metaldeki gibi), balıklarda mukoza oluşumunu arttırmaktadır. Tüm vücutta oluşan bu mukoza özellikle solungaçlarda belli olur, solunumu etkiler ve ölümlere yol açar (Aronson, 1971; NRCC, 1973). Suda 10 µg L⁻¹ nin üzerinde kurşun bulunmasının balık ve balıkçılık faaliyetlerini olumsuz etkileyeceği bildirilmiştir (Demayo ve ark., 1982). Uzun süre kurşun konsantrasyonlarına maruz kalan balıklar kurşun zehirlenmelerinin çeşitli belirtilerini göstermektedirler. Bunlar; omurga eğriliği (lordosis gibi); anemi; kuyruk yüzgecinde dejenerasyon; spinal nöronlarda yıkım; dorsal kuyruk bölgesinin koyulaşması; eritrosit, dalak, karaciğer ve böbrek dokularında ALAD inhibisyonu; yüzme becerisinde azalma; solungaç epitelinde hasar; kan, kemik doku, solungaç, karaciğer, böbrek, bağırsak dokularında artan oranlarda kurşun birikimi ve dejenerasyonlar; felç; büyüme inhibisyonu; cinsel olgunluk geriliği; değişmiş kan kimyası

ve ölümdür (Aronson, 1971; NRCC, 1973; Adams, 1975; Davies ve ark., 1976; Holcombe ve ark., 1976; Hodson ve ark., 1977, 1980, 1982; Johanson-Sjobeck ve Larsson, 1979; Reichert ve ark., 1979; Ozoh, 1980; Demayo ve ark., 1982; Kumar ve Pant, 1984; Rai ve Qayyum, 1984; Hodson ve Spry, 1985; Haux ve ark., 1986; Eisler, 1988).

1.2. Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Mekanizmaları

Oksidatif stres; kısaca oksidanlar ile antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine kayması olarak tanımlanmaktadır (Şekil 3). Kurşun toksisitesi sonucunda oksidatif stres moleküler mekanizmada görülmesi muhtemel bir yol olarak kabul edilmektedir (Adonaylo ve Oteiza, 1999; Bechara, 2004).



Şekil 3: Oksidatif stres oluşumu

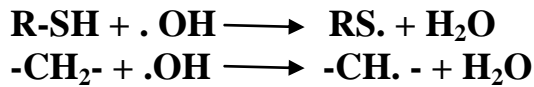
Oksidatif strese neden olan serbest radikaller (ROS) oksijen metabolizması sonucu oluşan bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, molekül ağırlığı düşük, kısa ömürlü, kararsız, etkin, aktif ara bileşikler olarak tanımlanmaktadır (Abdollahi ve ark., 2003). Bu radikaller; metal-katalizörlü reaksiyonların ürünü olarak, UV, X-ray ve gamma-ray ışınlarının radyasyonu sırasında, atmosferde mevcut olan kirletici maddeler nedeniyle, enfeksiyon sırasında nötrofiller ve makrofajlar tarafından üretilerek, mitokondri-katalizli

elektron taşıma zinciri reaksiyonları veya diğer mekanizmaların ürünleri olarak meydana gelmektedirler (Cadenas, 1989).

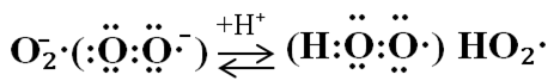
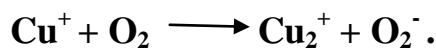
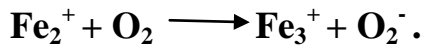
1.2.1.Serbest Radikal Türleri (ROS)

Oksijen canlıların yaşamlarını sürdürmeleri için olmazsa olmaz bir elementtir. Oksijen hücre içinde dört elektron gerektiren bir dizi reaksiyon sonunda indirgenmekte, bu sırada kendisi için gerekli enerjiyi sağlamaktadır. Bu süreçte oksijenin az bir kısmı (%1-4) suya dönüşmez ve bu reaksiyonlarda ara ürün olan serbest radikaller oluşur (Floyd, 1999). Bunlardan başlıcaları; hidroksil radikali (OH[•]), süperoksit radikali (O₂^{•-}) ve hidrojen peroksittir (H₂O₂).

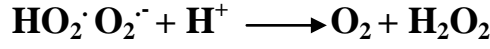
Hidroksil radikali (OH[•]); Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonu sonucu hidrojen peroksitten oluşmaktadır. Hidroksil radikali yarı ömrü kısa reaktif oksidan radikallerden biridir. Hidroksil radikali olasılıkla reaktif oksijen türlerinin (ROS) en güçlüsüdür. Oluştığı yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak tiyol radikalleri (RS[•]), karbon merkezli organik radikaller (R[•]), organik peroksitler (RCOO[•]) gibi yeni radikallerin oluşmasına ve sonuçta büyük hasara neden olur (Reiter, 1998).



Süperoksit radikali (O₂^{•-}); tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin (O₂) bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. İndirgenmiş geçiş metallere otooksidasyonu süperoksit radikali meydana getirebilir. Süperoksit radikalinin kendisi direkt olarak zarar vermez. Bu radikal anyonun asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksit radikali düşük pH değerlerinde daha reaktiftir, oksidan perhidroksi radikali (HO₂[•]) oluşturmak üzere protonlanır (Reiter, 1998).



Süperoksit radikali ile perhidroksi radikali birbirleriyle reaksiyona girince biri okside olur diğeri indirgenir. Bu ters değişim reaksiyonunda moleküler oksijen ve hidrojen peroksit meydana gelir.

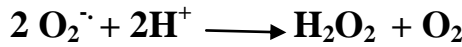


Hidrojen peroksit (H₂O₂)

Hidrojen peroksit (H₂O₂), moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması sonucu oluşan peroksitin iki proton (H⁺) ile birleşmesi sonucu meydana gelir.



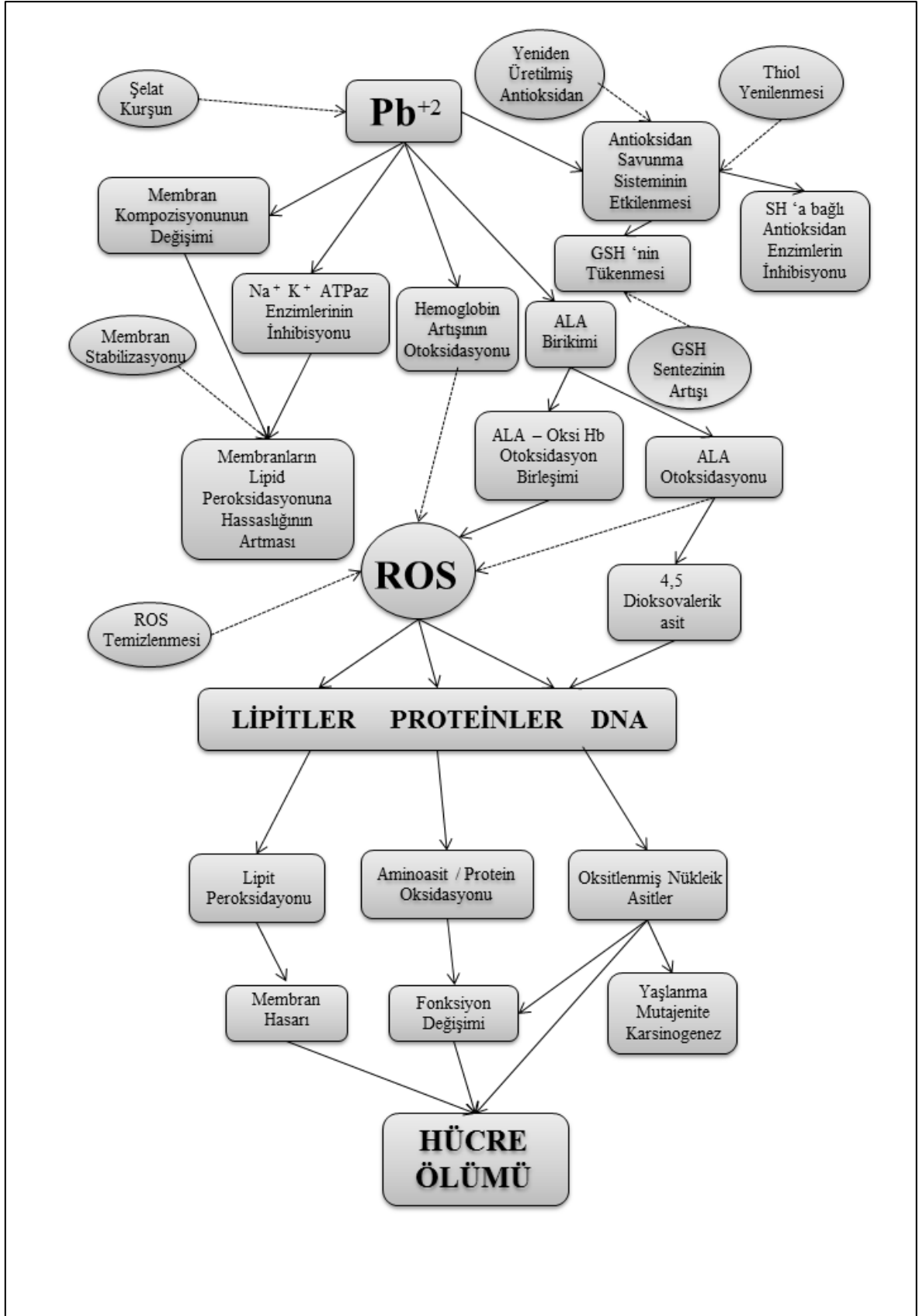
Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi, süperoksidin (O₂^{·-}) ters değişim reaksiyonu ile olur. İki süperoksit molekülü, süperoksidin ters değişim reaksiyonunda iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar (Reiter, 1998).



Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri (ROS) kapsamına girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü Fe²⁺ veya diğere geçiş metallere varlığında Fenton reaksiyonu sonucu, süperoksit radikalinin (O₂^{·-}) varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucu en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali (OH[·]) oluşturur.

1.2.2.Serbest Oksijen Radikallerinin Etkileri

Serbest oksijen radikalleri hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler. Süperoksit radikali (O₂^{·-}) ve hidroksil radikali (OH[·]) sitoplazma, mitokondri, nükleus ve endoplazmik retikulum membranlarında lipid peroksidasyonunu başlatır. Membranlarda lipid peroksidasyonu meydana gelmesi sonucu membran geçirgenliği artar. Serbest radikallerin etkisiyle proteinlerdeki sistein sülfhidril grupları ve diğere amino asit kalıntıları okside olarak yıkılır, nükleer ve mitokondriyal DNA okside olur. Serbest oksijen radikallerinin tüm bu etkilerinin sonucunda hücre hasarı oluşur (Şekil 4).

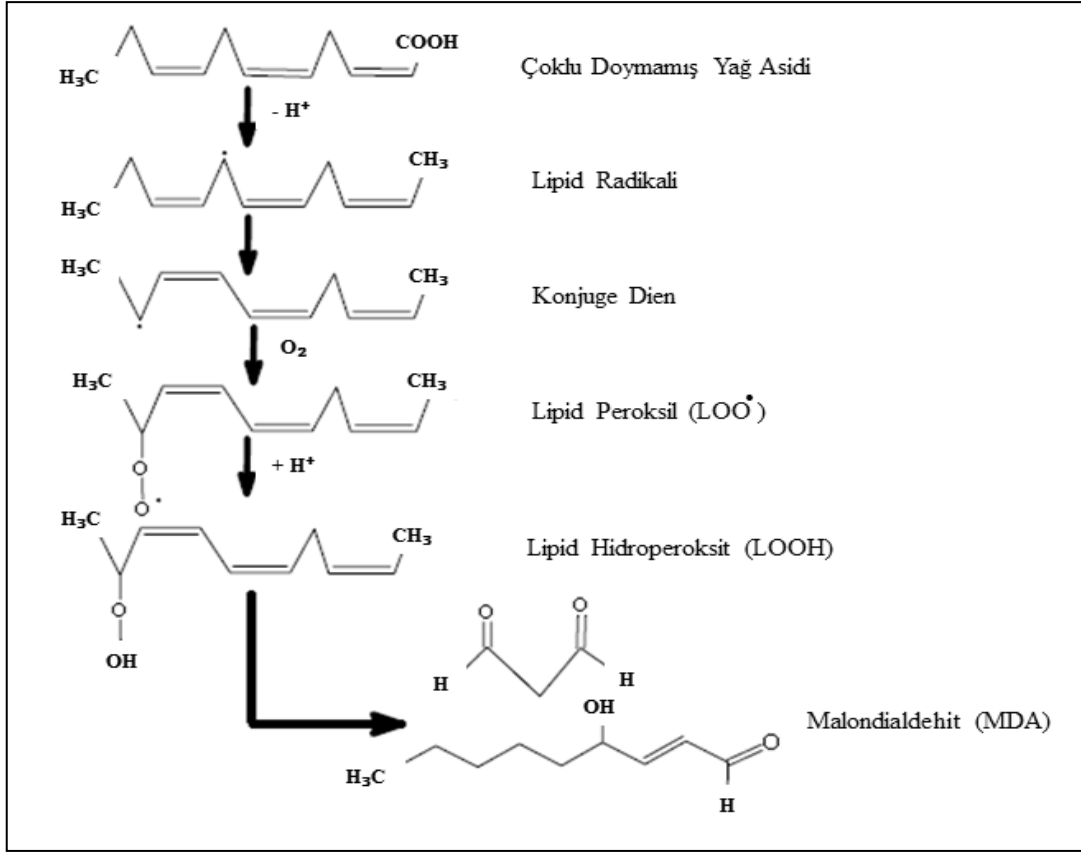


Şekil 4. Kurşun toksisitesi sonucu oksidatif stres oluşumu ve antioksidanların muhtemel etkilenme yolları (Gürer ve Ercal, 2000).

1.2.3. Serbest Radikallerin Lipid Peroksidasyona Etkileri

Lipid peroksidasyonu serbest oksijen radikalleri (ROS) aracılığıyla meydana gelen tepkimelerin yanında kendisi de ROS üretimine neden olan bir olaydır. Lipid peroksidasyonu hakkında çok iyi bilinen iki durum vardır. Bunlardan ilki; hücre zarı ve organellerinde oldukça fazla bulunan poliansantüre yağ asitlerinin (PUFA) serbest oksijen radikallerine duyarlı olması, diğeri ise lipid peroksidasyonun zincir tepkimelerle yürüdüğü gerçeğidir. Serbest oksijen radikalleri PUFA ile etkileştiğinde bir hidrojen kopartarak bir lipid radikalinin (L) oluşumuna neden olur, PUFA bağ düzenlenmesi ile bir dien konjugatına (lipid peroksidasyon ürünü) dönüşür, buna bir oksijenin eklenmesiyle de lipid peroksil radikali (LOO.) meydana gelir. Oldukça reaktif olan peroksil radikali komşu yağ asidinden bir hidrojen alarak lipid hidroperoksidi (LOOH) ve yeni bir lipid radikali oluşturur. Böylece peroksidasyon zinciri ilerlemeye devam eder (Şekil 5). Hücre membranlarında lipid peroksidasyonunun ilerleme tepkimeleri ile alkanlar, isoprostanlar ve karbonil bileşikleri gibi çok çeşitli yan ürünler açığa çıkmaktadır (Djordjevic, 2004; Sevgiler, 2007).

Hücre zarının akışkanlığını değiştiren lipid peroksidasyonu, bir veya iki değerlikli iyonlara geçirgenliği artırır ve membrana bağlı enzimler ile reseptörlerin inaktivasyonuna neden olur. Peroksidasyon tüm membran lipidlerinin yıkımına yol açabilir. Lizozomlarda membran yıkımıyla proteolitik enzimler hücre içine bırakılır ve bu enzimlerin aktivasyonu ile hücre hasarları artar. Bu yüzden membranlarda oluşan lipid peroksidasyonun engellenememesi ile membranların yapı ve işlevlerinde önemli değişiklikler olur. Bu süreç hücre ölümü ile sonuçlanır (Djordjevic, 2004; Sevgiler, 2007).



Şekil 5. Lipid peroksidasyon oluşumu (Kaya, 2005)

Lipid peroksidasyonun artması sonucu GSH'ın konjuge bileşiklerinin oluşması ve glutasyon redüktaz aktivitesinin engellenmesi dokularda GSH düzeylerinin azalmasına sebep olabilir (Vendemiale ve ark., 2001). Diğer yandan ksenobiyotikler ve diğer toksik maddelerin oluşturdukları oksidatif hasarlarda oluşan doku GSH seviyeleri ve antioksidant enzim aktivitelerindeki değişiklikler halen tartışılan bir problemdir. Bazı araştırmacılar oksidatif strese bağlı olarak dokularda GSH düzeylerinde azalma gözlemlerken, bazı araştırmacılar ise oluşan hasarın GSH düzeylerini değiştirmedeğini ve hatta arttırabileceğini belirlemişlerdir (Velmurugan ve ark., 2002).

Genel olarak lipid peroksidasyonunun etkileri membran akışkanlığının azalması, normal olarak membranı geçemeyecek maddelere karşı (Ca⁺² gibi) geçirgenliğin artması ve membrana bağlı enzimlerin inaktivasyonu şeklindedir (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

1.2.4. Antioksidan Savunma Sistemleri

Organizmada, serbest oksijen radikallerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizması geliştirilmiştir. Bunlar “antioksidan savunma sistemleri” ya da kısaca “antioksidanlar” olarak bilinirler. Antioksidanlar serbest radikaller üzerine etkilerini iki şekilde gösterirler (Çaylak, 2006).

A) Serbest radikal oluşumunu önleyerek

- Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırıcı etki yaparlar
- Başlatıcı reaktif türevlerini uzaklaştırıcı etki yaparlar
- Oksijeni uzaklaştırıcı ya da konsantrasyonu azaltıcı etki yaparlar

B) Oluşan serbest radikalleri etkisiz hale getirerek

- Toplayıcı etkileri; serbest radikalleri tutma ve çok daha az reaktif başka bir moleküle çevirme (Örneğin; enzimler)
- Onarıcı etki
- Bastırıcı etki; serbest oksijen radikalleriyle etkileşerek onlara bir proton ekleyerek aktivasyon kaybına neden olma (Örneğin; vitaminler)
- Zincir kırıcı etki; zincirleme reaksiyonları başlatacak diğer maddeleri kendilerine bağlayarak fonksiyonlarını önleyici etki (hemoglobin, mineraller)

Antioksidan savunma sistemleri enzimatik ve enzimatik olmayan olmak üzere iki ana başlıkta incelenebilir.

1.2.4.1. Enzimatik Antioksidanlar

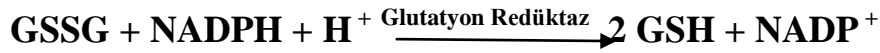
Süperoksit dismutaz; katalitik aktivitesi için Fe, Cu veya Mn gibi metallere gereksinim duyan ve metaloprotein sınıfında yer alan süperoksit dismutaz (SOD) süperoksit anyon radikalinin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler (Mc Cord ve Fridovich, 1969). Süperoksit dismutaz, oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit anyon radikalinin zararlı etkisine karşı korur.

Katalaz (CAT) ; hidrojen peroksidin oksijen ve suya dönüşümünü katalizler (Young ve Woodside, 2001).

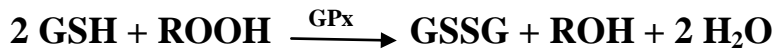
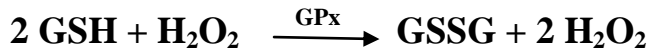
Glutasyon peroksidaz (GSH-Px); glutasyon peroksidazın biri selenyum bağımlı (GPx) biri selenyum bağımsız (glutasyon-S-transferaz) olmak üzere iki farklı formu

bulunmaktadır. Glutasyon-S- transferaz'lar lipid hidroperoksitlerini indirgerler. Selenyum bağımlı olan çözünenler ise, H₂O₂ ve organik hidroperoksitlerin glutasyon tarafından indirgenmesini katalize ederler.

Okside glutasyon (GSSG), iki glutasyonun disülfit bağı ile birleşmesi sonucunda oluşmaktadır. Daha sonra bu molekül pentoz fosfat yolunda sentezlenen NADPH⁺H⁺ ile glutasyon redüktazın katalizlediği reaksiyona girerek redükte (GSH) hale geçmektedir (Gözükara, 2001).



GPx, hücrelerde yüksek konsantrasyonlarda bulunan tripeptid yapıdaki glutasyon ile beraber görev yapmaktadır. GPx' in katalitik reaksiyonlardaki substratı hidrojen peroksit veya organik peroksittir (ROOH). GPx, GSH' ı okside ederek peroksitlerin suya (veya alkol) dekompoze olmasını sağlamaktadır (Valko ve ark., 2006).



1.2.4.2.Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

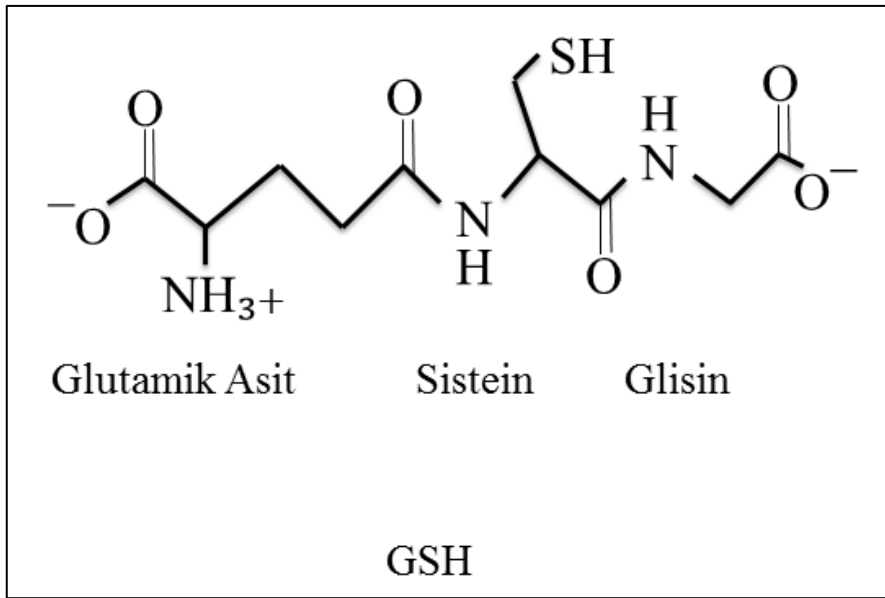
Vitamin C (L-Askorbik Asit); birçok memeli türün karaciğerinde sentezlenen vitamin C, 6 karbonlu bir laktondur. Vitamin C (Asc), organizmada birçok hidroksilasyon olaylarında güçlü bir indirgeyici ajan olarak rol oynamaktadır. Vitamin C güçlü indirgeyici etkisinden dolayı aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Süperoksit anyon radikali ve hidroksil radikali ile kolayca reaksiyona girerek radikal etkilerini önlemektedir (Chen ve Tappel, 1994).

Vitamin E (Tokoferol)

Vitamin E, yağda eriyen ve 8 ayrı formda bulunabilen bir vitamindir. Vitamin E, lipid peroksil radikallerini yıkarak lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonlarını sonlandırdığı için, zincir kırıcı bir antioksidan olarak kabul edilmektedir (Johansen ve ark., 2005).

Glutasyon (GSH)

Glutasyon (GSH) en fazla ökaryotik hücrelerde bulunan, sistein içeren, düşük moleküler ağırlıklı bir tripeptittir (Şekil 6). Ayrıca çok fonksiyonlu enzimatik olmayan hücre içi bir antioksidandır (Valko ve ark., 2006).



Şekil 6. Glutasyon'un yapısı (Valko ve ark., 2006)

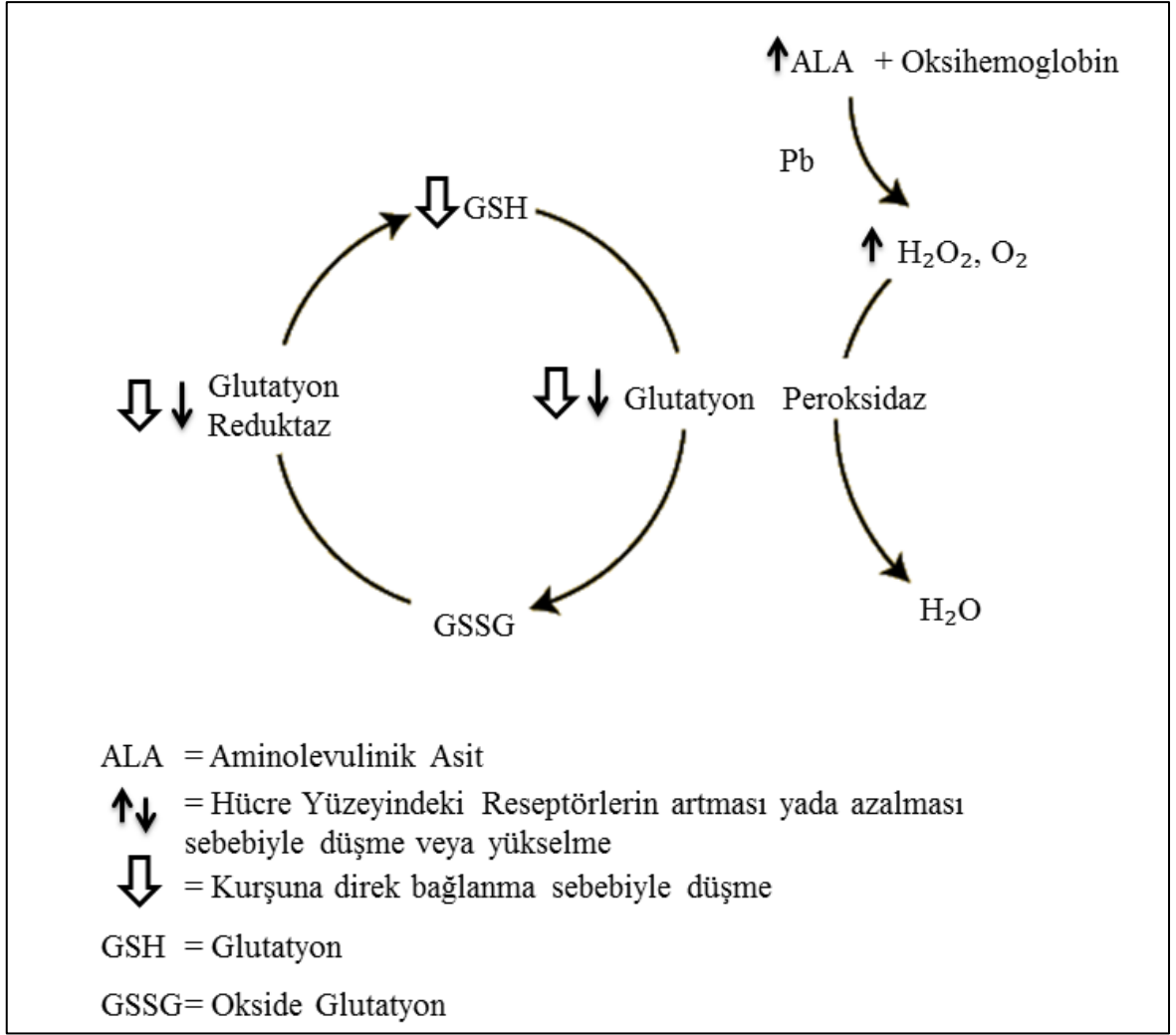
Doğada çok yaygın bulunan bu sülfürlü bileşik 1921 yılında Hopkins tarafından keşfedilmiştir. Önceleri glutamil-sisteinden oluşan bir dipeptid olarak bilinse de, 1929 yılında kristal halde elde edildikten sonra yapısının tripeptid olduğu anlaşılmıştır. 1935 yılında ise Harrington ve Mead tarafından L-glutamil-L-sistein-glisin halinde sentez edilmiştir (Gözükara, 2001). Glutasyonun oksidasyonu ile GSH-radikali (GS-) oluşur. GS diğer bir GS ile birleşir ve okside GSH (GSSG) oluşur, bu da NADPH bağımlı GSH-redüktazla GSH'a indirgenir. Glutasyon başta karaciğer olmak üzere pek çok dokuda, organizmanın tüm hücrelerinde yüksek konsantrasyonda bulunur.

Glutasyon oksidatif strese karşı savunmanın en önemli basamağını oluşturmaktadır (Ahmad ve ark., 2000). Suda çözünür bir antioksidan ve indirgeyici ajandır. Glutasyon transferaz gibi enzimlerin substratı veya ko-substratıdır (Meister, 1983). Glutasyon

peroksidazı katalize ederek lipid peroksidasyon ürünlerini temizler ve oksidatif zararın tamirinde yer alır. Vitamin E' ye doğrudan bağlı bir mekanizma ile radikallere doğrudan etki eder. Glutasyon, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Protein yapısındaki sülfidril (-SH) gruplarını indirgenmiş halde tutarak birçok proteinin ve enzimin inaktivasyonunu engeller. Hemoglobinin methemoglobine dönüşmesini engeller. Aminoasitlerin membrandan geçişini sağlar. Glutasyonun konsantrasyonu ve hücresel salınma hızı serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu oksidatif stresin bir göstergesidir (Halliwell, 1999).

Kurşun toksisitesinin etkilediği mekanizmalardan biri de glutatyondur. Kurşun metalinin GSH gibi sülfidril gruplara direk olarak bağlanma yeteneği vardır. Pb, GSH molekülünü inaktif hale getirerek antioksidan yada karaciğer metabolizmasında substrat görevi görmesini engeller (Christie ve Costa, 1984). Birçok literatür bilgisinde (hayvan ve insanlarda) kurşun toksisitesi sonucu kan ve doku GSH seviyelerinde kontrole göre anlamlı azalmalar rapor edilmiştir (Hsu, 1981; Hunaiti ve ark., 1995). Kurşun toksisitesi sonucu inhibe olduğu bilinen bazı enzimler vardır. Bunlar arasında en önemlileri; Süperoksit dismutaz (SOD), ALAD, Katalaz (CAT), Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) ve Glutasyon reduktaz (GR)'dir.

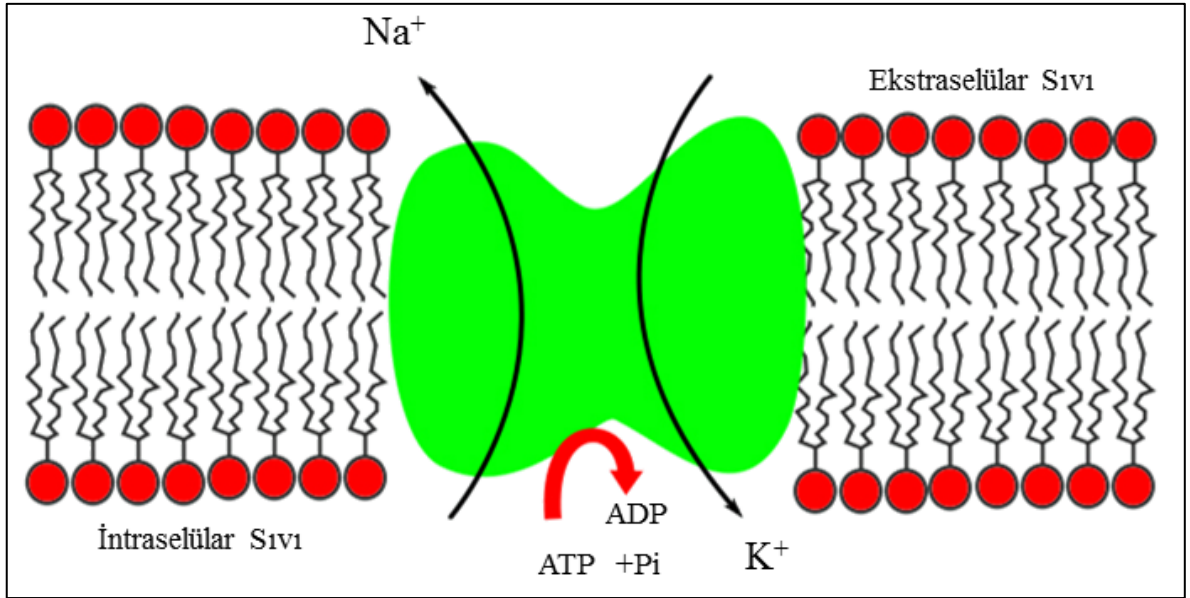
Okside formundan (GSSG) glutatyona (GSH) geri dönüşüm için sorumlu indirgenmiş form olan glutasyon reduktaz kurşun toksisitesi sonucu inhibe olur (Şekil 7) ve devre dışı kalarak görevini yapamayabilir (Sandhir ve ark., 1994).



Şekil 7. Kurşunun glutasyon mekanizmaları üzerine etkisi (Patrick, 2006)

1.3.Na⁺/K⁺-ATPaz Enzimi ve Önemi

Sucul ekosistemde balıklar var olan ağır metali besin, su ve vücut yüzeyinden absorbsiyon yoluyla deriden ve solungaçlarından alırlar. Balıklarda solungaç; gaz alış verişi, iyon (Na⁺, Cl⁻ ve Ca⁺²) taşınması, asit baz dengesi ve azotlu bileşiklerin atılmasında görev alan bir organdır. Solungaçlar, çift primer filament içeren sekonder lamellerin bulunduğu dört çift solungaç yayından oluşmuştur. Filament ve lameller, kan damarları ile desteklenen klorid hücreler ve mukus hücreleri gibi epitel hücreleri içermektedir. Böylece solungaç epitelyumu iyon taşınması ve gaz alış verişini kolaylaştırmak için dış ortamla etkileşecek geniş bir yüzey alanı sağlar (Atlı, 2009). Bunun yanında, yüksek damarlı yapıya sahip olması epitelyumu toksik maddeler için en önemli hedef haline getirmektedir (Wong ve ark., 1981; Garcia-Santos ve ark., 2006; Atlı, 2009). Metal toksisitesine maruz kalan balıkların solungaçlarında yapısal değişiklikler meydana gelebilir. Örneğin; aşırı mukus salgılanması, klorid ve filament hücrelerinde artış ve nekroz oluşumu görülebilir. Oluşan bu durum iyon regülasyonunu ve solunumu etkiler (Mallat, 1985). Solungaç epitelyum hücrelerinde bulunan Na⁺/K⁺-ATPaz enzimi balıklarda elektrolit taşınmasından sorumlu, osmotik dengenin sağlanmasını sağlayan en önemli enzimdir (Ay ve ark., 1999; Atlı, 2009).



Şekil 8. Na⁺/K⁺-ATPaz tarafından Na⁺ ve K⁺ iyonlarının taşınma mekanizmalarına ait şematik görüntü (www.wikipedia.com).

Na^+/K^+ -ATPaz enzimi üzerinde uzun süre çalışılmış ve ilk defa 1957'de Jens Skou tarafından sinir hücrelerinden izole edilmiştir (Skou, 1957; Xie ve Askari, 2002). Bu enzim aynı zamanda sodyum pompası olarak da bilinir. Na^+/K^+ -ATPaz enzimi, hemen hemen her dokuda bulunan ve hücre membranından Na^+ ile K^+ transferini gerçekleştiren bir proteindir (Şekil 8). Na^+/K^+ -ATPaz enzimi, ATP' den sağlanan enerjiyle gradiente karşı ekstrasellüler sıvıdan 2 K^+ iyonu, hücrelerden 3 Na^+ iyonu transportunu sağlamaktadır (Burtis ve ark., 1996).

Serbest oksijen radikalleri (ROS), Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesi için önemli potansiyel inhibitörlerdir. Bu radikaller lipid peroksidasyona sebep olmakta; bu da Na^+/K^+ -ATPaz etkinliğini olumsuz yönde etkilemektedir (Petronijevec ve ark., 2003). Balıklarda metal toksisitesine maruz bırakılarak yapılan çalışmalarda Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesinin metallere çok duyarlı olduğu ve inhibisyona uğrayabildiği belirtilmiştir (Watson ve Beamish, 1981; Ay ve ark., 1999; Atlı, 2009).

Bu çalışmada toksisitesi üzerine çalışılan kurşun, sucul ekosistem ve balıklar için gerekli bir element değil, aksine çok toksik bir ağır metaldir. Kurşun toksisitesinin balık fizyolojisi üzerine etkileri günümüze kadar yapılan bazı çalışmalarla belirlenmeye çalışılmıştır (Davies ve ark., 1976; Hodson, 1976; Hodson ve ark., 1977; Weber ve ark., 1991; Weber, 1993; Rogers ve ark., 2003). Fakat bu çalışmalar hem diğer metallere göre çok az, hem de kurşunun balıklarda oluşturabileceği oksidatif stres mekanizmalarını açıklamak için yeterli değildir. Bu bağlamda; bu çalışmada kurşunun tilapia fizyolojisi üzerine etkileri incelenerek, literatürdeki bu eksikliğin giderilmesine çalışılmıştır.

Balık eti, sindiriminin kolay olması, yüksek protein ve yağ içeriğine (omega 3 ve omega 6 doymamış yağ asitleri) sahip olması ayrıca vitamin (folik asit, A, D, E, K) ve mineraller (iyot, fosfor, selenyum) yönünden zengin olması sebebiyle mükemmel bir gıda kaynağıdır. Ağır metallere dolaylı sucul ekosistemde oluşacak herhangi bir olumsuz etki tüm canlılarla beraber balık ve balığı tüketen insan sağlığını da etkileyecektir. Metallerin balıklarda neden olabileceği muhtemel değişiklikleri belirlemek ve izlemek ekosistem geleceği ve sürdürülebilirliği açısından çok önemlidir. Bu çalışmada kurşunun (Pb) tilapia balığı üzerindeki toksisitesi, oluşturduğu oksidatif stres ve fizyolojik tepkilerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, balık dokularında (karaciğer, solungaç, beyin, kas, bağırsak) oksidatif stres göstergesi olarak Glutatyon (GSH) ve TBARS biyomakırları, osmoregülatif hasarı ortaya koymak için ise Na^+/K^+ -ATPaz enzimi kullanılmıştır. Aynı zamanda balıkta oluşan fizyolojik değişiklikleri, spesifik hasarları ve bağışıklık sistemi üzerine etkileri incelemek için kan parametre (hematolojik, biyokimyasal, immunolojik)

değişimleri takip edilmiştir. Ayrıca kurşun metalinin dokularda zamana ve konsantrasyona bağlı değişimlerini ortaya koyabilmek için karaciğer, solungaç, beyin, kas, bağırsak ve böbrek dokularında ağır metal birikimleri incelenmiştir.

BÖLÜM 2**ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR**

Atlı ve Canlı (2007), tilapia' yı (*Oreochromis niloticus*) 14 gün boyunca 0, 5, 10 ve 20 μM 'lık Cd, Pb, Cu ve Zn konsantrasyonlarına maruz bırakarak karaciğer, solungaç, bağırsak, kas ve kan dokusunda Glutasyon ve karaciğerde Metallothionein biyomarkırlarını incelemişlerdir. Çalışma sonucunda glutasyon seviyesinin tüm metal konsantrasyonlarında kan, kas ve solungaç dokusunda değişmezken karaciğerde önemli derecede artış gösterdiği (kurşun hariç), Metallothionein' in ise karaciğerde sadece kadmiyuma maruz bırakılan balıklarda arttığı rapor edilmektedir.

Hoyle ve ark. (2007), yaptıkları laboratuvar çalışmasında ılık su balıklarından Afrika yayın balığında (*Clarias gariepinus*) bakırın toksisitesini ve yaptığı oksidatif stresi belirlemek amacıyla Glutasyon, TBARS ve Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesini ve hematolojik parametreleri kullanmışlardır. Çalışma sonucunda; Glutasyon seviyesinin bağırsak örneklerinde kontrol grubuna oranla iki katına çıktığı ve karaciğer örneklerinde besin alımındaki azalmaya bağlı olarak glikojen azalmasının olduğu bildirilmiştir.

Federici ve ark. (2007), titanyum dioksit nanopartikülün (TiO_2 NPs) alabalık üzerine toksisitesini araştırdıkları çalışmalarında Na^+/K^+ -ATPaz, TBARS ve Glutasyon biyomarkırlarını incelemişlerdir. Çalışma sonucunda Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesinin solungaç ve bağırsakta önemli derecede azaldığı, TBARS düzeyinin beyin, solungaç ve bağırsakta konsantrasyona bağlı olarak arttığı ve Glutasyon seviyesinin solungaçta önemli derecede artış göstermesine rağmen beyin ve bağırsakta etkilenmediğini bildirmişlerdir.

Smith ve ark. (2007), karbon nanotübün (CNTs) alabalık üzerine toksisitesini araştırdıkları çalışmalarında Na^+/K^+ -ATPaz, TBARS ve Glutasyon biyomarkırlarını incelemişlerdir. Çalışma sonucunda Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesinin solungaç ve bağırsakta istatistiksel olarak önemli derecede arttığı, beyinde ise değişmediği bildirilmiştir. TBARS düzeyinin özellikle solungaç, beyin ve karaciğerde kontrol grubuna oranla önemli derecede azalma olduğu, GSH seviyesinin ise tüm konsantrasyonlarda aynı düzeyde kaldığı bildirilmiştir.

Işık (2007), yaptığı laboratuvar çalışmasında parathion metil ve diazinonun gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) solungaç, karaciğer ve kas dokularındaki lipid peroksidasyon (MDA) ve glutasyon (GSH) düzeyi ile antioksidan enzim aktiviteleri süperoksit dismutaz (SOD), glutasyon peroksidaz (GSH-Px), glutasyon -S- transferaz (GST), glutasyon redüktaz (GR) üzerine yaptığı etkileri araştırdığı çalışmasının sonucunda;

MDA düzeyinin arttığını, GSH düzeyinin azaldığını ve antioksidan enzim aktiviteleri düzeyleri üzerine farklı etkilere neden olduklarını gözlemlediğini bildirmiştir.

Bouskill ve ark. (2005), tatlısu omurgasızlarından zebra midye (*Dressiena polymorpha*) ve isopod (*Asellus aquaticus*) ile yaptıkları laboratuvar çalışmasında 100 µg L⁻¹ bakır ve 80 µg L⁻¹ arseniğe canlıları bir hafta boyunca maruz bırakarak, Metallothionin (MT) ve Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktiviteleri ile Glutasyon ve TBARS seviyeleri üzerine etkileri araştırmışlardır. Çalışma sonucunda bakıra maruz bırakılan her iki türde de MT seviyesinin 7 gün boyunca arttığı gözlemlenmiştir. Arseniğin TBARS üzerine herhangi bir etki yapmadığı sadece MT üzerine geçici bir etki yaptığı bildirilmiştir. Bu çalışmada Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesi *A.aquaticus* için 1.1 mmol Pi/mg/h ve *D.polymorpha* için 0.38 için mmol Pi/mg/h olarak bulunmuştur ve bu sonuçların bu türler için ilk veriler olduğu belirtilmiştir.

Tilapia balıkları (*Oreochromis mossambicus*)’nda monocrotophos uygulaması sonucu 30 gün sonunda alanine aminotransferaz ve aspartate aminotransferaz plazmada ve böbrekte artmış (p<0,001); karaciğer ve solungaçlarda ise azalmıştır (p<0,001). Bu durum dokularda oluşan hasarın göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Alkalın fosfataz ise plazma (p<0,001), solungaç ve böbrekte artarken karaciğerde azalmıştır (p<0,01). Glikojen miktarı ise beyin (p<0,01), solungaç ve karaciğerde düşmüştür (p<0,001). Laktat dehidrogenaz karaciğer ve kas dokusunda azalırken; beyin ve solungaçlarda artmıştır (p<0,001). Glutasyon (GSH) solungaç (p<0,001), karaciğer ve beyinde azalma göstermiştir (p<0,01). GSH azalması çevresel stresin biyogöstergesi olarak dikkate alınmış ve balıklarda kimyasal veya doğal kirleticilerin belirteci olduğu belirtilmiştir (Venkateswara, 2006).

Brown ve ark. (2003), denizel omurgasızlardan *Carcinus maenas*, *Patella vulgata* ve *Mytilus edulis* ile yaptıkları 7 günlük laboratuvar çalışmasında canlıları bakıra maruz bırakmışlar ve bakırın etkilerini belirlemek için moleküler, hücresel ve fizyolojik biyomarkırları ölçmüşlerdir. Çalışma sonucunda 3 tür içerisinde bakıra en hassas canlı *Patella vulgata* (6,1 µg Cu L⁻¹) olarak belirlenmiştir. En toleranslı tür ise *Mytilus edulis* (68,1 µg Cu L⁻¹)’dir. 3 tür içinde hücresel ve nörotoksik kanalların fizyolojik proseslerden (protein, kalp atışları gibi) daha hassas olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonucunda, uygun biyomarkırların kullanılmasıyla kirleticilerin canlılar üzerinde yaptığı stresin belirlenmesi için iyi bir uygulama olduğu ve bu yolla kirleticilerin organizmalara yapacağı zararların tahmin edilebileceği belirtilmiştir.

Gül ve ark. (2004), Seyhan Baraj Gölündeki sazanlarda (*Cyprinus carpio*) antioksidan sistemlerin kirlenmiş bölgelerle ilişkisini araştırmışlardır. Çalışmada CAT, G6PD, SOD, GST, MDA ve LDH aktivitesinin önemli derecede ortamdaki etkilendiğini bildirmişlerdir.

Ay ve ark. (1999), yaptıkları laboratuvar çalışmasında tilapia' yı bakır ve kurşun konsantrasyonlarına maruz bırakarak Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesi ve dokulardaki metal birikimini inceledikleri çalışmalarının sonucunda tilapia balığının solungaçlarındaki Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesinin konsantrasyona bağlı olarak 14 gün sonunda azaldığını bildirmişlerdir.

Oruç ve Üner (2002), yaptıkları laboratuvar çalışmasında; 2,4-D ve azinphosmethyl karışımını sazan balıkları üzerinde denemişler ve çalışma sonucunda Glutasyon S-transferaz (GST) aktivitesinin önemli derecede artış gösterdiğini, kirlilik çalışmalarında bu enzim aktivitesinin biyomarkır olarak kullanılabilceğini bildirmişlerdir.

Dellali ve ark. (2001), Bizerta Lagününde *Ruditapes decussatus* ve *Mytilus galloprovincialis*'de yaptıkları çalışmada ağır metal kirliliğini ortaya koyabilmek için asetilkolinesteraz aktivitesini kullanmışlar ve çalışma sonucunda kirli ortamdaki topladıkları canlılarda asetilkolinesteraz aktivitesinin daha düşük olduğunu gözlemlemişlerdir.

Ricciardi ve ark. (2005), Maggiore Gölünde asetilkolinesteraz (AChE) ve CYP450'yi biyomarkır olarak kullandıkları çalışmalarında zebra midyesi (*Dreissena polymorpha*) üzerinde kirliliğin etkilerini ortaya koymaya çalışmışlardır. Çalışma sonucunda kirliliğin AChE aktivitesini azalttığı belirtilmiştir.

Douhri ve Sayah (2008), Tangiers Körfezi'nde yaptıkları çalışmada denizel omurgasızlardan *Nereis diversicolor* ve *Patella vulgata*'da katalaz, esteraz, asetilkolinesteraz ve α -amylaz enzim aktivitelerini biyomarkır olarak kullanmışlar ve çalışma sonucunda ekosistem sağlığının bozulduğunu bildirmişlerdir.

Özmen ve ark. (2007), Sarıyar Baraj Gölünde yaptıkları çalışmada iki balık türünde (*Cyprinus carpio* ve *Capoeta tinca*) biyomarkırlardan ethoxyresorufin-O-deethylaz (EROD), glutasyon S-transferaz (GST), laktat dehidrogenaz (LDH), alkaline fosfat (ALP), alanin, aspartat amino transferaz (AST), brain asetilkolinesteraz ve karboksilesteraz aktivitelerine balıkların karaciğer dokularında bakmışlardır. Çalışma sonucunda ise enzim aktivitelerindeki değişikliklerin çevresel kirlilikle ilgili olduğu ve bu baraj gölünde kullanılan biyomarkırların çevresel risk değerlendirme programında kullanılmaya uygun oldukları belirtilmiştir.

Hamed ve ark. (2003), kirleticilere maruz kalan Nil nehrinin bazı bölgelerinden yakaladıkları tilapia (*Oreochromis niloticus*) balıklarında antioksidan enzim aktivitesi değişimlerini incelemişler ve çalışma sonucunda GST, GPx, GR aktivitelerinin kirli bölgelerdeki balıklarda kontroldekilere oranla daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Ay ve ark. (1999), *Tilapia zilli* balığını Cu ve Pb konsantrasyonlarına maruz bıraktıkları çalışmalarında dokularda (kas, karaciğer ve solungaç) metallerin birikim yaptığını, solungaç Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesinin ise hem Cu hem de Pb etkisinde inhibe olduğunu belirtmişlerdir.

Martinez ve ark. (2004), yaptıkları çalışmalarında *Prochilodus lineatus*' u 96 saat boyunca 24 ve 71 mg L⁻¹ kurşun konsantrasyonlarına maruz bırakmışlardır. Çalışma sonucunda kurşunun solungaç epitel hücrelerinde hiperplasiye, solungaç lamellerinde kopmalara neden olurken, Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesini inhibe ederek ozmoregülasyonda bozukluğa neden olduğunu bildirmişlerdir.

Johansson-Sjöbeck ve ark. (1979), farklı kurşun konsantrasyonlarına maruz bıraktıkları *Salmo gairdneri*'de 30 gün sonunda hematokrit ve hemoglobin düzeylerinde azalma, eritrosit, böbrek ve dalak δ Aminolevulinik asit dehidrataz aktivitesinde ciddi oranlarda inhibisyon tespit etmişlerdir.

Kuşatan (2004), yayın balığını (*Clarias lazera*) farklı kadmiyum konsantrasyonlarına maruz bıraktığı tez çalışmasında dokulardaki ağır metal birimini ve serumda Aspartat aminotransferaz (AST), Alanin aminotransferaz (ALT) ve glukoz düzeylerindeki değişimleri incelemiştir. Çalışma sonucunda metal birikimlerini sırasıyla böbrek > dalak > solungaç > karaciğer > kas şeklinde bulmuştur. Serum aminotransferaz ve glukoz düzeylerini ise metalin etkisinde başlangıçta değişim gösterirken etkide kalma süresi artınca değişimlerin ortadan kalktığını bildirmişlerdir.

Schmit ve ark. (2007), kurşun ve çinko madenlerinin bulunduğu Güney Missouri (Amerika) bölgesindeki üç balık türünde yaptıkları çalışmada (*Camptostoma oligolepis*, *Lepomis megalotis*, *Hypentelium nigricans*) balıkların karaciğer dokusunda Metallothionein indüksiyonunun çinkonun etkisinde arttığını ve kan düzeylerinin özellikle kurşun düzeyinin çok yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Ellsaesser ve Clem (1987), *Ictalurus nebulosus*' da normal ve akut strese kan serum kimyasının ölçümlerinde, serum bileşenlerinde ve serum elektrolitlerinde değişikliklerin meydana geldiğini tespit etmişlerdir.

Shah ve Altındağ (2005), kadife balığında (*Tinca tinca*) Pb, Cd ve Hg ağır metallerinin immünolojik parametrelere etkilerini araştırmışlar ve çalışma sonucunda Hg ve Cd etkisinde lökosit sayısında önemli derecede azalma olduğunu bildirmişlerdir.

Nussey ve ark. (1995), yaptıkları laboratuvar çalışmalarında tilapia'yı (*Oreochromis mossambicus*) 0,16 ve 0,4 mg L⁻¹ bakır konsantrasyonlarına maruz bırakmışlar ve çalışma sonucunda bakırın etkisinde kan hücrelerinin olumsuz etkilendiğini, osmoregülasyon ve hematolojik parametrelerde kontrole göre farklılıklar meydana geldiğini rapor etmişlerdir.

Allien (1993), tilapia'yı (*Oreochromis aureus*) 1 ve 7 günlük sürelerde Pb ve Cd ağır metallerin etkisine maruz bıraktığı çalışmasında hematolojik parametreler üzerine etkileri araştırmıştır. Çalışma sonucunda plazma osmolalitesini en duyarlı kan parametresi olarak belirtmiş ve kadmiyumun kurşuna oranla kan parametrelerinde daha toksik bir ağır metal olduğunu bildirmiştir.

Ruparelia ve ark. (1989), kurşun konsantrasyonlarına maruz bıraktıkları tilapia'da (*Oreochromis mossambicus*) biyokimyasal kan parametrelerini incelemiş ve kan plazma düzeylerindeki kolesterol düzeyinin kontrol grubuna oranla azaldığı rapor etmişlerdir.

Cyprinus carpio'da fenvalarate ve cypermethrinin sublethal dozlarının eritrosit sayısında, hemoglobin oranında, ortalama eritrosit hacmi ve ortalama eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonunda azalmaya, eritrosit başına düşen ortalama hemoglobinde ise artışa neden olmuştur (Reddy ve Bashamoiden, 1989).

Fırat (2007), yaptığı tez çalışmasında tilapia'yı (*Oreochromis niloticus*) Cd, Zn ve Cd+Zn konsantrasyonlarına maruz bırakmış ve kan dokusunda metal birikimi, fizyolojik ve biyokimyasal parametreleri araştırmıştır. Çalışma sonucunda tilapia'da Cd, Zn ve Cd+Zn karışımı kan ve serum parametrelerinde değişikliğe neden olmuştur. Maruz kalınan süre ve ortam derişiminin artmasıyla alyuvar, akyuvar, hematokrit, hemoglobin, kolesterol, trigliserid, Ca, Na ve Cl düzeyleri ile ChE aktivitesi azalmış, CAT, G6PD, kortizol, glukoz, total protein ve K düzeyleri artış göstermiştir. Kan parametreleri üzerine metallerin etkisinin konsantrasyonlarla doğru orantılı olarak arttığı ve bu etkinin sırasıyla Cd+Zn > Cd > Zn şeklinde olduğu bildirilmiştir.

Van Dyk ve ark. (2007), tilapia'da Cd+Zn karışımının etkisine 24 ve 672 saat süreyle baktıkları çalışmasında metal karışımının etkisinde karaciğerde histopatolojik değişiklikleri incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, histolojik değişikliklerin meydana geldiğini ve bunların hyanilizasyon, hepatositlerde vakuol oluşumu ve kan damarlarındaki aşırı kan akışı şeklinde olduğunu saptamışlardır.

Coimbra ve ark. (2007), 21 gün boyunca eldosülfan içeren yemlerle besledikleri tilapia balıklarında karaciğerde oluşan hasarı incelemişlerdir. Çalışma sonucunda endosülfanın; karaciğer hücrelerinden hepatositlerde tahribata yol açtığı, kan damarlarını saran zarlarda çatlaklar oluşturduğu ve melanomakrofajların bir araya toplanmasını arttırdığını bildirmişlerdir.

Çapkın ve ark. (2005), yaptıkları laboratuvar çalışmasında yavru alabalıkları değişik konsantrasyonlarda endosülfana maruz bırakmışlar ve 4 gün boyunca balıkta oluşan histopatolojik etkileri incelemişlerdir. Çalışma sonucunda endosülfana maruz bırakılan balıkların karaciğerlerinde merkezi şiddetli nekrozlara rastlanmıştır. Bu tip lezyonlara kontrol gruplarında rastlanmamıştır. Çalışma sonuçlarını alkalinite, sıcaklık ve balık büyüklüğünün etkilediği bildirilmiştir.

Sarma ve ark. (2009), $8,1 \mu\text{g L}^{-1}$ endosülfana maruz bıraktıkları *Channa punctatus*' ada yaptıkları 4 günlük laboratuvar çalışmasında farklı saatlerde (12, 24, 48, 72, 96) beyin dokusunda oluşan doku hasarlarını araştırmışlardır. Çalışma sonucunda beynin tepedeki lobunda orta dereceli nekroza rastlamışlardır. Çalışmada kullandıkları sublethal endosülfan dozunun balık metabolizmasını ve balık beyin dokusunu direkt etkileyebileceğini bildirmişlerdir.

Dai ve ark. (2008), farklı konsantrasyonlarda Pb ilave ettikleri yemlerle besledikleri tilapia balıkları dokularında kurşun birikimini, karaciğerde histopatolojik etkileri ve sindirim enzimlerine etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonunda kurşunun sırasıyla bağırsak, mide ve karaciğer dokusunda biriktiği, karaciğer dokusunda histopatolojik lezyonların oluştuğu ve dozlara bağlı olarak enzim aktivitelerinde inhibisyon meydana geldiği bildirilmiştir.

Alkahemal-Balawi ve ark. (2011), *Clarias gariepinus*' u sublethal kurşun asetat dozlarına maruz bıraktıkları çalışmalarında yüksek dozda eritrosit sayısı, hemoglobin ve hematokrit ALT, AST ve Ca^{+2} düzeylerinde azalmalar, Mg^{+} ve glukoz seviyelerinde ise artışlar tespit etmişlerdir.

Al-Attar (2007), yaptığı çalışmasında *O.niloticus*'u sublethal nikel konsantrasyonlarına bıraktıkları çalışmalarında nikel maruz bırakılan gruplarda kan serum klorür, sodyum ve osmolarite seviyelerinde azalma görülmüştür. Serum glukoz, kolesterol, toplam protein, albumin, amilaz, lipaz, ALT ve AST seviyelerinde kontrol gruplarına göre önemli derecede yükselme görülmüştür. Ayrıca balığın solungaç dokusunda hiperplazi ve hipertrofi bulguları görülmüştür.

Sublethal kurşun konsantrasyonlarına maruz bırakılan *Tinca tinca*'da kurşun etkisinin solungaçlarda neden olduğu hipoksik koşulların eritropoietik dokulardan eritrosit salınımını uyardığı ve bunun sonucunda hematokrit düzeyi ile eritrosit sayısını arttırdığı belirlenmiştir (Shah, 2006).

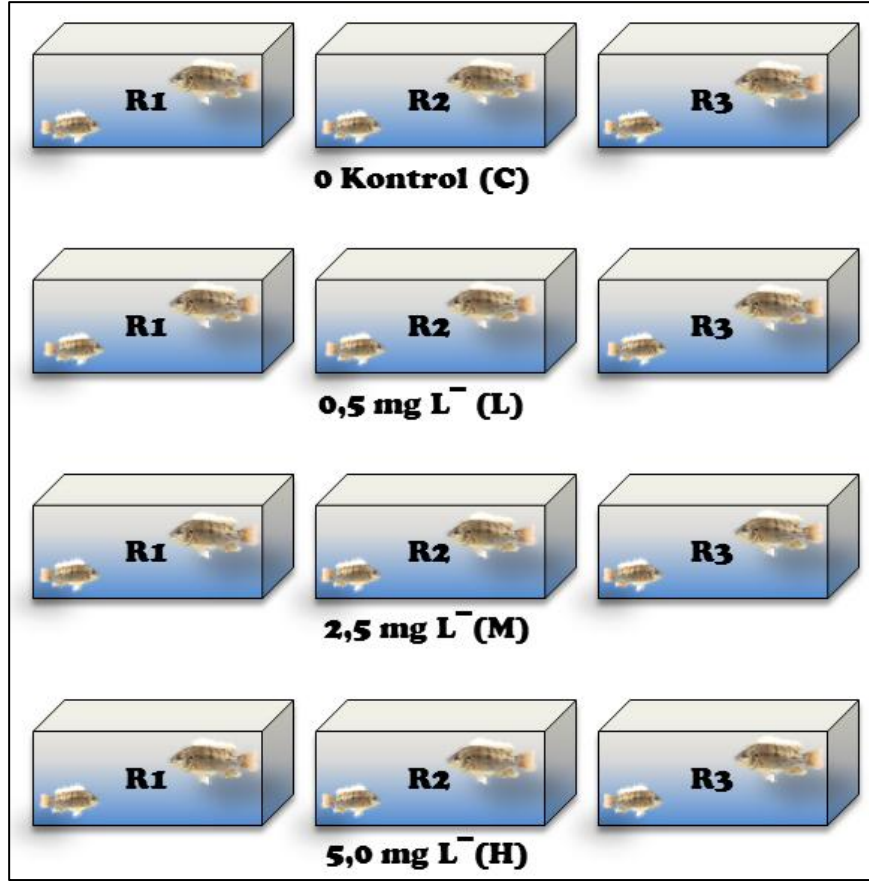
Serezli ve ark. (2011), yaptıkları bir araştırmada *Salmo coruhensis*' i 5 ve 10 mg L⁻¹ kurşun konsantrasyonlarına 3 saat süresince maruz bırakarak kan parametrelerinden hemoglobin, hematokrit, eritrosit sayısı, lökosit sayısı, AST, ALT, toplam protein ve eritrosit morfolojisini incelemişleridir. Çalışma sonucunda kurşunun; hematokrit, hemoglobin ve eritrosit sayısında artışa neden olduğu ALT ve AST enzim aktivitelerinde ise kontrol grubuna göre önemli fark görülmediği belirtilmiştir.

Tulasi ve ark. (1992), *Anabas testidunes* balığı dokularında kurşun birikimi ile ilgili yaptıkları bir araştırmada solungaç ve karaciğerde yüksek düzeyde kurşun birikimi belirlerken, kas dokusunda birikimin çok düşük olduğunu saptamışlardır.

Çoğun (2008), yaptığı doktora tez çalışmasında *C. carpio* ve *O. niloticus*'u sublethal bakır ve kurşun konsantrasyonlarına maruz bırakarak karaciğer, böbrek, solungaç ve kas dokularındaki metal birikimleri ile serum iyon düzeylerini incelemiştir. Çalışma sonucunda kurşun toksisitesine maruz bırakılan balıklarda en yüksek birikimin böbrek ve karaciğerde en az ise kas dokusunda olduğunu belirtmiştir. Ayrıca sublethal kurşun konsantrasyonlarına maruz bırakılan balıkların serum iyon düzeylerinin kurşun toksisitesinden etkilendiğini bildirmiştir.

BÖLÜM 3**MATERYAL VE YÖNTEM****3.1. Deneme Dizaynı**

Denemede kullanılan tilapia (*Oreochromis mossambicus*) balıkları (n=144) Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Bölümü Laboratuvarları'ndan temin edilerek her biri 45x28x80 cm boyutlarında içerisinde 80 L dinlenmiş Çanakkale İli çeşme suyu bulunan 12 stok akvaryumunda 3 ay boyunca ortam koşullarına adapte edilmiştir. Bu süre içerisinde balıklar 15,8±1,2 cm boy ve 45,2±5 g ağırlığa ulaşmışlardır. Balıklar laboratuvar koşullarına adaptasyon süresince hazırladığımız balık yemleriyle beslenmiştir (Çizelge 6). Çalışmada balıklar, 12 deneme akvaryuma her birinde 12'şer adet balık olacak şekilde bölünmüş ve üç tekerrürlü deneme dizaynı oluşturulmuştur (Şekil 9). Denemeler başlamadan 24 saat önce yemleme kesilmiş, deney süresince balıklar vücut ağırlıklarının %2'si kadar yem ile günde iki defa beslenmiştir. Denemede balıklar 14 gün boyunca kontrol (sadece dinlendirilmiş çeşme suyu), 0,5, 2,5 ve 5 mg L⁻¹ Pb(NO₃)₂ konsantrasyonlarına maruz bırakılmıştır. Konsantrasyonlar literatür bilgileri göz önünde bulundurularak belirlenmiştir (Ay ve ark., 1999). Deneme yarı-statik olarak dizayn edilmiş olup her gün suyun %75'i sabah, %25'i akşam olacak şekilde değişimi yapılmıştır. Her su değişiminden sonra aynı oranda Pb(NO₃)₂ çözeltisi su ile beraber akvaryumlara ilave edilmiştir (Smith ve ark., 2007). Denemede kullanılan dinlendirilmiş çeşme suyunun fiziko-kimyasal parametrelerinden sıcaklık ve çözünmüş oksijen YSI MPS 556 marka probla, pH ise HANNA C 200 (HI 83200) fotometre ile hergün ölçülmüştür. İki günde bir akvaryumlardan su alınarak analizleri yapılan toplam amonyak ve sertlik thermo aquamate marka VIS – spektrofotometre ile suyun elektrolit analizleri ise Varian Liberty Sequential marka ICP-OES ile ölçülmüştür. Değerler; sıcaklık 25,4±0,3 °C; çözünmüş oksijen 6,31±0,11 mg L⁻¹; pH 7,15±0,04; toplam sertlik 125±6,2 mg CaCO₃ L⁻¹, toplam amonyak 0,151±0,02 mg L⁻¹ dir. Kloru uçurulmuş Çanakkale İli çeşme suyu elektrolit kompozisyonu ise sırasıyla; Na⁺, K⁺, Mg⁺ ve Ca²⁺ için 0,31±0,005, 0,049±0,001, 0,534±0,001, 0,828±0,006 mmol L⁻¹ olarak ölçülmüştür. Denemede 0. gün (herhangi bir kimyasal uygulaması olmadan), 7. gün ve 14. günlerde olmak üzere üç defa örnekleme yapılmıştır. 0. günde her akvaryumdan birer balık (1x12), 7. günde her akvaryumdan beşer balık (5x12), 14. günde ise her akvaryumdan altışar balık (6x12) alınmıştır. Alınan balıklardan kan, biyomarkır ve dokuda ağır metal analizleri yapılmıştır. Tüm denemeler etik kurallara uygun olarak uzman kişiler tarafından gerçekleştirilmiştir.



Şekil 9. Deneme dizaynı

3.2. Deneme Balığı

Alem: Animalia

Şube : Chordata (Kordalılar)

Sınıf: Actinopterygii (Işınsal yüzgeçliler)

Takım: Perciformes

Familya: Cichlidae (Ciklitgiller)

Cins: *Tilapia*

Oreochromis mossambicus (Peters, 1852)

Ülkemizde su ürünleri yetiştiriciliğinin giderek önem kazanması, tatlı sularda alabalık, sazan, denizel ortamda çipura ve levrek dışında günümüzde farklı potansiyel balık türlerinin yetiştiriciliğini de öne çıkarmaktadır. Bu türlerden biriside tatlı su çipurası olarak da bilinen tilapia (*Oreochromis sp.*) balığıdır (Almeida ve ark., 2002). Dünyada 75 ülkede

yetiştiriciliği yapılan tilapia balıklarının üretiminin büyük kısmı Asya'da Çin ve Filipinlerde yapılmaktadır. Ülkemizde ise yetiştiricilik faaliyetleri Adana Devlet Su İşleri (DSİ) tarafından 1974 yılında Suriye'den getirilen tilapia balıkları ile başlamıştır.

Tilapia balıkları çevre koşullarına kolay adapte olması, lezzetli ve kısa sürede pazar boyuna ulaşabilmesi, besin maddelerini iyi değerlendirebilmesi nedeniyle üretimi rağbet görmeye başlamış balıklardandır (Almeida ve ark., 2002). Tilapia balığının çok kirli su ortamlarında yaşayabilmeleri, su kirliliği sorununun gittikçe arttığı ülkemizde bu balığın yetiştiriciliğini daha da önemli kılmaktadır.



Şekil 10. Denemede kullanılan tilapia (*Oreochromis mossambicus*) balığı (Orijinal)

3.3. Besleme Yemi

Besleme yemi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Bölümü Yem Laboratuvarı'nda hazırlanmıştır. Besleme yeminde kullanılan balık unu, soya küspesi, buğday unu, nişasta, balık yağı, vitamin ve mineraller ticari yem fabrikasından temin edilmiştir. Protein, yağ, kül, nem gibi besin madde analizleri yapılan hammaddelerden %35 protein ve %10 yağ içerecek besleme yem formülasyonu hazırlanmıştır (Çizelge 6). Yem yapımından önce bütün hammaddeler elenmiş, sonra öğütücüden geçirilmiştir. İlk olarak kuru maddeler daha sonra sıvı hammaddeler laboratuvar tipi yem karıştırıcısı kullanılarak homojen hale getirilmiştir. Homojen karışım, laboratuvar tipi kıyma makinesinden geçirilerek peletler elde edilmiştir. Elde edilen peletler hava sirkülasyonlu 40°C' lik kurutma kabiniinde yemlerin nemi % 10 oluncaya kadar kurutulmuştur.

Çizelge 6. Adaptasyon ve deneme süresince kullanılan yem hammadde miktarları ve besin madde içeriği (kuru madde, %)

Besleme Yemi Formülasyonu	
Yem Hammaddeleri	
Balık unu	33
Buğday unu	22
Soya küspesi	25
Balık yağı	6
Nişasta	10
Vitamin+Mineral	4
vd.	
Toplam	100
Yem Kimyasal Kompozisyonu	
Protein	35,83
Yağ	9,66
Kül	9,27
NFE	36,22

3.4. Pb(NO₃)₂ Çözeltisinin Hazırlanması ve Akvaryumlara Uygulanması

Denemede Merck marka (Darmstadt/Germany) Pb(NO₃)₂ ağır metal tuzu kullanılmıştır. Belirlenen konsantrasyonları hazırlamak için ultra saf su içerisinde ana stok çözelti hazırlanmış ve buradan da uygun seyreltmeler yapılarak deneme konsantrasyonları elde edilmiştir. Deneylerde Pb(NO₃)₂ çözeltisinin akvaryumlarda homojen dağılması ve akvaryum tabanına çökmesini önlemek amacıyla trisodyum sitrat dihidrat (C₆H₅Na₃O₇·2H₂O) çözeltisi kullanılmıştır.

3.5. Kan Örneklerinin Alınması ve İncelenmesinde Kullanılan Yöntemler

Denemede periyotlarında alınan balıklara MS222 ile anestezi uygulanmış (Smith ve ark., 2007), kana mukoza karışmaması amacıyla iyice kurulanıp temizlendikten sonra, 5 ml' lik plastik enjektörle kaudal venadan girilerek balığa zarar vermeden kan alınmıştır (Val ve ark., 1998). Alınan kan örnekleri K₃EDTA ve jelli serum tüplerine konularak hematolojik, biyokimyasal ve immünolojik analizleri yapılmıştır.

3.5.1 Hematolojik Analizler**3. 5.1.1. Eritrosit Sayımı (RBC)**

Eritrosit sayısının tespiti için yapılan seyreltme işlemlerinde eritrosit pipetleri kullanılmıştır (Conroy, 1972). Eritrosit pipetiyle 0,5 çizgisine kadar alınan taze kan, 101 çizgisine kadar Dacie' nin solüsyonuyla tamamlanarak 1/200 oranında sulandırılmıştır. İyiçe çalkalanan karışım, 1- 2 dakika boyanmaya bırakılmıştır. Homojenize olmamış ilk 4- 5 damla pipetten boşa akıtıldıktan sonra Neubauer tipi Thoma lamının kamerasına doldurulmuştur. Thoma lamı üzerinden mikroskopta 1/5 mm² ' lik alanda eritrosit sayılarak çıkan değer 10⁶ mm⁻³ cinsinden hesaplanmıştır (Blaxhall ve Daisley, 1973).

3.5.1.2. Lökosit Sayımı (WBC)

Lökosit sayısının tespiti için, total eritrosit sayısında kullanılan metodun aynısı uygulandıktan sonra 4 mm² lik alandaki lökosit sayılmış, sayının yetersiz olduğu durumlarda ise 9 mm² lik alan sayılmıştır. Bulunan sonuç 10³ mm⁻³ cinsinden hesaplanmıştır (Blaxhall ve Daisley, 1973).

3.5.1.3. Hemogloblin Miktarının Tayini (Hb)

Hemogloblin miktarının tayini için cyanomethomoglobin metodu kullanılmıştır (Blaxhall ve Daisley, 1973). Bu amaçla 20µl kan örneği 4 ml. Drabkins solüsyonu içine alınmış ve 10 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra spektrofotometrede (T80+ UV/VIS marka) 540 nm dalga boyunda örnekler okutulmuş ve sonuçlar g/dl olarak değerlendirilmiştir.

3.5.1.4. Hematokrit Seviyesinin Tespiti (Hct)

Hematokrit tayininde mikrohematokrit metodu uygulanmıştır. Hematokrit tüpleri kan ile doldurulmuş ve hematokrit santrifüjde 10500 devirde 5 dakika santrifüj edilmiştir. Daha sonra skala kullanılarak % hematokrit değer ölçülmüştür (Blaxhall ve Daisley, 1973).

3.5.1.5. Eritrosit İndeksleri**3.5.1.5.1. Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV)**

Ortalama eritrosit hacmi aşağıdaki formülden yararlanılarak hesaplanmıştır (Lewis ve ark., 2006). Hct: Hematokrit, RBC: Kırmızı Kan Hücre Sayısı

$$\text{MCV(fl)} = \text{Hct} \times 10 / \text{RBC} (10^6 \mu\text{L}^{-1})$$

3.5.1.5.2. Eritrosit Başına Düşen Ortalama Hemoglobin (MCH)

Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır (Lewis ve ark., 2006). Hb: Hemoglobin

$$\text{MCH (pg)} = [\text{Hb} (\text{g dL}^{-1}) \times 10] / \text{RBC} (10^6 \text{mm}^{-1})$$

3.5.1.5.3. Eritrosit Başına Düşen Ortalama Hemoglobin Konsantrasyonu (MCHC)

Eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu aşağıdaki formülden yararlanılarak hesaplanmıştır (Lewis ve ark., 2006).

$$\text{MCHC (g}^{-1}\text{)} = [\text{Hb} (\text{g dL}^{-1}) \times 10] / \text{Hct}$$

3.5.1.6. Periferik Yayma (Smear)

Lamın üzerine alınan bir miktar kan lamel yardımıyla yayılmış, oda sıcaklığında kurutulduktan sonra May-Grünwald-Giemsa boyama işlemlerine tabi tutulmuş ve daha sonra saf su ile yıkanarak kurutulmuştur.

Bu işlemi takiben immersiyon yağı kullanılarak 1000x büyütmede 100 lökosit hücresi sayılarak lökosit hücrelerinin (lenfosit, nötrofil, monosit) yüzde oranları belirlenmiştir (Blaxhall ve Daisley, 1973).

3.5.2. Biyokimyasal Analizler

Biyokimyasal analizler için alınan kan 4000 rpm devirde 10 dakika santrifüj edilip kan serumu ayrıldıktan sonra (Bricknell ve ark., 1999) çıkartılan serum analizleri kit (Bioanalytic marka) kullanılarak spektrofotometrede (T80+ UV/VIS marka) yapılmıştır. Denemede glikoz (GLİ), albumin (ALB), bilirubin (BLİ), toplam protein (TP), kreatinin (KRE), üre (ÜRE), ürik asit (ÜA), lipaz (LİP), trigliserit (TG), kolesterol (KOL), düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL), alkalen fosfataz (ALP), aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), kreatin kinaz (CK), laktat dehidrogenaz (LDH), kalsiyum

(Ca), magnezyum (Mg), demir (Fe), fosfor (P) ve klorür (Cl) biyokimyasal parametreleri belirlenmiştir.

3.5.3. İmmunolojik Analizler

3.5.3.1. Fagositik Aktivite

Fagositik aktivitenin tespit edilmesinde mikroskop sayım yönteminden yararlanılmıştır (Siwicki ve Anderson, 1993). Bu amaçla 0,1 ml kan örneği üzerine 0,1 ml aynı miktarda $2,5 \times 10^5$ *Escherichia coli* süspansiyonu eklenip, oda sıcaklığında 30 dakikalık inkübasyondan sonra lam üzerine sürtme preparat hazırlanmıştır. Preparatlar kuruduktan sonra 5 dakika etil alkol (%95) ile fikse edilmiş ve giemsa boyası ile 10 dakika boyanmışlardır. Ardından mikroskopta 1000X büyütmede 100 hücre sayılarak % fagositik aktivite ve % fagositik indeks hesaplanmıştır.

3.5.3.2. Nitroblue Tetrazolium (NBT) Aktivitesi

NBT analizleri için 100 µl kan örneği NBT solüsyonu eşliğinde 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Sonrasında bu çözeltiliden 50 µl alınarak N,N-dimetil formamid bulunan tüpe ilave edilmiştir. Devamında santrifüj edilen tüpler 1 ml'lik spektrofotometre küvetinde 540 nm dalga boyunda okunmuştur. NBT aktivitesi mg NBT formazan / ml olarak hesaplanmıştır (Siwicki ve Anderson, 1993).

3.5.3.3. Lizozim Aktivitesi

Lizozim aktivitesin tespit edilmesi için 100 µl serum örneği üzerine aynı oranda saf su ilave edilmiş ve bu karışıma *Micrococcus lysodeikticus* eklenerek 30. saniye ve 4.5 dakika sonra 530 nm okumalar gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar U/ml olarak hesaplanmıştır (Ellis, 1990).

3.5.3.4. Myeloperoksidaz Aktivitesi

Myeloperoksidaz aktivitesi literatürde bazı revizyonlar yapılarak kolorimetrik olarak tespit edilmiştir (Herzog ve Fahim, 1973). Analiz için 25 µl serum örneği içerisinde 3,3 diaminobenzidin (DAB, Sigma) bulunan 0,2 N sitrik asit/ disodyum hidrojen fosfat tampon çözeltisi ilave edilmiştir. Daha sonra bu çözeltiliye 5 µl H₂O₂ ilave edilerek reaksiyon başlatılmıştır. Spektrofotometre'de okumalar 465 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiş ve sonuçlar U L⁻¹ olarak değerlendirilmiştir.

3.6. Doku Homojenatlarının Biyomarkır Analizi İçin Hazırlanması

Örnekleme periyotları sonunda (0,7 ve 14.gün) balıklar akvaryumlardan alındıktan sonra MS 222 kimyasalı ile anestezi uygulanmıştır. Kan alınan balıklar havlu ile kurulandıktan sonra boy ve ağırlık ölçümleri yapılmıştır. Balıkların ortalama boy ($15,8\pm 1,2$ cm) ve ağırlıklarının ($45,2\pm 5$ g) farklı deneme grupları arasında istatistiksel olarak ayırım göstermediği gözlenmiştir ($p>0,05$). Steril diseksiyon aletleri kullanılarak balıkların solungaç, karaciğer, kas, bağırsak, beyin ve böbrek dokuları alınmış ve sıvı azot içerisinde dondurulmuştur. Alınan dokular homojenizasyon sağlanıncaya kadar -80 °C 'de saklanmıştır. Dokular 300 mmol L^{-1} Sukroz, $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ EDTA, 20 mmol L^{-1} HEPES (pH 7,8) içeren tampon çözelti ile 9500 rpm 'de Stuart (SHM1) marka homojenizatör ile birkaç dakika süreyle homojenize edilmiştir (Hoyle ve ark., 2007). Homojenize edilen örnekler analiz zamanına kadar -80 °C 'de saklanmıştır.

3.7. Biyomarkır Analizleri

3.7.1. Na^+/K^+ -ATPaz Enzim Aktivitesi

Sodyum-Potasyum Adenozin Trifosfataz aktivitesi ATP'den ayrılan inorganik fosfatın ölçülmesi esasına dayanarak yapılmıştır (Silva ve ark., 1977).

Deneyin Yapılışı

Standartların Hazırlanması

Standart stok solüsyonlar 10 mmol potasyum fosfat monobasic anhydrous (KH_2PO_4) kullanılarak $0, 0,25, 0,5, 1$ ve 2 olacak şekilde 2 ml 'lik ependorf tüplere aşağıda verildiği şekilde hazırlanmıştır.

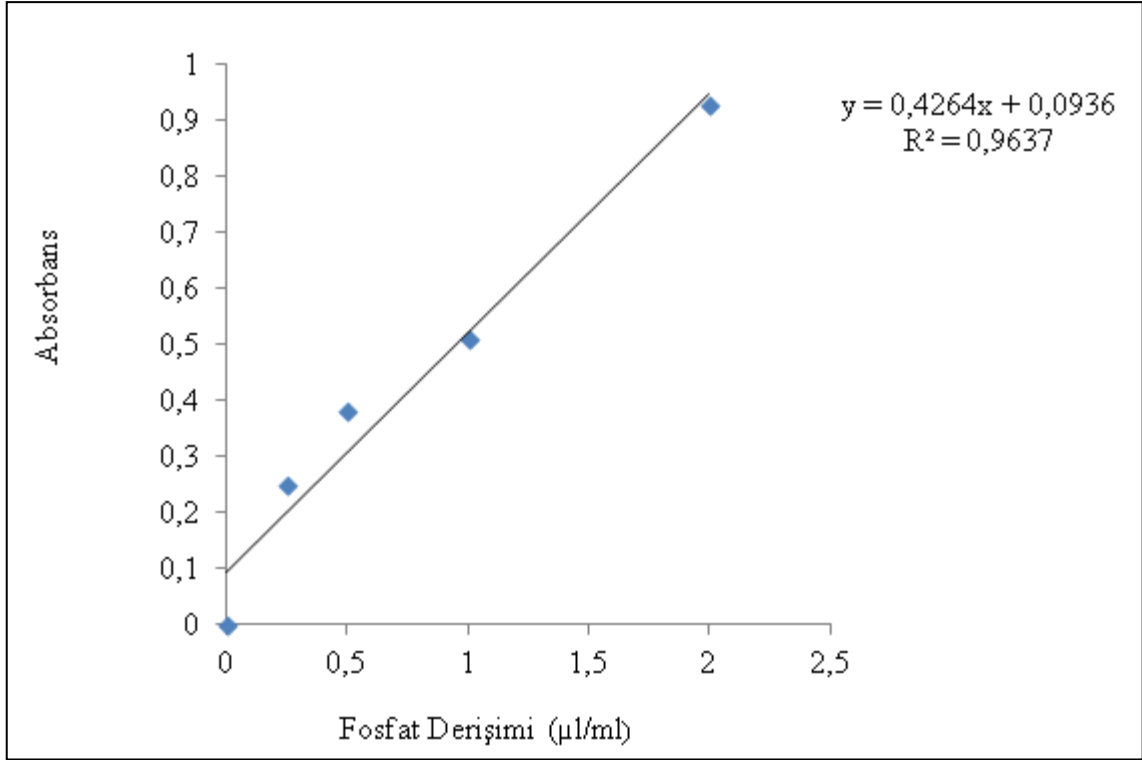
Standart 1 = (0) : 1 ml saf su

Standart 2 = (0,25) : $975 \mu\text{l}$ saf su + $25 \mu\text{l}$ fosfat çözeltisi

Standart 3 = (0,5) : $950 \mu\text{l}$ saf su + $50 \mu\text{l}$ fosfat çözeltisi

Standart 4 = (1) : $900 \mu\text{l}$ saf su + $100 \mu\text{l}$ fosfat çözeltisi

Standart 5 = (2) : $800 \mu\text{l}$ saf su + $200 \mu\text{l}$ fosfat çözeltisi



Şekil 11. Fosfat derişimi ve absorbans arasındaki doğrusal ilişki

Ayıracılar

Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesini belirlemek için kullanılan solüsyonlar üç ayrı basamakta hazırlanmıştır. Bunlardan ilki Potasyum içeren ve Potasyum yerine Ouabain içeren çözeltilerin hazırlanmasıdır (Çizelge 7).

Çizelge 7. Potasyum içeren ve potasyum içermeyen analiz çözeltileri

K^+ (Potasyum İçeren)	K^+ (Ouabain içeren)
NaCl (100 mmol l^{-1})	NaCl (100 mmol l^{-1})
MgCl ₂ .6H ₂ O (5 mmol l^{-1})	MgCl ₂ .6H ₂ O (5 mmol l^{-1})
KCl (10 mmol l^{-1})	Ouabain (1 mmol l^{-1})
Na ₂ ATP (1,25 mmol l^{-1})	Na ₂ ATP (1,25 mmol l^{-1})
Hepes (30 mmol l^{-1})	Hepes (30 mmol l^{-1})
pH 7,4 (2M Tris ile)	pH 7,4 (2M Tris ile)

Daha sonra reaksiyonu durdurmak için kullanılacak Trichloroacetic asit (Cl_3COOH) çözeltisi hazırlanmıştır (8,6g/100ml).

Son olarak ise renk çözeltisi hazırlanmıştır. Renk çözeltisi için 1,15 g amonyum molybdate tetrahydrate ($\text{NH}_4)_6\text{MO}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ tartıldı ve 0,66 M'lık sülfirik asit içerisinde çözdürülmüştür. Daha sonra üzerine 9,6 g demir (II) sülfat ($\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$) ilave edilmiş ve iyice çözüldükten sonra saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.

Deneyin Uygulanışı

Potasyum içeren solüsyondan 400 μl ve Quabain içeren solüsyondan 400 μl örnek sayısınınca tüplere konulmuştur. Bunların üzerine 15 μl homojenize edilmiş örnek koyulup karıştırılmış ve 10 dk su banyosunda 37 °C 'de bekletilmiştir. 10 dk geçip reaksiyon sona erdikten sonra ilk tüpe TSA eklenmiştir. Tüplere TSA ekledikten sonra her bir tüpe renk solüsyonundan 1 ml eklenmiş ve yeniden 10 dk. beklenmiştir. Sonra örnek küvete alınarak spektrofotometrede 660nm dalga boyunda okutulmuştur (Silva ve ark., 1977).

3.7.1.1. Dokularda Toplam Protein Analizi

Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesini protein içersindeki enzim olarak verebilmek için Bradford metodu ile balık dokularında protein analizi yapılmıştır (Bradford, 1976).

Prencip: Bradford metodu organik boyaların, proteinlerin asidik ve bazik grupları ile etkileşerek, renk oluşturmasını esas alır. Mavi rengin oluşmasında proteinin aminoasit bileşimi (özellikle arjinin gibi bazik aminoasitler ve aromatik aminoasitler) önemlidir. Yöntemde, protein 595 nm dalga boyunda maksimum absorbands verir.

Deneyin Yapılışı

Standartların Hazırlanması

Standart 1 = (0) : 1,5 ml saf su

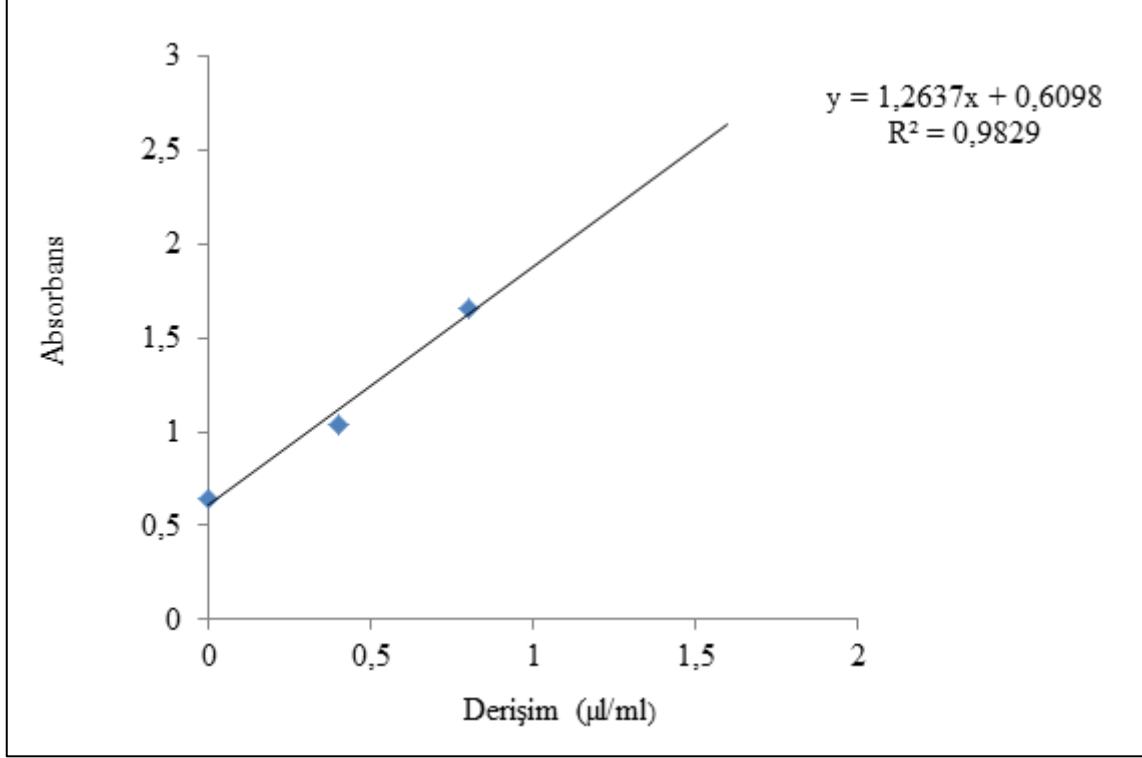
Standart 2 = (0,4) : 1,25 ml saf su + 0,25 ml stok sığır serum albumini

Standart 3 = (0,8) : 0,75 ml saf su + 0,75 ml stok sığır serum albumini

Standart 4 = (1,2) : 0,25 saf su + 1,25 ml stok sığır serum albumini

Standart 5 = (1,6) : 1,5 ml stok sığır serum albumini

Tilapia balığı dokularında toplam protein miktarını belirlemek için stok sığır serum albumini çözeltisinden uygun seyreltmeler yapılarak hazırlanan standart derişimlerine karşılık gelen absorbans değerleri aracığıyla çizilen standart eğride regresyon eşitliğı $y = 1,2637x + 0,6098$ olarak bulunmuştur (Şekil 12).



Şekil 12. Stok sığır albuminden (BSA) hazırlanan standart derişimler ve absorbans arasındaki doğrusal ilişki

Bradford reagent solüsyonundan 15 ml bir kaba alınmış ve üzeri 100 ml saf su ile tamamlanmıştır. Bu solüsyondan 2'şer ml tüplere alınmış ve üzerlerine her bir standarttan ve örnekten 40 µl koyulmuştur bundan sonra 10 dk oda sıcaklığında beklenmiş ve numuneler küvete alınarak spektrofotometrede 595 nm dalga boyunda okutulmuştur.

3.7.1.2. Na⁺/K⁺-ATPaz Enzim Aktivitesinin Hesaplanması

$$\text{Abs.} * 10 = A \quad (1.1)$$

$$\frac{A-0,6098}{1,2637} = B \text{ [protein] mg L}^{-1} \quad (1.2)$$

$$\frac{B}{1000} * 15 = C \text{ [protein] mg/ tüp} \quad (1.3)$$

$$\frac{K^+ \text{abs} - 0,0936}{0,4264} = D \text{ [Pi] } \mu\text{mol L}^{-1} \quad (1.4)$$

$$\frac{K^- \text{abs} - 0,0936}{0,4264} = E \text{ [Pi] } \mu\text{mol L}^{-1} \quad (1.5)$$

$$(D - E) * 0,4 = F \text{ [Pi] } \mu\text{mol L}^{-1} \quad (1.6)$$

$$\frac{F}{C} = G \text{ [Pi] } \mu\text{mol/mg protein/dk} \quad (1.7)$$

$$G * 60 = H \text{ [Pi] } \mu\text{mol/mg protein/sa} \quad (1.8)$$

3.7.2. Glutasyon Analizi (GSH)

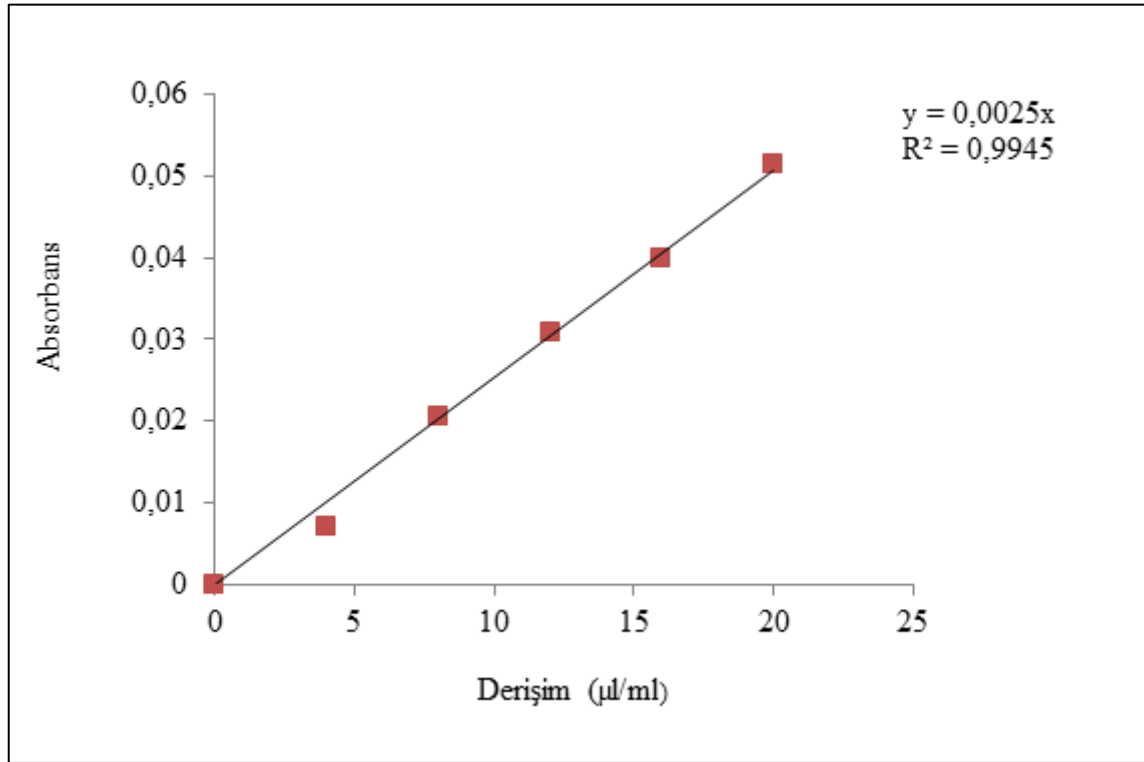
Prencip: Toplam Glutasyon miktarı, DTNB, NADPH ve GR varlığında enzimatik döngü prosedürü ile ölçülmektedir (Owens ve Belcher 1965). GSH; DTNB tarafından okside edilirken, ortamda bulunan GSSG ve diğer çözünür tiyol bileşikleri ile GSH'ın oluşturduğu disülfid bağlanmaları GR enzimi varlığında β-NADPH'ın indirgenmesi ile GSH'a dönüştürülmektedir. Meydana gelen sarı renkli 2-nitro-5-tiyobenzoik asidin absorbanı 412 nm'de ölçülmektedir. Elde edilen absorban değerleri standart GSH grafiği ile derişim değerlerine dönüştürülmektedir.

Deneyin Yapılışı**Standartların Hazırlanması**

İlk olarak 200 ml 2mM'lık GSH'ı indirgenmiş Glutasyon'u seyrelterek elde edilmiştir. İkinci olarak 2mM'lık GSH'dan 100 kat seyreltme yaparak 20μM GSH elde edilmiştir. Ayrı bir kapta analiz bufferi içerisinde 2 ml DTNB yapılmış ve sonra standartlar aşağıdaki tabloya göre hazırlanmıştır.

Çizelge 8: Glutasyon analizi standart stok solusyonların hazırlanması

Std.	A	B	C	D	E	F
20 μ M GSH (ml)	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
Saf su (ml)	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0
Buffer içinde DTNB (ml)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Toplam hacim (ml)	1	1	1	1	1	1



Şekil 13. İndirgenmiş Glutasyon'dan hazırlanan standart derişimler ve absorbans arasındaki doğrusal ilişki

Ayrıçlar

Çizelge 9: Glutasyon analizinde kullanılan kimyasallar ve hazırlanışları

Kimyasal	Analiz bufferı 100 ml	Buffer içersinde 10mM DTNB** 2 ml	2U/ml Glutasyon reduktaz* 2ml	3,63mM NADPH# 2ml
[100mM] potasyum fosfat[KH ₂ PO ₄]	1.361	-----	-----	-----
[5 mM] Potasyum EDTA	0,202g	-----	-----	-----
Saf su	100ml'ye tamamlanır	-----	-----	-----
2M KOH	Birkaç damla ile pH 7.5'e ayarlanır.	-----	-----	-----
Glutasyon Reduktaz	-----	-----	256 µl	-----
DTNB5,5'- dithiobis-(2- nitrobenzoicacid)	-----	0,008g	-----	-----
NADPH # β - C ₂₁ H ₂₆ N ₇ O ₁₇ P ₃ Na ₄	-----	-----	-----	0,006g
Analiz Buffer		2 ml	2 ml	2 ml

Not: * Buzdolabında tutulmalı **Hergün taze hazırlanmalı # -20° C'de tutulmalı

Deneyin Uygulanışı

Glutasyon analizi Thermo Scientific marka plaka okuyucu kullanılarak yapılmıştır. Bu bağlamda deneyde 96 kuyucuklu plakalar kullanılmıştır. Plakanın tüm kuyucuklarına ilk olarak 20 µl DNTB konulmuştur. Sonra ilk kuyucuklara 40'ar µl kör örnek (A1-3) ve standartlar (B,C,D,E,F 1-3) konulmuştur. Geriye kalan 78 kuyucuğa ise 26 balık örneğinden (26x3) 40'ar µl eklenmiştir. Daha sonra tüm kuyucukların üzerine 20 µl Glutasyon reduktaz ve 260 µl analiz bufferından ilave edilmiştir. Tüm kimyasallar dengelendikten sonra multipipetle (8 kanallı) reaksiyonu başlatan 20 µl NADPH ilave edilmiştir. Kinetik enzimin başlangıç ve bitiş aşamalarını gözlemleyebilmek için 10 dk boyunca her 10 sn' de bir okuma alınmıştır. Analiz sonuçları reaksiyonun durduğu noktadaki absorbanstan başladığı noktadaki absorbansın çıkarılması ile elde edilmiştir (Owens ve Belcher 1965). Aynı örneklerden protein analizinde yapılarak sonuçlar protein içerisindeki GSH olarak verilmiştir.

3.7.2.1. Glutasyon Seviyesinin Hesaplanması

$$\text{Abs.} \cdot 10 = A [\text{protein kons.}] \quad (2.1)$$

$$\frac{A-0.6098}{1.2637} = B [\text{protein}] \text{ mg L}^{-1} \quad (2.2)$$

$$00:52 \text{ sn} = [\text{abs}]C \quad (2.3)$$

$$04:32 \text{ sn} = [\text{abs}]D \quad (2.4)$$

$$D - C = [\mu\text{mol GSH}] \quad (2.5)$$

$$\frac{E}{0,0025} = F[\mu\text{mol GSH}] \quad (2.6)$$

$$\frac{F}{B} = G[\mu\text{mol protein} / \text{mg protein}] \quad (2.7)$$

3.7.3. Tiyoarbitirik Asitle Tepkimeye Giren Maddeler (TBARS)

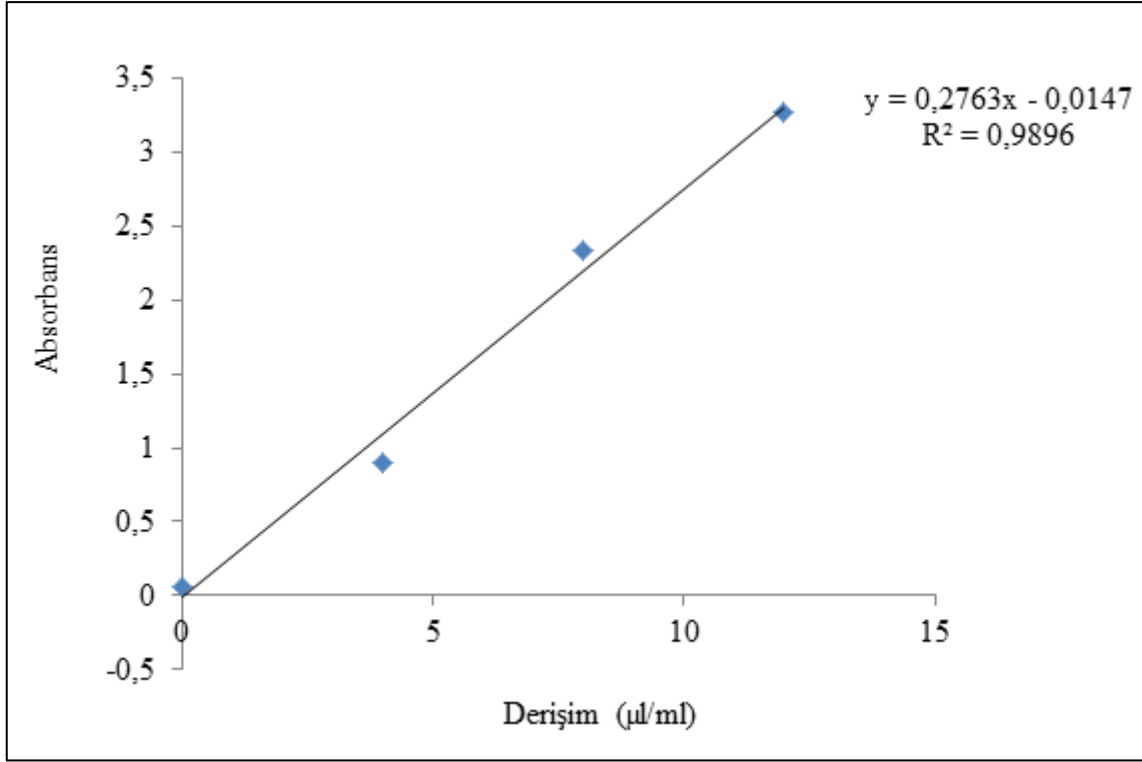
Prensip: İki molekül tiyoarbitirik asidin (TBA) bir molekül MDA ile asit ortamda reaksiyona girerek pembe renkli ürün oluşturması esasına dayanmaktadır. Oluşan bu bileşik 535 nm’de maksimum absorbands vermektedir (Camejo ve ark., 1998).

Deneyin Yapılışı**Standartların Hazırlanması**

Standartlar 1,1,3,3- Tetra exhoxy propane’dan gerekli seyreltmeler yapılarak hazırlanmıştır.

Çizelge 10. TBARS analizi standart stok solusyonların hazırlanması

Standart konsantrasyonu (μM)	0	0,5	5	10	15	25
TEP stok solüsyonu ($100\mu\text{M}$ ’lık)	0	5	50	100	150	250
Fosfat Buffer (μl)	100	995	950	900	850	750
Toplam hacim (μl)	1000	1000	1000	1000	1000	1000



Şekil 14. 1,1,3,3- Tetra exoxy propane'dan hazırlanan standart derişimler ve absorbans arasındaki doğrusal ilişki

Ayıraçlar

Fosfat Buffer;

Fosfat bufferı hazırlamak için 7,8005 g sodyum dihidrojen ortofosfat 400 ml saf su içersinde çözdürülmüştür. Üzerine bir kaç damla sodyum hidroksit ilave edilerek pH 7,5'e ayarlanır. pH 7,5 olduktan sonra üzeri 500 ml olacak kadar saf su ile tamamlanmıştır.

Ayıraç 2: 5 gr TCA katı çözültisi üzeri 10 ml olacak kadar saf su ilave edilerek ayrı bir kaba alınmıştır.

Ayıraç 3: 0,09 gr NaOH üzeri 30 ml olacak kadar saf su ilave edilerek ayrı bir behere alınmıştır.

Ayıraç 4: 0,13 gr TBA üzerini 10 ml olacak kadar NaOH içersinde çözdürülerek ayrı bir behere alınmıştır.

Ayıraç 5: 2,2 gr BHT 10 ml ethanol içersinde çözdürülerek ayrı bir behere alınmıştır.

Deneyin Uygulanışı:

TBARS analizi Thermo Scientific marka (96 kuyucuklu) plaka okuyucu kullanılarak yapılmıştır. Tüm çözeltiler hazırlandıktan sonra mikroparka içerisinde ilk önce her bir kuyucuğa 140 µl fosfat buffer koyulmuştur. Üzerine 50 µl TCA ilave edilmiştir. Bunların üzerine her bir standart ve örnekten 200 µl 3 tekerrürlü olmak üzere hücrelere koyulmuştur. Daha sonra 75 µl TBA ilave edildikten sonra mikroparkanın üzeri kapatılarak 60°C'de 1 saat etüvde inkübe edilmiştir. Sonra mikroparka okuyucusunda (Thermo scientific mikroparka reader) 530 nm dalga boyunda okutulmuştur. Sonuçlar aynı dokulardan protein analizi de yapılarak yorumlanmıştır.

3.7.3.1. TBARS Düzeyinin Hesaplanması

$$\text{Abs.} \cdot 10 = A [\text{protein kons.}] \quad (3.1)$$

$$\frac{A-0,6098}{1,2637} = B [\text{protein}] \text{mg L}^{-1} \quad (3.2)$$

$$\text{Abs.} \cdot 10 = C [\text{TBARS kon.}] \quad (3.3)$$

$$\frac{C+0,0147}{0,2763} = D \text{ nmol mL}^{-1} \quad (3.4)$$

$$\frac{D}{B} = E \text{ nmol/mg protein} \quad (3.5)$$

3.8. Metal Analizi

Toplam metal analizi için balık dokuları 2 gün boyunca 100 °C'de etüvde kurutulmaya bırakılmıştır. Bu süre sonunda balıkların kuru ağırlıkları saptanmıştır. Daha sonra örneklerin üzerine 5 ml nitrik asit ilave edilerek 2 saat boyunca 70 °C'de hot-plate üzerinde çeker ocak altında yakma yapılmıştır. Örneklerin tamamı homojen olarak yakıldıktan ve soğutulduktan sonra saf su ile 20 ml'ye tamamlanmıştır (Hoyle ve ark., 2007). Seyreltilen örnekler 45µ'luk şırınga filtreden geçirilerek süzme işlemine tabi tutulmuştur. Dokuların okumaları Varian Liberty Sequential marka ICP-OES cihazında gerçekleştirilmiştir.

3.8.1. Dokuda Ağır Metal Derişimlerinin Hesaplanması

$$\text{Sonuç}(\text{mg L}^{-1}) = \frac{\text{ICP} * 20}{(\text{Y.A}-\text{K.A})} \quad (4.1)$$

$$\text{ICP: ICP absorbans } (\text{mg L}^{-1}) \quad (4.2)$$

$$20: \text{Yakılan örneğin tamamlandığı miktar (ml)} \quad (4.3)$$

$$\text{Y.A: Yaş Ağırlık} \quad (4.4)$$

$$\text{K.A: Kuru Ağırlık} \quad (4.5)$$

3.9. İstatistiksel Değerlendirme

Denemede elde edilen verilerin istatistiksel analizleri Minitab 13 ve SPSS 17 istatistik programları kullanılarak yapılmıştır. Verilere tek yönlü, iki yönlü ve üç yönlü varyans analizi uygulanmış ve Mstat programında Duncan çoklu karşılaştırma testine tabi tutulmuşlardır. Gruplar arası farklar $p < 0,01$ ve $p < 0,05$ olarak değerlendirilmiştir (Logan, 2010).

BÖLÜM 4**ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA****4.1. Bulgular**

Bu çalışmada tilapia balığı (*Oreochromis mossambicus*) *in vivo* etkide kurşun konsantrasyonlarına (kontrol, 0,5 mg L⁻¹, 2,5 mg L⁻¹, 5 mg L⁻¹) 14 gün boyunca maruz bırakılmıştır. Çalışmada 0,7 ve 14. günlerde dokularda (solungaç, karaciğer, bağırsak, kas, beyin, böbrek) enzimatik olmayan antioksidanlardan glutatyon (GSH), lipid peroksidasyon göstergesi olan TBARS ve Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesi incelenmiştir. Aynı dokularda, zamana ve konsantrasyonlara bağlı olarak kurşun ağır metali birikimleri tespit edilmiştir. Ayrıca yine 0,7 ve 14. günlerde; hematolojik (hemoglobin, hematokrit, eritrosit sayısı, lökosit sayısı, ortalama eritrosit hacmi, eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin ve eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu); biyokimyasal (glikoz, albumin, bilirubin, toplam protein, kreatinin, üre, ürik asit, lipaz, trigliserit, kolesterol, düşük yoğunluklu lipoprotein, alkalin fosfataz, aspartat aminotransferaz, alanin aminotransferaz, kreatin kinaz, laktat dehidrogenaz, kalsiyum, magnezyum, demir, fosfor ve klorür); ve immunolojik (fagositik aktivite, fagositik indeks, NBT, lizozim aktivitesi ve myeloperoksidaz) kan parametre değişimleri takip edilmiştir.

4.1.1. Deneme Gözlemleri ve Bazı Otopsi Bulguları

Deneme Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi canlı kaynaklar ünitesinde gerçekleştirilmiştir. Deneme süresince kontrol grubunda herhangi bir ölüm gözlenmemiştir. Denemede, yüksek doza maruz bırakılan grupta iki adet balık ölümü olmuştur (farklı iki akvaryumda). Dozlar akvaryumlara uygulanmaya başlandıktan sonra deney süresince belirlenen gözlemler ve bazı otopsi bulguları aşağıdaki gibidir;

- 1. gün sonu: 0,5 mg L⁻¹ normal, 2,5 mg L⁻¹ normal, 5 mg L⁻¹ normal.
- 2. gün sonu: 0,5 mg L⁻¹ normal, 2,5 mg L⁻¹ normal, 5 mg L⁻¹ balıklar dipte toplanmış halde gözlendi.
- 3. gün sonu: 0,5 mg L⁻¹ normal, 2,5 mg L⁻¹ normal, 5 mg L⁻¹ balıklar dipte, yüksek dozdaki bazı balıkların yem alımında çok hafif azalma var.
- 4. gün sonu: 5 mg L⁻¹ olan dozda balıklarda kaçma hareketi gözlenmeye başladı.
- 7. gün: 5 mg L⁻¹ olan balıklarda yem alımı iyice azaldı. Balıklarda ağzın uzun süre açık kalması ve yan yüzme hareketleri gözlendi.

- 9. gün: 2,5 mg L⁻¹ olan orta dozda yem alımında ilk defa azalma gözlemlendi. 5 mg L⁻¹ olan yüksek dozdaki balıklarda kaçma ve saklanma hareketlerinde artış meydana geldi. Yüksek dozda bir balıkta ters yüzme görüldü.
- 10. gün: Yüksek dozda ters yüzme gösteren balık öldü.
- 13. gün: Yüksek dozda bir balık ölümü daha oldu. Orta dozdaki balıklarda da kaçma ve saklanma hareketleri başladı. Ayrıca orta dozda yem alımı da iyice azaldı.
- Ölen balıkların solungaçlarında kanama oluştuğu gözlemlendi.
- Denemenin son günlerinde (12. ve 14. günler) orta ve yüksek dozdaki bazı balıkların kuyruk yüzgeçlerinde beyazlaşma gözlemlendi.
- Balığın ödünün kontrolde açık yeşil renkte iken orta ve yüksek dozda 14. günde daha büyük ve koyu yeşil renkte olduğu gözlemlendi.
- Balığın solungaçlarında kontrolden yüksek doza doğru gittikçe artan bir solgunluk belirlendi.
- Orta ve yüksek dozda balıkların karaciğerlerinde belirgin bir renk açılması meydana geldi.
- Beyin, kas ve böbreklerde 14. günde kontrolden yüksek doza doğru gittikçe artan bir sararma gözlemlendi.

4.1.2. Biyomarkır Bulguları

4.1.2.1. Na⁺/K⁺-ATPaz Enzim Aktivitesi Bulguları

In vivo etkide kurşun konsantrasyonlarına (0; 0,5; 2,5; 5 mg L⁻¹) maruz bırakılan tilapia balığında 0, 7 ve 14. günlerde solungaç, karaciğer, bağırsak, kas, beyin ve böbrekte Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesi belirlenmiştir. Buna göre deneme başlangıcında kontrol grubu solungaç dokusunda Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesi 3,36 µmol Pi/mg prot./sa., karaciğer dokusunda 1,34 µmol Pi/mg prot./sa., bağırsak dokusunda 5,02 µmol Pi/mg prot./sa., kas dokusunda 2,43 µmol Pi/mg prot./sa., beyin dokusunda 12,82 µmol Pi/mg prot./sa. ve böbrekte 3,65 µmol Pi/mg prot./sa. olarak ölçülmüştür (Çizelge 11).

Üç yönlü varyans analiz sonuçları incelendiğinde (Çizelge11), dokuXkonsantrasyon, dokuXzaman, konsantrasyonXzaman ikili interaksiyon etkilerinin ve dokuXkonsantrasyonXzaman üçlü interaksiyon etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür (p<0,05). Dolayısıyla dokuların Na⁺/K⁺-ATPaz enzimi üzerine etkisi konsantrasyon ve zamana göre, konsantrasyonların Na⁺/K⁺-ATPaz enzimi üzerine etkisi dokulara ve zamana göre, zamanın Na⁺/K⁺-ATPaz enzimi üzerine etkisi konsantrasyon ve dokulara göre değişmektedir.

Tilapia balığı dokularında (solungaç, karaciğer, bağırsak, kas, beyin ve böbrek) kontrol grubunda zamana (0, 7 ve 14. günlerde) bağlı bir istatistiksel fark görülmemiştir (p>0,05).

Solungaç dokusunda düşük (0,5 mg L⁻¹), orta (2,5 mg L⁻¹) ve yüksek (5 mg L⁻¹) dozlarda Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesinin zamana ve konsantrasyonlara bağlı olarak önemli derecede azalma göstermiştir (p<0,05). Düşük dozda 7. günde ciddi bir azalma gösteren enzim aktivitesi 14. günde tekrardan bir artış göstermekle beraber bu artış da kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir azalmadır (Şekil 15). Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesinde en önemli düşüş yüksek dozda 14. günde gerçekleşmiştir (1,13 µmol Pi/mg prot./sa.).

Karaciğer dokusu Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesinde zamana ve konsantrasyonlara bağlı azalmalar meydana gelse de bu değişimler istatistiksel olarak önemli (p>0,05) bulunmamıştır (Şekil 16).

Bağırsak dokusu Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesinde 7. ve 14. günlerde orta ve yüksek konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli (p<0,05) derecede azalma görülmüştür (Şekil 17). Düşük dozda ise sadece 14. günde kontrole göre önemli derecede azalma saptanmıştır. Yüksek dozda 7 ve 14. günler arasında önemli bir fark gözlenmezken (p>0,05) orta dozda 14. günde 7. güne oranla istatistiksel olarak

önemli ($p<0,05$) derecede azalma görülmüştür (Çizelge 11). En düşük ölçülen değer 14.günde orta dozda $1,24 \mu\text{mol Pi/mg prot./sa.}$ 'dir.

Kas dokusu Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesinde 7. günde yüksek dozda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir artış gözlemlenirken ($p<0,05$), düşük ve orta dozda istatistiksel bir fark gözlenmemiştir ($p>0,05$). Yüksek dozda 7. günde Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesinde oluşan bu artış 14. günde istatistiksel olarak önemli bir azalışa ($p<0,05$) dönüşmüştür. Orta dozda 14. günde istatistiksel olarak önemli bir artış oluşurken düşük dozda 7 ve 14. günlerde herhangi bir istatistiksel fark görülmemiştir ($p>0,05$; Şekil 18).

Beyin dokusunda 7. günde düşük, orta ve yüksek dozda kontrol grubuna göre önemli bir azalma görülmüştür ($p<0,05$). 14. günde enzim aktivitesindeki azalmanın devam ettiği görülmüş olup en fazla azalma orta dozda, daha sonra düşük doz ve yüksek doz olarak sıralanmıştır (Şekil 19).

Böbrekte 7. günde düşük ve orta dozda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir azalma ($p<0,05$) görülürken, 14. günde düşük dozda önemli bir artış meydana gelmiştir ($p<0,05$). 7. günde kontrol grubuna göre orta dozda oluşan azalma 14. günde artmış ($p<0,05$) ve kontrol grubu seviyesiyle hemen hemen eşitlenmiştir. 14. günde yüksek doz grubunda kontrol grubuna göre önemli derecede artış ($p<0,05$) bulunmuştur (Şekil 20).

Çizelge 11. Na⁺/K⁺-ATPaz enzimi üç yönlü varyans analizi (Three Way Anova/ Duncan çoklu karşılaştırma testi)

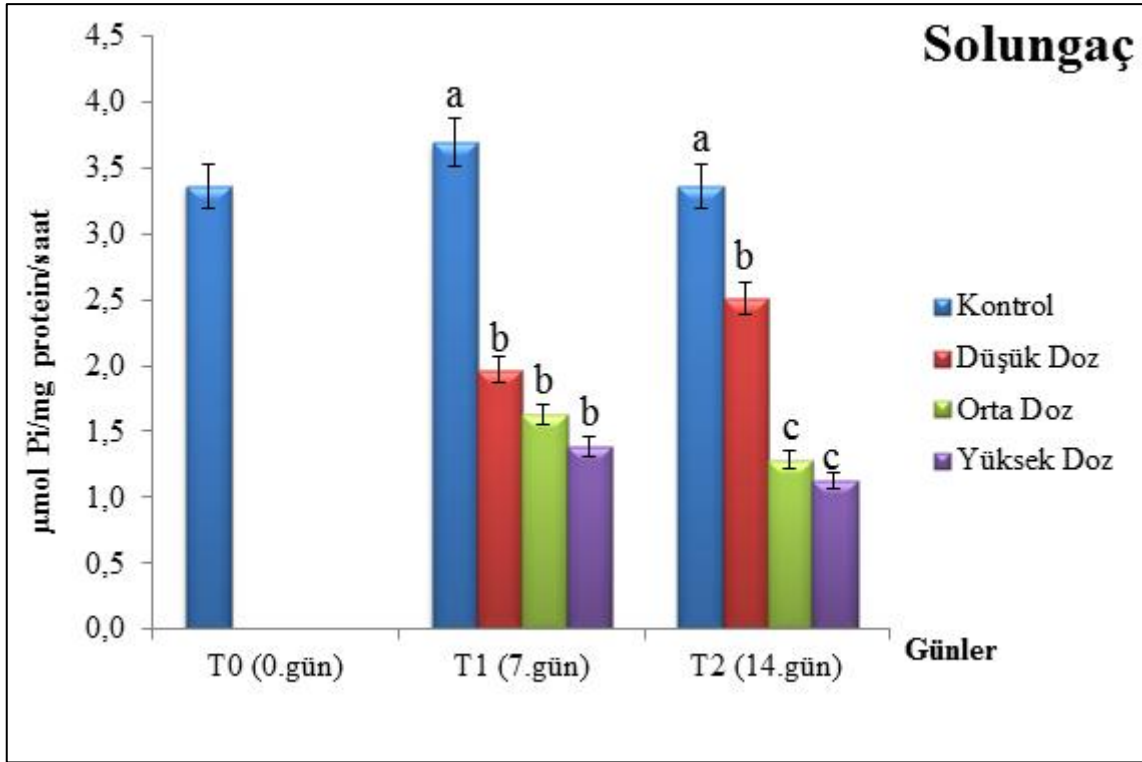
Na ⁺ /K ⁺ -ATPaz (µmol Pi/mg protein/saat)		Kontrol	0,5 mg L ⁻¹ (Düşük Doz)	2,5 mg L ⁻¹ (Orta Doz)	5 mg L ⁻¹ (Yüksek Doz)
Doku	Zaman	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$
Solungaç	T0 (0.gün)	3,36±0,16 AaIII	3,36±0,16 AaIII	3,36±0,16 AaIII	3,36±0,16 AaIII
	T1 (7.gün)	3,69±0,11 AaIII	1,97±0,41 BbIII	1,63±0,13 BbII-III	1,39±0,30 BbIII
	T2 (14.gün)	3,37±0,22 AaIII	2,51±0,21 BbII	1,29±0,10± CbIII-IV	1,13±0,12 CbIV
Karaciğer	T0 (0.gün)	1,34±0,26 AaV	1,34±0,26 AaV	1,34±0,26 AaV	1,34±0,26 AaV
	T1(7.gün)	1,28±0,21 AaV	1,09±0,18 AaIV	1,03±0,30 AaIII	0,78±0,12 AaIII
	T2 (14.gün)	1,30±0,20 AaV	0,85±0,04 AaIII	1,03±0,09 AaIV	1,18±0,10 AaIV
Bağırsak	T0 (0.gün)	5,02±0,17 AaII	5,02±0,17 AaII	5,02±0,17 AaII	5,02±0,17 AaII
	T1 (7.gün)	4,87±0,22 AaII	5,03±0,25 AaI	2,93±0,11 BcI	3,99±0,19 BbII
	T2 (14.gün)	5,24±0,17 AaII	3,93±0,41 BbI	1,24±0,05 CcIII-IV	3,42±0,23 BbIII
Kas	T0 (0.gün)	2,43±0,39 AaIV	2,43±0,39 AaIV	2,43±0,39 AbIV	2,43±0,39 AbIV
	T1 (7.gün)	2,18±0,20 BaIV	2,86±0,14 BaII	2,28±0,11 BbI-II	4,13±0,34 AaII
	T2 (14.gün)	2,24±0,20 BaIV	2,66±0,13 BaII	4,28±0,21 AaI	1,15±0,02 CcIV
Beyin	T0 (0.gün)	12,82±0,53 AaI	12,82±1,03 AaI	12,82±1,03 AaI	12,82±1,03 AaI
	T1 (7.gün)	10,88±0,50 AaI	5,12±0,31 BbI	2,81±0,28 CbI	5,76±0,24 BbI
	T2 (14.gün)	12,21±0,42 AaI	2,88±0,12 CcII	1,81±0,18 DcIII	6,20±0,45 BbI
Böbrek	T0 (0.gün)	3,65±0,17 AaIII	3,65±0,17 AaIII	3,65±0,17 AaIII	3,65±0,17 AaIII
	T1 (7.gün)	3,62±0,16 AaIII	1,85±0,25 BbIII	1,41±0,14 BbIII	3,49±0,46 AaII
	T2 (14.gün)	3,32±0,26 BaIII	4,09±0,46 AaI	3,41±0,34 BaII	4,17±0,55 AaII

n=6, ortalama± standart hata, verilere logaritmik transformasyon uygulanmıştır.

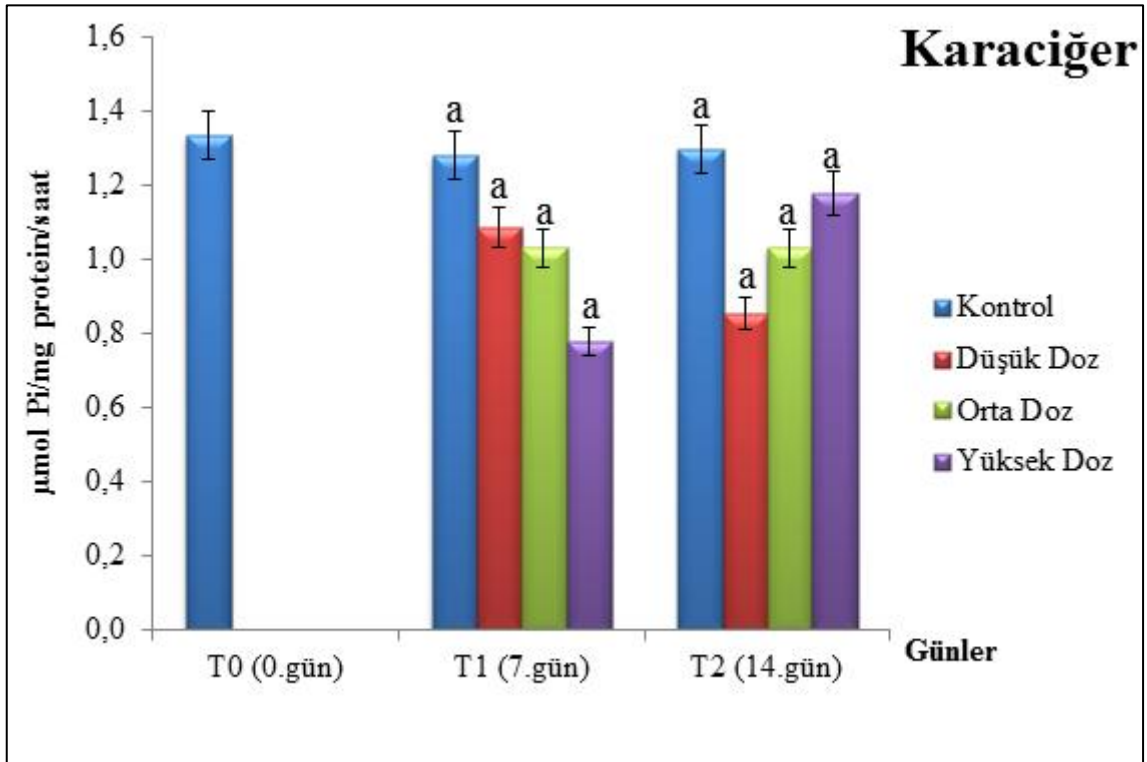
Not 1: Aynı doku ve konsantrasyonda farklı büyük harflerle gösterilen zaman ortalamaları arasındaki farklar önemlidir (p<0,05).

Not 2: Aynı doku ve zamanda farklı küçük harflerle gösterilen konsantrasyon ortalamaları arasındaki farklar önemlidir (p<0,05).

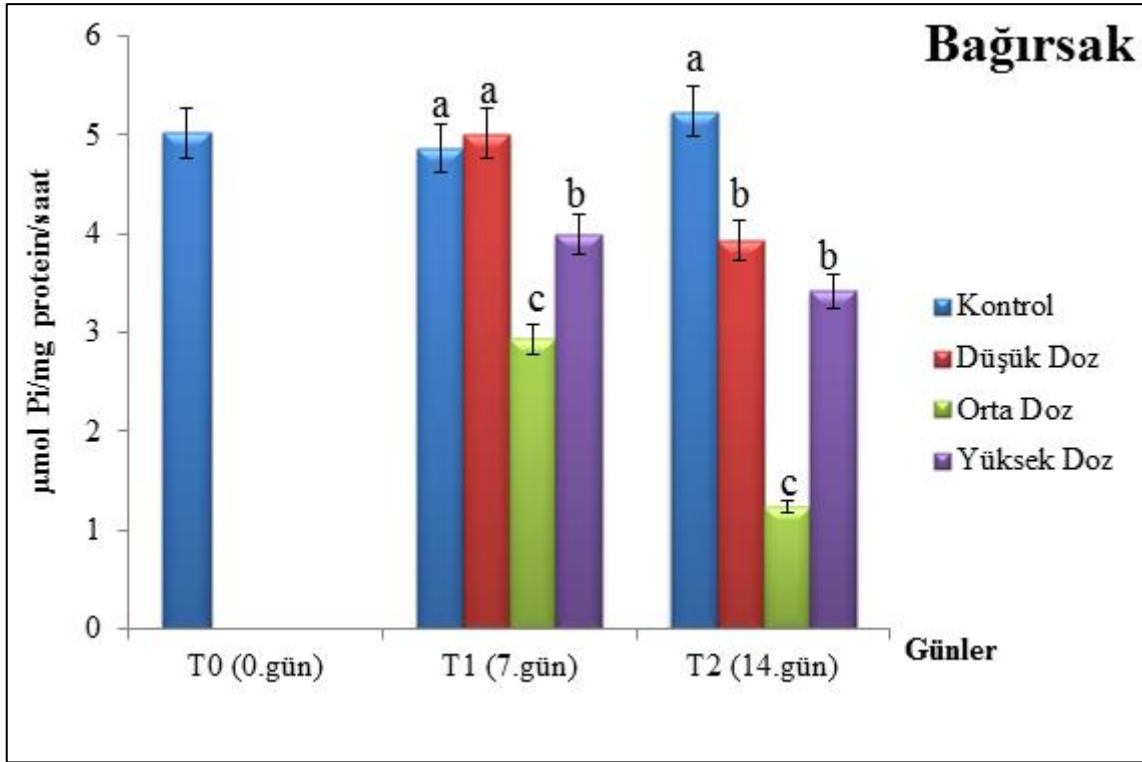
Not 3: Aynı zaman ve konsantrasyonda farklı roma rakamları ile gösterilen doku ortalamaları arasındaki farklar önemlidir (p<0,05).



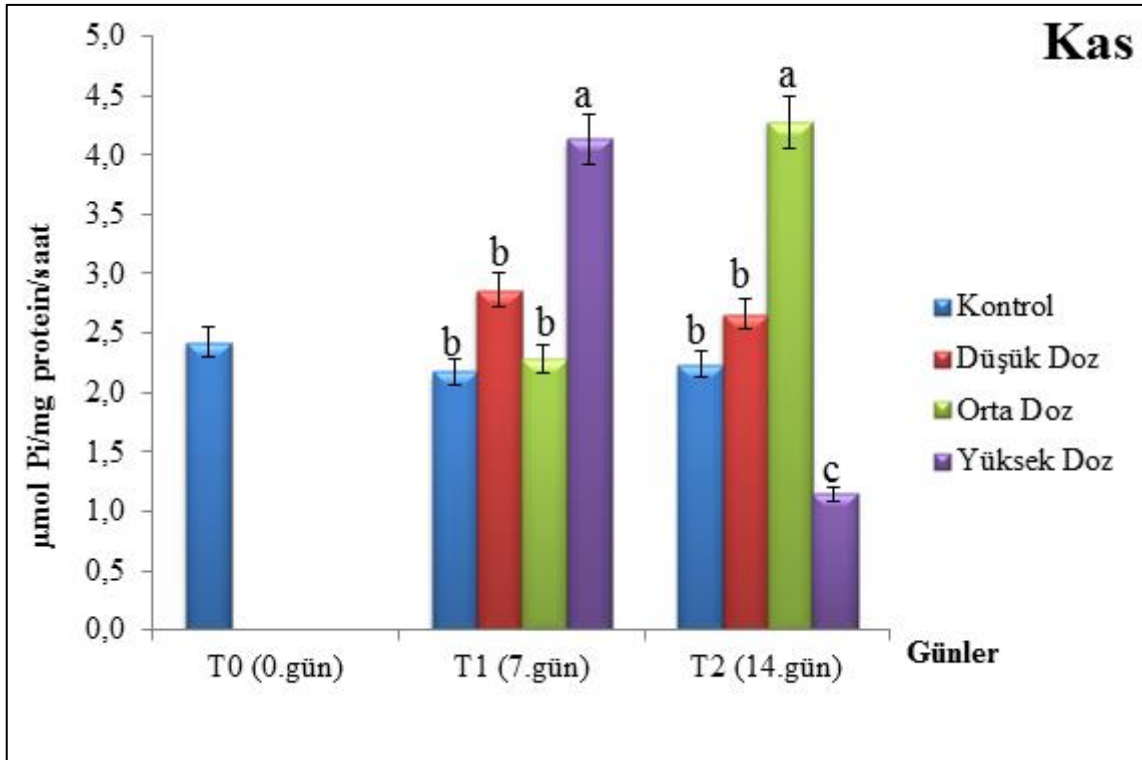
Şekil 15: Solungaç dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesi değişimi



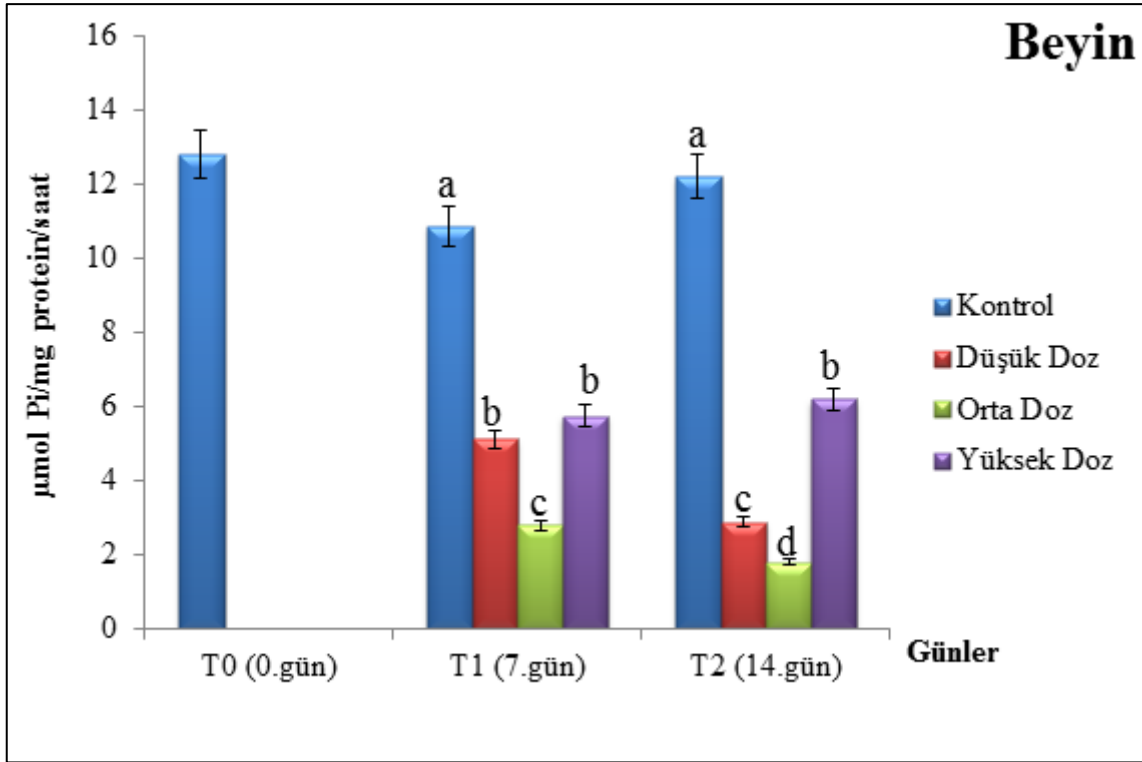
Şekil 16: Karaciğer dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesi değişimi



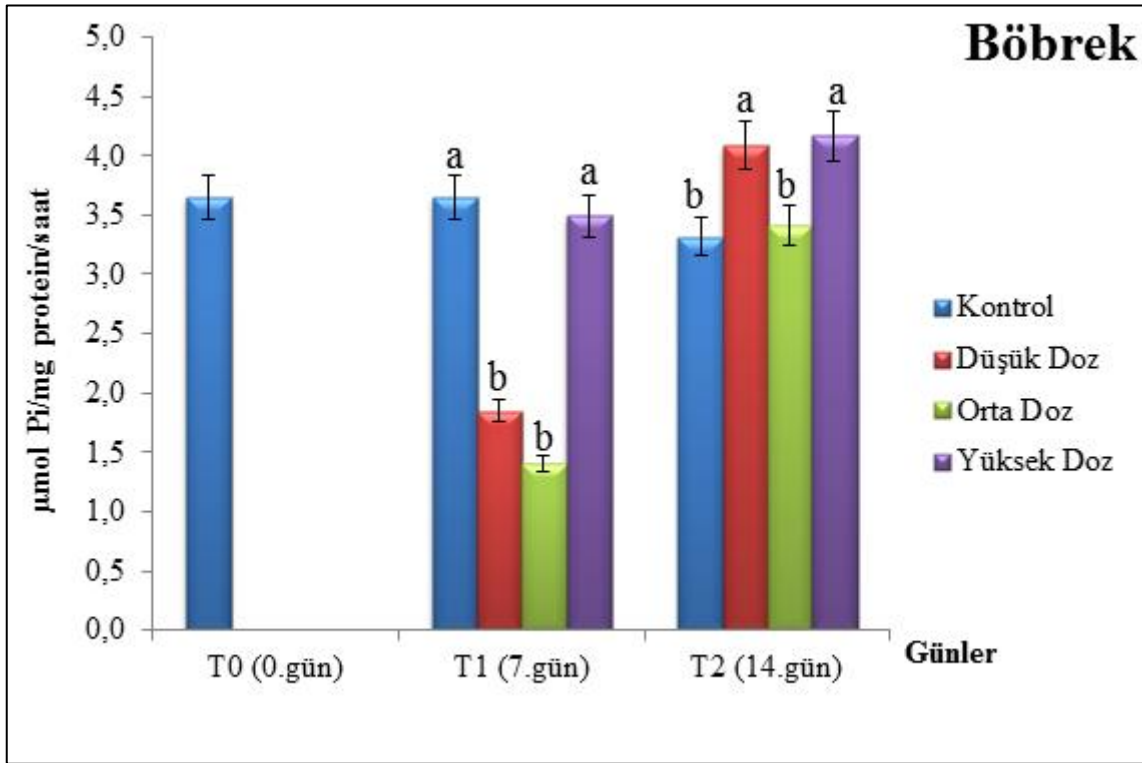
Şekil 17: Bağırsak dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesi değişimi



Şekil 18: Kas dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesi değişimi



Şekil 19: Beyin dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesi değişimi



Şekil 20: Böbrek dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesi değişimi

4.1.2.2. Glutasyon (GSH) Bulguları

Oreochromis mossambicus'da denenen konsantrasyonlar ve sürelerde sublethal kurşun derişimlerinin balık dokularında GSH düzeyine etkileri Çizelge 12'de verilmiştir. 0. günde tüm balıklar kontrol grubu gibi kabul edilmiş ve dokularda ölçülen GSH seviyeleri sırasıyla; solungaçta 5,63 $\mu\text{mol GSH g protein}^{-1}$, karaciğerde 4,97 $\mu\text{mol GSH g protein}^{-1}$, bağırsakta 8,15 $\mu\text{mol GSH g protein}^{-1}$, kasta 6,65 $\mu\text{mol GSH g protein}^{-1}$, beyinde 5,76 $\mu\text{mol GSH g protein}^{-1}$ ve böbrekte 3,22 $\mu\text{mol GSH g protein}^{-1}$ olarak tespit edilmiştir.

Üç yönlü varyans analiz sonuçları incelendiğinde (Çizelge 12), dokuXkonsantrasyon, dokuXzaman, konsantrasyonXzaman ikili interaksiyon etkilerinin ve dokuXkonsantrasyonXzaman üçlü interaksiyon etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Dolayısıyla dokuların GSH seviyesi üzerine etkisi konsantrasyon ve zamana göre, konsantrasyonların GSH seviyesi üzerine etkisi dokulara ve zamana göre, zamanın GSH seviyesi üzerine etkisi konsantrasyon ve dokulara göre değişmektedir.

Tilapia balığı dokularında (solungaç, karaciğer, bağırsak, kas, beyin ve böbrek) kontrol grubunda GSH seviyesi üzerinde zamana (0,7 ve 14. günlerde) bağlı bir istatistiksel fark görülmemiştir ($p>0,05$).

Deneme süreleri göz önüne alındığında; solungaç dokusunda düşük doz GSH seviyesinde 7 ve 14. günlerde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir artış meydana gelmiştir ($p<0,05$). Orta dozda 7. günde GSH seviyesinde önemli bir artış ($p<0,05$) meydana gelirken, 14. günde bu artış negatif yönde olmuş ve istatistiksel açıdan önemli bir azalma görülmüştür ($p<0,05$). Bununla beraber 7. günde artan yüksek doz GSH seviyesi 14. günde istatistiksel olarak önemli derece düşüş ($p<0,05$) göstermiştir (Şekil 21).

Karaciğer dokusu GSH seviyesinde düşük dozda 7. ve 14. günlerde kontrol grubuna göre önemli bir artma ($p<0,05$) gözlenmiştir (Şekil 22). Orta dozda 7. günde kontrol grubuna göre istatistiksel bir fark gözlenmezken, 14. günde önemli bir artış meydana gelmiştir ($p<0,05$). Yüksek dozda kontrol grubuna göre 7. günde istatistiksel olarak önemli bir azalma ($p<0,05$) görülürken, 14. günde ise istatistiksel olarak önemli bir artma belirlenmiştir ($p<0,05$).

GSH seviyesi bağırsak dokusunda zamana ve konsantrasyonlara bağlı olarak önemli azalma ve artmalar göstermiştir (Şekil 23). Zamana bağlı olarak 7. günde düşük ve orta dozda önemli derecede azalma ($p<0,05$) gösteren GSH, yüksek dozda önemli derecede artma göstermiştir ($p<0,05$). GSH seviyesi 14. günde ise genel olarak bağırsak dokusunda istatistiksel olarak azalma göstermiştir. Bu azalma sırasıyla en fazla yüksek doz, sonra düşük doz ve en az orta doz şeklinde olmuştur ($p<0,05$). GSH seviyesi yüksek dozda 7.

günde kontrol grubuna göre önemli derecede artma gösterirken, 14. günde azalma göstermiştir ($p<0,05$).

GSH seviyesi kas dokusunda da konsantrasyona ve zamana bağlı olarak önemli derecede artma ve azalma ($p<0,05$) göstermiştir (Şekil 24). Düşük dozda (7. günde) kontrol grubuna göre önce artma sonra azalma (14. gün) görülmüştür ($p<0,05$). Orta dozda 7. günde kontrole göre istatistiksel bir artış olurken ($p<0,05$), 14. günde kontrol grubuna göre istatistiksel bir fark görülmemiştir ($p>0,05$). Yüksek dozda 7. günde kontrole göre bir fark yok iken 14. günde istatistiksel olarak önemli bir artma gözlenmiştir ($p<0,05$).

Beyin dokusunda GSH seviyesinde 7. günde her üç dozda da (0,5; 2,5; 5 mg L⁻¹) istatistiksel olarak önemli artışlar görülmüştür ($p<0,05$). Bununla beraber en fazla artış 12,88 $\mu\text{mol GSH g protein}^{-1}$ ile düşük dozda saptanmıştır. Bunu 11,82 $\mu\text{mol GSH g protein}^{-1}$ ile yüksek doz ve 9,68 $\mu\text{mol GSH g protein}^{-1}$ ile orta doz izlemiştir. 7. günün aksine 14. günde düşük ve orta dozda kontrole göre istatistiksel olarak önemli derecede azalma saptanmıştır ($p<0,05$). Yine en ciddi azalma 2,88 $\mu\text{mol GSH g protein}^{-1}$ ile düşük dozda görülmüştür. Düşük ve orta dozun aksine yüksek dozda 14. günde kontrol grubuna göre önemli derecede artma ($p<0,05$) tespit edilmiştir (Şekil 25).

Böbrek dokusu GSH seviyesinde 7. günde düşük dozda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir artma ($p<0,05$) görülürken, yüksek dozda istatistiksel olarak önemli bir azalma tespit edilmiştir ($p<0,05$). 14. günde ise tüm dozlarda kontrol grubuna göre önemli derecede artmalar görülmüştür ($p<0,05$). Bu artışlar sırasıyla; 14,3 $\mu\text{mol GSH g protein}^{-1}$ ile en yüksek orta dozda, daha sonra ise 11,73 $\mu\text{mol GSH g protein}^{-1}$ ile yüksek doz ve 6,62 $\mu\text{mol GSH g protein}^{-1}$ ile düşük dozda olmuştur (Şekil 26).

Çizelge 12. Glutasyon seviyesi üç yönlü varyans analizi (Three Way Anova/ Duncan çoklu karşılaştırma testi)

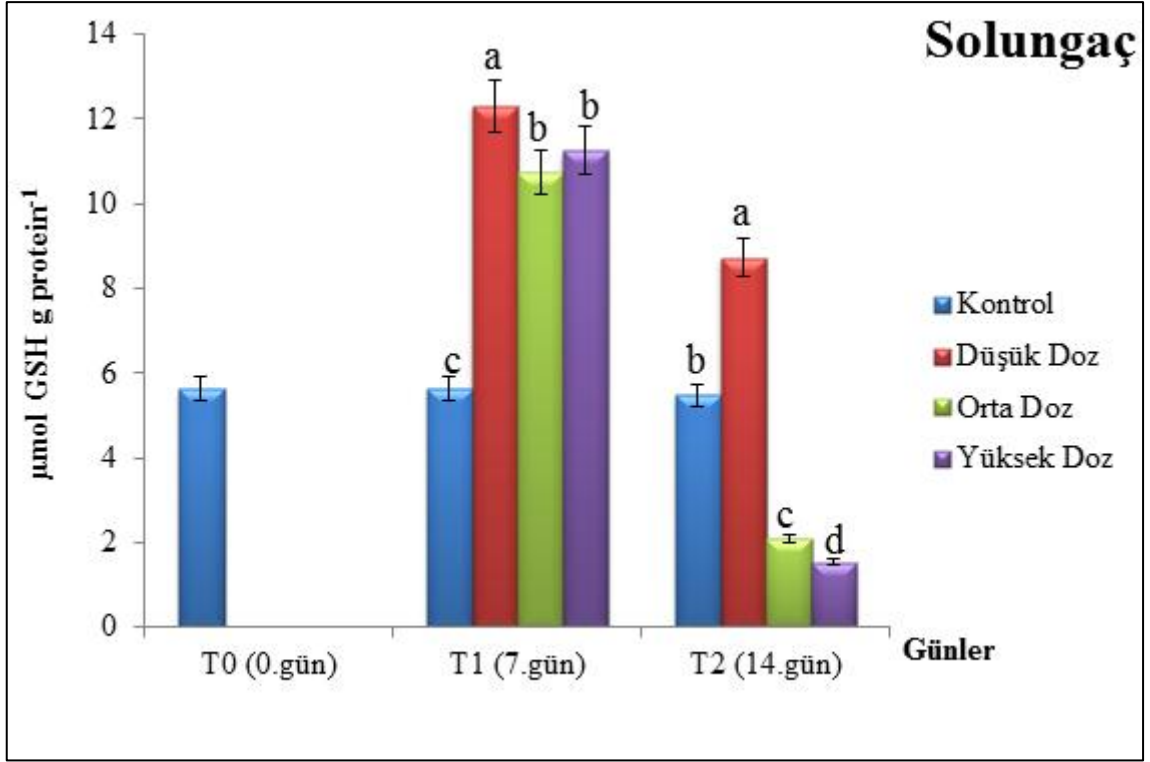
GSH ($\mu\text{mol GSH g protein}^{-1}$)		Kontrol	0.5 mg L ⁻¹ (Düşük Doz)	2.5 mg L ⁻¹ (Orta Doz)	5 mg L ⁻¹ (Yüksek Doz)
Doku	Zaman	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$
Solungaç	T0 (0.gün)	5,63±0,45 AaIII	5,63±0,45 CaIII	5,63±0,45 BaIII	5,63±0,45 BaIII
	T1 (7.gün)	5,64±0,45 AcIII	12,3±0,73 AaII	10,74±0,4 AbI	11,25±0,78 AbI
	T2 (14.gün)	5,47±0,10 AbIII	8,73±1,33 BaI	2,09±0,21 AcVI	1,53±0,17 CdIV
Karaciğer	T0 (0.gün)	4,97±0,27 AaIV	4,97±0,27 CaIV	4,97±0,27 BaIV	4,97±0,27 BaIV
	T1 (7.gün)	4,98±0,30 AbIV	8,10±0,78 AaIII	4,73±0,13 BbV	2,94±0,10 CcV
	T2 (14.gün)	5,48±0,17 AdIII	6,24±0,18 BcII-III	9,75±0,63 AaII	7,96±0,30 AbII
Bağırsak	T0 (0.gün)	8,15±0,14 AaI	8,15±0,14 AaI	8,15±0,14 AaI	8,15±0,14 BaI
	T1 (7.gün)	8,22±0,16 AbI	5,90±0,10 AdIV	6,91±0,15 BcIV	10,06±0,30 AaII
	T2 (14.gün)	9,70±0,65 AaI	5,38±0,16 AcIV	7,93±0,30 AbIII	4,25±0,15 CdIII
Kas	T0 (0.gün)	6,65±0,17 AaII	6,65±0,17 BaII	6,65±0,17 BaII	6,65±0,17 BaII
	T1 (7.gün)	6,78±0,26 AbII	8,26±0,22 AaIII	7,85±0,73 AaIII	6,63±0,11 BbIV
	T2 (14.gün)	7,10±0,10 AbII	5,90±0,12 CcIII-IV	6,83±0,26 BbIV	12,09±0,27 AaI
Beyin	T0 (0.gün)	5,76±0,15 AaIII	5,76±0,15 BaIII	5,76±0,15 BaIII	5,76±0,15 CaIII
	T1 (7.gün)	5,90±0,19 AdIII	12,88±0,88 AaI	9,68±0,32 AcII	11,82±0,60 AbIII
	T2 (14.gün)	5,94±0,12 AbIII	2,88±0,18 CdV	3,84±0,15 CcV	7,45±0,28 BaII
Böbrek	T0 (0.gün)	3,22±0,08 AaV	3,22±0,08 CaV	3,22±0,08 BaV	3,22±0,08 BaV
	T1 (7.gün)	3,36±0,17 AbIII	4,21±0,09 BaV	3,02±0,18 BbVI	2,14±0,14 CcVI
	T2 (14.gün)	3,14±0,08 AdIV	6,62±0,37 AcII	14,30±0,10 AaI	11,73±0,17 AbI

*n=6, ortalama± standart hata

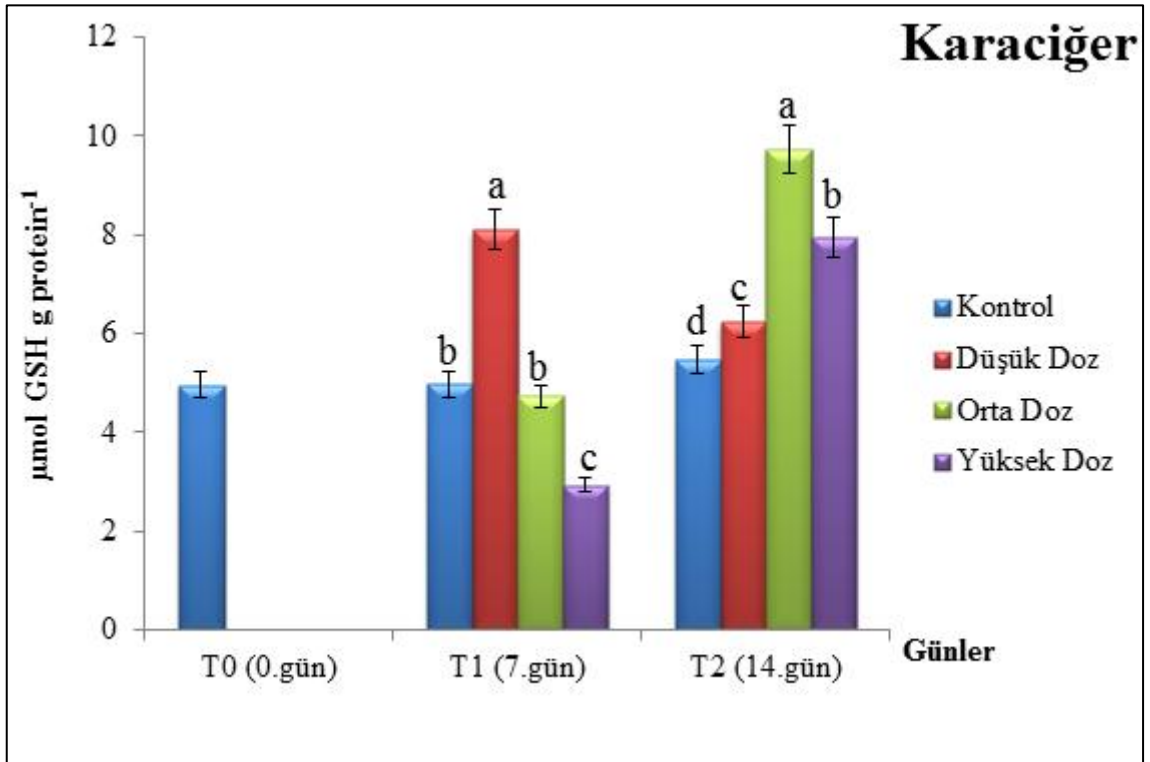
Not 1: Aynı doku ve konsantrasyonda farklı büyük harflerle gösterilen zaman ortalamaları arasındaki farklar önemlidir ($p<0,05$).

Not 2: Aynı doku ve zamanda farklı küçük harflerle gösterilen konsantrasyon ortalamaları arasındaki farklar önemlidir ($p<0,05$).

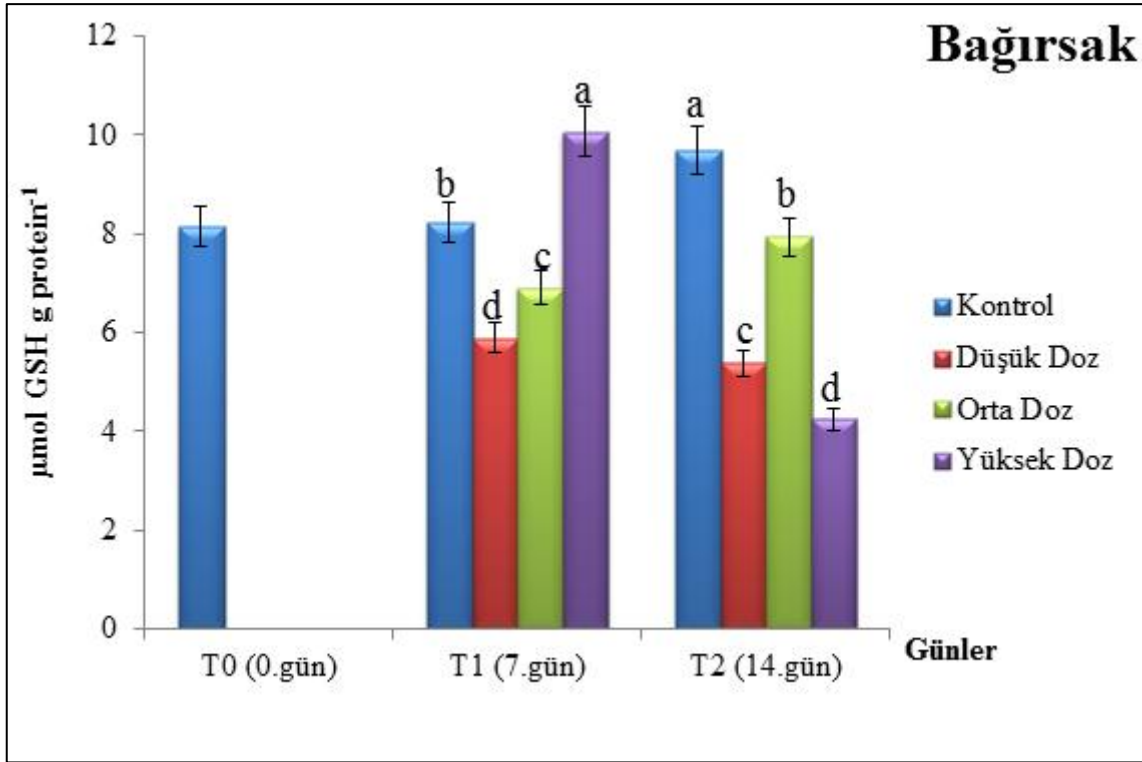
Not 3: Aynı zaman ve konsantrasyonda farklı roma rakamları ile gösterilen doku ortalamaları arasındaki farklar önemlidir ($p<0,05$).



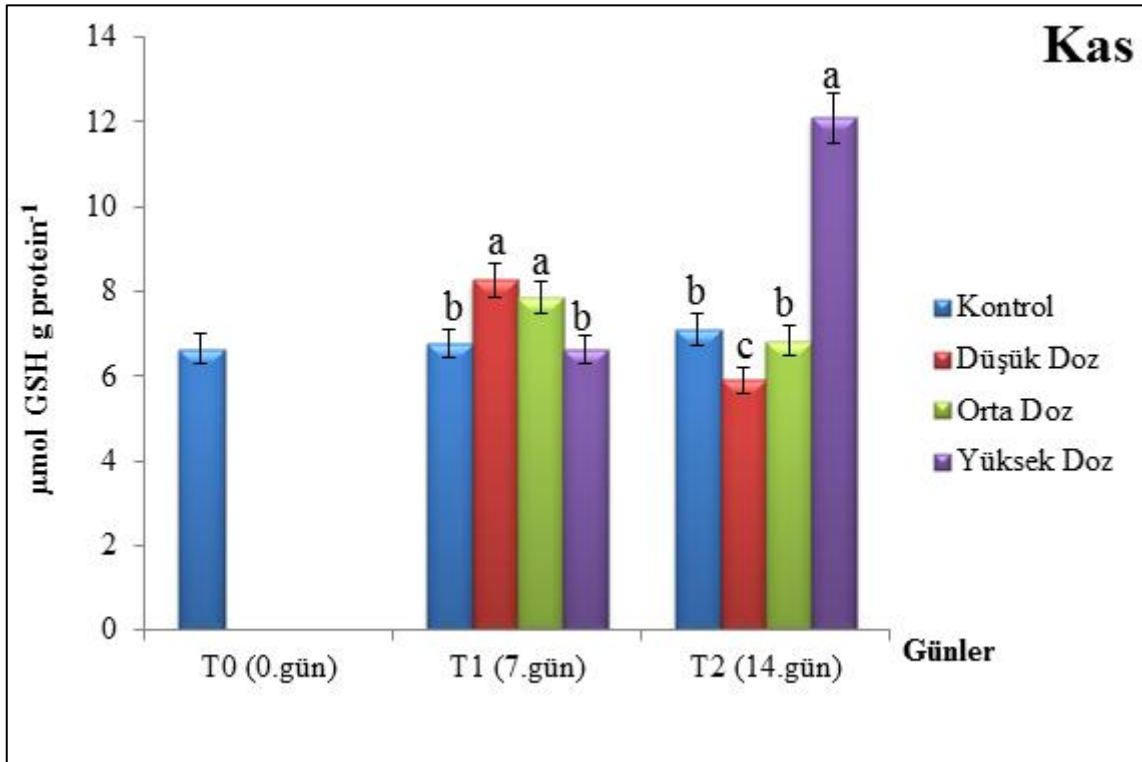
Şekil 21: Solungaç dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı Glutasyon seviyesi değişimi



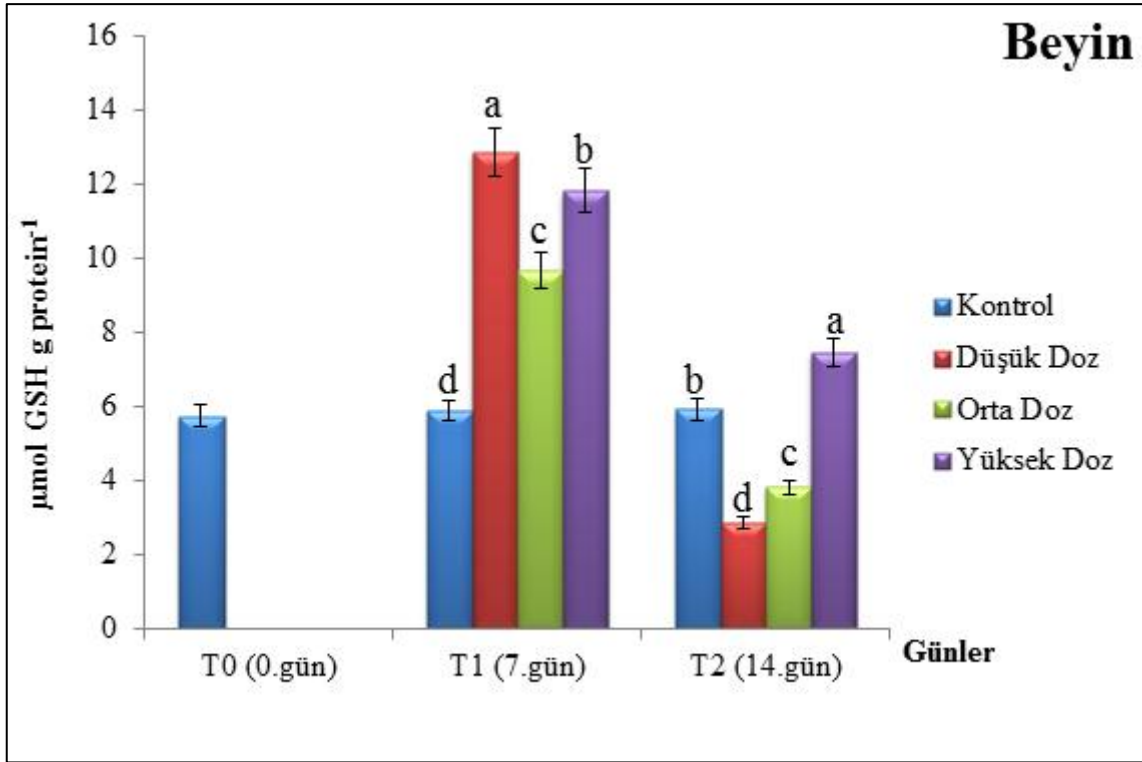
Şekil 22: Karaciğer dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı Glutasyon seviyesi değişimi



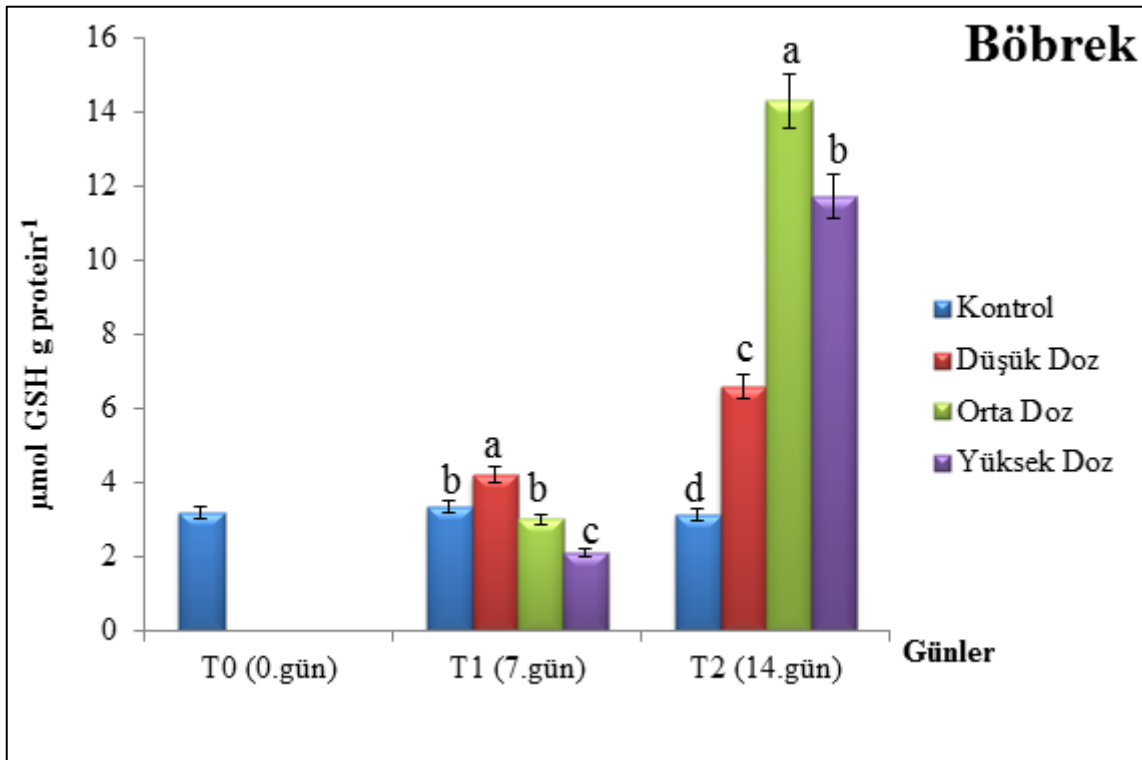
Şekil 23: Bağırsak dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı Glutasyon seviyesi değişimi



Şekil 24: Kas dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı Glutasyon seviyesi değişimi



Şekil 25: Beyin dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı Glutasyon seviyesi değişimi



Şekil 26: Böbrek dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı Glutasyon seviyesi değişimi

4.1.2.3. TBARS Bulguları

Oreochromis mossambicus'da denenen konsantrasyonlar ve sürelerde sublethal kurşun konsantrasyonlarının balık dokularında TBARS düzeyine etkileri Çizelge 13'de verilmiştir. 0. günde tüm balıklar kontrol grubu gibiyken dokularda ölçülen TBARS seviyeleri; solungaçta 4,89 nmol mg protein⁻¹, karaciğerde 3,94 nmol mg protein⁻¹, bağırsakta 3,06 nmol mg protein⁻¹, kasta 3,02 nmol mg protein⁻¹, beyinde 3,35 nmol mg protein⁻¹, böbrekte 4,69 nmol mg protein⁻¹ olarak bulunmuştur.

Üç yönlü varyans analiz sonuçları incelendiğinde (Çizelge 13), dokuXzaman, konsantrasyonXzaman ikili interaksiyon etkilerinin ve dokuXkonsantrasyonXzaman üçlü interaksiyon etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür (p<0,05). DokuXkonsantrasyon interaksiyon etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (p>0,05). Dolayısıyla dokuların TBARS düzeyi üzerine etkisi konsantrasyon ve zamana göre, konsantrasyonların TBARS düzeyi üzerine etkisi dokulara ve zamana göre değişmektedir.

Tilapia balığı dokularında (solungaç, karaciğer, bağırsak, kas, beyin ve böbrek) kontrol grubunda TBARS düzeyi üzerinde zamana (0,7 ve 14. günlerde) bağlı bir istatistiksel fark görülmemiştir (p>0,05).

Solungaç dokusunda 7. ve 14. günlerde düşük ve orta dozlarda kontrol grubuna göre TBARS düzeyinde istatistiksel bir fark (p>0,05) gözlenmezken, yüksek dozda istatistiksel olarak önemli bir artma tespit edilmiştir (p<0,05). Düşük dozda kontrol grubuna göre görülen artmalar istatistiksel olarak önemsiz bulunurken (p>0,05), orta dozda kontrole göre istatistiksel olarak önemli bir fark (p>0,05) bulunmamıştır (Şekil 27).

Karaciğer dokusu TBARS düzeyi deneme süresince düşük ve orta dozlarda kontrol grubuna göre herhangi bir istatistiksel fark göstermemiştir (p>0,05). Yüksek dozda 7. günde kontrol grubuna göre önemli bir artış saptanmıştır (p<0,05). 14. günde tüm dozlarla kontrol grubuna göre istatistiksel bir fark bulunmamıştır (Şekil 28).

Bağırsak dokusunda zamana bağlı olarak sadece 7. günde yüksek dozda kontrol grubuna göre istatistiksel bir fark görülmüş (p<0,05), diğer gruplarda kontrol grubuna göre istatistiksel bir fark (p>0,05) saptanmamıştır (Şekil 29).

Kas dokusunda zamana ve konsantrasyonlara bağlı olarak TBARS düzeyi üzerine herhangi bir istatistiksel fark (p>0,05) bulunmamıştır (Şekil 30).

Beyin dokusunda 7. günde deneme grupları ve kontrol grubu arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). 14. günde yüksek dozda kontrole göre istatistiksel olarak önemli bir artma görülmüştür ($p<0,05$). Bununla beraber orta dozda görülen artma ve düşük dozdaki azalma istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur (Şekil 31). Beyin dokusunda zamana bağlı olarak düşük ve orta dozda istatistiksel bir fark görülmemiştir ($p>0,05$). Yüksek dozda kontrol grubuna göre 14. günde 7. güne göre görülen artma istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0,05$).

7. günde böbrek dokusuna uygulanan düşük konsantrasyonda kontrole göre önemli bir azalma görülmüştür ($p<0,05$). Aynı zamanda orta dozda görülen azalma istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). 14. günde kontrol grubu ile deneme grupları arasında zamana ve konsantrasyonlara bağlı olarak istatistiksel bir fark ($p>0,05$) bulunmamıştır (Şekil 32).

Çizelge 13. TBARS düzeyi üç yönlü varyans analizi (Three Way Anova/ Duncan çoklu karşılaştırma testi)

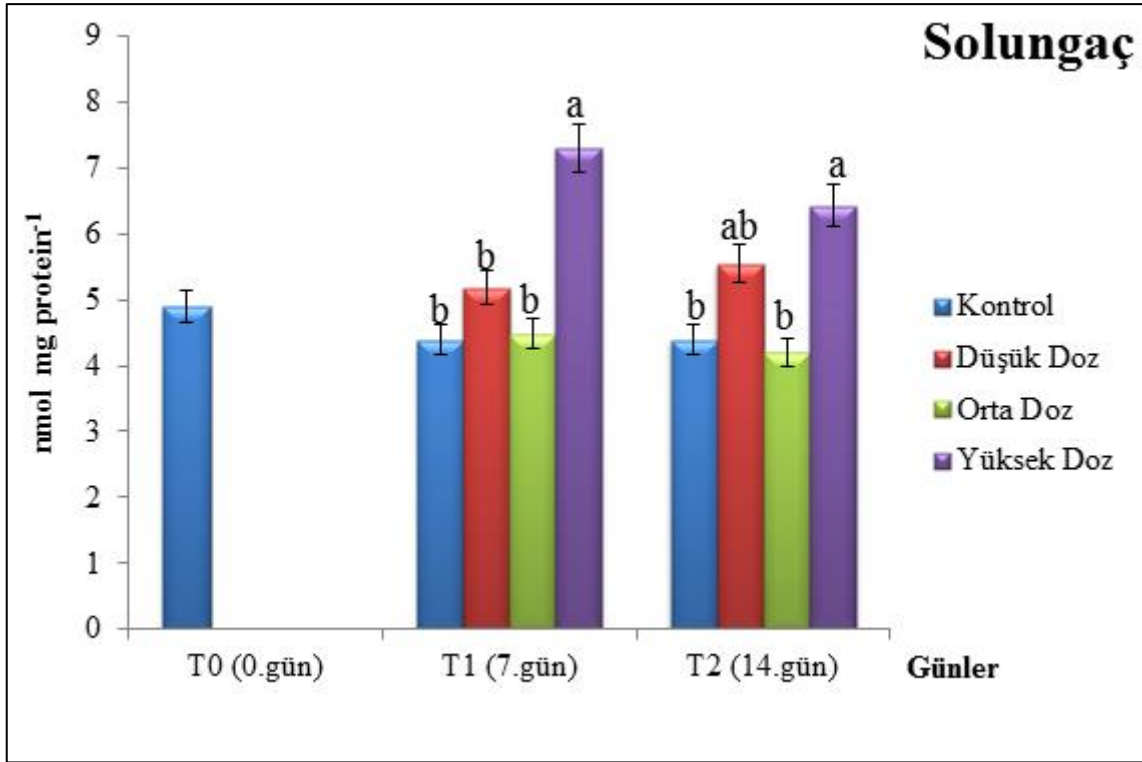
TBARS (nmol mg protein ⁻¹)		Kontrol	0.5 mg L ⁻¹ (Düşük Doz)	2.5 mg L ⁻¹ (Orta Doz)	5 mg L ⁻¹ (Yüksek Doz)
Doku	Zaman	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$
Solungaç	T0 (0.gün)	4,89±0,5 AaI	4,89±0,5 AaI	4,89±0,5 AaI	4,89±0,5 BaI
	T1 (7.gün)	4,39±0,27 AbI-II	4,41±0,40 AbI	4,48±0,23 AbI	7,31±0,67 AaI
	T2 (14.gün)	4,39±0,27 AbI-II	5,54±0,05 AaBI	4,20±0,43 AbII	6,42±0,5 AaI
Karaciğer	T0 (0.gün)	3,94±0,54 AaI-II-III	3,94±0,54 AaI-II-III	3,94±0,54 AaI-II-III	3,94±0,54 BaI-II-III
	T1 (7.gün)	3,86±0,57 AbI-II	4,34±0,29 AaBI	3,88±0,06 AbI	5,57±0,39 AaII
	T2 (14.gün)	3,86±0,57 AaI-II	5,06±0,11 AaI-II	3,89±0,11 AaII	4,09±0,31 BaIII-IV
Bağırsak	T0 (0.gün)	3,06±0,48 AaIII	3,06±0,48 AaIII	3,06±0,48 AaIII	3,06±0,48 BaIII
	T1 (7.gün)	2,87±0,15 AbII	3,87±0,22 AbI	3,48±0,27 AbI	5,33±0,33 AaII
	T2 (14.gün)	2,89±0,15 AaII	3,86±0,38 AaII-III-IV	2,67±0,18 AaII	3,62±0,32 BaIII-IV
Kas	T0 (0.gün)	3,02±0,64 AaIII	3,02±0,64 AaIII	3,02±0,64 AaIII	3,02±0,64 AaIII
	T1 (7.gün)	2,85±0,17 AaII	3,08±0,08 AaI	3,93±0,30 AaI	4,19±0,45 AaII-III
	T2 (14.gün)	2,89±0,15 AaII	3,48±0,32 AaIII-IV	3,03±0,03 AaII	3,04±0,10 AaIV
Beyin	T0 (0.gün)	3,35±0,43 AaII-III	3,35±0,43 AaII-III	3,35±0,43 AaII-III	3,35±0,43 BaII-III
	T1 (7.gün)	3,07±0,26 AaII	2,91±0,08 AaI	2,94±0,12 AaI	3,16±0,09 BaIII
	T2 (14.gün)	3,09±0,20 AbcII	2,43±0,19 AcIV	3,94±0,63 AbII	6,18±0,12 AaI-II
Böbrek	T0 (0.gün)	4,69±0,16 AaI-II	4,69±0,16 AaI-II	4,69±0,16 AaI-II	4,69±0,16 AaI-II
	T1 (7.gün)	4,64±0,41 AaI	2,97±0,34 BbI	3,59±0,16 BabI	4,81±0,17 AaII
	T2 (14.gün)	4,71±0,36 AaI	4,92±0,19 AaI-II-III	5,90±0,21 AaI	4,87±0,60 AaII-III

*n=6, ortalama± standart hata

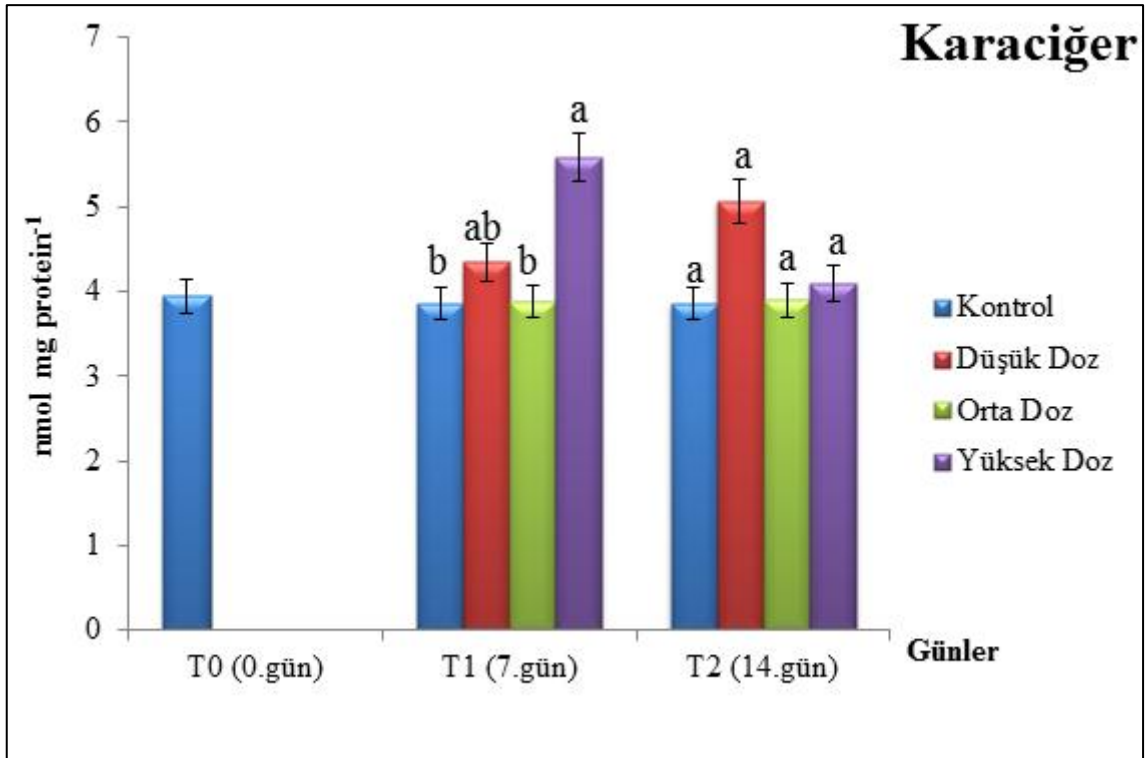
Not 1: Aynı doku ve konsantrasyonda farklı büyük harflerle gösterilen zaman ortalamaları arasındaki farklar önemlidir (p<0,05).

Not 2: Aynı doku ve zamanda farklı küçük harflerle gösterilen konsantrasyon ortalamaları arasındaki farklar önemlidir (p<0,05).

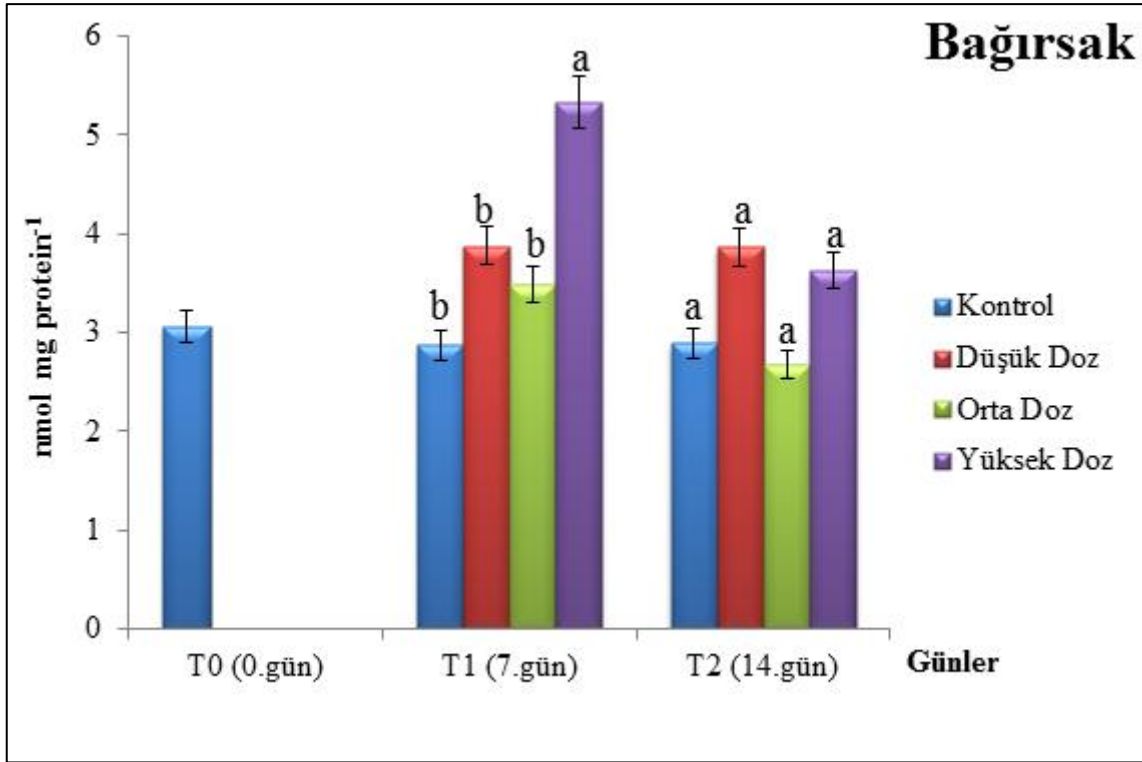
Not 3: Aynı zaman ve konsantrasyonda farklı roma rakamları ile gösterilen doku ortalamaları arasındaki farklar önemlidir (p<0,05).



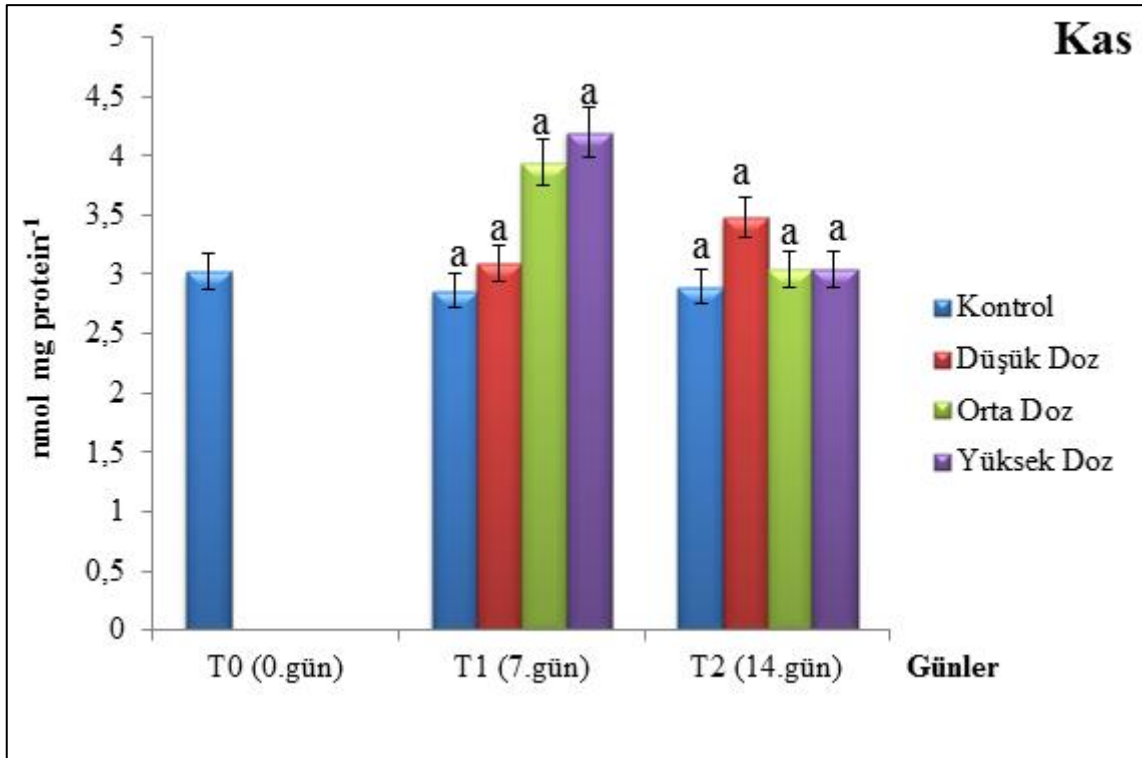
Şekil 27: Solungaç dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı TBARS değişimi



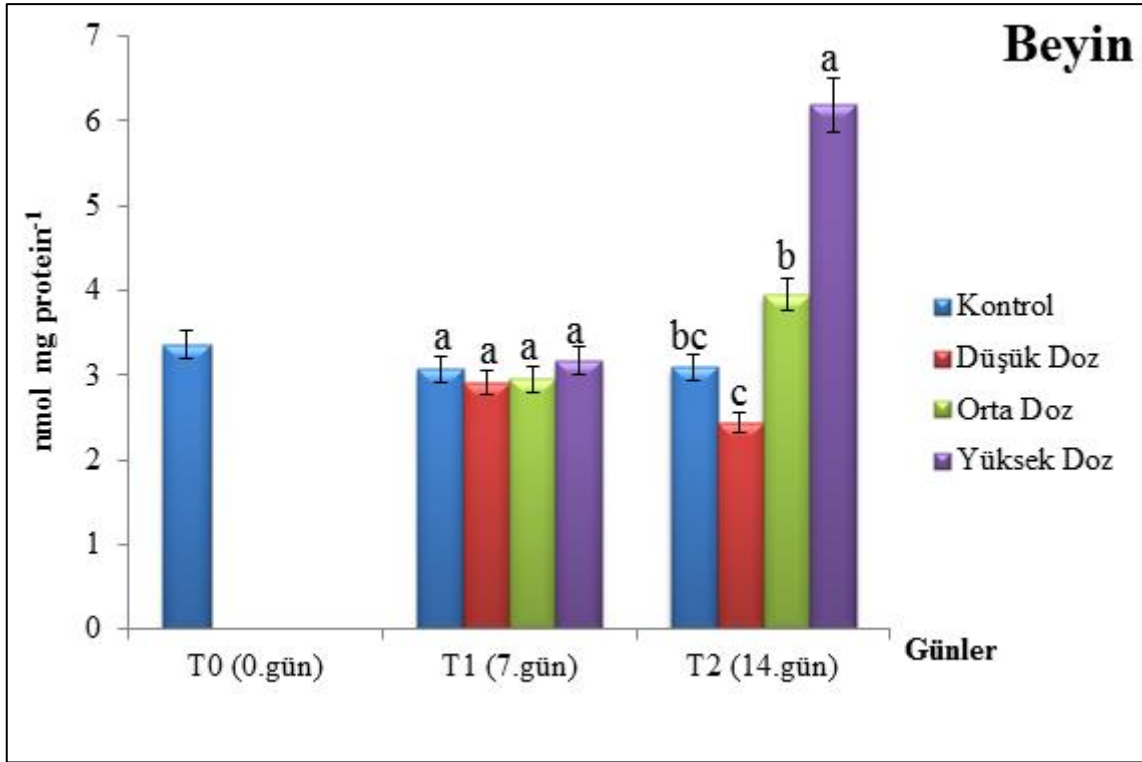
Şekil 28: Karaciğer dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı TBARS değişimi



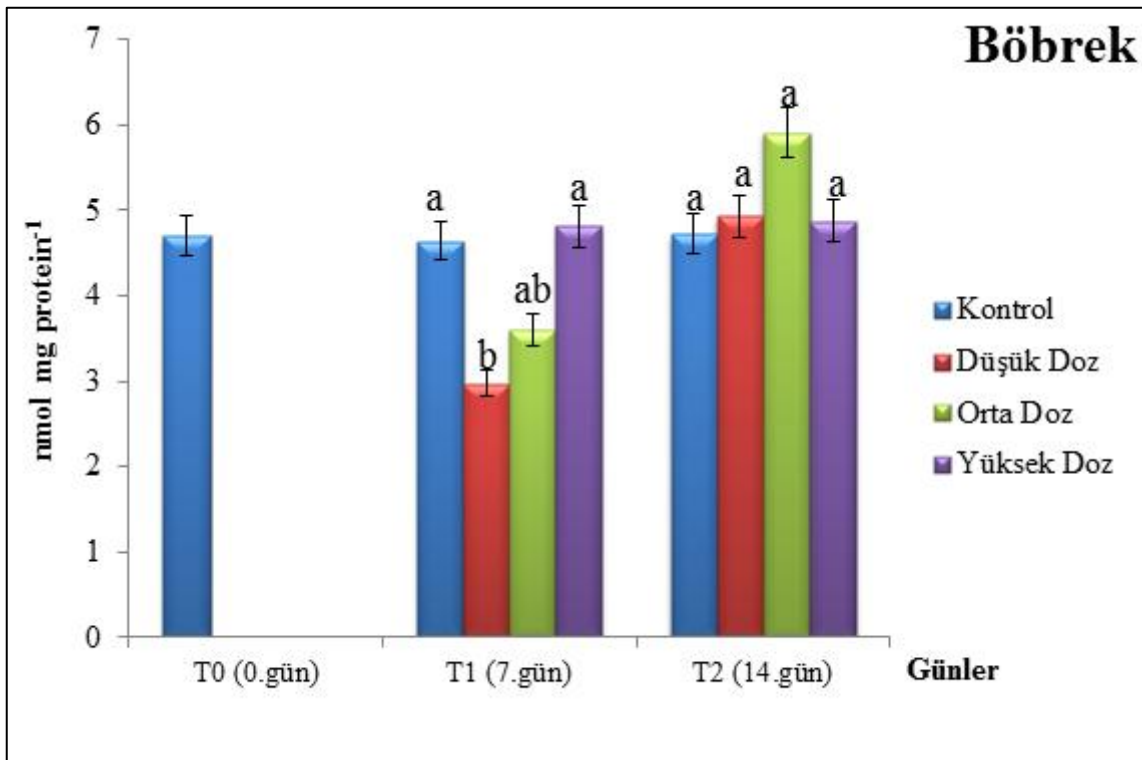
Şekil 29: Bağırsak dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı TBARS değişimi



Şekil 30: Kas dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı TBARS değişimi



Şekil 31: Beyin dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı TBARS değişimi



Şekil 32: Böbrek dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı TBARS değişimi

4.1.3. Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) Dokularında Kurşun Ağır Metali Birikimi

Tilapia balığında denenen konsantrasyonlar ve sürelerde sublethal kurşun konsantrasyonlarının balık dokularında (solungaç, karaciğer, bağırsak, kas, beyin ve böbrek) ağır metal birikimleri Çizelge 14’de verilmiştir.

Deneme başlangıcı olan 0. günde balık dokularından yapılan analizlerde hiçbir dokuda kurşun birikimine rastlanmamıştır.

Yapılan üç yönlü varyans analiz sonuçları incelendiğinde (Çizelge 14), dokuXkonsantrasyon, dokuXzaman, konsantrasyonXzaman ikili interaksiyon etkilerinin ve dokuXkonsantrasyonXzaman üçlü interaksiyon etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Dolayısıyla dokuların kurşun birikimi üzerine etkisi konsantrasyon ve zamana göre, konsantrasyonların kurşun birikimi üzerine etkisi dokulara ve zamana göre, zamanın kurşun birikimi üzerine etkisi konsantrasyon ve dokulara göre değişmektedir.

Solungaç dokusunda genel olarak kurşun birikiminin konsantrasyona ve zamana bağlı olarak arttığı görülmektedir (Şekil 33). Düşük doz solungaç dokusunda 7. günde $28,23 \mu\text{g g}^{-1}$ birikim oluşurken 14. günde $92,57 \mu\text{g g}^{-1}$ birikim olmuştur. Orta dozda ve yüksek doz birikim düzeyleri 7. günde birbirine yakındır ve aralarında istatistiksel bir fark yoktur ($p>0,05$). 14. günde ise en fazla birikim $141,40 \mu\text{g g}^{-1}$ ile yüksek dozda gerçekleşmiştir ($p<0,05$).

Karaciğer dokusunda kurşun birikimi konsantrasyona ve zamana bağlı olarak artış göstermiştir (Şekil 34). Konsantrasyonlarda en düşük birikim 7. günde düşük dozda $23,55 \mu\text{g g}^{-1}$, en yüksek birikim ise 14. gün yüksek dozda $38,77 \mu\text{g g}^{-1}$ olarak saptanmıştır.

Bu çalışmada bağırsak dokusu kurşunu en fazla biriktiren organ olmuştur. Diğer dokularda olduğu gibi bağırsak dokusunda da kurşun birikimi zaman ve konsantrasyon artışına paralel olarak artış göstermiştir (Şekil 35). 7. günde yüksek dozda $143,99 \mu\text{g g}^{-1}$ kurşun birikimi varken, bu değer 14. günde iki katından fazla artmış ve $344,09 \mu\text{g g}^{-1}$ ’a ulaşmıştır.

Çalışmada kas dokusu kurşunu en az biriktiren organ olarak saptanmıştır. Kas dokusunda görülen birikimlerde; 7. günde orta ve yüksek doz, düşük doza göre daha fazla bulunmuşken ($p<0,05$), kendi aralarında ise istatistiksel bir fark ($p>0,05$). göstermemişlerdir (Şekil 36). 14. günde düşük dozda oluşan kurşun birikiminde 7. güne göre istatistiksel olarak önemli bir değişme görülmemiştir ($p>0,05$). Orta ve yüksek dozda

ise birikimler biraz daha artış göstermiştir ($p<0,05$). Fakat kendi aralarında istatistiksel bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Beyin dokusunda kurşun birikimi zamana ve konsantrasyon artışına paralel olarak artış ($p<0,05$) göstermiştir (Şekil 37).

Böbrek dokusundaki kurşun birikimi zaman artışına bağlı olarak artış göstermiştir (Şekil 38). 7. günde en fazla birikim orta dozda olurken, onu yüksek ve düşük dozdaki birikimler izlemiştir. 14. günde ise birikim zaman ve konsantrasyon artışına paralel bir şekilde artmıştır ($p<0,05$).

Düşük dozda kurşun ağır metalinin dokulardaki sıralaması;

7. günde bağırsak>böbrek=beyin>solungaç>karaciğer>kas

14.günde ise böbrek>solungaç>bağırsak>beyin>karaciğer>kas şeklinde olmuştur.

Orta dozda kurşun ağır metalinin dokulardaki sıralaması;

7. günde bağırsak> böbrek=beyin> solungaç> karaciğer>kas

14. günde ise bağırsak>böbrek>beyin>solungaç>karaciğer>kas şeklinde olmuştur.

Yüksek dozda kurşun ağır metalinin dokulardaki sıralaması;

7.günde bağırsak> beyin>solungaç>böbrek>karaciğer>kas

14. günde bağırsak>böbrek>beyin>solungaç>karaciğer>kas şeklinde oluşmuştur.

Çizelge 14. Dokuda kurşun metali birikimi üç yönlü varyans analizi (Three Way Anova/ Duncan çoklu karşılaştırma testi)

Kurşun birikimi ($\mu\text{g g}^{-1}$)		Kontrol	0.5 mg L ⁻¹ (Düşük Doz)	2.5 mg L ⁻¹ (Orta Doz)	5 mg L ⁻¹ (Yüksek Doz)
Doku	Zaman	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$
Solungaç	T0 (0.gün)	*	*	*	*
	T1 (7.gün)	*	28,23±0,39 BbIII	60,60±0,34 AbIII	62,52±0,27 AbIII
	T2 (14.gün)	*	92,57±0,27 CaII	133,45±0,52 BaIII	141,40±0,34 AaIV
Karaciğer	T0 (0.gün)	*	*	*	*
	T1 (7.gün)	*	23,55±0,23 CaIV	28,02±0,26 BbIV	33,47±0,49 AbV
	T2 (14.gün)	*	25,15±0,12 CaV	31,59±0,14 BaV	38,77±0,25 AaV
Bağırsak	T0 (0.gün)	*	*	*	*
	T1 (7.gün)	*	48,09±0,27 CbI	104,12±0,13 BbI	143,99±0,92 AbI
	T2 (14.gün)	*	78,18±0,47 CaIII	195,18±0,57 BaI	344,09±0,62 AaI
Kas	T0 (0.gün)	*	*	*	*
	T1 (7.gün)	*	5,11±0,04 BaV	9,36±0,08 AbV	9,64±0,12 AbVI
	T2 (14.gün)	*	5,71±0,15 BaVI	12,06±0,43 AaVI	12,35±0,17 AaVI
Beyin	T0 (0.gün)	*	*	*	*
	T1 (7.gün)	*	40,67±0,41 CbII	62,33±0,2 BbII-III	81,48±0,21 AbII
	T2 (14.gün)	*	72,73±0,4 CaIV	124,55±0,3 BaIV	178,68±0,35 AaIII
Böbrek	T0 (0.gün)	*	*	*	*
	T1 (7.gün)	*	37,81±2,40 CbII	65,43±3,74 AbII	45,43±3,94 BbIV
	T2 (14.gün)	*	155,8±3,98 CaI	180,3±6,27 BaII	250,77±5,35 AaII

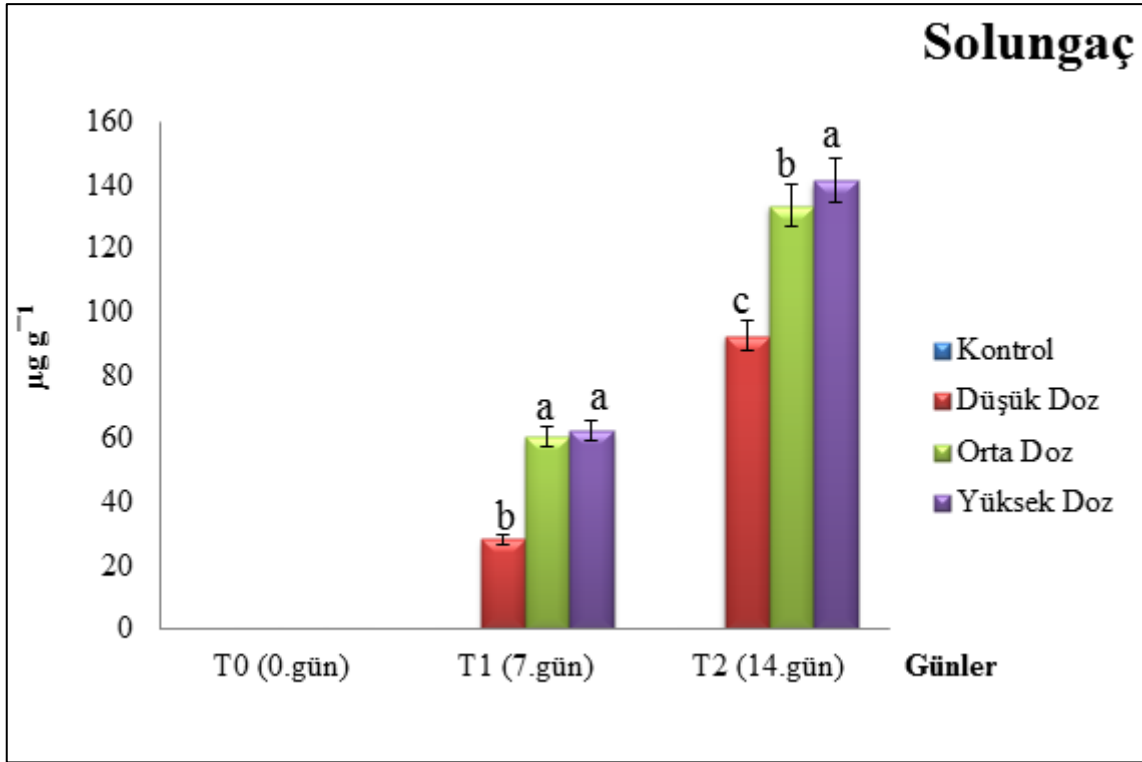
n=3, ortalama± standart hata

*: Kontrol grubu balıklarda kurşun ağır metal birikimi saptanmamıştır ve bu değerler istatistik analizlerde sıfır kabul edilmiştir.

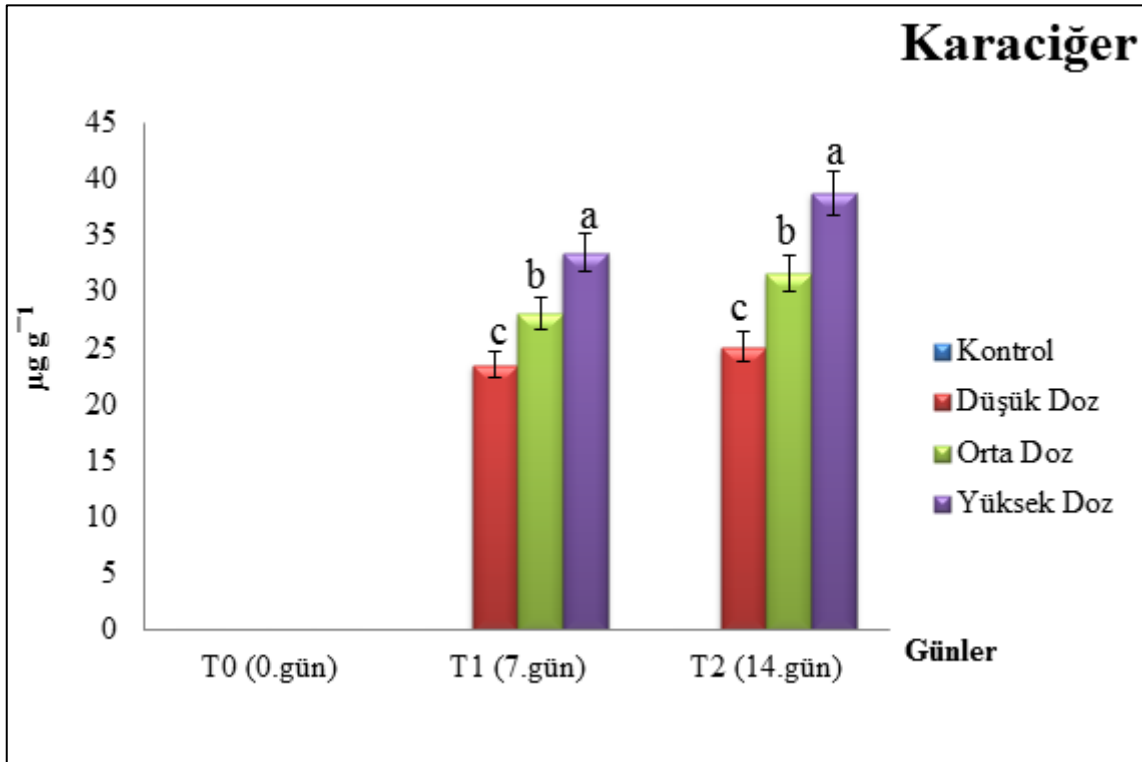
Not 1: Aynı doku ve zamanda farklı büyük harflerle gösterilen konsantrasyon ortalamaları arasındaki farklar önemlidir ($p<0,05$).

Not 2: Aynı doku ve konsantrasyonda farklı küçük harflerle gösterilen zaman ortalamaları arasındaki farklar önemlidir ($p<0,05$).

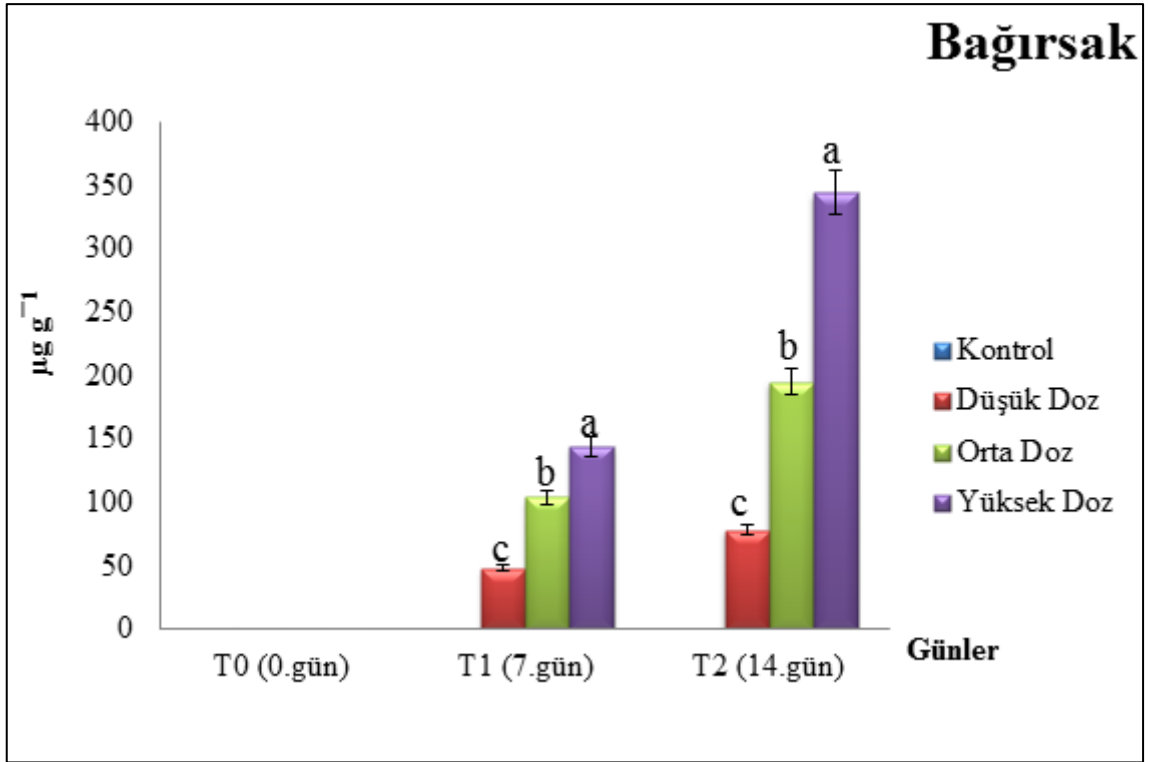
Not 3: Aynı zaman ve konsantrasyonda farklı roma rakamları ile gösterilen doku ortalamaları arasındaki farklar önemlidir ($p<0,05$).



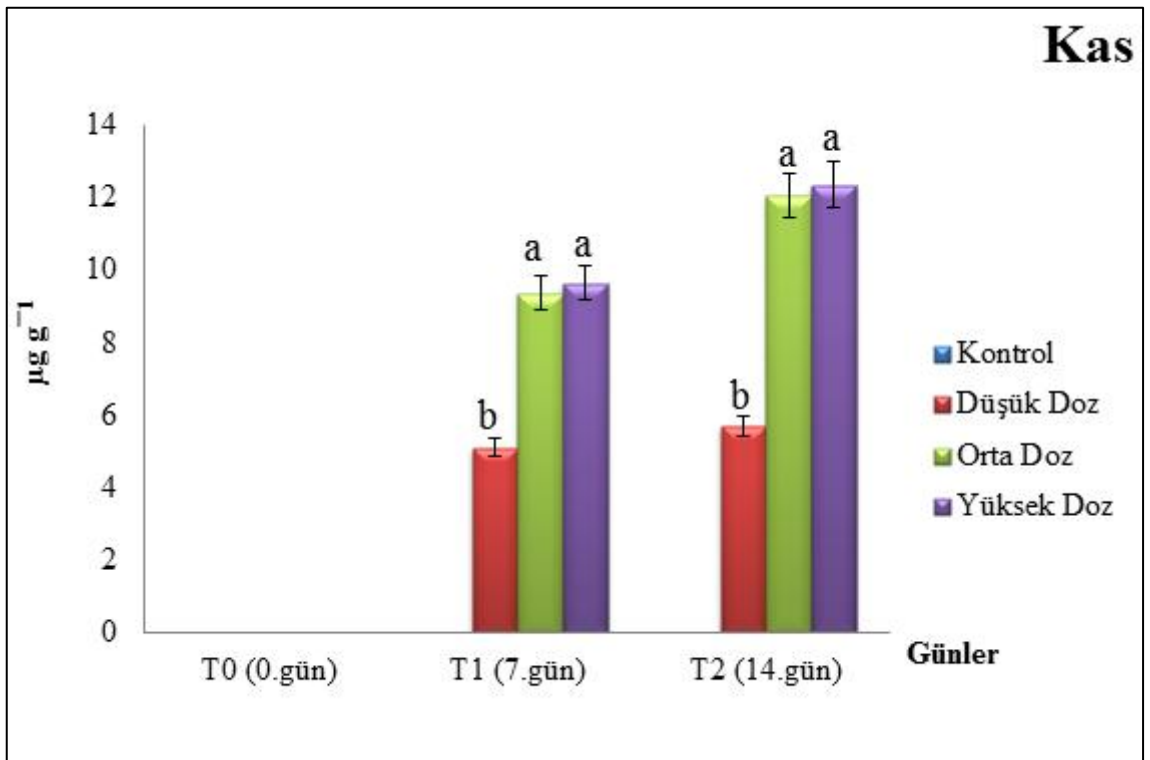
Şekil 33: Solungaç dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı kurşun ağır metali değişimi



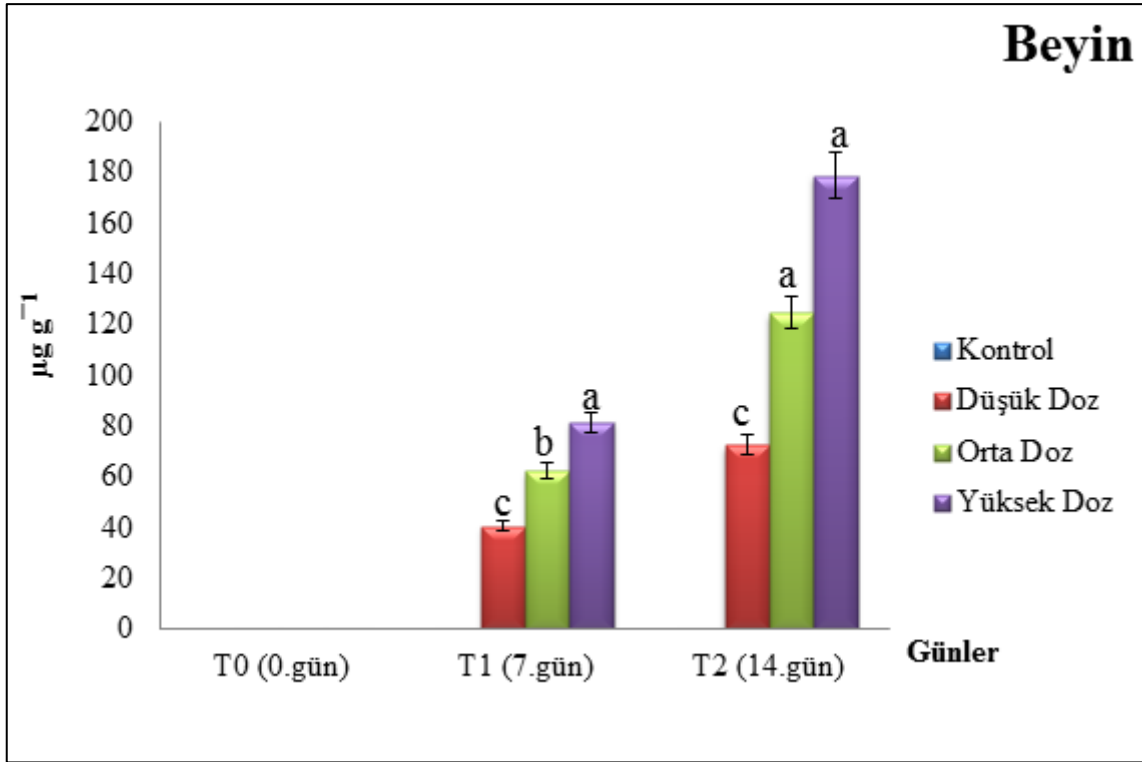
Şekil 34: Karaciğer dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı kurşun ağır metali değişimi



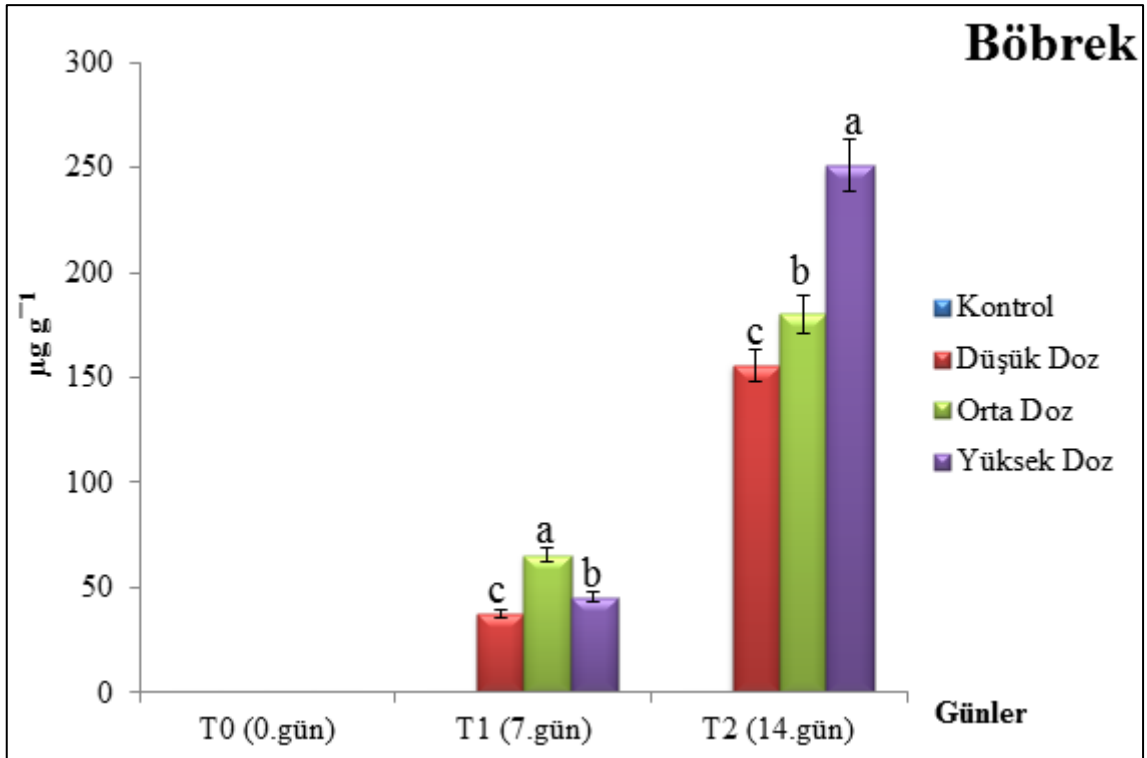
Şekil 35: Bağırsak dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı kurşun ağır metali değişimi



Şekil 36: Kas dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı kurşun ağır metali değişimi



Şekil 37: Beyin dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı kurşun ağır metali değişimi



Şekil 38: Böbrek dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı kurşun ağır metali değişimi

4.1.4. Kan Parametre Bulguları

4.1.4.1. Hematolojik Bulgular

Hematoloji verilerine iki yönlü varyans analizi yapılmıştır. Yapılan bu istatistiksel değerlendirme sonucunda zamanXkonsantrasyon interaksiyon etkisinin önemli olduğu hematoloji verilerinin konsantrasyon ve zamana göre değiştiği belirlenmiştir (Çizelge 15).

Çizelge 15. Hematolojik kan parametrelerinin iki yönlü varyans analizi (Two-Way Anova/Duncan çoklu karşılaştırma testi)

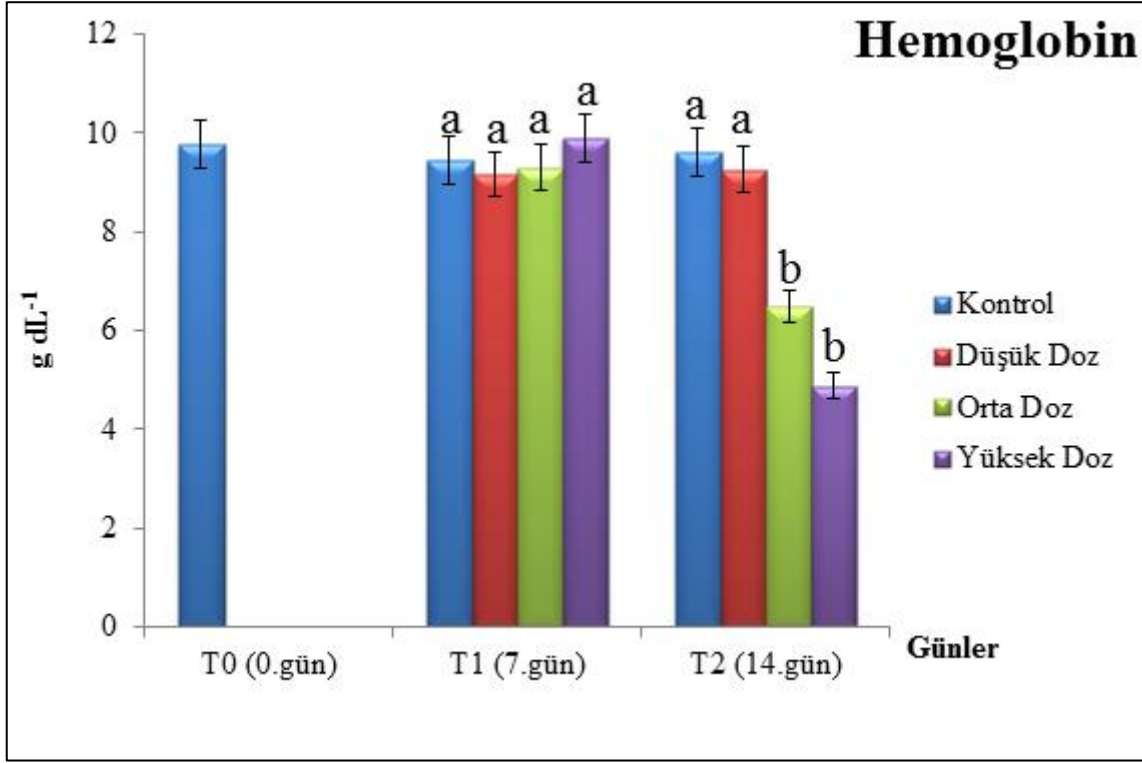
	Zaman	Kontrol	Düşük Doz	Orta doz	Yüksek Doz
Hemoglobin (g dL⁻¹)	T0 (0.gün)	9,77±0,70 Aa	9,77±0,70 Aa	9,77±0,70 Aa	9,77±0,70 Aa
	T1 (7.gün)	9,45±0,55 Aa	9,16±0,97 Aa	9,3±0,73 Aa	9,9±0,70 Aa
	T2 (14.gün)	9,6±0,68 Aa	9,25±0,63 Aa	6,48±0,31 Bb	4,89±0,43 Bb
Hematokrit (%)	T0 (0.gün)	35±2,35 Aa	35±2,35 Ba	35±2,35 Ba	35±2,35 Aa
	T1 (7.gün)	38±1,57 Ab	46,33±1,38 Aa	42,83±0,65 Aab	40±1,00 Ab
	T2 (14.gün)	38,33±1,33 Aa	39,5±0,99 Ba	24,5±1,80 Cb	11,83±0,87 Bc
Eritrosit sayısı (cells ×10⁶ mm³)	T0 (0.gün)	1,5±0,09 Aa	1,5±0,09 Ba	1,5±0,09 Aa	1,5±0,09 Ba
	T1 (7.gün)	1,52±0,20 Ab	1,18±0,21 Cd	1,45±0,16 Bc	1,73±0,31 Aa
	T2 (14.gün)	1,52±0,09 Ab	2,12±0,15Aa	0,95±0,05 Cc	0,59±0,05 Cd
MCH (pg)	T0 (0.gün)	65,58±5,23Aa	65,58±5,23 ABa	65,58±5,23 Aa	65,58±5,23 Aa
	T1 (7.gün)	67,47±9,29 Aa	84,69±12,08 Aa	69,77±11,15 Aa	64,3±8,71 Aa
	T2 (14.gün)	60,9±3,41 Aab	52,3±3,72 Bb	68,93±2,84 Aab	90,48±15,18 Aa
MCV (µm³)	T0 (0.gün)	238,32±25,31Aa	238,32±25,3Ba	238,32±25,31Ca	238,32±25,31Ba
	T1 (7.gün)	274,38±39,43Ac	444,91±61,29Aa	316,35±37,42Ab	276,46±55,97Ac
	T2 (14.gün)	257±18,51Aa	190,31±11,90Cc	258,99±14,89Ba	205,02±13,23Cb
MCHC(g dL⁻¹)	T0 (0.gün)	28,4±2,69 Aa	28,4±2,69 Aa	28,4±2,69 Aa	28,4±2,69 Ba
	T1 (7.gün)	25,1±1,79 Aa	19,87±2,20 Aa	21,65±1,54 Aa	24,77±1,60 Ba
	T2 (14.gün)	28,63±2,22 Ab	27,58±1,66 Ab	26,88±1,27 Ab	43,41±5,78 Aa

*n=6, ortalama± standart hata

Not 1: Aynı parametre ve konsantrasyonda farklı büyük harflerle gösterilen zaman ortalamaları arasındaki farklar önemlidir (p<0,01).

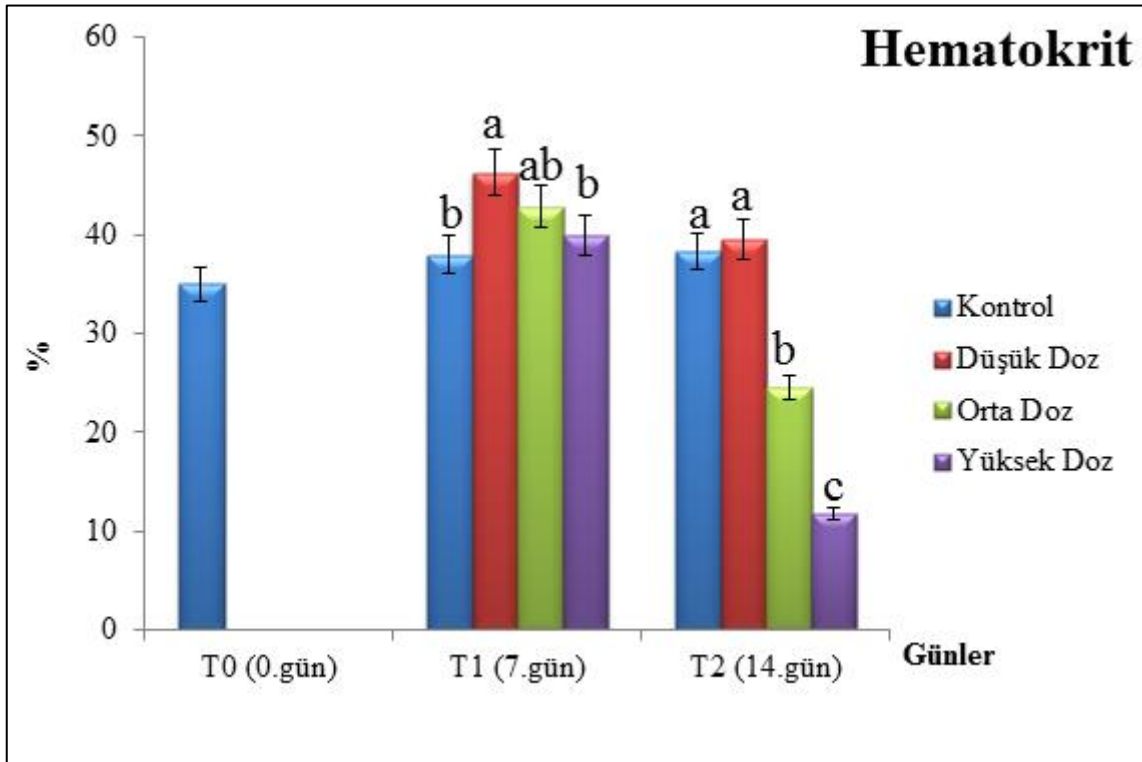
Not 2: Aynı parametre ve zamanda farklı küçük harflerle gösterilen konsantrasyon ortalamaları arasındaki farklar önemlidir (p<0,01).

Oreochromis mossambicus'da belirlenen her derişim ve sürede kurşun metalinin hemoglobin düzeyi üzerine etkisi Çizelge 15 ve Şekil 39'da verilmiştir. 7. günde kontrol grubuna göre deneme gruplarında istatistiksel bir fark bulunmamıştır ($p>0,01$). 14. günde düşük dozda kontrol grubuna göre istatistiksel bir fark gözlenmezken ($p>0,01$), orta ve yüksek dozda kontrol grubuna göre önemli derecede azalma görülmüştür ($p<0,01$).



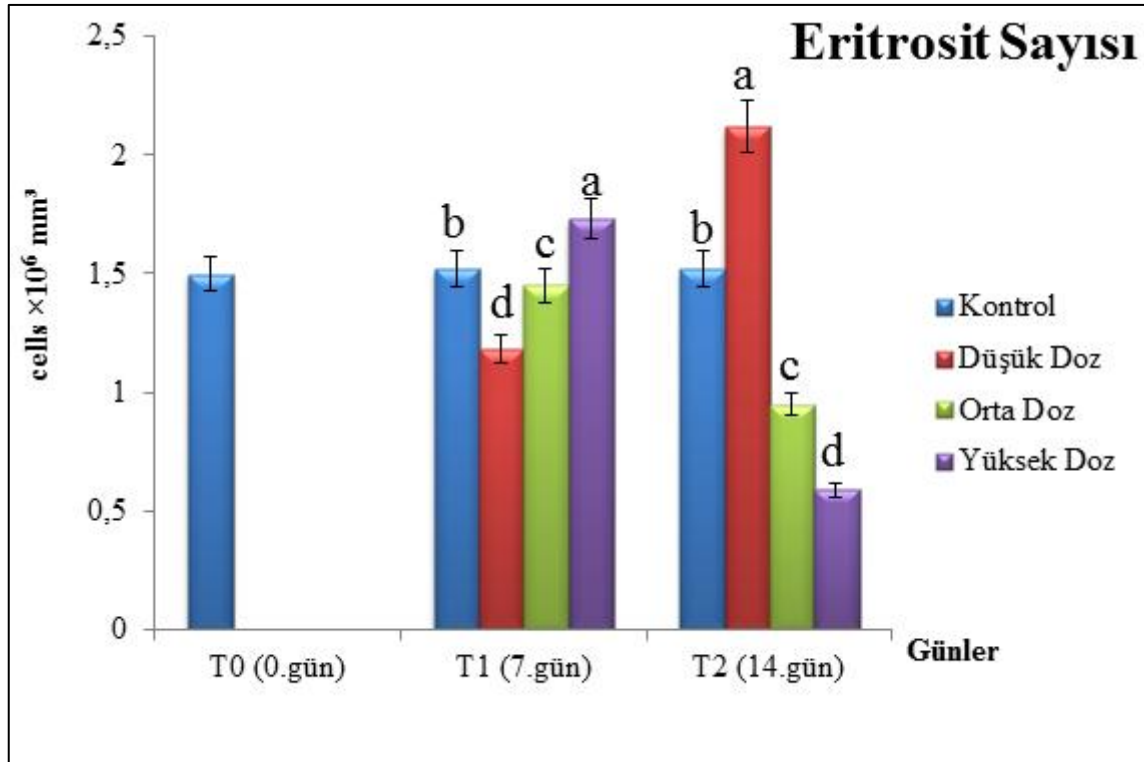
Şekil 39: Zamana ve konsantrasyonlara bağlı hemoglobin değışimi

Oreochromis mossambicus' da belirlenen her derişim ve sürede kurşun metalinin hematokrit düzeyi üzerine etkisi Çizelge 15 ve Şekil 40'da verilmiştir. İlk hafta sonunda düşük dozda hematokrit düzeyi istatistiksel olarak önemli bir artma gösterirken ($p<0,01$), ikinci hafta sonunda kontrol grubuna göre istatistiksel bir fark elde edilmemiştir ($p>0,01$). İlk hafta sonunda orta ve yüksek dozda hafif artmalar gözlenirse de, bu artışlar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,01$). İkinci hafta sonunda orta ve yüksek dozda kontrol grubuna göre hematokrit düzeyinde önemli derecede azalma görülmüştür ($p<0,01$). En ciddi azalma 14. günde yüksek dozda % 11,83 ile gözlenmiştir.



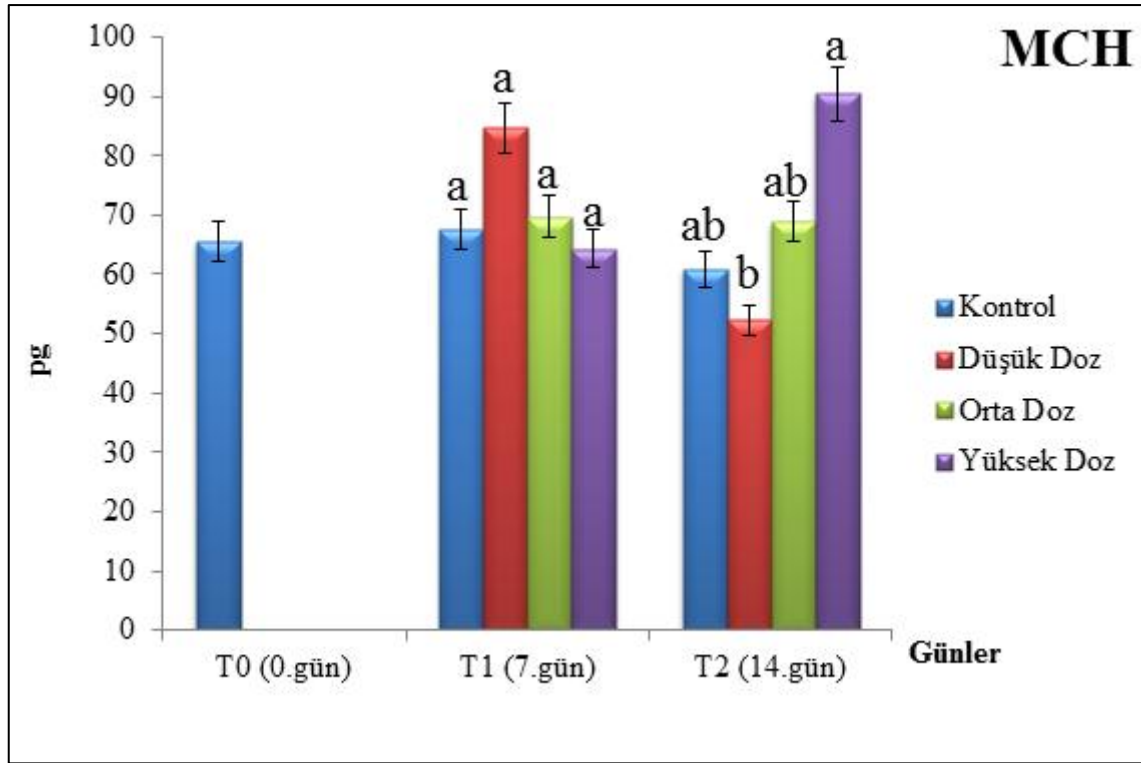
Şekil 40. Zamana ve konsantrasyonlara bağlı hematokrit değişimi

Oreochromis mossambicus' da belirlenen her derişim ve sürede kurşun metalinin eritrosit sayısı üzerine etkisi Çizelge 15 ve Şekil 41'de verilmiştir. 7 günlük süre sonunda düşük ve orta doz eritrosit sayısında kontrole göre istatistiksel olarak önemli bir azalma gözlenirken ($p<0,01$), yüksek doz eritrosit sayısında istatistiksel olarak önemli bir artış meydana gelmiştir ($p<0,01$). 14 günlük süre sonunda düşük dozdaki eritrosit sayısında kontrol grubuna göre önemli bir artış gözlenirken ($p<0,01$), orta ve yüksek dozda istatistiksel olarak önemli bir azalma elde edilmiştir ($p<0,01$). Düşük dozda 7. günde kontrole göre azalma ($p<0,01$) tespit edilirken, 14. günde artma gözlenmiştir ($p<0,01$). Yüksek dozda 7. günde kontrol grubuna göre artma görülürken ($p<0,01$), 14. günde önemli bir azalma belirlenmiştir ($p<0,01$).



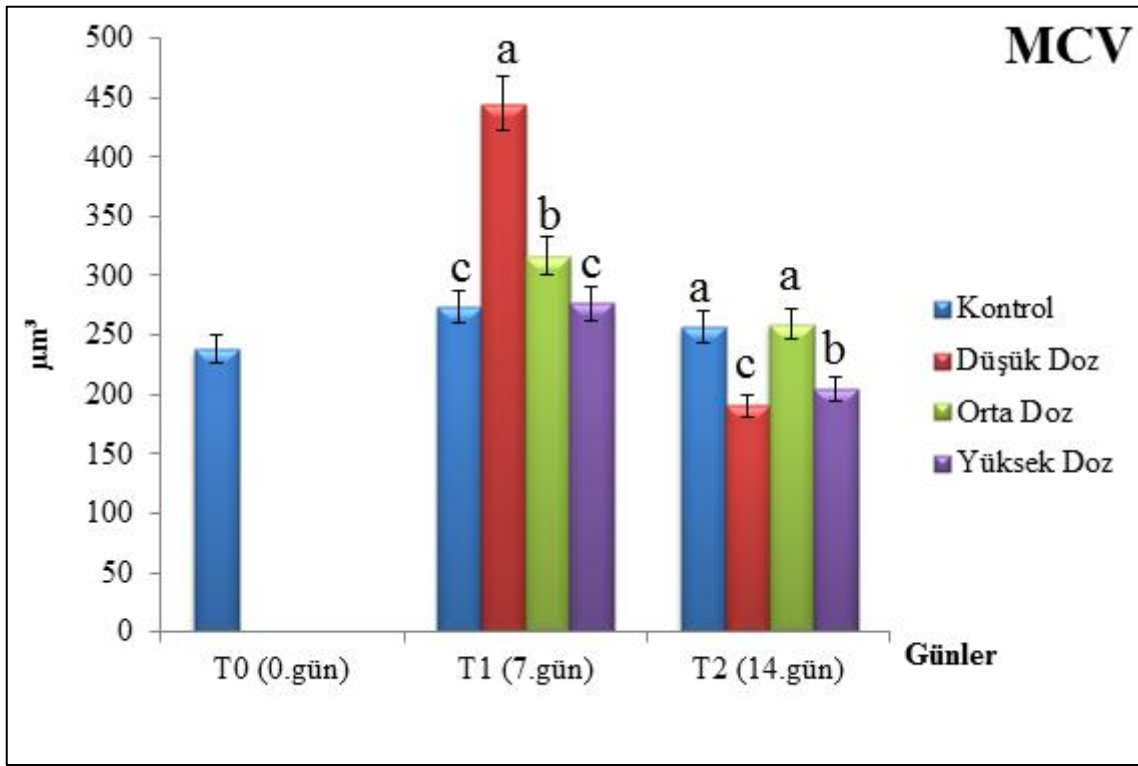
Şekil 41. Zamana ve konsantrasyonlara bağlı eritrosit sayısında meydana gelen değişimler

Oreochromis mossambicus' da belirlenen her derişim ve sürede kurşun metalinin MCH üzerine etkisi Çizelge 15 ve Şekil 42'de verilmiştir. İlk hafta sonunda düşük dozda kontrole göre bir artma görülmesine rağmen tüm konsantrasyonlarda istatistiksel bir fark gözlenmemiştir ($p>0,01$). İkinci hafta sonunda düşük dozda kontrol grubuna göre bir azalma ile orta ve yüksek dozda hafif bir artma da istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,01$).



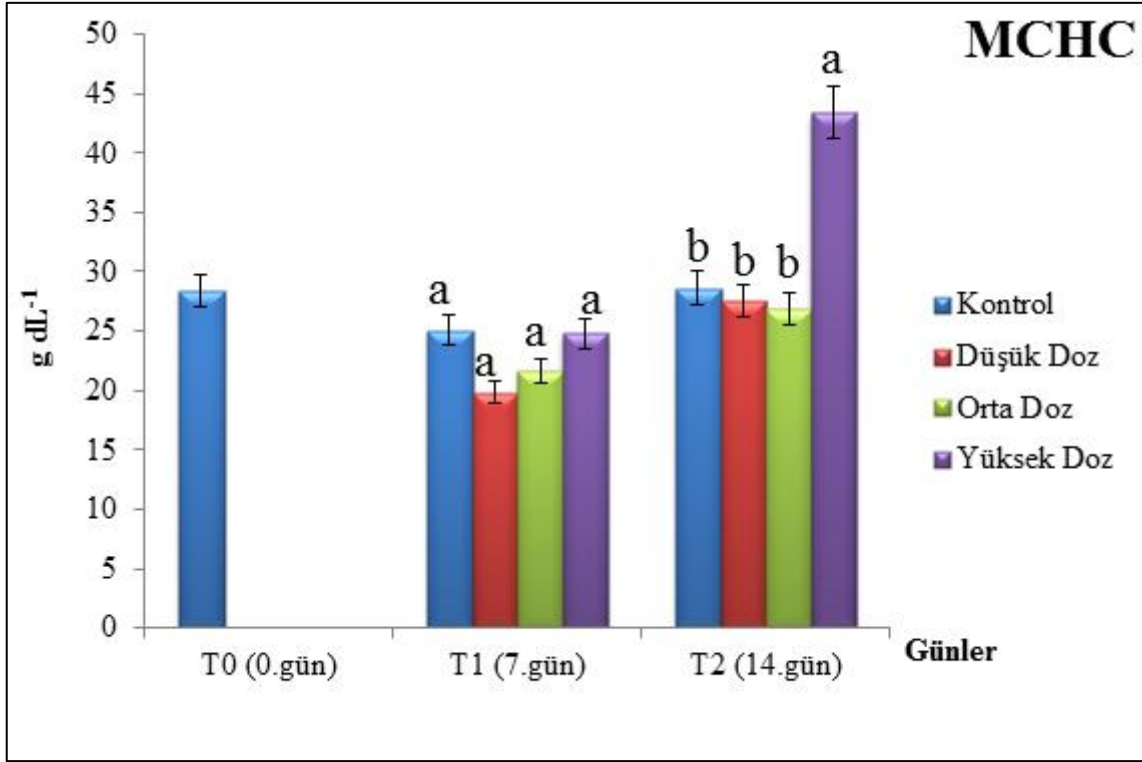
Şekil 42. Zamana ve konsantrasyonlara bağlı olarak MCH' da meydana gelen değişimler

Oreochromis mossambicus' da belirlenen her derişim ve sürede kurşun metalinin MCV üzerine etkisi Çizelge 15 ve Şekil 43'de verilmiştir. İlk hafta sonunda düşük ve orta dozda kontrol grubuna göre önemli bir artış belirlenmiştir ($p < 0,01$). Bu artışlar kendi içinde de önemli olup görülmekle beraber bu azalma istatistiksel olarak önemli bulunmamış ($p < 0,01$), düşük dozda oluşan artış orta dozdan daha fazladır. 7. günde yüksek dozda kontrole göre bir fark bulunmamıştır ($p > 0,01$). İkinci hafta sonunda düşük ve yüksek dozda kontrole göre istatistiksel anlamda önemli azalmalar gözlenmiştir ($p < 0,01$). Bu azalmalar düşük dozda daha fazla görülmüştür. Orta dozda kontrol grubuna göre istatistiksel bir fark görülmemiştir ($p > 0,01$).



Şekil 43. Zamana ve konsantrasyonlara bağlı olarak MCV' de meydana gelen değişimler

Oreochromis mossambicus' da belirlenen her derişim ve sürede kurşun metalinin MCHC üzerine etkisi Çizelge 15 ve Şekil 44'de verilmiştir. İlk hafta sonunda düşük ve orta dozda azalmalar meydana gelse de tüm konsantrasyonlarda istatistiksel bir fark görülmemiştir ($p>0,01$). İkinci hafta sonunda yüksek dozda kontrol grubuna göre önemli derecede artma meydana gelmiştir ($p>0,01$).



Şekil 44. Zamana ve konsantrasyonlara bağlı olarak MCHC' de meydana gelen değişimler

Oreochromis mossambicus' da belirlenen her derişim ve sürede kurşun metalinin beyaz kan hücre tipleri üzerine etkisi Çizelge 16 verilmiştir.

Çizelge 16. Beyaz kan hücre tipleri iki yönlü varyans analizi (Two-Way Anova/Duncan çoklu karşılaştırma testi)

Beyaz Kan Hücreleri (%)		Kontrol	0.5 mg L ⁻¹ (Düşük Doz)	2.5 mg L ⁻¹ (Orta Doz)	5 mg L ⁻¹ (Yüksek Doz)
LHM (%)	Zaman	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$
	T0 (0.gün)	77,03±1.07 Ba	77,03±1.07 Ca	77,03±1.07 Ca	77,03±1.07 Ba
	T1 (7.gün)	78,17±1,16 ABbc	85,83±1,57 Ba	82,83±0,87 Bab	75,67±2,84 Bc
	T2 (14.gün)	83±1,80 Ab	91,50±0,76 Aa	93±1,15 Aa	93,17±0,90 Aa
NHM (%)	T0 (0.gün)	22,17±1.07 Aa	22,17±1.07 Aa	22,17±1.07 Aa	22,17±1.07 Aa
	T1 (7.gün)	21,67±1,28 Aa	13,83±1,68 Bb	15,50±1,38 Bb	22,67±2,83 Aa
	T2 (14.gün)	17±1,80 Aa	6±1,18 Cb	4,17±1,30 Cb	4,83±1,22 Bb
MHM (%)	T0 (0.gün)	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa
	T1 (7.gün)	0 Aa	1 Aa	4,17±1,30 Aa	2,5±0,74 Aa
	T2 (14.gün)	0 Aa	2,50±0,5 Aa	2,83±0,60 Aa	2±0,51 Aa

*n=6, ortalama± standart hata

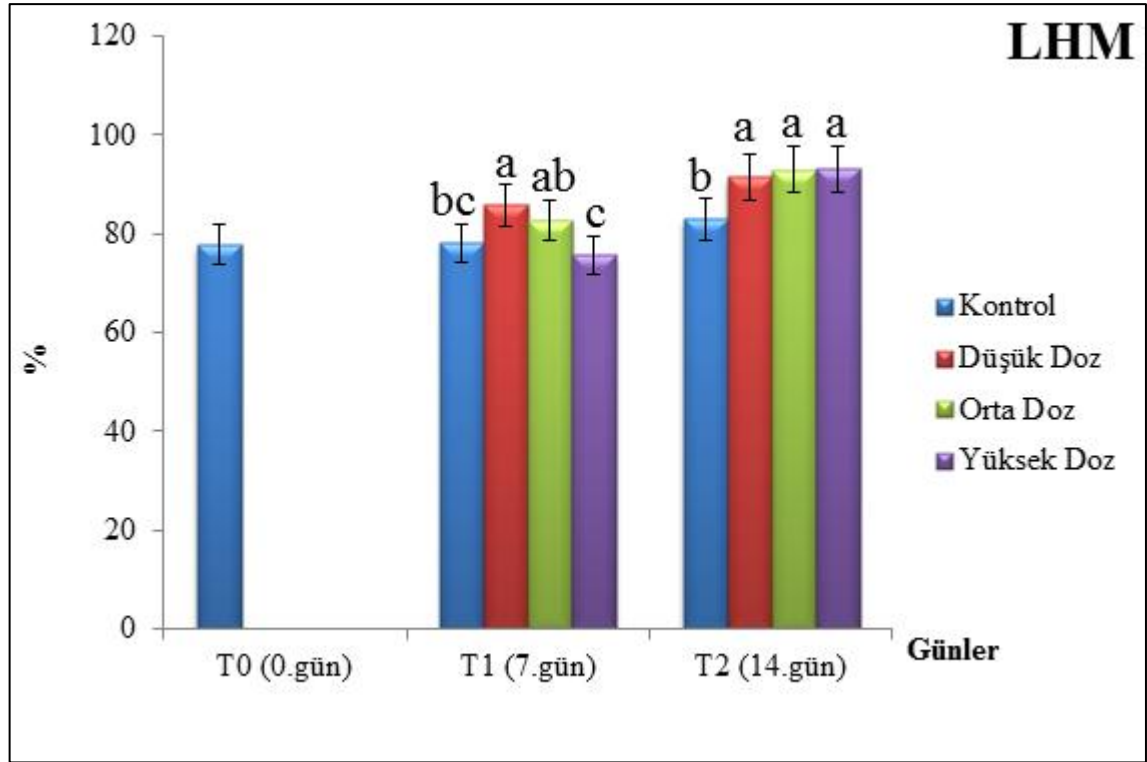
LHM: Lenfosit Hücre Miktarı

NHM: Nötrofil Hücre Miktarı

MHM: Monosit Hücre Miktarı

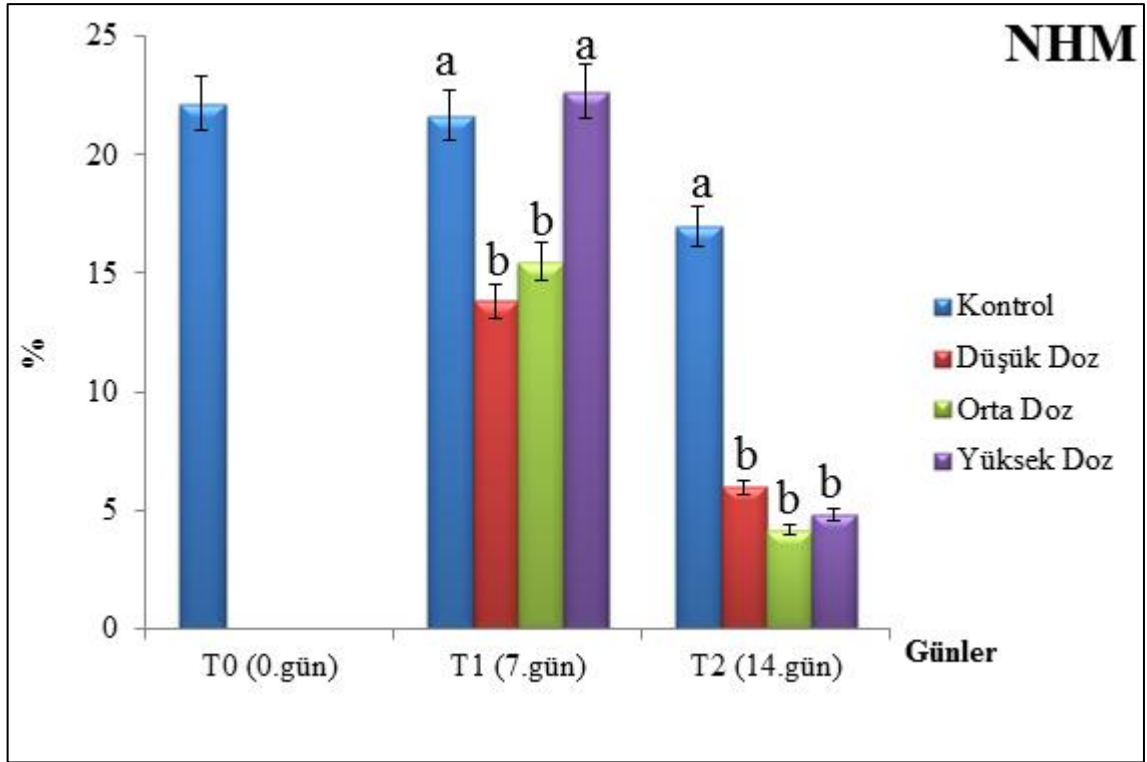
Not 1: Aynı parametre ve konsantrasyonda farklı büyük harflerle gösterilen zaman ortalamaları arasındaki farklar önemlidir (p<0,01).

Not 2: Aynı parametre ve zamanda farklı küçük harflerle gösterilen konsantrasyon ortalamaları arasındaki farklar önemlidir (p<0,01).



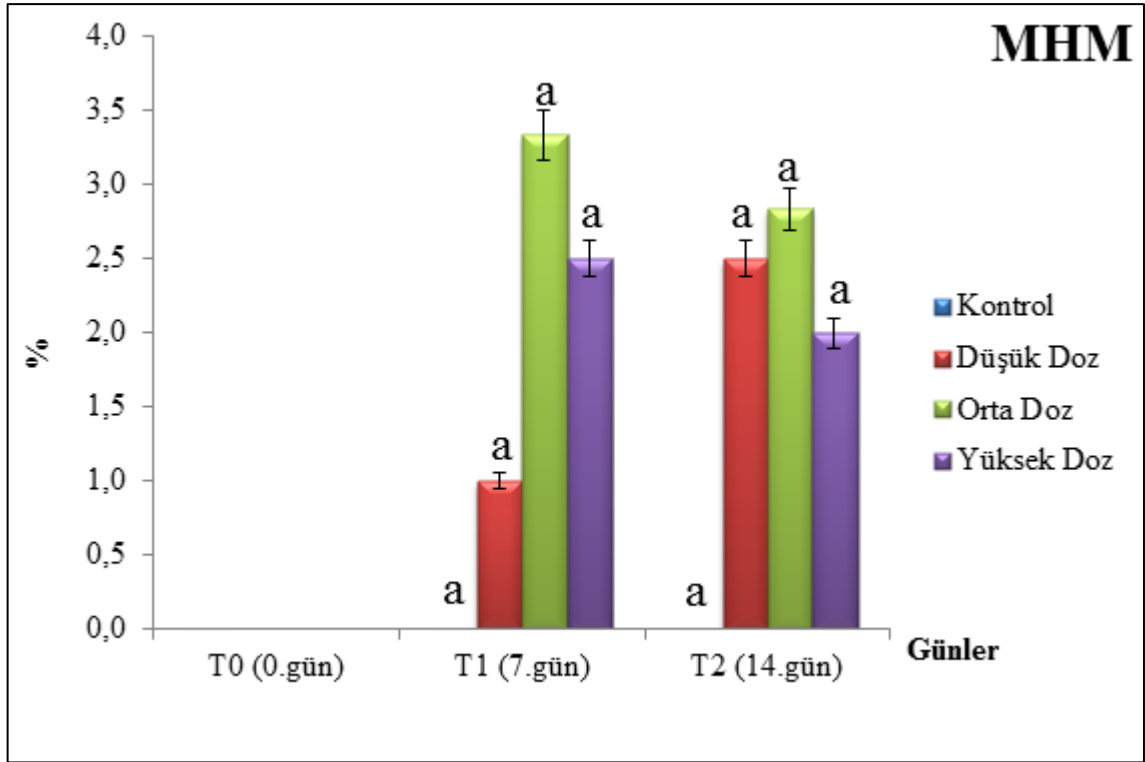
Şekil 45. Zamana ve konsantrasyonlara bağlı olarak lenfosit hücre miktarında (%) meydana gelen değişimler

Tilapia' da belirlenen her derişim ve sürede kurşun metalinin lenfosit hücre miktarı üzerine etkisi Çizelge 16 ve Şekil 45'de verilmiştir. İlk hafta sonunda düşük doz lenfosit hücre miktarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir artma ($p < 0,01$) görülürken diğer dozlarda (orta ve yüksek) istatistiksel bir fark görülmemiştir ($p > 0,01$). İkinci hafta sonunda ise tüm konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir artma tespit edilmiştir ($p < 0,01$).



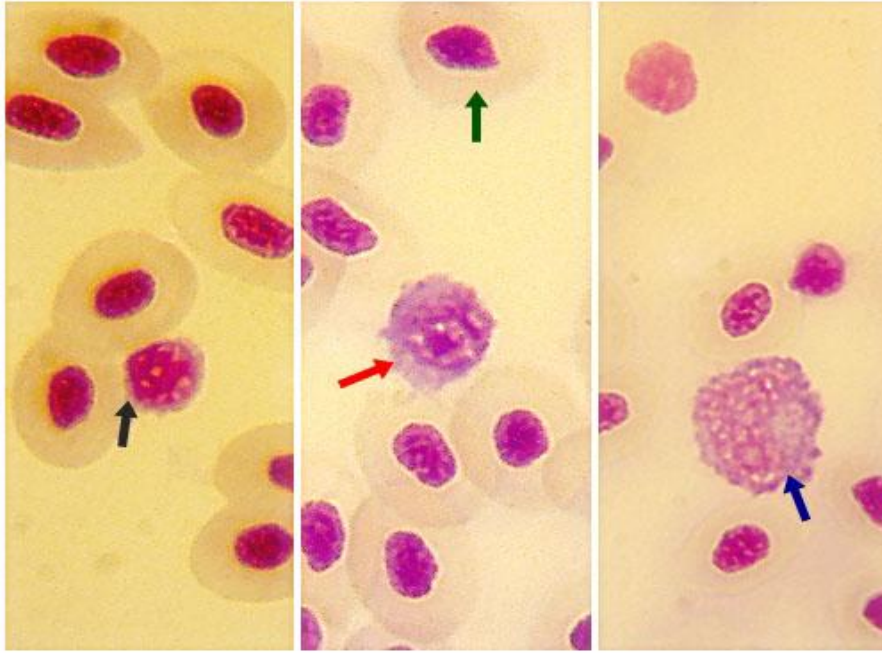
Şekil 46. Zamana ve konsantrasyonlara bağlı olarak nötrofil hücre miktarında (%) meydana gelen değişimler

Oreochromis mossambicus' da belirlenen her derişim ve sürede kurşun metalinin nötrofil hücre miktarı üzerine etkisi Çizelge 16 ve Şekil 46'da verilmiştir. Denemenin 7. gününde düşük ve orta dozda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir azalma görülürken ($p < 0,01$), yüksek dozda kontrol grubuna göre istatistiksel bir fark bulunmamıştır ($p > 0,01$). Deneme sonunda tüm konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre önemli bir azalma meydana gelmiştir ($p < 0,01$).



Şekil 47. Zamana ve konsantrasyonlara bağlı olarak monosit hücre miktarında (%) meydana gelen değişimler

Sublethal kurşun konsantrasyonlarına maruz bırakılan tilapia' da her derişim ve sürede monosit hücre miktarı üzerine etkisi Çizelge 16 ve Şekil 47'de verilmiştir. Kontrol grubunda tüm zamanlarda (0, 7, 14. günler) monosit hücre tipine rastlanmamıştır. Bu çalışmada tüm konsantrasyon ve zamanlarda monosit hücre miktarı bakımından istatistiksel fark bulunmamıştır ($p>0,01$).



➡ LENFOSİT ➡ NÖTROFİL ➡ ERİTROSİT ➡ MONOSİT

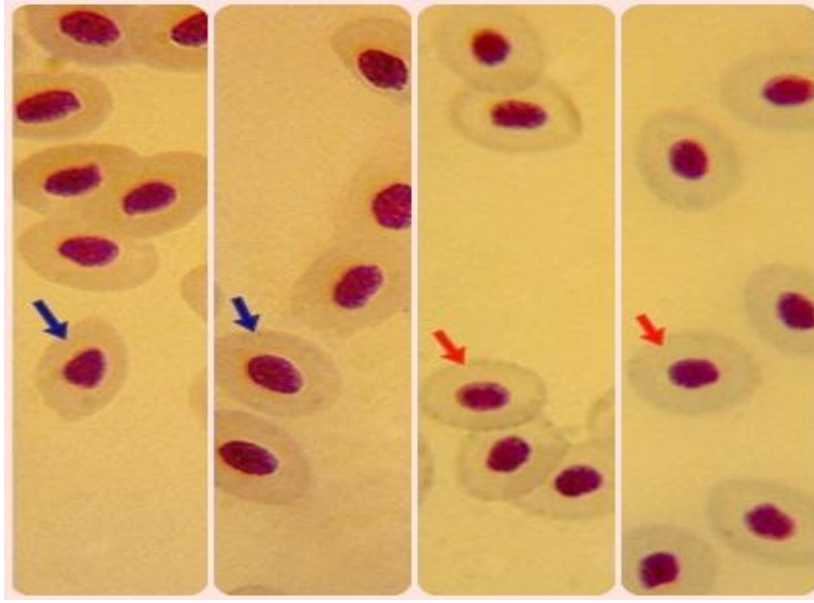
Şekil 48. Kontrol grubu beyaz ve kırmızı kan hücreleri

4.1.4.1.1. Eritrosit Morfolojisinde Meydana Gelen Değişimler

Oreochromis mossambicus' da belirlenen her derişim ve sürede (0 ve 14. günler) kurşun metalinin eritrosit morfolojisi üzerine etkileri Çizelge 17 'de verilmiştir. Eritrosit morfolojisinde meydana gelen değişiklikleri ortaya koyabilmek için eritrosit alan, uzunluk ve genişliği ile sitoplazma alan, uzunluk ve genişliği bilgisayar programı (image pro plus vers. 6.0) yardımıyla ölçülmüştür. Verilerin istatistiksel değerlendirmesi tek yönlü varyans analizi (One-Way Anova/Duncan çoklu karşılaştırma testi) kullanılarak yapılmıştır (n=10).

Elde edilen bulgulara göre eritrosit çekirdek alanında ikinci hafta sonunda orta ve yüksek doz gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir azalma ($p<0,05$) gözlenmiştir (Şekil 50). Yine ikinci hafta sonunda yüksek dozda kontrol grubuna göre eritrosit çekirdek uzunluğu ve genişliğinde önemli bir azalma ($p<0,05$) meydana gelmiştir (Şekil 51-52).

Eritrosit sitoplazma bulgularında, sitoplazma alanında orta ve yüksek dozda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir artma ($p<0,05$) tespit edilmiştir (Şekil 53). Sitoplazma uzunluk bulguları deneme başlangıcı ve sonunda herhangi bir istatistiksel fark ($p>0,05$) göstermemiştir (Şekil 54). Sitoplazma genişlik bulgularında ise sitoplazma alan bulgularına paralel olarak ikinci hafta sonunda orta ve yüksek dozda kontrole göre önemli bir artma ($p<0,05$) görülmüştür (Şekil 55).



➡ Kontrol grubu eritrosit ➡ Yüksek doz (14.gün) eritrosit

Şekil 49. Kontrol grubu ve yüksek doz eritrosit hücre görünümleri

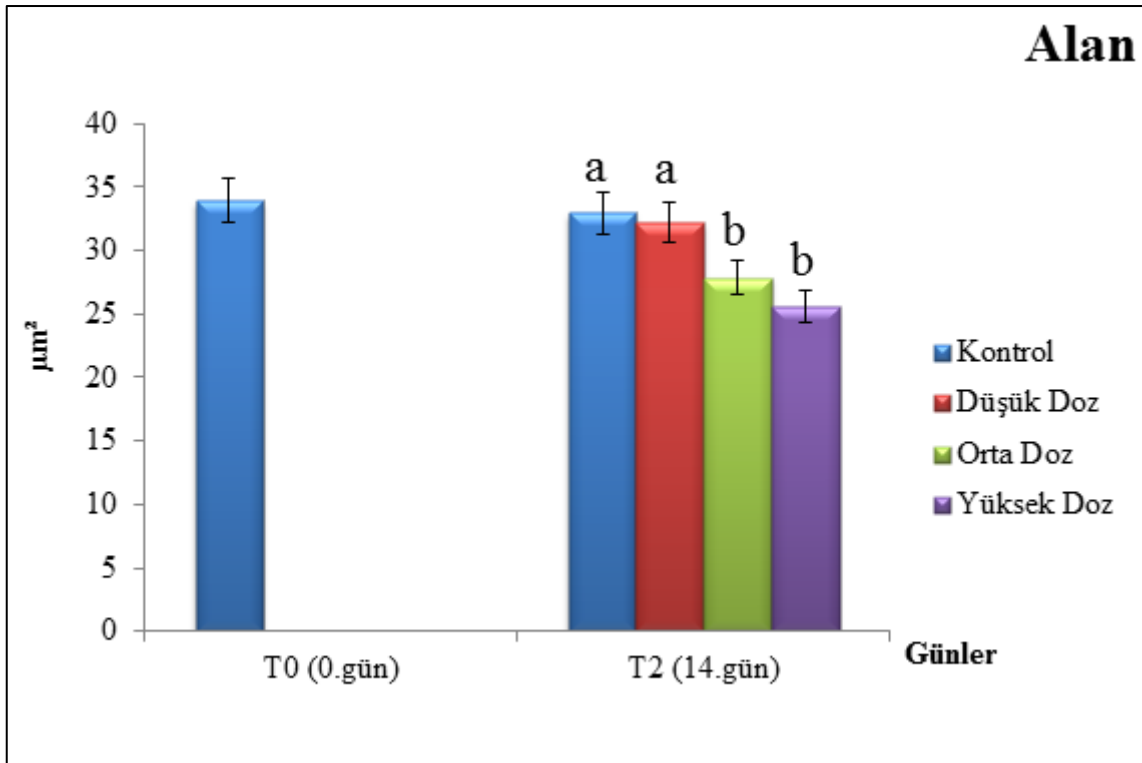
Çizelge 17. Eritrosit morfolojisinde meydana gelen değişimlerin tek yönlü varyans analizi (One Way Anova/Duncan çoklu karşılaştırma testi)

		Zaman	Kontrol	Düşük Doz	Orta Doz	Yüksek Doz
			T0 (0.gün)	33,952±1,062 a	33,952±1,062 a	33,952±1,062 a
Çekirdek	Alan	T2(14.gün)	32,998±0,981 a	32,202±0,680 a	27,856±1,512 b	25,542±0,981 b
		Uzunluk	T0 (0.gün)	7,857±0,059 a	7,857±0,059 a	7,857±0,059 a
	T2(14.gün)		7,844±0,119 ab	7,904±0,049 a	7,638±0,078 bc	7,423±0,071 c
	Genişlik	T0 (0.gün)	5,530±0,203 a	5,530±0,203 a	5,530±0,203 a	5,530±0,203 a
		T2(14.gün)	5,397±0,247 a	5,269±0,079 a	4,963±0,061 ab	4,792±0,055 b
	Sitoplazma	Alan	T0 (0.gün)	186,568±1,668 a	186,568±1,668 a	186,568±1,668 a
T2(14.gün)			186,941±2,189 c	184,711±2,939 c	197,337±3,387 b	206,388±3,694 a
Uzunluk		T0 (0.gün)	19,668±0,488 a	19,668±0,488 a	19,668±0,488 a	19,668±0,488 a
		T2(14.gün)	19,124±0,415 a	19,104±0,436 a	19,850±0,257 a	20,088±0,252 a
Genişlik		T0 (0.gün)	13,459±0,283 a	13,459±0,283 a	13,459±0,283 a	13,459±0,283 a
		T2(14.gün)	13,661±0,190 b	13,742±0,455 b	15,392±0,564 a	16,604±0,517 a

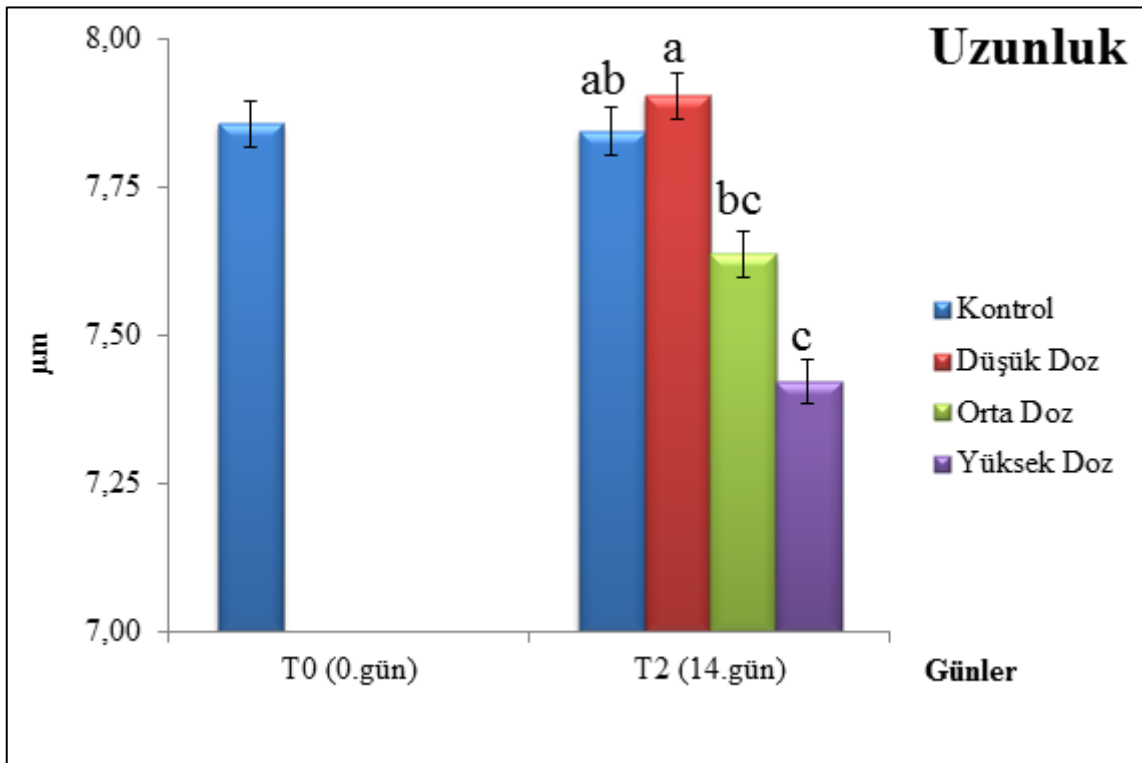
*n=10, ortalama± standart hata

Not 1: Farklı konsantrasyonda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir (p<0,05).

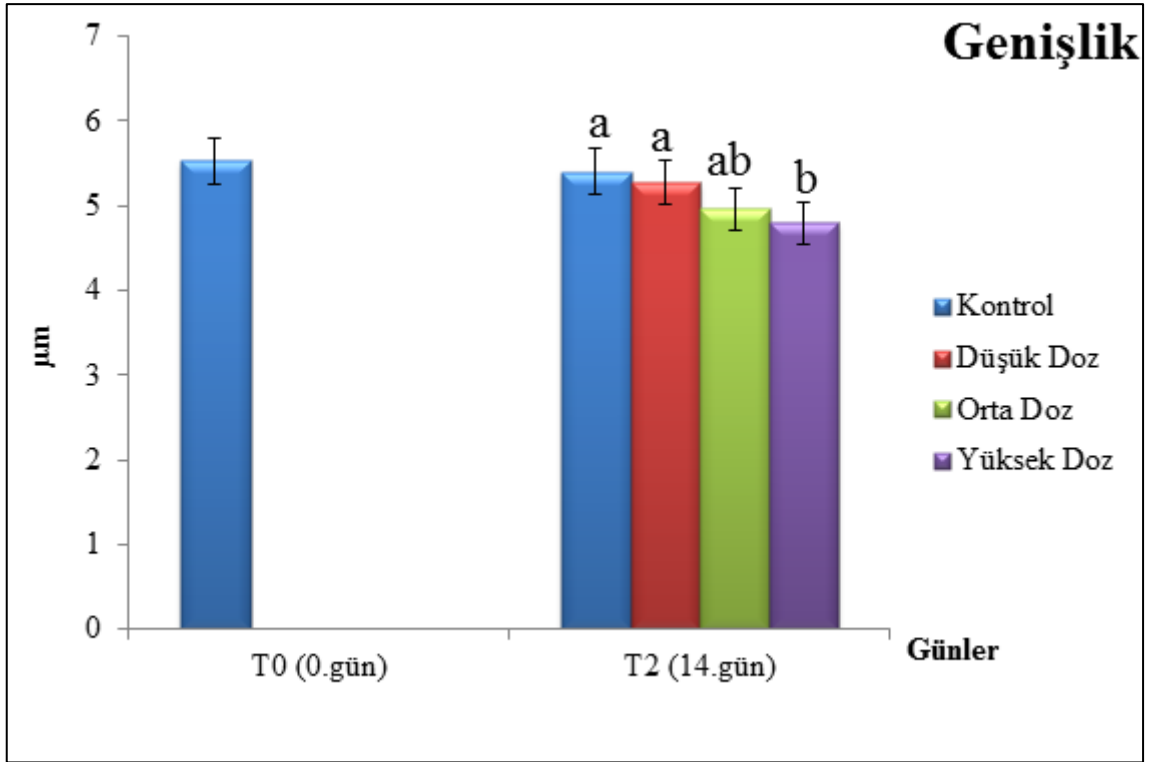
Eritrosit çekirdeği morfolojik ölçüm bulguları (alan, uzunluk, genişlik)



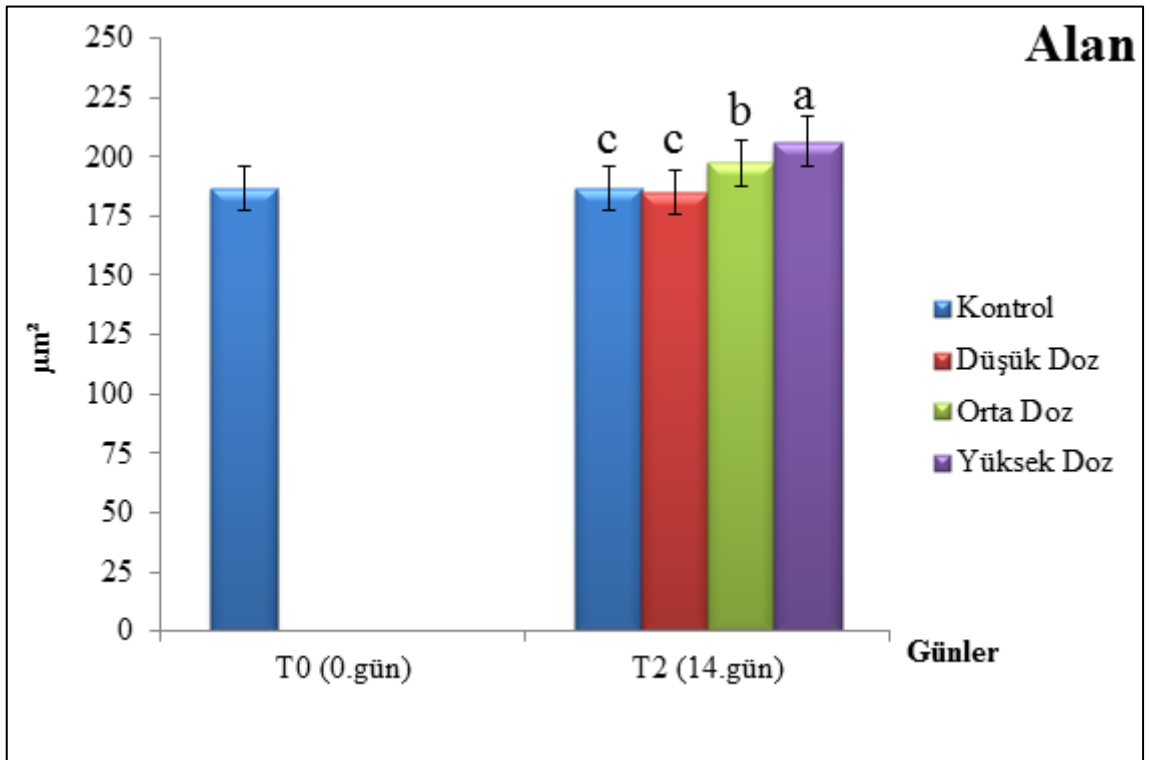
Şekil 50. Eritrosit çekirdek alanının konsantrasyonlara ve zamana göre değişimi



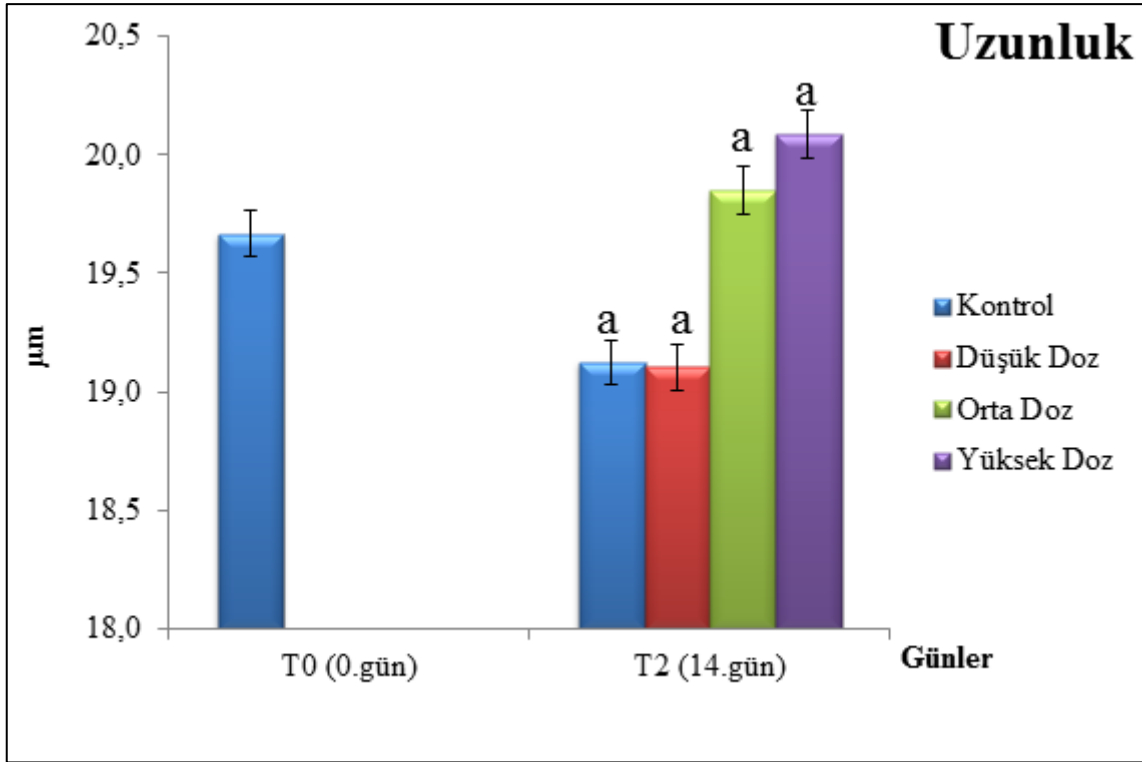
Şekil 51. Eritrosit çekirdek uzunluğunun konsantrasyonlara ve zamana göre değişimi



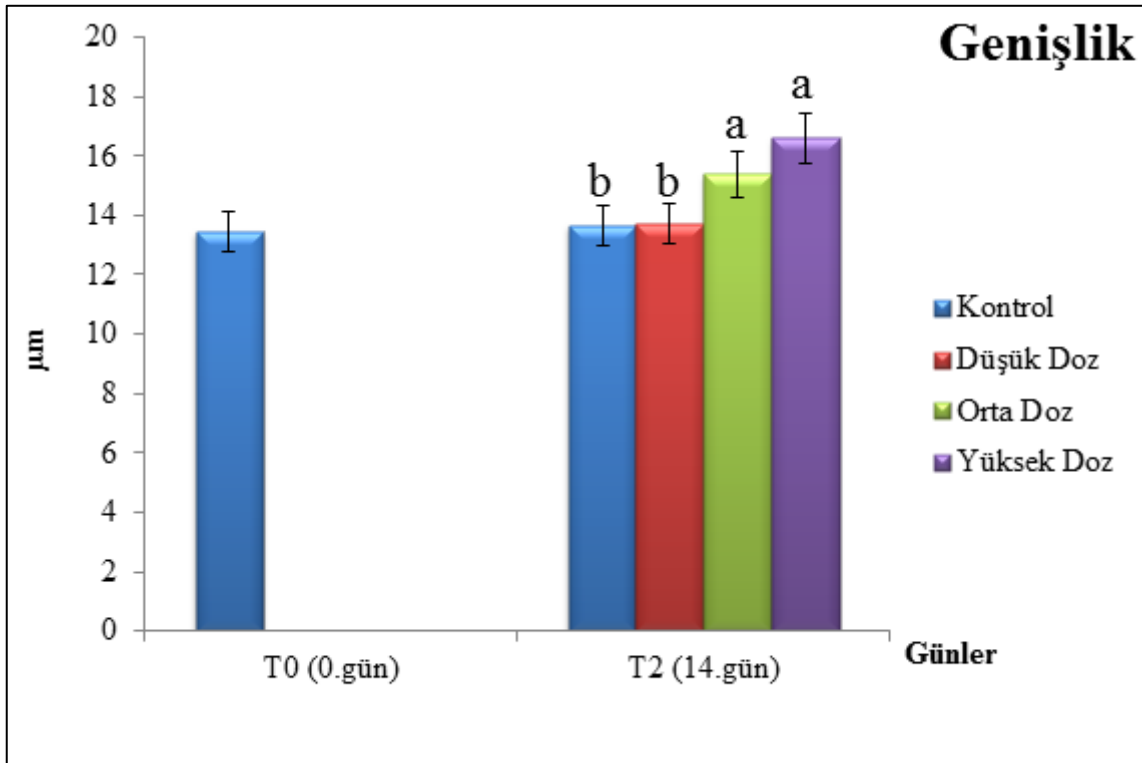
Şekil 52. Eritrosit çekirdek genişliğinin konsantrasyonlara ve zamana göre değişimi



Şekil 53. Eritrosit sitoplazma alanının konsantrasyonlara ve zamana göre değişimi



Şekil 54. Eritrosit sitoplazma uzunluğunun konsantrasyonlara ve zamana göre değişimi



Şekil 55. Eritrosit sitoplazma genişliğinin konsantrasyonlara ve zamana göre değişimi

4.1.4.2. Biyokimyasal Parametreler

4.1.4.2.1. Serum Enzim Bulguları

In vivo etkide kurşun konsantrasyonlarına maruz bırakılan tilapia da serum enzimlerinin zamana ve konsantrasyonlara bağlı olarak değişimi çizelge 18 ' de verilmiştir.

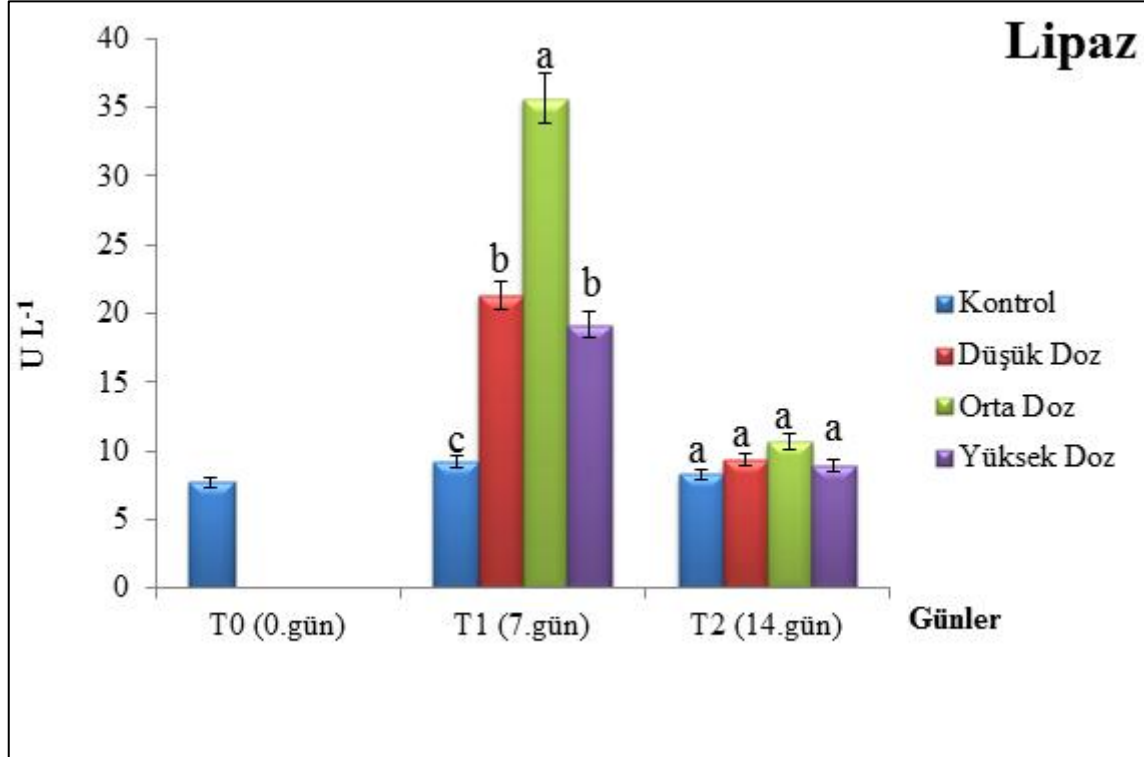
Çizelge 18. Serum enzimleri iki yönlü varyans analizi (Two Way Anova/Duncan çoklu karşılaştırma testi, *n=6, ortalama± standart hata)

	Zaman	Kontrol	Düşük Doz	Orta Doz	Yüksek Doz
Lipaz (U L ⁻¹)	T0 (0.gün)	7,73±0,40 Aa	7,73±0,40 Ba	7,73±0,40 Ba	7,73±0,40 Ba
	T1 (7.gün)	9,22±0,67 Ac	21,32±0,92 Ab	35,68±2,06 Aa	19,18±1,4 Ab
	T2 (14.gün)	8,28±0,55 Aa	9,32±1,42 Ba	10,67±0,99 Ba	8,95±0,48 Ba
ALP (U L ⁻¹)	T0 (0.gün)	5,13±0,26 Aa	5,13±0,26 Ba	5,13±0,26 Ca	5,13±0,26 Ba
	T1 (7.gün)	5,73±0,77 Ad	9,52±0,47 Ac	18,76±1,7 Aa	13,41±0,87 Ab
	T2 (14.gün)	5,89±0,72 Ab	10,19±1,12 Aa	8,90±0,77 Ba	3,13±0,19 Bb
AST (U L ⁻¹)	T0 (0.gün)	6,33±0,87 Aa	6,33±0,87 Ba	6,33±0,87 Ca	6,33±0,87 Ca
	T1 (7.gün)	6,52±0,44 Ac	6,56±0,12 Bc	18,21±0,99 Ab	38,15±1,6 Ba
	T2 (14.gün)	6,80±0,60 Ad	21,81±2,86 Ab	14,86±1,05 Bc	85,48±2,78 Aa
ALT (U L ⁻¹)	T0 (0.gün)	16,71±2,01 Aa	16,71±2,01 Aa	16,71±2,01Aa	16,71±2,01 Ba
	T1 (7.gün)	16,58±0,66 Aa	13,05±0,77 Aab	13,26±1,39 Aab	9,34±0,75 Cb
	T2 (14.gün)	17,88±1,46 Ab	2,12±0,15 Bc	7,50±0,61 Ac	27,77±1,61 Aa
CK (U L ⁻¹)	T0 (0.gün)	77,94±1,00 Aa	77,94±1,00 Ca	77,94±1,00 Ba	77,94±1,00 Aa
	T1 (7.gün)	78,83±2,79 Ab	102,69±2,29 Ba	54,32±3,71 Cc	85,31±3,12 Ab
	T2 (14.gün)	78,24±2,41 Ac	118,50±2,03 Aa	88,68±1,48 Ab	77,66±2,36 Ac
LDH (U L ⁻¹)	T0 (0.gün)	58,22±2,93 Aa	58,22±2,93 Ba	58,22±2,93 Ba	58,22±2,93 Ca
	T1 (7.gün)	61,17±4,19 Aa	73,17±2,70 Ba	74,38±3,02 Ba	85,29±2,77 Ba
	T2 (14.gün)	54,27±3,03 Ab	145,03±4,21 Aa	163,30±5,60 Aa	142,41±3,24 Aa

Not 1: Aynı parametre ve konsantrasyonda farklı büyük harflerle gösterilen zaman ortalamaları arasındaki farklar önemlidir ($p<0,01$).

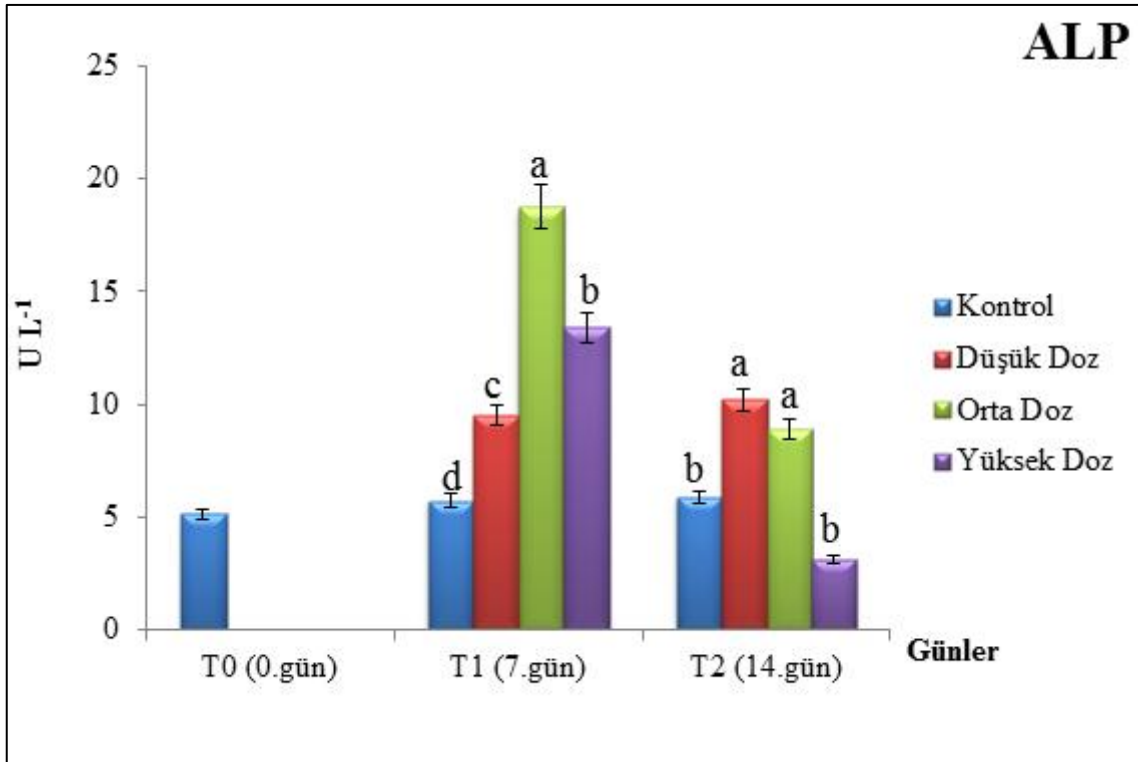
Not 2: Aynı parametre ve zamanda farklı küçük harflerle gösterilen konsantrasyon ortalamaları arasındaki farklar önemlidir ($p<0,01$).

Sublethal kurşun konsantrasyonlarının tilapia balığında zamana ve konsantrasyona bağlı olarak lipaz enzimi üzerine etkisi çizelge 18 ve Şekil 56’ da verilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucu zamanXkonsantrasyon interaksiyon etkisinin lipaz enzim aktivitesi üzerine ($p<0,01$) önemli olduğu görülmüştür. Dolayısıyla lipaz enzim aktivitesi konsantrasyonlara ve zamana bağlı olarak değişim göstermektedir. Lipaz enzimi aktivitesinde ilk hafta sonunda kontrol grubuna göre konsantrasyonlarda istatistiksel olarak önemli artışlar görülmüştür ($p<0,01$). En yüksek artış orta dozda görülmüş olup, kontrol grubunun yaklaşık 5 katına ulaşmıştır ($35,68 \text{ U L}^{-1}$). Orta ve yüksek dozdaki artışlar kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli iken kendi aralarında istatistiksel bir fark tespit edilmemiştir ($p>0,01$). İkinci hafta sonunda lipaz enzim aktivitesinde kontrol grubu ile konsantrasyonlar arasında istatistiksel bir fark gözlenmemiştir ($p>0,01$).



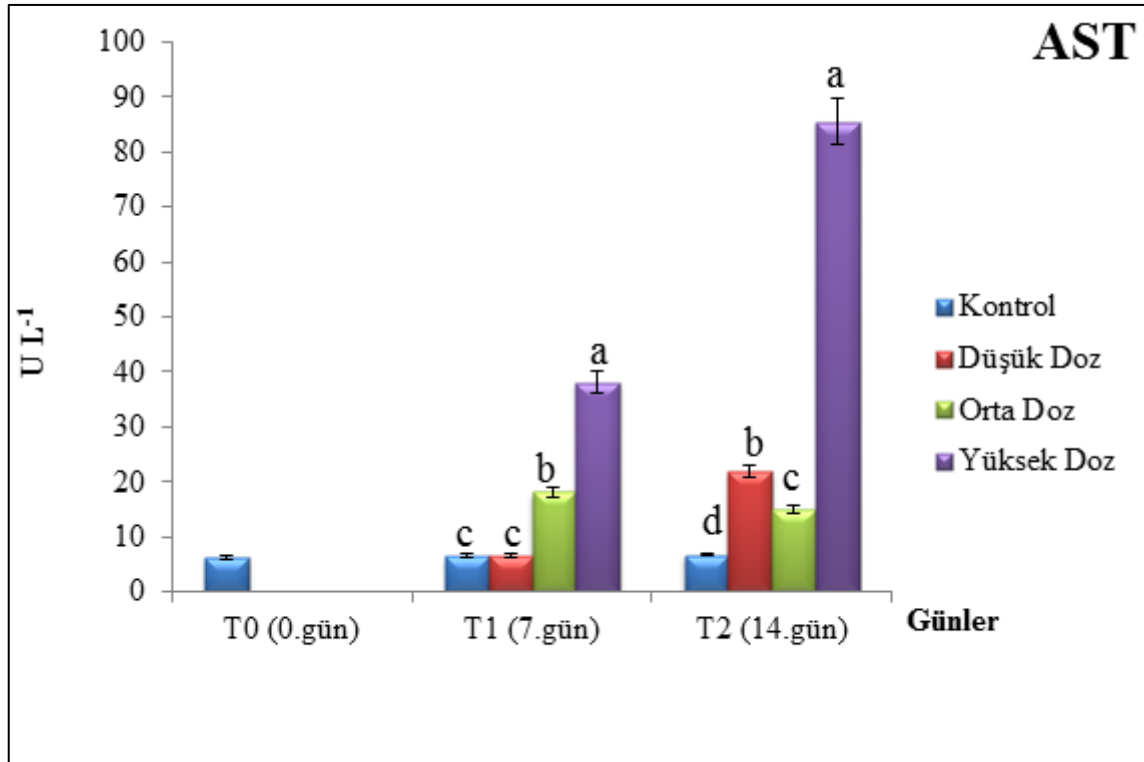
Şekil 56. Zamana ve konsantrasyonlara bağlı Lipaz enzim aktivitesi değişimi

Sublethal kurşun konsantrasyonlarının tilapia balığında zamana ve konsantrasyona bağlı olarak alkalen fosfataz (ALP) enzimi üzerine etkisi Çizelge 18 ve Şekil 57’ de verilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucu zamanXkonsantrasyon interaksiyon etkisinin ALP enzim aktivitesi üzerine ($p<0,01$) önemli olduğu görülmüştür. Dolayısıyla ALP aktivitesi konsantrasyonlara ve zamana bağlı olarak değişim göstermektedir. İlk hafta sonunda kontrol grubuna göre konsantrasyonlarda istatistiksel olarak önemli artmalar görülmüştür ($p<0,01$). Bu artışlar en fazla orta dozda görülürken ($18,76 \text{ U L}^{-1}$), onu yüksek doz ve düşük doz izlemiştir. İkinci hafta sonunda ALP enzimi aktivitesinde yüksek dozda kontrole göre istatistiksel bir fark gözlenmezken ($p>0,01$), düşük ve orta dozlarda ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli artmalar meydana gelmiştir ($p<0,01$).



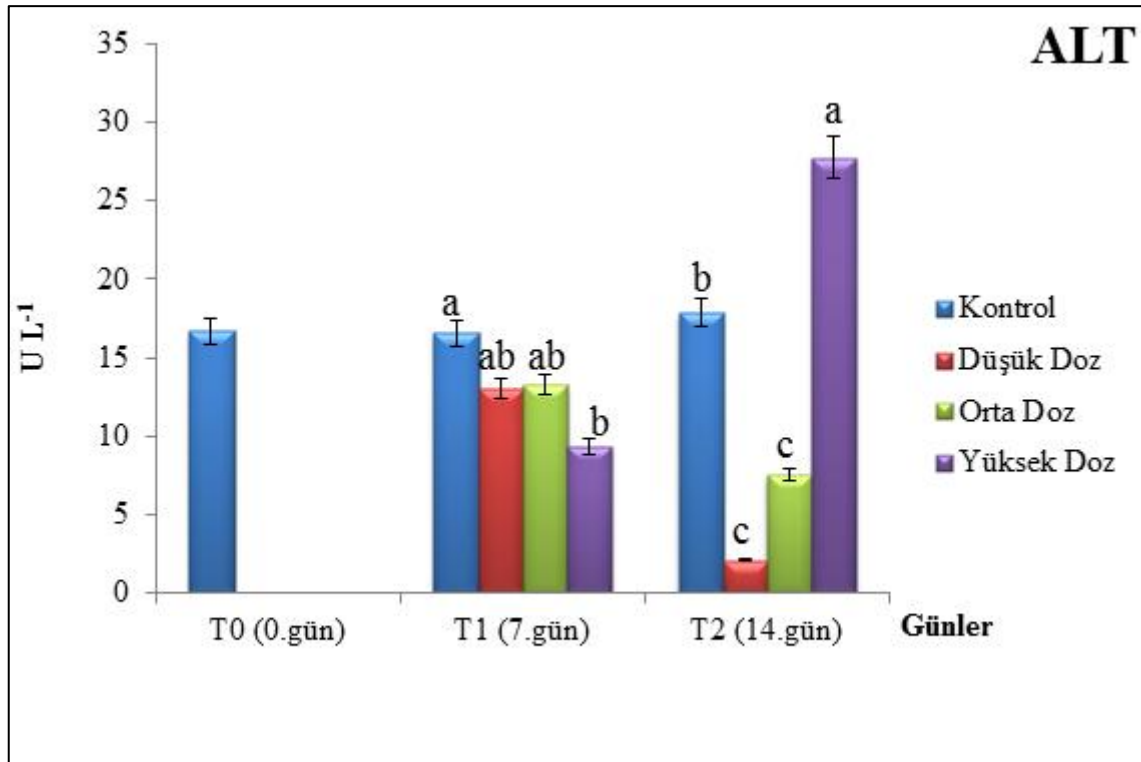
Şekil 57. Zamana ve konsantrasyonlara bağlı ALP enzim aktivitesi değişimi

Sublethal kurşun konsantrasyonlarının tilapia balığında zamana ve konsantrasyona bağlı olarak aspartat aminotransferaz (AST) enzimi üzerine etkisi Çizelge 18 ve Şekil 58’ de verilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucu zamanXkonsantrasyon interaksiyon etkisinin AST enzim aktivitesi üzerine ($p<0,01$) önemli olduğu görülmüştür. Denemenin 7. gün sonunda AST enzim aktivitesinde orta ve yüksek doz gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli artmalar ($p<0,01$) meydana gelmiştir (orta doz: 18,21 U L⁻¹, yüksek doz: 38,15). Düşük dozda ise kontrol grubuna göre bir değişim meydana gelmemiştir ($p>0,01$). Denemenin 14. gününde tüm dozlarda kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak önemli artmalar görülmüştür ($p<0,01$). Yüksek dozda görülen artma diğer dozlara ve kontrol grubuna göre çok yüksek çıkmıştır.



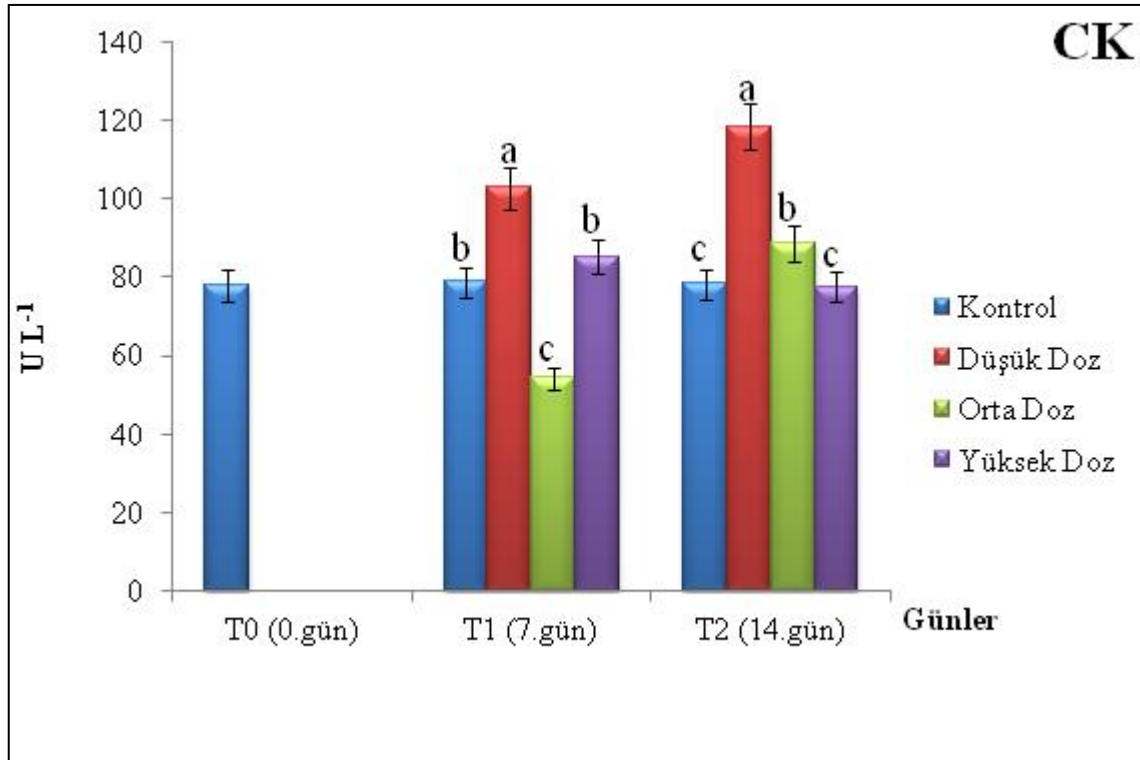
Şekil 58. Zamana ve konsantrasyonlara bağlı AST enzim aktivitesi değişimi

Sublethal kurşun konsantrasyonlarının tilapia balığında zamana ve konsantrasyona bağlı olarak alanin aminotransferaz (ALT) enzimi üzerine etkisi Çizelge 18 ve Şekil 59’ da verilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucu zamanXkonsantrasyon interaksiyon etkisinin ALT enzim aktivitesi üzerine ($p<0,01$) önemli olduğu görülmüştür. Dolayısıyla ALT aktivitesi konsantrasyonlara ve zamana bağlı olarak değişim göstermektedir. İlk hafta sonunda ALT aktivitesi düşük ve orta dozda hafif azalmalar kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,01$). Yüksek dozda ise 7. günde kontrol grubuna göre önemli bir azalma görülürken ($p<0,01$), deneme sonunda (14. gün) ise yüksek dozda kontrol grubuna göre önemli bir artış gözlenmiştir ($p<0,01$). 14. günde düşük ve orta dozlardaki azalma kontrole göre önemli derecede düşük bulunmuştur ($p<0,01$).



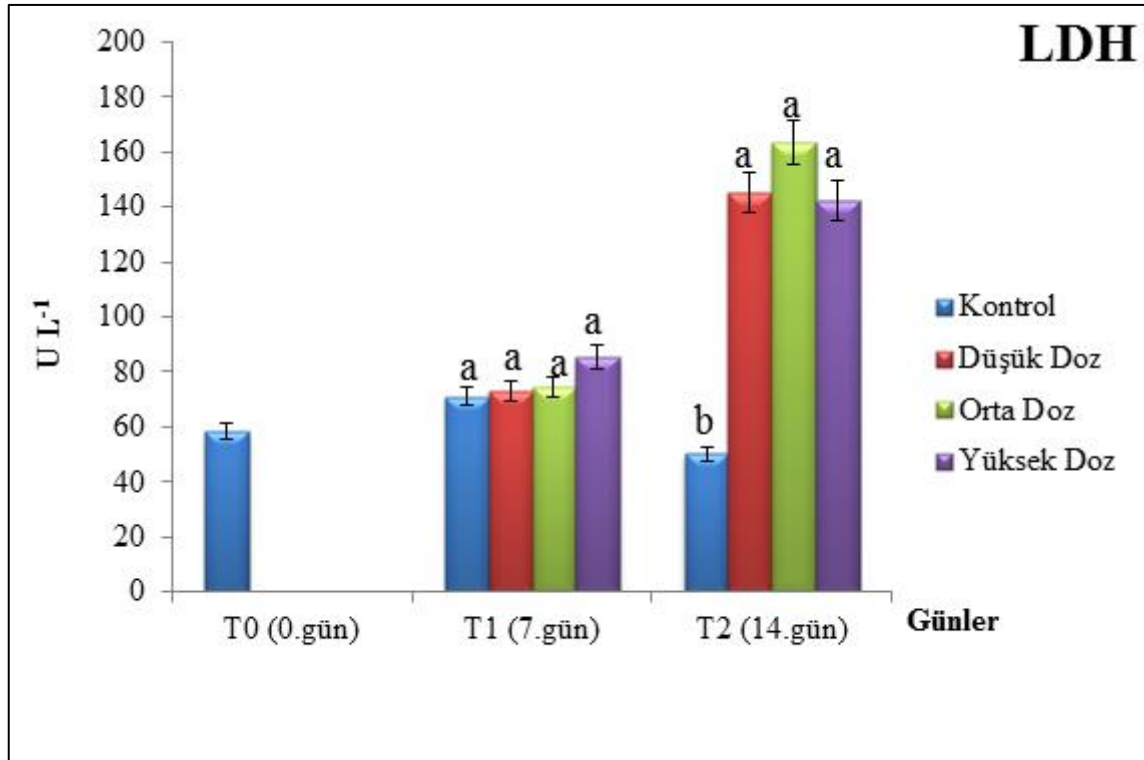
Şekil 59. Zamana ve konsantrasyonlara bağlı ALT enzim aktivitesi değişimi

In vivo etkide kurşun konsantrasyonlarının tilapia balığında zamana ve konsantrasyona bağlı olarak kreatin kinaz (CK) enzimi üzerine etkisi Çizelge 18 ve Şekil 60'da verilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucu zamanXkonsantrasyon interaksiyon etkisinin CK enzim aktivitesi üzerine ($p<0,01$) önemli olduğu görülmüştür. Dolayısıyla CK aktivitesi konsantrasyonlara ve zamana bağlı olarak değişim göstermektedir. Kreatin kinaz enzim aktivitesi düşük dozda 7 ve 14. günlerde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir artış ($p<0,01$) göstermiştir. Orta dozda CK enzim aktivitesi 7. günde kontrol grubuna göre önemli bir azalma gösterirken ($p<0,01$), 14. günde istatistiksel olarak önemli bir artma göstermiştir ($p<0,01$). Yüksek doz CK enzim aktivitesi 7 ve 14. günlerde kontrol grubuna göre istatistiksel bir fark göstermemiştir ($p>0,01$).



Şekil 60. Zamana ve konsantrasyonlara bağlı CK enzim aktivitesi değişimi

Sublethal kurşun konsantrasyonlarının tilapia balığında zamana ve konsantrasyona bağlı olarak laktat dehidrogenaz (LDH) enzimi üzerine etkisi Çizelge 18 ve Şekil 61’ de verilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucu zamanxkonsantrasyon interaksiyon etkisinin LDH aktivitesi üzerine ($p<0,01$) önemli olduğu görülmüştür. Dolayısıyla LDH aktivitesi konsantrasyonlara ve zamana bağlı olarak değişim göstermektedir. Denemenin ilk haftası sonunda LDH enzim aktivitesinde konsantrasyonlar ile kontrol grupları arasında istatistiksel bir fark saptanmamıştır ($p>0,01$). Deneme sonunda ise kontrol grubuna göre tüm konsantrasyonlarda istatistiksel açıdan önemli artma belirlenmiştir ($p<0,01$). Bu artışlar en fazla orta dozda gözlenmiş olup, dozlar arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır ($p>0,01$).



Şekil 61. Zamana ve konsantrasyonlara bağlı LDH enzim aktivitesi değişimi

4.1.4.2.2. Glikoz, Serum Proteinleri ve Bilirubin Bulguları

İn vivo etkide kurşun konsantrasyonlarına maruz bırakılan tilapia da serum glikoz, serum proteinleri ve bilirubin bulgularının zamana ve konsantrasyonlara bağlı olarak değişimi çizelge 19 ' da verilmiştir.

Çizelge 19. Serum kan proteinleri iki yönlü varyans analizi (Two-Way Anova/Duncan çoklu karşılaştırma testi)

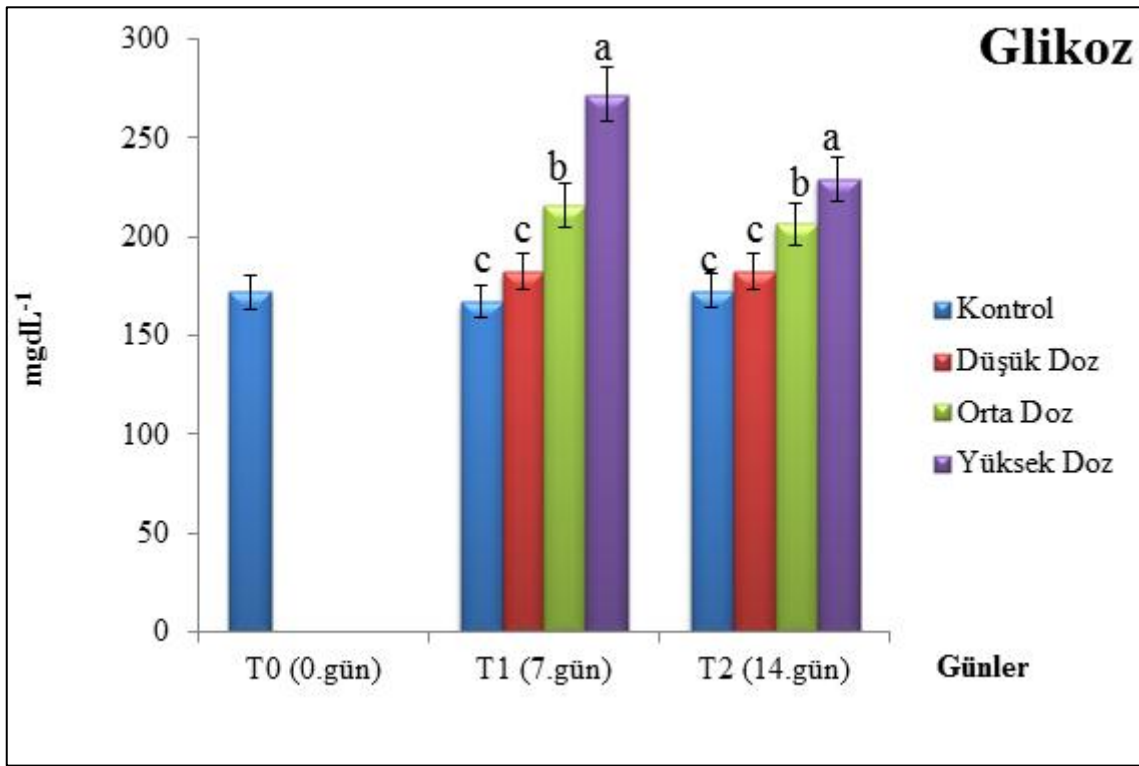
Glikoz (mg dL ⁻¹)	T0 (0.gün)	172,044±0,78 Aa	172,044±0,78 Aa	172,044±0,78 Ba	172,044±0,78 Ca
	T1 (7.gün)	167,199±4,10 Ac	182,484±4,98 Ac	215,884±7,68 Ab	271,954±2,80 Aa
	T2 (14.gün)	172,900±2,60 Ac	182,424±5,91 Ac	206,338±7,67 Ab	229,235±5,94 Ba
Toplam protein (g dL ⁻¹)	T0 (0.gün)	8,910±0,09 Aa	8,910±0,09 Ca	8,910±0,09 Ba	8,910±0,09 Ba
	T1 (7.gün)	8,759±0,60 Ac	10,797±0,31 Bb	12,381±0,61 Ab	15,331±1,05 Aa
	T2 (14.gün)	9,477±0,40 Abc	13,822±0,55 Aa	11,245±0,38 Ab	9,250±0,26 Bc
Albumin (g dL ⁻¹)	T0 (0.gün)	3,673±0,11 Aa	3,673±0,11 Ba	3,673±0,11 Ba	3,673±0,11 Ba
	T1 (7.gün)	3,821±0,23 Ab	4,352±0,15 Ab	4,246±0,09 Ab	5,477±0,07 Aa
	T2 (14.gün)	3,818±0,19 Aa	1,892±0,11 Cc	4,075±0,11 ABa	3,307±0,08 Bb
Bilirubin (g dL ⁻¹)	T0 (0.gün)	0,210±0,007 Aa	0,210±0,007 Ba	0,210±0,007 Ca	0,210±0,007 Ca
	T1 (7.gün)	0,251±0,01 Ab	0,338±0,02 Ab	0,453±0,04 Aa	0,509±0,02 Aa
	T2 (14.gün)	0,256±0,02 Aa	0,312±0,02 Aa	0,337±0,02 Ba	0,339±0,005 Ba

*n=6, ortalama± standart hata

Not 1: Aynı doku ve konsantrasyonda farklı büyük harflerle gösterilen zaman ortalamaları arasındaki farklar önemlidir (p<0,01).

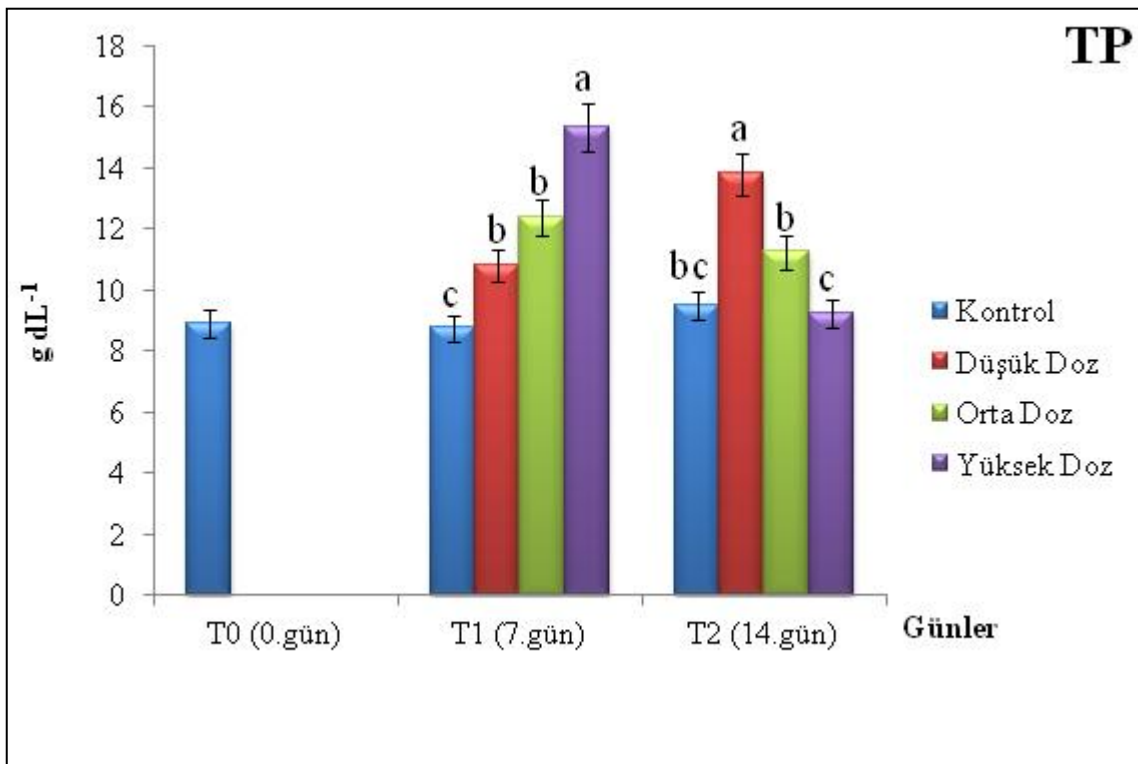
Not 2: Aynı doku ve zamanda farklı küçük harflerle gösterilen konsantrasyon ortalamaları arasındaki farklar önemlidir (p<0,01).

Sublethal kurşun konsantrasyonlarının tilapia balığında zamana ve konsantrasyona bağlı olarak glikoz seviyesi üzerine etkisi Çizelge 19 ve Şekil 62’ de verilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucu zamanXkonsantrasyon interaksiyon etkisinin glikoz üzerine ($p<0,01$) önemli olduğu görülmüştür. Dolayısıyla glikoz seviyesi konsantrasyonlara ve zamana bağlı olarak değişim göstermektedir. Düşük doz glikoz seviyesi 7 ve 14. günlerde kontrol grubuna göre istatistiksel bir fark göstermemiştir ($p>0,01$). Orta doz glikoz seviyesi 7 ve 14. günlerde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir artma göstermiştir ($p<0,01$). Yüksek dozda 7 ve 14. günlerde kontrole göre istatistiksel açıdan önemli bir artma gözlenmiştir ($p<0,01$).



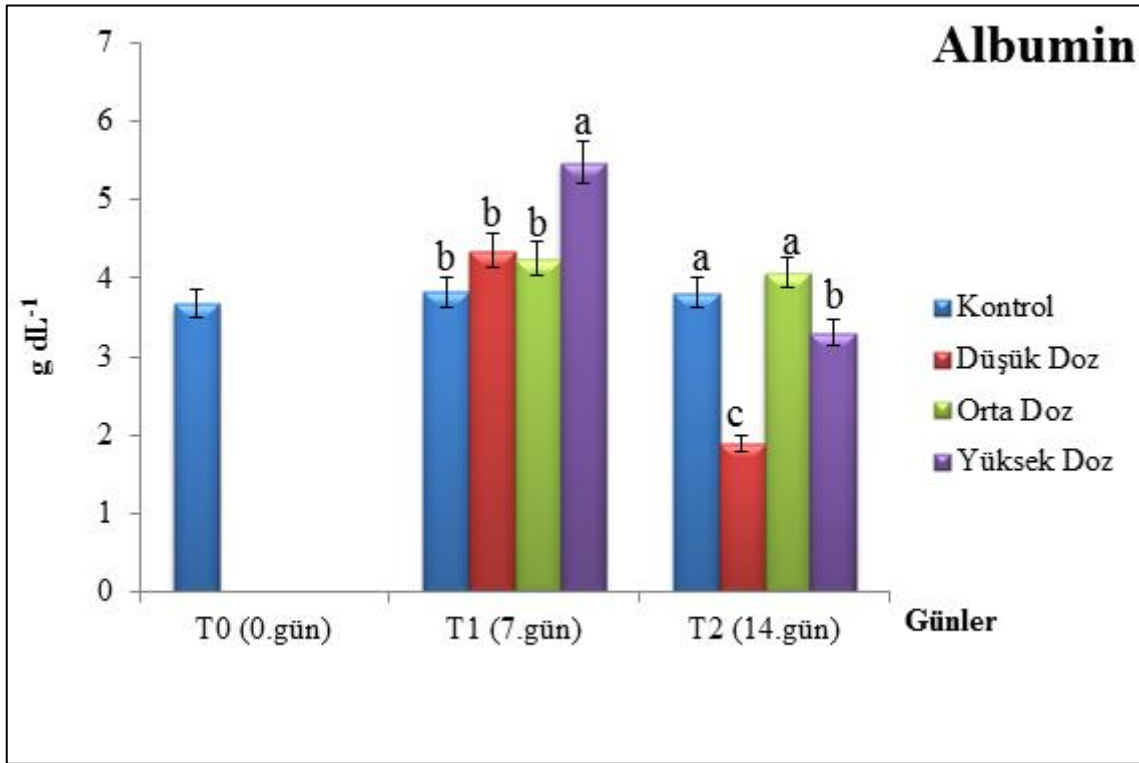
Şekil 62. Glikoz seviyesinin zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi

In vivo etkide kurşun konsantrasyonlarının tilapia balığında zamana ve konsantrasyona bağlı olarak toplam protein üzerine etkisi Çizelge 19 ve Şekil 63’ te verilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucu zamanXkonsantrasyon interaksiyon etkisinin toplam protein üzerine ($p<0,01$) önemli olduğu görülmüştür. Dolayısıyla toplam protein konsantrasyonlara ve zamana bağlı olarak değişim göstermektedir. Düşük dozda toplam protein seviyesi 7 ve 14. günlerde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli derecede artma göstermiştir ($p<0,01$). Orta ve yüksek dozda toplam protein seviyesi 7. günde kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli bir artma gösterirken ($p<0,01$), 14. günde kontrol grubuyla arasında istatistiksel bir fark belirlenmemiştir ($p>0,01$).



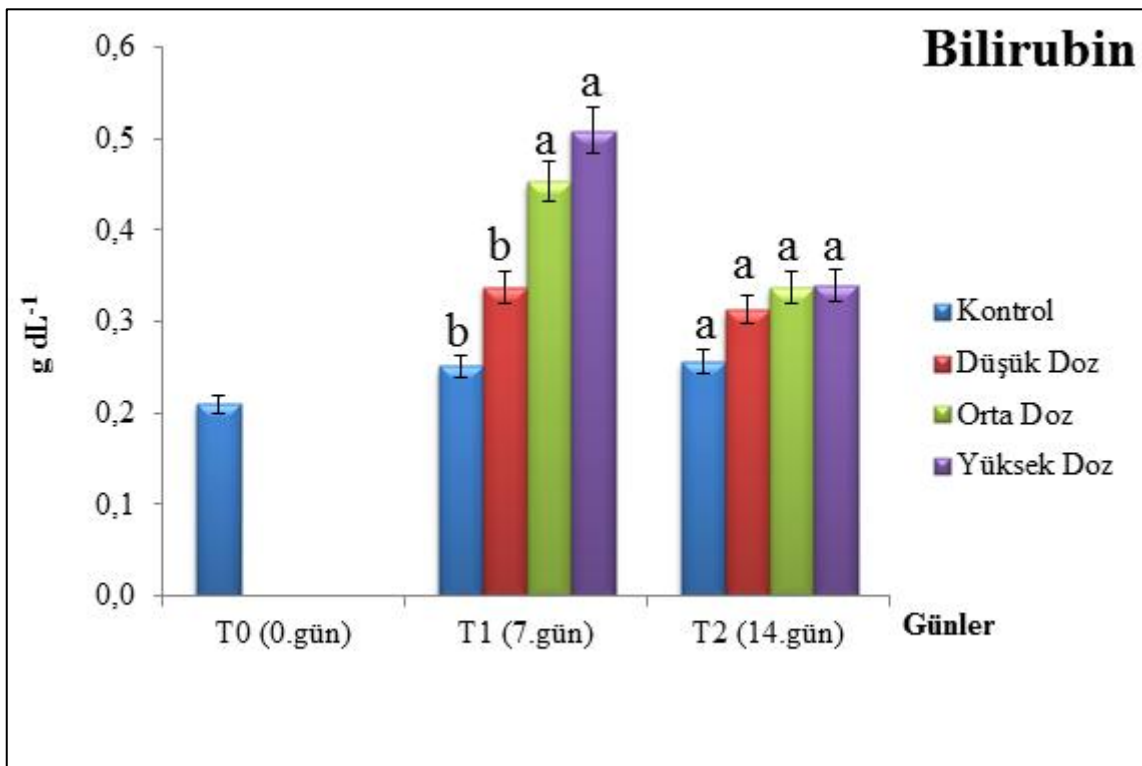
Şekil 63. Toplam proteinin zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi

Sublethal kurşun konsantrasyonlarının tilapia balığında zamana ve konsantrasyona bağlı olarak albumin üzerine etkisi Çizelge 19 ve Şekil 64’ te verilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucu zamanXkonsantrasyon interaksiyon etkisinin albumin üzerine ($p<0,01$) önemli olduğu görülmüştür. Dolayısıyla albumin konsantrasyonlara ve zamana bağlı olarak değişim göstermektedir. İlk hafta sonunda düşük ve orta dozda kontrole göre istatistiksel bir fark görülmezken ($p>0,01$), yüksek dozda kontrole göre istatistiksel olarak önemli bir artış belirlenmiştir ($p<0,01$). İkinci hafta sonunda düşük dozda kontrole göre istatistiksel olarak önemli bir azalma ($p<0,01$), orta dozda ise kontrole göre istatistiksel bir fark elde edilmemiştir ($p>0,01$). Yüksek dozda ilk haftadaki artışın tersine 14. günde kontrole göre istatistiksel olarak önemli bir azalma meydana gelmiştir ($p<0,01$).



Şekil 64. Albumin’ in zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi

Sublethal kurşun konsantrasyonlarının tilapia balığında zamana ve konsantrasyona bağlı olarak bilirubin üzerine etkisi Çizelge 19 ve Şekil 65’ te verilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucu zamanXkonsantrasyon interaksiyon etkisinin bilirubin üzerine ($p<0,01$) önemli olduğu görülmüştür. Dolayısıyla bilirubin konsantrasyonlara ve zamana bağlı olarak değişim göstermektedir. Düşük dozda 7 ve 14. günlerde bilirubin seviyelerindeki artmalar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,01$). Orta ve yüksek dozda ilk hafta sonunda kontrol grubuna göre bilirubin seviyelerinde istatistiksel olarak önemli derecede artma görülmüştür ($p<0,01$). 14. günde tüm konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre görülen artma istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,01$).



Şekil 65. Bilirubin’ in zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi

4.1.4.2.3. Serum Yağ Bulguları

İn vivo etkide kurşun konsantrasyonlarına maruz bırakılan tilapia da serum yağları bulgularının zamana ve konsantrasyonlara bağlı olarak değişimi çizelge 20’ de verilmiştir.

Çizelge 20. Serum yağları iki yönlü varyans analizi (Two-Way Anova/Duncan çoklu karşılaştırma testi)

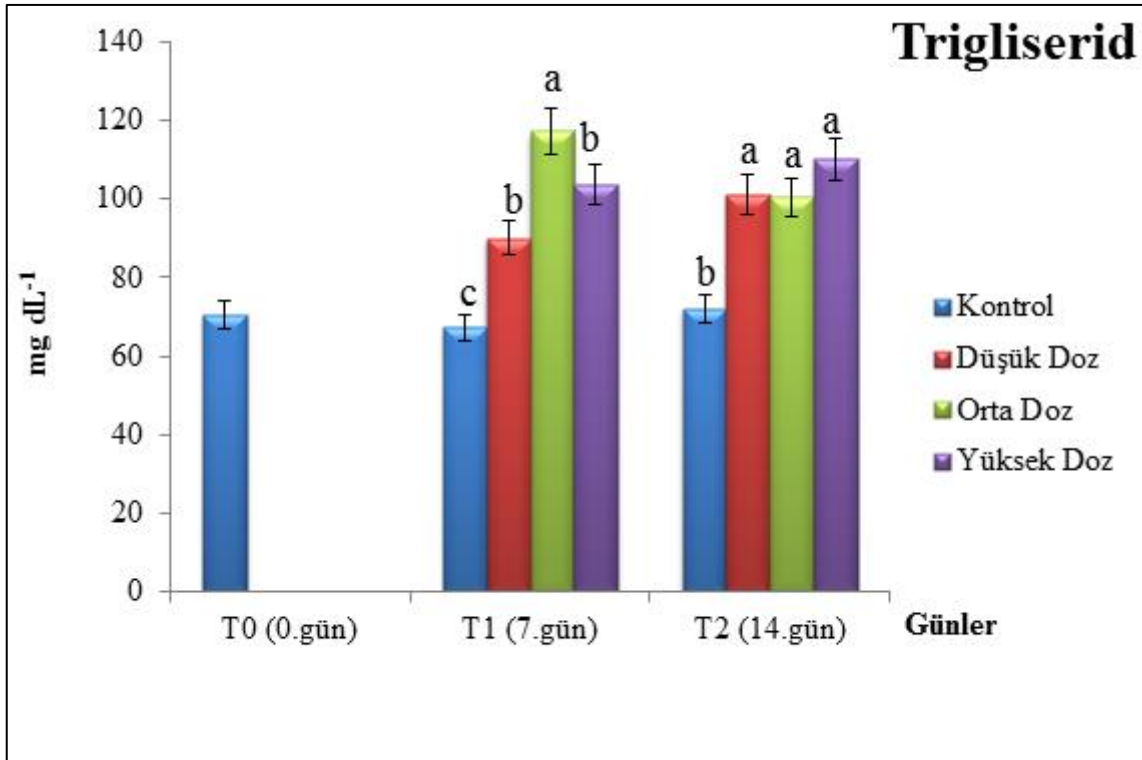
Trigliserid (mg dL⁻¹)	T0 (0.gün)	70,682±0,47 Aa	70,682±0,47 Ba	70,682±0,47 Ba	70,682±0,47 Ba
	T1 (7.gün)	67,238±3,23 Ac	90,121±5,30 Ab	117,452±4,33 Aa	103,804±5,98 Aab
	T2 (14.gün)	72,208±1,00 Ab	101,365±8,92 Aa	100,460±8,00 Aa	110,103±7,23 Aa
Kolesterol (mg dL⁻¹)	T0 (0.gün)	126,000±1,65 Aa	126,000±1,65 Ba	126,000±1,65 Aa	126,000±1,65 Ba
	T1 (7.gün)	120,333±7,6 Ab	117,700±2,56 Bb	131,583±8,4 Ab	166,013±7,71 Aa
	T2 (14.gün)	126,533±1,65 Ab	156,068±5,42 Aa	99,317±1,31 Bc	125,238±4,56 Bb
LDL (mg dL⁻¹)	T0 (0.gün)	52,388±3,72 Aa	52,388±3,72 Aa	52,388±3,72 Aa	52,388±3,72 Aa
	T1 (7.gün)	58,285±5,08 Aa	58,341±5,35 Aa	32,594±1,34 Bb	33,070±1,45 Bb
	T2 (14.gün)	56,895±5,14 Aa	60,572±4,41 Aa	53,626±3,17 Aa	66,477±2,39 Aa

*n=6, ortalama± standart hata

Not 1: Aynı doku ve konsantrasyonda farklı büyük harflerle gösterilen zaman ortalamaları arasındaki farklar önemlidir (p<0,01).

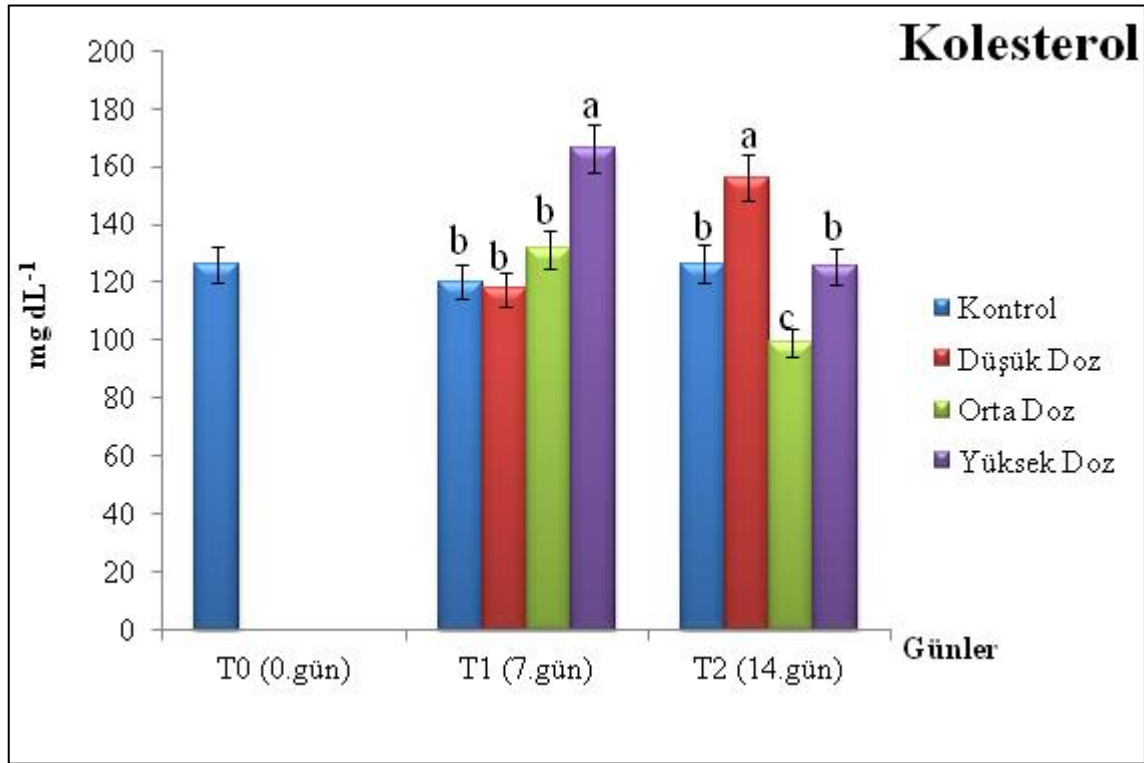
Not 2: Aynı doku ve zamanda farklı küçük harflerle gösterilen konsantrasyon ortalamaları arasındaki farklar önemlidir (p<0,01).

Sublethal kurşun konsantrasyonlarının tilapia balığında zamana ve konsantrasyona bağlı olarak trigliserid üzerine etkisi Çizelge 20 ve Şekil 66’ da verilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucu zamanXkonsantrasyon interaksiyon etkisinin trigliserid üzerine ($p<0,01$) önemli olduğu görülmüştür. Dolayısıyla trigliserid konsantrasyonlara ve zamana bağlı olarak değişim göstermektedir. Denemenin ilk haftası sonunda trigliserid seviyelerinde tüm konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre önemli derecede artma görülmüştür ($p<0,01$). Bu artmalar en çok orta dozda ($117,45 \text{ mg dL}^{-1}$) sonra yüksek dozda ($103,80 \text{ mg dL}^{-1}$) ve düşük dozda ($90,12 \text{ mg dL}^{-1}$) gerçekleşmiştir. Deneme sonunda (14. gün) kontrol grubuna göre tüm konsantrasyonlarda istatistiksel olarak önemli bir artma belirlenmiştir ($p<0,01$).



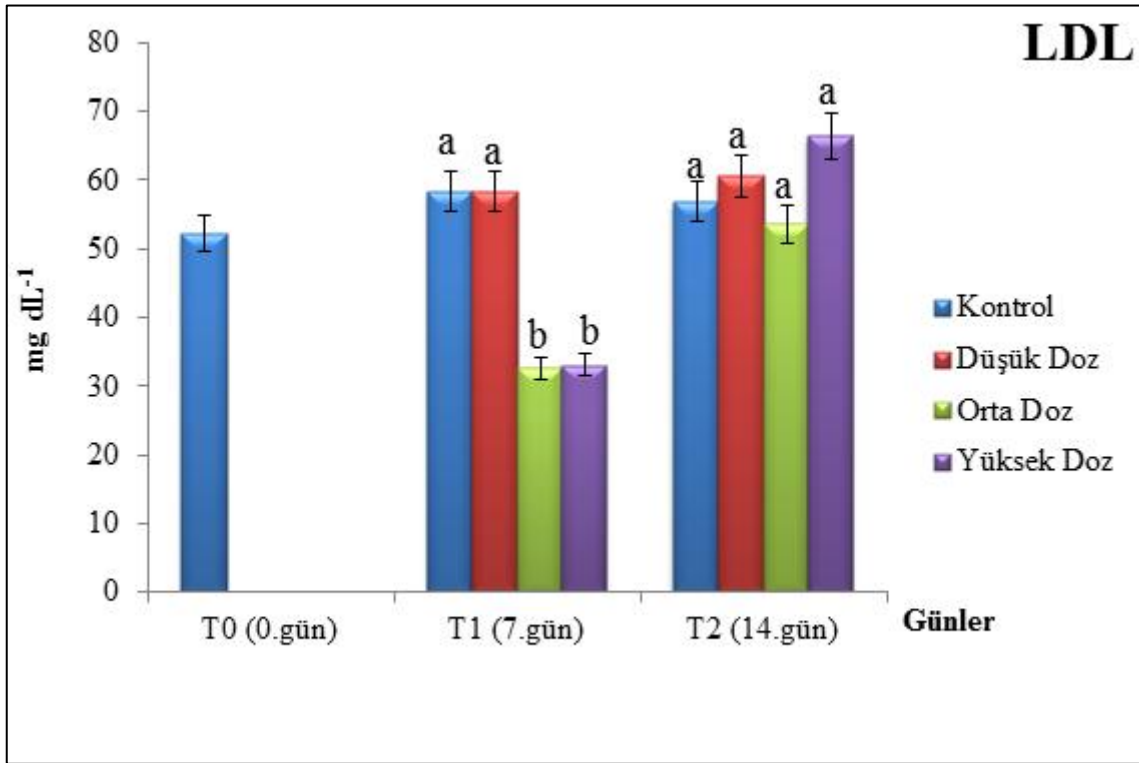
Şekil 66. Trigliserid’ in zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi

Sublethal kurşun konsantrasyonlarının tilapia balığında zamana ve konsantrasyona bağlı olarak kolesterol üzerine etkisi Çizelge 20 ve Şekil 67’ de verilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucu zamanXkonsantrasyon interaksiyon etkisinin kolesterol üzerine ($p<0,01$) önemli olduğu görülmüştür. Dolayısıyla kolesterol konsantrasyonlara ve zamana bağlı olarak değişim göstermektedir. 7. gün sonunda düşük ve orta dozdaki kolesterol seviyesi kontrol grubuna göre önemli bir fark görülmezken ($p>0,01$), yüksek dozda kontrol grubuna göre istatistiksel bir artma tespit edilmiştir ($p<0,01$). Denemenin 14. gününde düşük dozdaki kolesterol seviyesinde kontrole göre istatistiksel bir artma belirlenirken ($p<0,01$), yüksek dozda kontrole göre bir fark görülmemiş ($p>0,01$), orta dozda ise kontrole göre istatistiksel olarak önemli bir azalma meydana gelmiştir ($p<0,01$).



Şekil 67. Kolesterol’ün zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi

Sublethal kurşun konsantrasyonlarının tilapia balığında zamana ve konsantrasyona bağlı olarak LDL üzerine etkisi Çizelge 20 ve Şekil 68’ de verilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucu zamanXkonsantrasyon interaksiyon etkisinin LDL üzerine ($p<0,01$) önemli olduğu görülmüştür. Dolayısıyla LDL konsantrasyonlara ve zamana bağlı olarak değişim göstermektedir. Denemenin ilk haftasında düşük dozdaki LDL seviyesi kontrol grubuna göre önemli bulunmazken ($p>0,01$), orta ve yüksek dozda kontrole göre istatistiksel açıdan önemli bir şekilde azalma görülmüştür ($p<0,01$). 7. günde orta ve yüksek doz arasında görülen farklılık istatistiksel olarak önemli görülmemiştir ($p>0,01$). 14. günde tüm konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre önemli istatistiksel bir fark elde edilmemiştir ($p>0,01$).



Şekil 68. LDL’ nin zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi

4.1.4.2.4. Serum Üre, Ürik Asit ve Kreatinin Bulguları

İn vivo etkide kurşun konsantrasyonlarına maruz bırakılan tilapia da serum üre, ürik asit ve kreatinin bulgularının zamana ve konsantrasyonlara bağlı olarak değişimi çizelge 21’ de verilmiştir.

Çizelge 21. Serum üre, ürik asit ve kreatinin bulguları iki yönlü varyans analizi (Two-Way Anova/Duncan çoklu karşılaştırma testi)

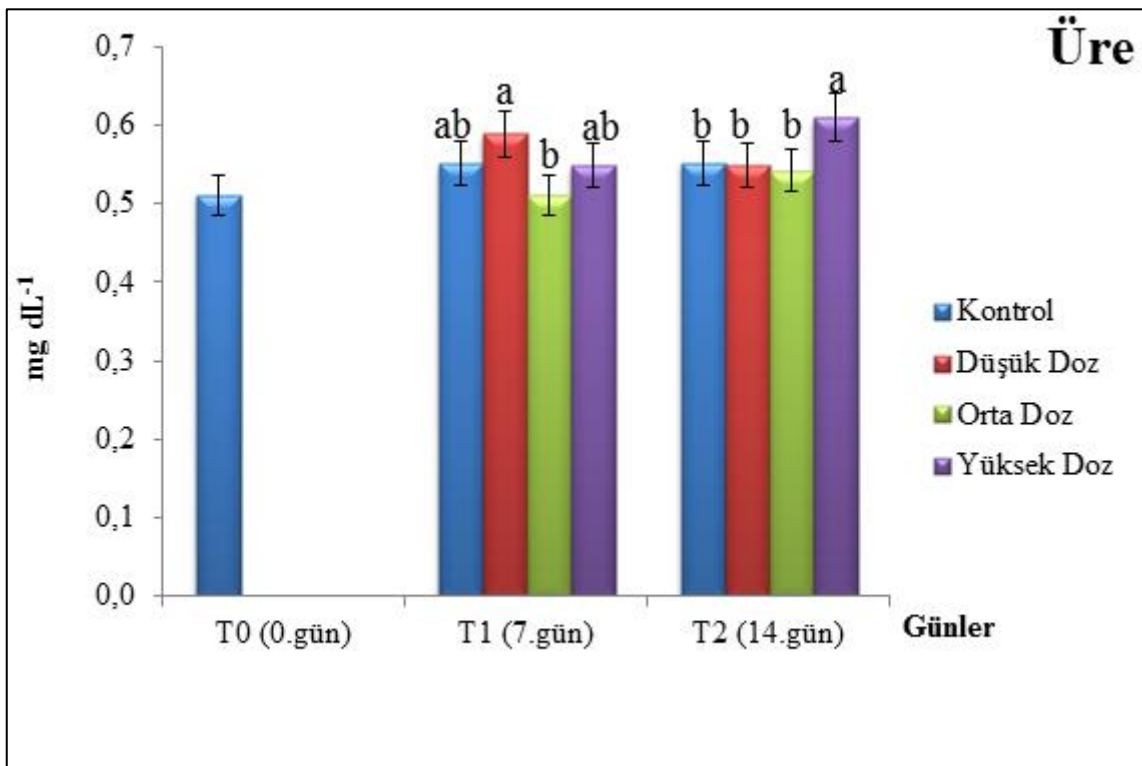
Üre (mg dL ⁻¹)	T0 (0.gün)	0,511±0,003 Aa	0,511±0,003 Ba	0,511±0,003 Aa	0,511±0,003 Ba
	T1 (7.gün)	0,551±0,015 Aab	0,589±0,007 Aa	0,512±0,015 Ab	0,549±0,003 Bab
	T2 (14.gün)	0,552±0,009 Ab	0,550±0,021 ABb	0,542±0,028 Ab	0,610±0,005 Aa
Ürik asit (mg dL ⁻¹)	T0 (0.gün)	0,318±0,02 Aa	0,318±0,02 Ba	0,318±0,02 Ba	0,318±0,02 Ca
	T1 (7.gün)	0,307±0,019 Ac	0,308±0,004 Bc	0,399±0,008 Ab	0,512±0,007 Aa
	T2 (14.gün)	0,321±0,005 Ab	0,434±0,015 Aa	0,432±0,02 Aa	0,440±0,025 Ba
Kreatinin (mg dL ⁻¹)	T0 (0.gün)	0,259±0,018 Aa	0,259±0,018 ABa	0,259±0,018 ABa	0,259±0,018 Aa
	T1 (7.gün)	0,240±0,016 Aab	0,342±0,026 Aa	0,325±0,067 Aa	0,191±0,018 Ab
	T2 (14.gün)	0,269±0,014 Aa	0,164±0,014 Ba	0,170±0,018 Ba	0,198±0,018 Aa

*n=6, ortalama± standart hata

Not 1: Aynı doku ve konsantrasyonda farklı büyük harflerle gösterilen zaman ortalamaları arasındaki farklar önemlidir (p<0,01).

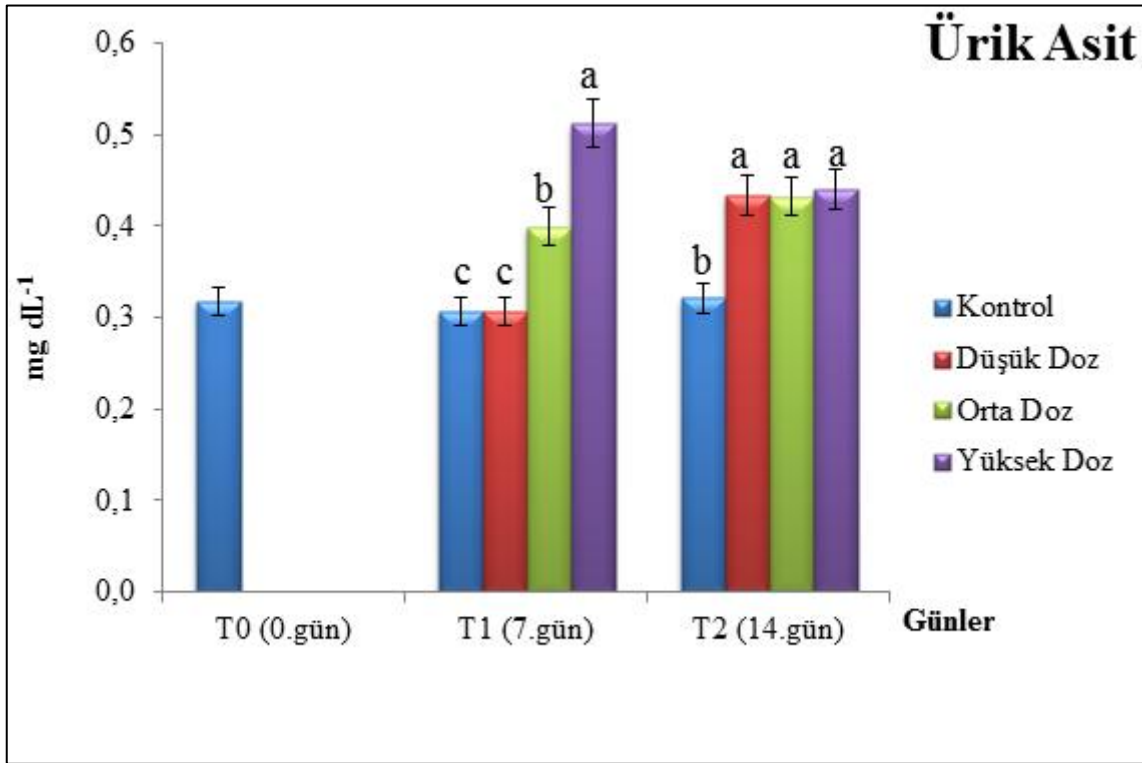
Not 2: Aynı doku ve zamanda farklı küçük harflerle gösterilen konsantrasyon ortalamaları arasındaki farklar önemlidir (p<0,01).

Sublethal kurşun konsantrasyonlarının tilapia balığında zamana ve konsantrasyona bağlı olarak üre üzerine etkisi Çizelge 21 ve Şekil 69’ da verilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucu zamanXkonsantrasyon interaksiyon etkisinin üre üzerine ($p<0,01$) önemli olduğu görülmüştür. Dolayısıyla üre konsantrasyonlara ve zamana bağlı olarak değişim göstermektedir. İlk hafta sonunda tüm konsantrasyonlar kontrol grubuyla istatistiksel olarak benzer bulunmuştur ($p>0,01$). 7. günde düşük doz ile orta doz arasında istatistiksel olarak fark bulunmuştur ($p<0,01$). 14. günde düşük ve orta dozda kontrol grubuna oranla istatistiksel bir fark gözlenmemiştir ($p>0,01$). Yüksek dozda ise kontrol grubuna göre önemli bir artma meydana gelmiştir ($p<0,01$).



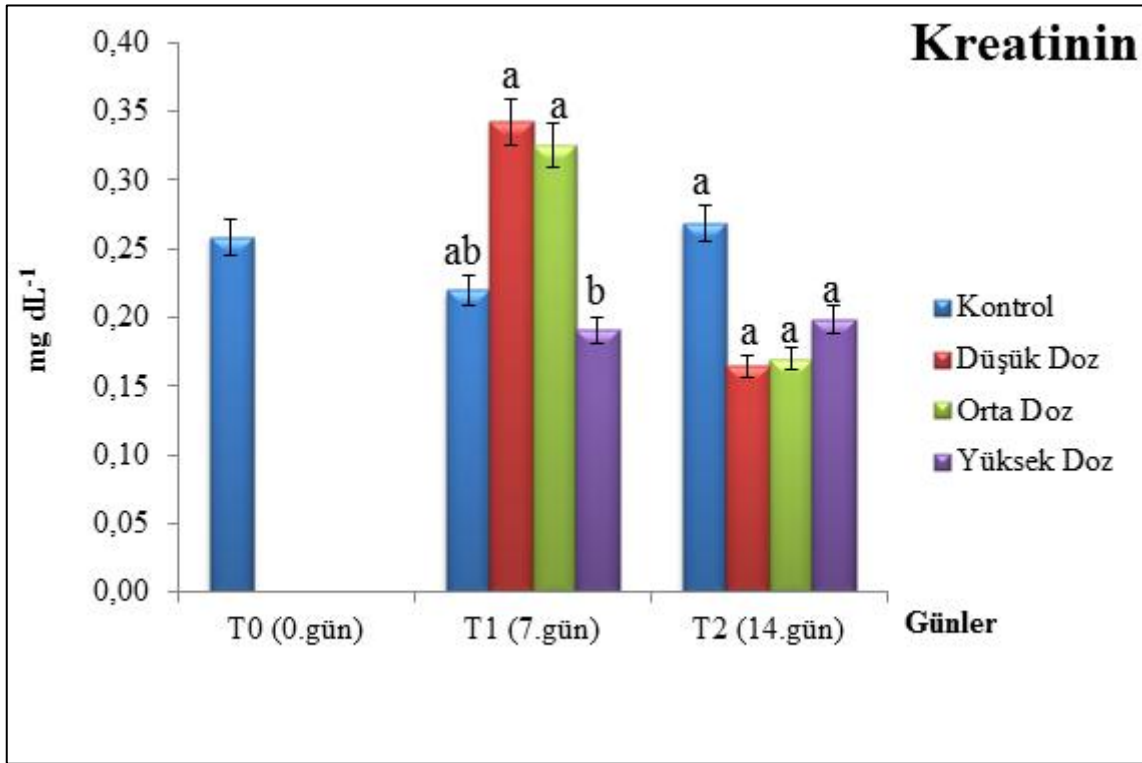
Şekil 69. Üre'nin zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi

Sublethal kurşun konsantrasyonlarının tilapia balığında zamana ve konsantrasyona bağlı olarak ürik asit üzerine etkisi Çizelge 21 ve Şekil 70’ de verilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucu zamanXkonsantrasyon interaksiyon etkisinin ürik asit üzerine ($p<0,01$) önemli olduğu görülmüştür. Dolayısıyla ürik asit konsantrasyonlarına ve zamana bağlı olarak değişim göstermektedir. İlk hafta sonunda ürik asit seviyesinde düşük dozda kontrol grubuna göre istatistiksel bir fark görülmezken ($p>0,01$), 14. günde istatistiksel olarak önemli bir artma olmuştur ($p<0,01$). Orta dozda 7 ve 14. günlerde kontrol grubuna göre önemli bir artma gözlenirken ($p<0,01$), zaman bağlı bir artma tespit edilmemiştir. Yüksek dozda 7 ve 14. günlerde kontrol grubuna göre önemli bir istatistiksel fark görülmüştür ($p<0,01$).



Şekil 70. Ürik asit’in zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi

Sublethal kurşun konsantrasyonlarının tilapia balığında zamana ve konsantrasyona bağlı olarak ürik asit üzerine etkisi Çizelge 21 ve Şekil 71’ de verilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucu zamanXkonsantrasyon interaksiyon etkisinin ürik asit üzerine ($p<0,01$) önemli olduğu görülmüştür. Dolayısıyla ürik asit konsantrasyonlara ve zamana bağlı olarak değişim göstermektedir. Denemenin ilk haftasının sonunda kontrol grubuyla konsantrasyonlar arasında kreatinin seviyesinde istatistiksel bir fark gözlenmemiştir ($p>0,01$). 14. günde tüm konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre azalma görülürken bu azalmalar istatistiksel olarak önemli çıkmamıştır ($p>0,01$).



Şekil 71. Kreatin’ in zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi

4.1.4.2.5. Serum Elektrolit Bulguları

Oreochromis mossambicus' da belirlenen her derişim ve sürede kurşun metalinin serum elektrolitleri (Ca, Mg, Cl, Fe, P) üzerine etkisi Çizelge 22'de verilmiştir. İki yönlü varyans analizi sonucunda serum elektrolitleri üzerine konsantrasyonXzaman interaksiyon etkisinin önemli olduğu görülmüştür ($p<0,01$).

Çizelge 22. Serum elektrolitleri iki yönlü varyans analizi (Two-Way Anova/Duncan çoklu karşılaştırma testi

Kalsiyum (mmol L ⁻¹)	T0 (0.gün)	10,621±0,50 Aa	10,621±0,50 Aa	10,621±0,50 Aa	10,621±0,50 Aa
	T1 (7.gün)	10,599±0,39 Aa	9,149±0,37 Bb	7,391±0,16 Bc	8,186±0,27 Bbc
	T2 (14.gün)	10,373±0,28 Aa	9,616±0,20 ABa	6,080±0,007 Bc	7,638±0,007 Bb
Magnezyum (mmol L ⁻¹)	T0 (0.gün)	3,026±0,05 Aa	3,026±0,05 Ba	3,026±0,05 Ba	3,026±0,05 Ba
	T1 (7.gün)	3,006±0,18 Ab	3,130±0,03 Bb	3,583±0,11 Aa	3,707±0,06 Aa
	T2 (14.gün)	3,258±0,07 Aab	3,473±0,05 Aa	2,962±0,12 Bb	2,924±0,02 Bb
Demir (µg dL ⁻¹)	T0 (0.gün)	79,681±0,8 Aa	79,681±0,84 Aa	79,681±0,84 Ba	79,681±0,84 Ba
	T1 (7.gün)	77,134±1,58 Ab	61,087±1,36 Bc	129,717±2,8 Aa	59,148±1,31 Cc
	T2 (14.gün)	78,374±2,66 Ab	58,289±0,86 Bc	61,463±0,94 Cc	97,392±3,31 Aa
Klorür (mmol L ⁻¹)	T0 (0.gün)	162,035±4,67 Aa	162,035±4,67 Ba	162,035±4,67 Ba	162,035±4,67 Ca
	T1 (7.gün)	163,107±6,62 Ac	345,095±4,68 Ab	379,362±2,58 Aa	390,79±6,63 Aa
	T2 (14.gün)	170,763±8,04 Ac	161,338±4,68 Bc	392,107±6,68 Aa	346,97±1,26 Bb
Fosfor (mmol L ⁻¹)	T0 (0.gün)	5,281±0,43 Aa	5,281±0,43 Ba	5,281±0,43 Aa	5,281±0,43 Ba
	T1 (7.gün)	5,371±0,20 Ab	7,607±0,52 Aa	6,044±0,19 Ab	8,366±0,43 Aa
	T2 (14.gün)	5,642±0,58 Aa	6,459±0,37 ABa	5,874±0,13 Aa	3,961±0,10 Bb

*n=6, ortalama± standart hata

Not 1: Aynı doku ve konsantrasyonda farklı büyük harflerle gösterilen zaman ortalamaları arasındaki farklar önemlidir ($p<0,01$).

Not 2: Aynı doku ve zamanda farklı küçük harflerle gösterilen konsantrasyon ortalamaları arasındaki farklar önemlidir ($p<0,01$).

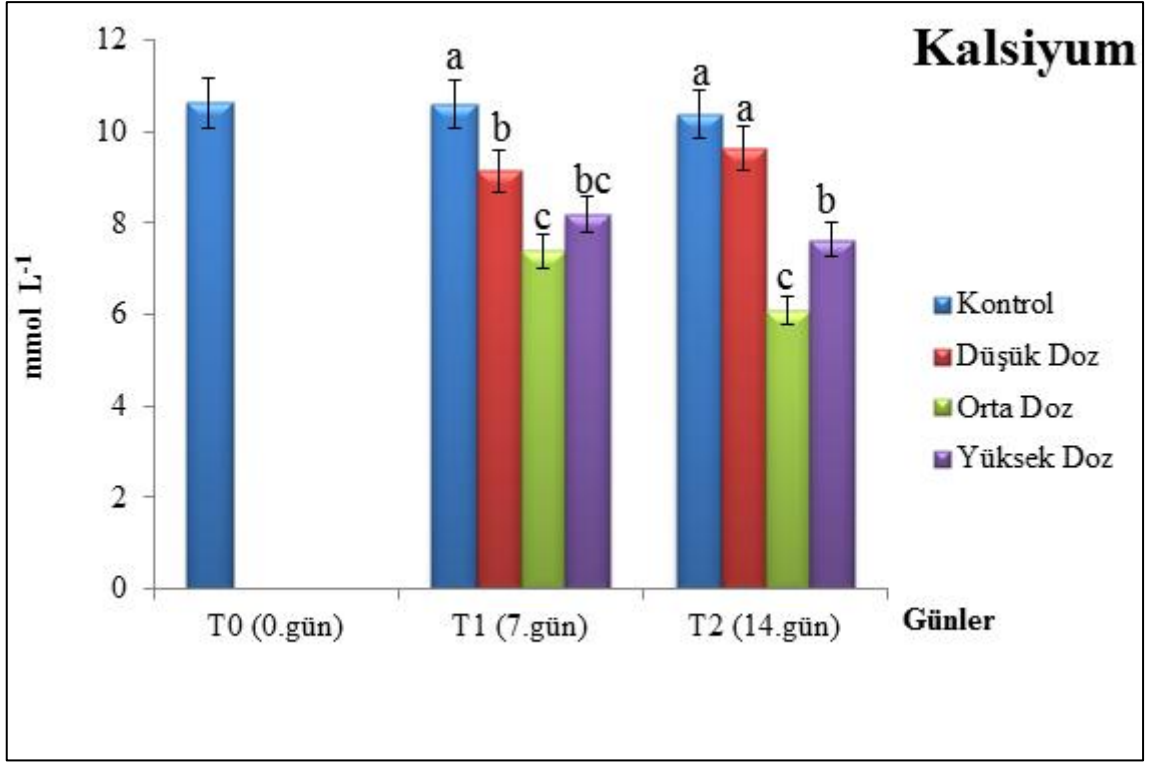
Denemenin ilk haftası sonunda tüm konsantrasyonlarda kalsiyum elektrolitinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir azalma görülmüştür ($p<0,01$). Denemenin ikinci haftasında düşük dozda kontrole göre istatistiksel bir fark görülmezken ($p>0,01$), orta ve yüksek dozda kontrole göre önemli bir azalma ($p<0,01$) tespit edilmiştir (Şekil 72).

Magnezyum elektroliti denemenin 7. gününde düşük dozda istatistiksel olarak bir ayırım göstermezken ($p>0,01$), orta ve yüksek dozda istatistiksel olarak önemli derecede artma göstermiştir ($p<0,01$). 14. günde denenen tüm dozlar kontrol grubuyla istatistiksel bir fark göstermemiştir (Şekil 72).

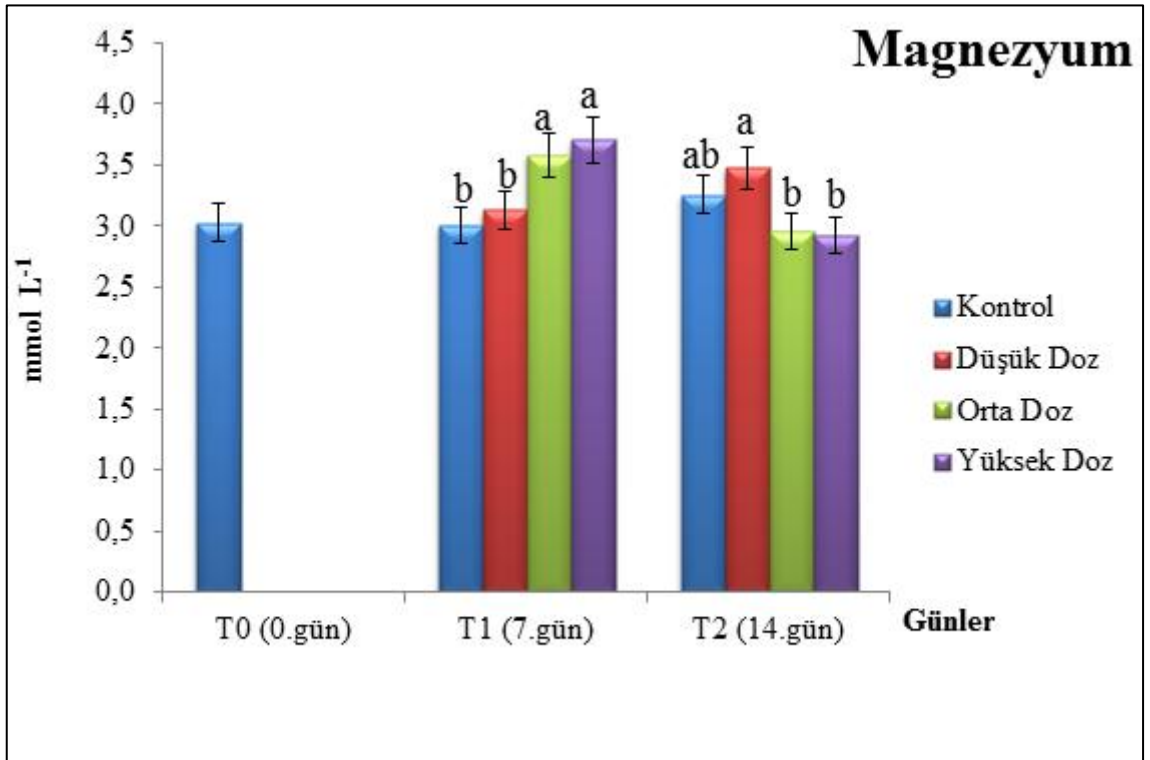
Demir, denemenin ilk haftasında orta dozda kontrole göre istatistiksel olarak önemli derecede artma gösterirken ($p<0,01$), düşük ve yüksek dozlarda kontrol grubuna göre istatistiksel fark göstermemiştir ($p>0,01$). Denemenin ikinci haftasında düşük ve orta dozlarda demir seviyesinde kontrol grubuna göre önemli derecede bir düşme gözlenmesine rağmen ($p>0,01$), yüksek dozda kontrol grubuna göre önemli bir artma ($p>0,01$) tespit edilmiştir (Şekil 74).

Klorür denemenin 7. gününde tüm dozlarda kontrol grubuna göre önemli bir artış göstermiştir ($p<0,01$). 14. günde düşük dozda kontrol grubuna göre bir fark bulunmamış olmasına rağmen ($p>0,01$), orta ve yüksek dozda istatistiksel olarak önemli bir artma belirlenmiştir (Şekil 75).

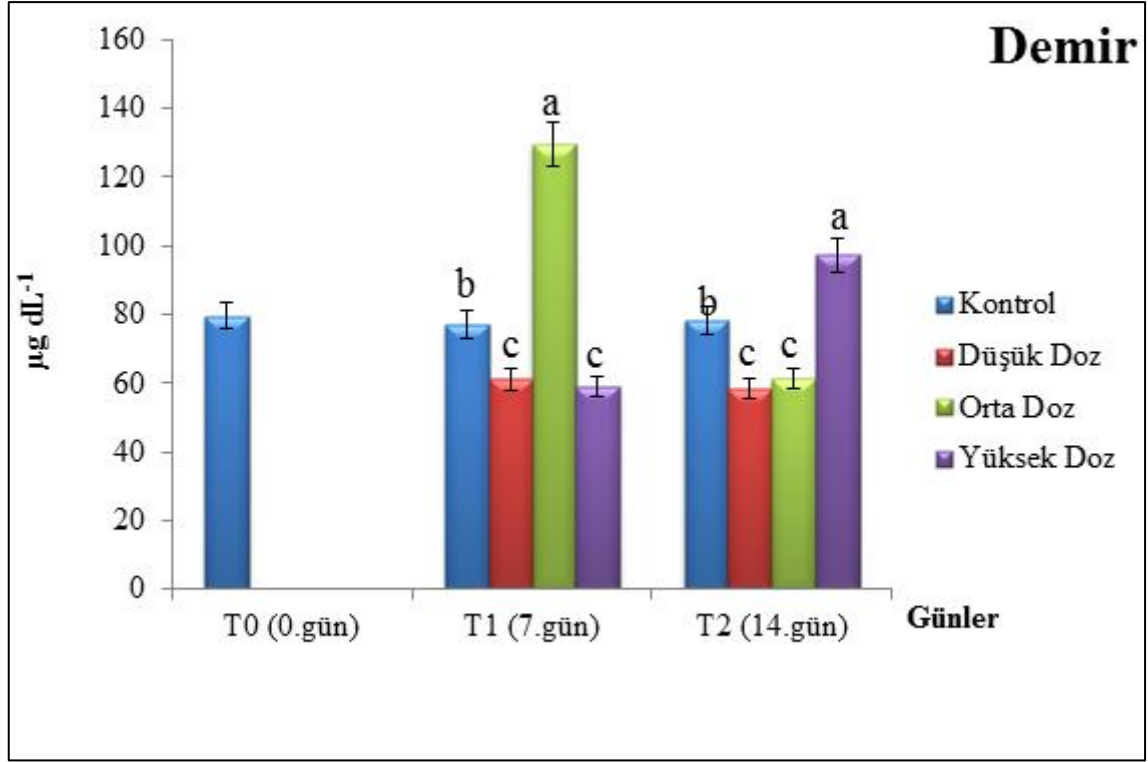
Fosfor elektroliti denemenin ilk haftasının sonunda düşük ve yüksek dozlarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli oranda artmış ($p>0,01$), orta dozda kontrol grubuyla benzer bulunmuştur (Şekil 76). Deneme sonunda (14. gün) düşük ve orta dozda kontrole göre fark görülmemiştir ($p>0,01$). Yüksek dozda ise kontrole göre istatistiksel olarak önemli bir azalma meydana gelmiştir ($p<0,01$).



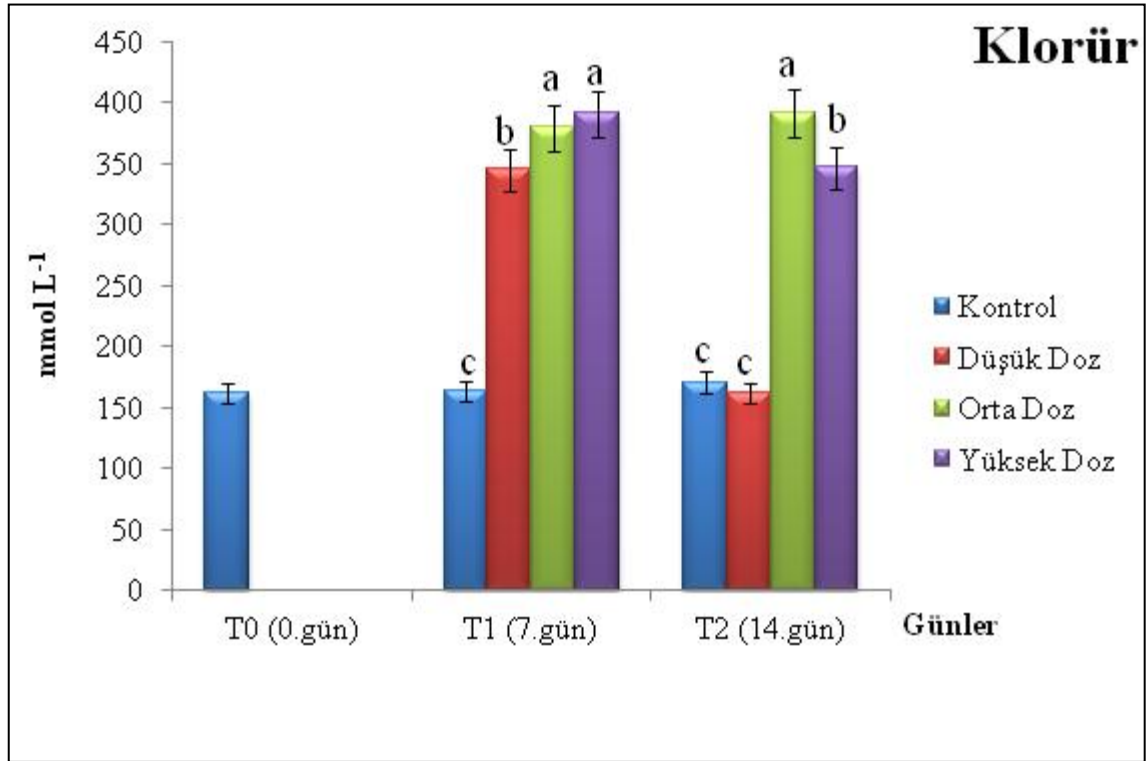
Şekil 72. Kalsiyum'un zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi



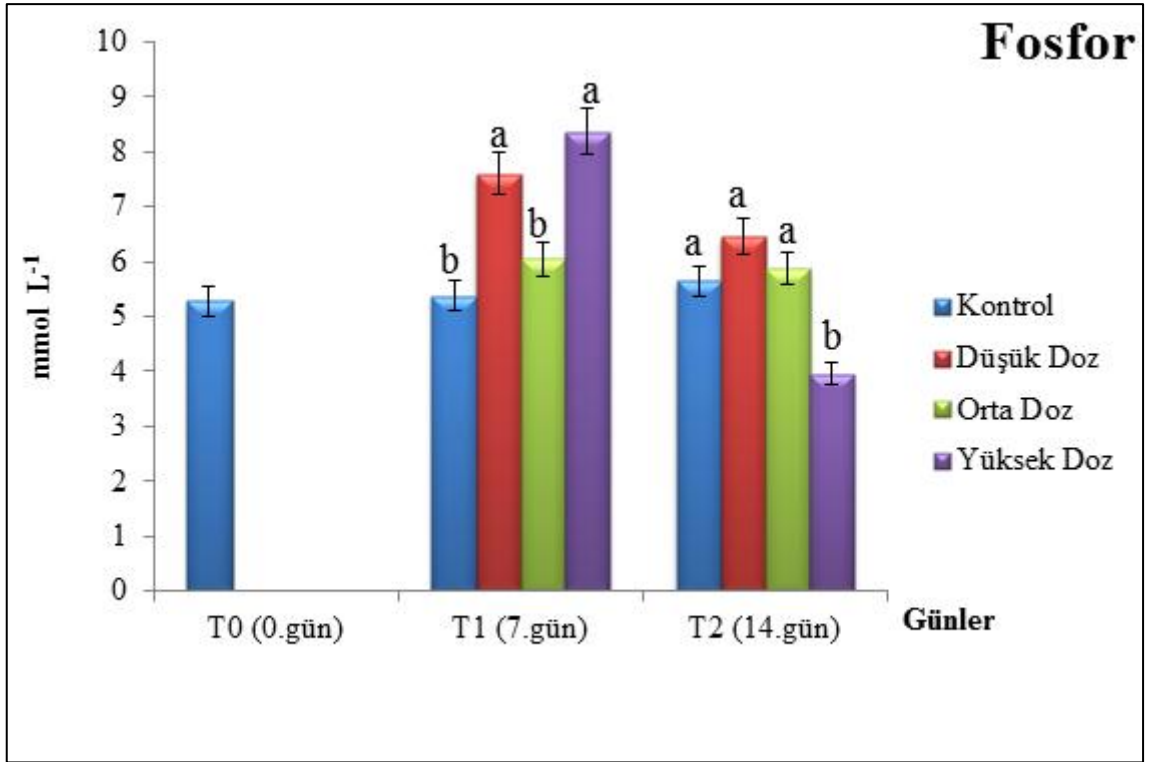
Şekil 73. Magnezyum'un zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi



Şekil 74. Demir'in zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi



Şekil 75. Klorür'un zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi

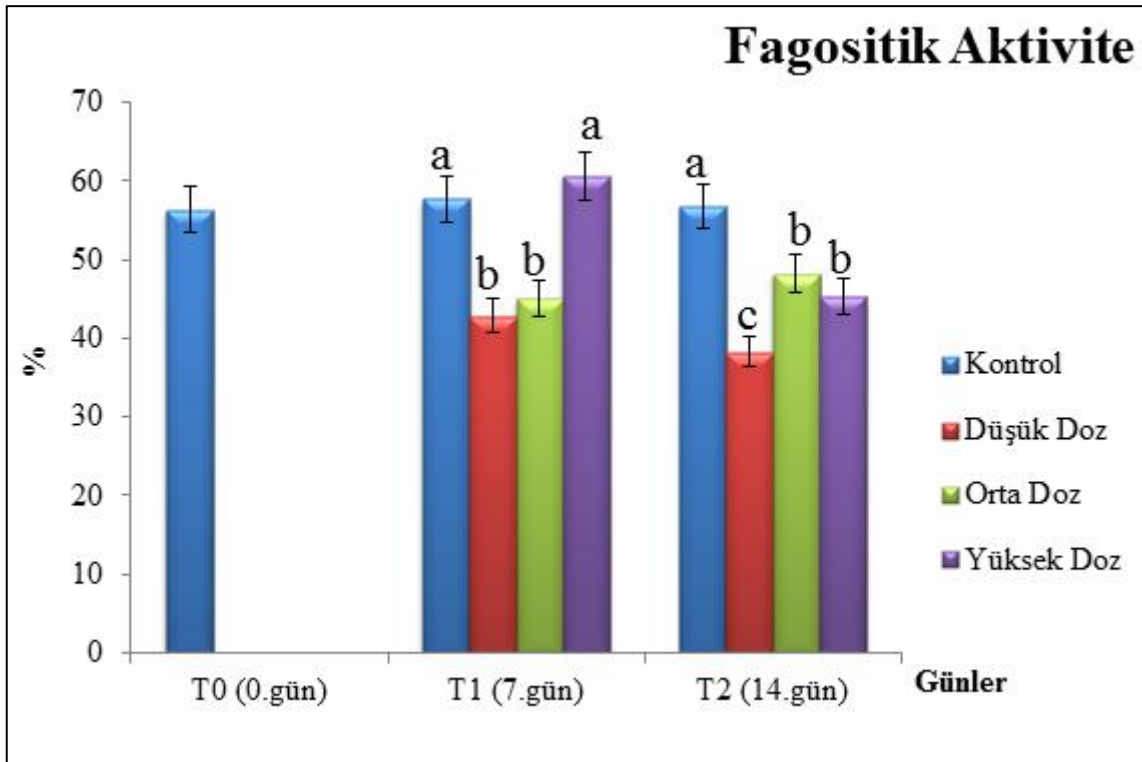


Şekil 76. Fosfor'un zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi

4.1.4.3. İmmunolojik Parametreler

4.1.4.3.1. Fagositik Aktivite Bulguları

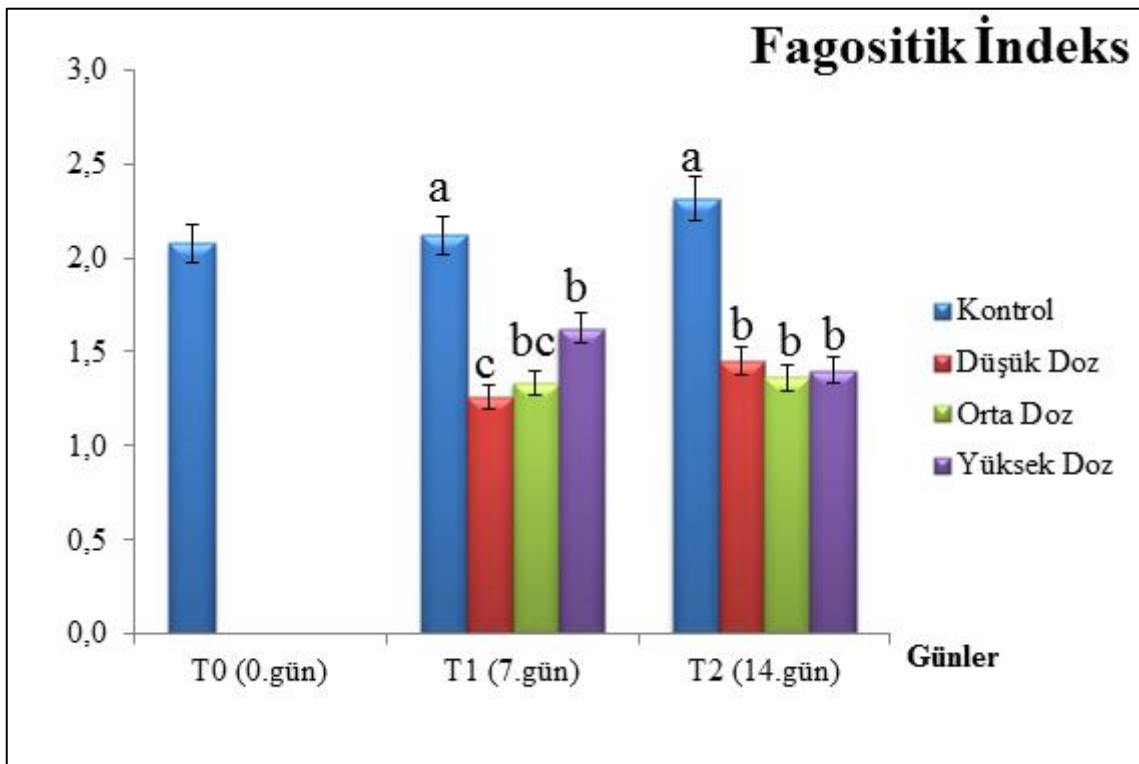
Sublethal kurşun konsantrasyonlarının tilapia balığında zamana ve konsantrasyona bağlı olarak fagositik aktivite üzerine etkisi Çizelge 23 ve Şekil 77’ de verilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucu zamanXkonsantrasyon interaksiyon etkisinin fagositik aktivite üzerine etkisinin önemli olduğu görülmüştür ($p<0,01$). Dolayısıyla fagositik aktivite konsantrasyonlara ve zamana bağlı olarak değişim göstermektedir. Denemenin 7. gününde fagositik aktivitede yüksek dozda kontrole göre istatistiksel bir fark gözlenmezken ($p>0,01$), düşük ve orta dozda kontrole göre istatistiksel olarak önemli bir azalma görülmüştür ($p<0,01$). Deneme sonunda kontrol grubuna göre tüm konsantrasyonlarda istatistiksel olarak önemli bir azalma belirlenmiştir ($p<0,01$).



Şekil 77. Fagositik aktivite'nin zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi

4.1.4.3.2. Fagositik İndeks Bulguları

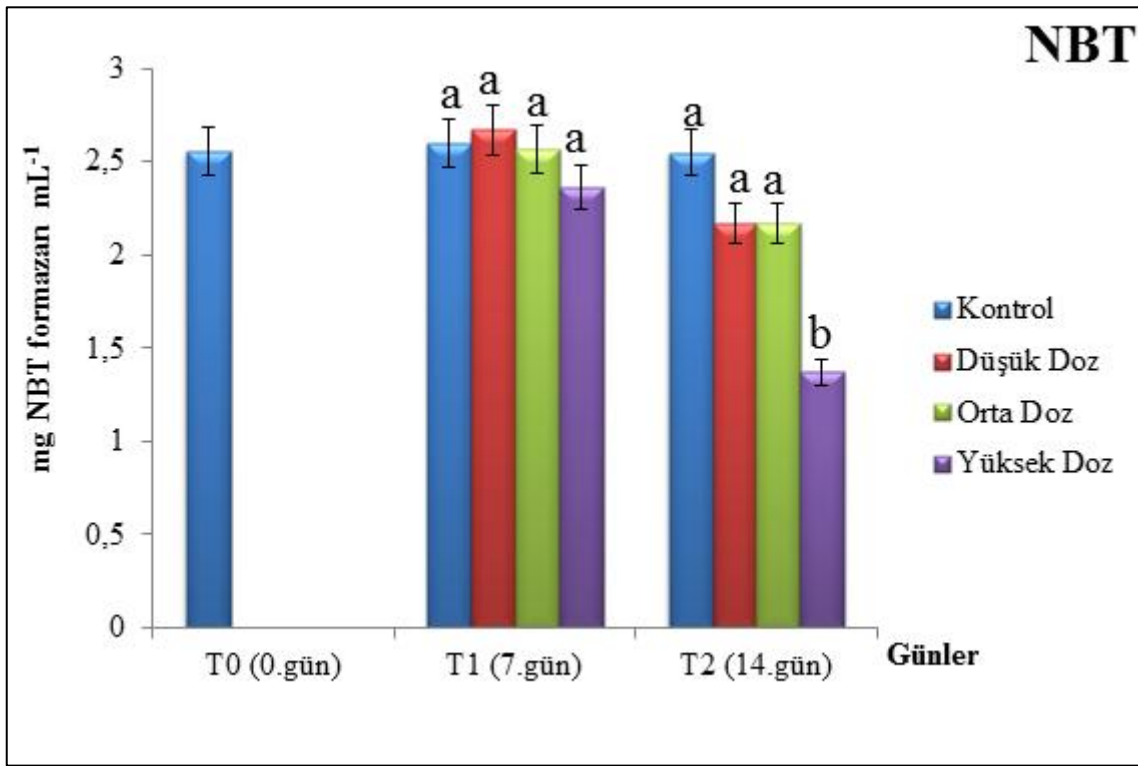
Sublethal kurşun konsantrasyonlarının tilapia balığında zamana ve konsantrasyona bağlı olarak fagositik indeks üzerine etkisi Çizelge 23 ve Şekil 78’ de verilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucu zamanXkonsantrasyon interaksiyon etkisinin fagositik indeks üzerine etkisinin önemli olduğu görülmüştür ($p<0,01$). Dolayısıyla fagositik indeks konsantrasyonlara ve zamana bağlı olarak değişim göstermektedir. 7. ve 14. günde fagositik indekste tüm konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir azalma görülmüştür ($p<0,01$). Deneme konsantrasyonları arasında zaman artışına bağlı olarak fark tespit edilmemiştir ($p>0,01$).



Şekil 78. Fagositik indeks’in zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi

4.1.4.3.3. NBT Bulguları

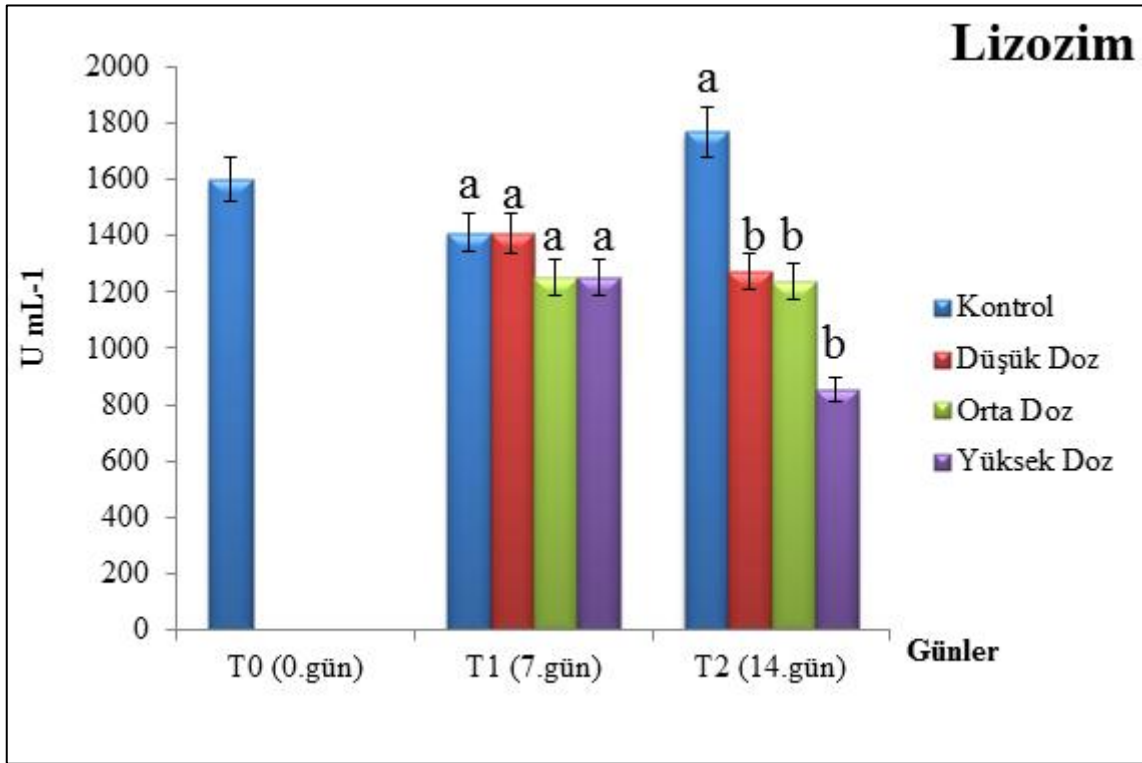
Sublethal kurşun konsantrasyonlarının tilapia balığında zamana ve konsantrasyona bağlı olarak NBT üzerine etkisi Çizelge 23 ve Şekil 79’ da verilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucu zamanXkonsantrasyon interaksiyon etkisinin NBT üzerine ($p>0,01$) etkisinin önemli olmadığı görülmüştür. NBT aktivitesinde denemenin 7. gününde tüm konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir fark gözlenmemiştir ($p>0,01$). 14. günde düşük ve orta dozdaki azalma kontrole göre istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,01$). Yüksek dozda ise kontrol grubuna göre önemli bir azalma tespit edilmiştir ($p<0,01$).



Şekil 79. NBT’ nin zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi

4.1.4.3.4. Lizozim Aktivitesi Bulguları

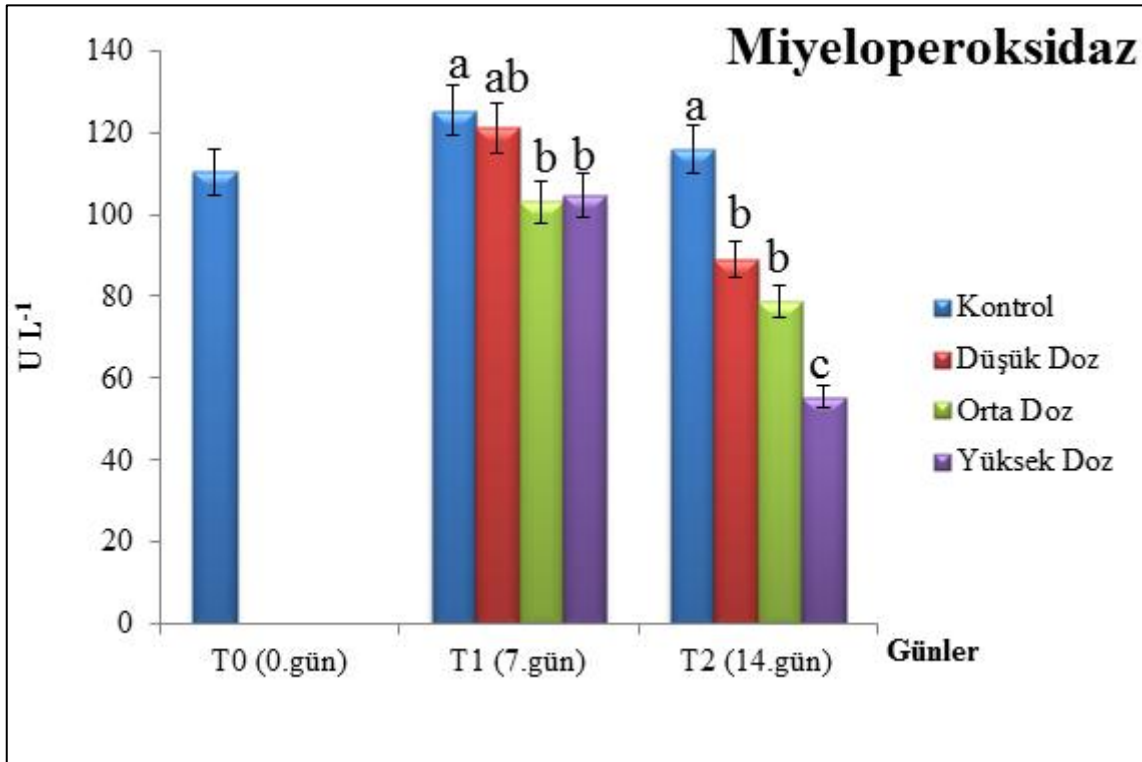
Sublethal kurşun konsantrasyonlarının tilapia balığında zamana ve konsantrasyona bağlı olarak lizozim aktivitesi üzerine etkisi Çizelge 23 ve Şekil 80’ de verilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucu zamanXkonsantrasyon interaksiyon etkisinin lizozim aktivitesi üzerine etkisinin önemli olmadığı görülmüştür. Lizozim aktivitesi denemenin ilk haftası sonunda tüm konsantrasyonlarda kontrol grubuyla farksız bulunmuştur ($p>0,01$). Denemenin 14. gününde lizozim aktivitesi tüm dozlarda kontrole göre istatistiksel açıdan önemli azalma göstermiştir ($p<0,01$).



Şekil 80. Lizozim aktivitesi’ nin zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi

4.1.4.3.5. Miyeloperoksidaz Aktivitesi Bulguları

İn vivo etkide kurşun konsantrasyonlarının tilapia balığında zamana ve konsantrasyona bağlı olarak miyeloperoksidaz aktivitesi üzerine etkisi Çizelge 23 ve Şekil 81’ de verilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucu zamanXkonsantrasyon interaksiyon etkisinin miyeloperoksidaz aktivitesi üzerine etkisinin önemli olduğu görülmüştür ($p<0,01$). Dolayısıyla miyeloperoksidaz aktivitesi konsantrasyonlara ve zamana bağlı olarak değişim göstermektedir. Miyeloperoksidaz aktivitesi denemenin 7. gününde düşük dozda kontrol grubuyla benzerlik gösterirken ($p>0,01$), orta ve yüksek dozda kontrole göre istatistiksel açıdan önemli bir azalma göstermiştir ($p<0,01$). 7. günde düşük doz ile orta ve doz arasında da istatistiksel benzerlik bulunmuştur ($p>0,01$). Denemenin 14. günde tüm konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli azalmalar ($p<0,01$) tespit edilmiştir (Şekil 81).



Şekil 81. Miyeloperoksidaz aktivitesi'nin zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi

Çizelge 23. İmmunolojik parametreler iki yönlü varyans analizi (Two Way Anova/Duncan çoklu karşılaştırma testi)

	Zaman	Kontrol	Düşük Doz	Orta doz	Yüksek Doz
Fagositik aktivite %	T0 (0.gün)	56,38±1,69 Aa	56,38±1,69 Aa	56,38±1,69 Aa	56,38±1,69 Aa
	T1 (7.gün)	57,73±1,70 Aa	42,84±0,87 Bb	45,04±2,54 Bb	60,61±2,47 Aa
	T2 (14.gün)	56,85±2,16 Aa	38,24±1,76 Bc	48,13±1,19 Bb	45,23±0,98 Bb
Fagositik indeks	T0 (0.gün)	2,08±0,05 Aa	2,08±0,05 Aa	2,08±0,05 Aa	2,08±0,05 Aa
	T1 (7.gün)	2,12±0,11 Aa	1,26±0,03 Bc	1,33±0,08 Bbc	1,63±0,03 Bb
	T2 (14.gün)	2,31±0,14 Aa	1,45±0,10 Bb	1,36±0,06 Bb	1,40±0,12 Bb
NBT (mg NBT formazan mL⁻¹)	T0 (0.gün)	2,56±0,24 Aa	2,56±0,24 Aa	2,56±0,24 Aa	2,56±0,24 Aa
	T1 (7.gün)	2,6±0,15 Aa	2,67±0,14 Aa	2,57±0,31 Aa	2,36±0,23 Aa
	T2 (14.gün)	2,55±0,37 Aa	2,17±0,21 Aa	2,17±0,10 Aa	1,37±0,12 Bb
Lizozim aktivitesi (U mL⁻¹)	T0 (0.gün)	1599±157,2 Aa	1599±157,2 Aa	1599±157,2 Aa	1599±157,2 Aa
	T1 (7.gün)	1411,7±121,72 Aa	1408±90,90 Aa	1250±83,03 Aa	1251,67±116,32 Aba
	T2 (14.gün)	1768,3±200,22 Aa	1271,67±116,32 Ab	1236,67±115 Ab	853,33±38,70 Bb
Myelo-peroksidaz (U L⁻¹)	T0 (0.gün)	110,33±3,63 Aa	110,33±3,63 Aa	110,33±3,63 Aa	110,33±3,63 Aa
	T1 (7.gün)	125,43±9,88 Aa	121,19±2,51 Aab	103,1±9,02 Ab	104,61±6,21 Ab
	T2 (14.gün)	115,83±4,87 Aa	88,9±2,73 Bb	78,86±3,19 Bb	55,54±4,23 Bc

*n=6, ortalama± standart hata

Not 1: Aynı parametre ve konsantrasyonda farklı büyük harflerle gösterilen zaman ortalamaları arasındaki farklar önemlidir (p<0,01).

Not 2: Aynı parametre ve zamanda farklı küçük harflerle gösterilen konsantrasyon ortalamaları arasındaki farklar önemlidir (p<0,01).

4.2.TARTIŞMA

4.2.1. Na⁺/K⁺-ATPaz Enzim Aktivitesi

Balıklarda solungaçlar, gaz alış verişi, iyon (Na⁺, Cl⁻ ve Ca⁺²) taşınması, asit – baz dengesi ve azotlu bileşiklerin atılmasında görev alan organlardır (Evans, 1980; Ay ve ark., 1999). Solungaç epitelleri ise kirletici ile organizma arasındaki ilk ara yüz olduğundan, sucul ortamdaki kirleticilere karşı en önemli hedeflerdir (De la Torre ve ark., 2007). Hem deniz hem tatlı su kemikli balıklarında özellikle solungaç, böbrek ve bağırsak gibi osmoregülatör organlara özgü bir enzim olan Na⁺/K⁺-ATPaz enzimi temelde hücre içi homeostazisin korunmasından sorumludur (Atlı, 2009). Na⁺/K⁺-ATPaz enzimi hemen hemen tüm hayvansal dokularda bulunabilen hücre membranından Na⁺ ile K⁺ transferini gerçekleştiren bir proteindir. Na⁺/K⁺-ATPaz enzimi, ATP' den sağlanan enerjiyle hücre içindeki 3 Na⁺ iyonunu hücre dışına, 2 K⁺ iyonunu hücre içine taşımaktadır (Sweadner, 1989).

Ağır metallerin Na⁺/K⁺-ATPaz enzimi üzerine etkileri ile ilgili birçok araştırma yapılmıştır (Canlı ve Stagg, 1996; Ay ve ark., 1999; De la Torre ve ark., 2005; Atlı ve Canlı, 2011). Akut ve kronik uygulamalarda Na⁺/K⁺-ATPaz enziminin ağır metallere tepkisi, metale maruz bırakma süresine, konsantrasyona, metal ve doku türüne göre değişmektedir (Atlı ve Canlı, 2011). Yapılan hem *in vivo* hem de *in vitro* çalışmalarda Na⁺/K⁺-ATPaz enziminin ağır metallere duyarlı olduğu görülmektedir (Watson ve Beamish, 1981; Morgan ve ark., 1997; Ay ve ark., 1999; Atlı, 2009). Ağır metallere *in vitro* maruz kalan canlılarda enzim genellikle inhibe olurken, *in vivo* etkide bu kadar açık değildir. Aynı zamanda *in vivo* etkilerde inhibisyonla beraber enzim aktivitesinde artışlar da görülebilmektedir (Ay ve ark., 1999). Zn⁺²'nin alabalıkta solungaç Na⁺/K⁺-ATPaz aktivitesini *in vivo* koşullarda arttırdığı, *in vitro* koşullarda ise azalttığı Watson ve Baemish (1981) tarafından belirtilmiştir.

Bu çalışmada sublethal kurşun konsantrasyonlarına *in vivo* etkide 14 gün süreyle maruz bırakılan tilapia balıklarında Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesi incelenmiştir. Buna göre Na⁺/K⁺-ATPaz enzimi deneme başlangıcında kontrol grubu solungaç dokusunda 3,36 µmol Pi/mg prot./sa., karaciğer dokusunda 1,34 µmol Pi/mg prot./sa., bağırsak dokusunda 5,02 µmol Pi/mg prot./sa., kas dokusunda 2,43 µmol Pi/mg prot./sa., beyin dokusunda 12,82 µmol Pi/mg prot./sa. ve böbrek dokusunda 3,65 µmol Pi/mg prot./sa. olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubunda elde edilen verilerin önceki çalışmalarda balıklarda belirtilen

aralıkların (1-21 µmol Pi/mg prot./sa.) içerisinde olduğu gözlenmektedir (Ventrella ve ark., 1990; Diaz ve ark., 1998; Atlı, 2009).

Bu çalışmada Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesinin; zamana, konsantrasyona ve doku türüne göre değiştiği, bu üç faktörün interaksiyon halinde de enzim aktivitesi üzerinde etkili olduğu görülmüştür (p<0,05). Çalışmada solungaç Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesi zaman ve konsantrasyon artışına paralel olarak düşüş gösterirken, karaciğer Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir fark göstermemiştir (p>0,05). Bağırsak ve beyin Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesinde zamana ve konsantrasyonlara bağlı inhibisyonlar görülürken, kas ve böbrek Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesinde kontrol grubuna göre bazı zaman ve konsantrasyonlarda istatistiksel olarak önemli artışlar tespit edilmiştir. Genel olarak çalışma sonucunda solungaç, bağırsak ve beyin Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesinde kontrol grubuna göre önemli azalmalar görülürken, kas ve böbrek dokusunda kontrol grubuna göre bazı zaman ve konsantrasyonlarda artışlar belirlenmiştir. Ayrıca karaciğer Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesinde kontrol grubuna göre tüm derişimlerde zamana ve konsantrasyonlara bağlı bir değişim gözlenmemiştir (p>0,05).

Bu sonuçlar ışığında Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesinde görülen azalmalar; enzim molekülünün sülfidril (-SH) gruplarının metallere karşı çok duyarlı olmasından, kurşunun enzimin aktif bölgesindeki karboksil grubuna bağlanıp fosforilasyon aktivitesini indirgemesinden, membranda meydana gelen hasarlardan ya da iyon hemostazisinde oluşan bozukluklardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Atlı ve Canlı, 2011). Enzim aktivitesindeki artışlar ise telafi mekanizmalarının enzim kaybını kurtarmak için verdiği tepkiler olabilir (Stagg ve Shuttleworth, 1982; Lauren ve McDonald, 1987; Ay ve ark., 1999; Atlı, 2007).

Yapılan çalışmalar kurşun ve diğer ağır metallerin Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesini inhibe ettiğini göstermektedir (Ay ve ark., 1999; Handy ve ark., 2002; Hoyle ve ark., 2007; Atlı ve Canlı, 2011). Ay ve ark. (1999), *Tilapia zillii*' yi 0,5, 1,2 ve 4 mg L⁻¹ bakır ve kurşun konsantrasyonlarına 14 gün boyunca maruz bıraktıkları çalışmalarında solungaç Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesinin önemli derecede inhibe olduğunu belirtmişlerdir. Rogers ve ark. (2003), yaptıkları çalışmalarında 1 mg L⁻¹ kurşun konsantrasyonuna maruz bıraktıkları alabalıklarda 2. gün sonunda solungaç Na⁺/K⁺-ATPaz enzim aktivitesinde %40 inhibisyon tespit etmişlerdir. Sonuçta, kurşunun Ca⁺² ile yarıştığını, solungaç klorit hücre membranını kurşunun da Ca⁺² ile benzer yolla geçtiği belirtilerek oluşan inhibisyonu iyon dengesinin düzenlenmesinde oluşan hasarlara

bağlamıştır. Tatlı su balıklarında solungaç klorit hücreleri Ca^{+2} alımının gerçekleştiği temel bölgedir. Ca^{+2} iyonlarının sudan klorit hücrelerle taşınımı gradyana göre pasif bir mekanizmayla gerçekleşir. Ca^{+2} iyonlarının su ortamından alınması klorit hücre sayısı ile doğru orantılı olup klorit hücrelerde meydana gelen hasarların Ca^{+2} alımını etkilediği belirtilmektedir (MacKenzie ve Perry, 1997; Atlı, 2009). Elde edilen sonuçlar, plazma Ca^{+2} seviyesinin azalması, Na^{+}/K^{+} -ATPaz inhibisyonu, dokularda kurşun birikiminin gözlemlendiği bu çalışma ile de desteklenmektedir.

Atlı (2009), yaptığı tez çalışmasında *Oreochromis niloticus*' u (0; 0,1; 0,5; 1,0; 1,5 $\mu g mL^{-1}$) Cu^{+2} , Cd^{+2} , Cr^{+6} , Ag^{+} and Zn^{+2} 'nin 96 saat süreli etkisine ve 0,05 $\mu g mL^{-1}$ derişimindeki aynı metallerin farklı sürelerle (0, 5, 10, 20, 30 gün) Na^{+}/K^{+} -ATPaz, Mg^{+2} -ATPaz, Toplam-ATPaz, Ca^{+2} -ATPaz enzim aktivitelerine etkilerini çalışmıştır. Sonuçta metallerin akut ve kronik koşullarda Na^{+}/K^{+} -ATPaz ve Ca^{+2} -ATPaz enzim aktivitelerinde inhibisyona uğradığı, Toplam-ATPaz ve Mg^{+2} -ATPaz enzim aktivitelerinde azalışların yanı sıra artışların da olduğunu bildirmiştir.

Thaker ve ark. (1996), kemikli balıklardan *Periophthalmus dipes* 'te kromun konsantrasyona ve zamana göre Na^{+}/K^{+} -ATPaz enzim aktivitesi üzerine etkisini inceledikleri çalışmalarında solungaç, bağırsak ve böbrekte önemli oranlarda inhibisyonlar elde etmişlerdir. Elde ettikleri bulgular ışığında maruz kalma süresinin konsantrasyondan daha önemli olduğunu belirtmişlerdir. Morgan ve ark. (1997), 10 $\mu g L^{-1}$ Ag^{+} metale maruz bıraktıkları alabalıkta 48 saat sonra Na^{+}/K^{+} -ATPaz enzim aktivitesinde %85'e varan inhibisyon tespit etmişlerdir. Balıklarda Na^{+}/K^{+} -ATPaz enzim aktivitesi; balık ve metal türüne, maruz kaldığı süreye göre değişmektedir. Stagg ve ark. (1992), yaptıkları arazi çalışmasında *Platichthys flesus* balığında civa kontaminasyonu ile solungaç Na^{+}/K^{+} -ATPaz enzim arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Sonuçta kirli olarak kabul edilen bölgede daha temiz bölgeye göre Na^{+}/K^{+} -ATPaz enzim aktivitesinin daha düşük olduğu ve civa kirliliğiyle Na^{+}/K^{+} -ATPaz enzimi arasında negatif bir korelasyon olduğunu ortaya koymuşlardır.

Bu çalışmada böbrek ve kas dokularında Na^{+}/K^{+} -ATPaz enzim aktivitesinde artışlar görülmüştür. Bu artışlar kurşun metali sonucu inhibe olmuş enzimlerin, hemostatik düzenlemelerle kayıpların azaltılması ve normale döndürülmesi çabaları olabilir. Bu kurtarma muhtemelen bazı dokularda enzim sayısının arttırılması yada antioksidan mekanizmaların devreye girmesiyle ile gerçekleştirilmektedir (Ay ve ark., 1999). Stagg ve Shuttleworth (1982), yaptıkları çalışmalarında *Platichthys flesus* balığında *in vivo* olarak 200 $\mu g L^{-1}$ bakır etkisini araştırmışlar ve solungaç Na^{+}/K^{+} -ATPaz enzim aktivitesinde

inhibisyon tespit etmişlerdir. Fakat çalışmalarında enzimin kontrol seviyesine geri dönmek için telafi mekanizmalarının çalıştığını belirtmişlerdir. Lauren ve McDonald (1987) *Salmo gairdneri*' yi 28 gün boyunca $55\mu\text{g L}^{-1}$ bakır konsantrasyonlarına maruz bırakmışlar ve 24 saat sonunda solungaç Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesinde %33 inhibisyon belirlemişlerdir. Fakat 14. günde bu inhibisyonun geri kazanıldığını ve kontrolle eşitlendiğini bildirmişlerdir. Bu durum metal derişimlerinin çok yüksek olmadığı durumlarda enzim yapısında geri dönüşümsüz değişiklik yapmak için mümkün olmakta fakat her zaman gerçekleşmemektedir. Örneğin; Verma ve ark. (1983), *Notopterus notopterus*' u 30 gün boyunca sublethal civa konsantrasyonlarına ($0,0176 - 0,088 \text{ mg L}^{-1}$) maruz bırakmıştır. Çalışma sonucunda Na^+/K^+ -ATPaz enzim aktivitesinin tüm dokularda inhibisyona uğradığı ve en düşük doz hariç diğer tüm konsantrasyonlarda geri dönüşümün mümkün olmadığını vurgulamışlardır.

4.2.2. Glutasyon (GSH)

Glutasyon (γ -glutamilsistein glisin), organizmada tiyol grubu içeren, düşük moleköl ağırlıklı, tripeptit yapıda önemli bir antioksidandır. Glutasyon başta karaciğer olmak üzere pek çok dokuda, organizmanın tüm hücrelerinde yüksek konsantrasyonlarda bulunur. GSH ve onu metabolize edici antioksidan enzimler, reaktif oksijen türevlerinin yol açtığı hücresel hasar karşısında büyük bir savunma sağlarlar (Avellini ve ark., 1993). Glutasyon, serbest radikallerle ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Protein yapısındaki sülfidril (-SH) gruplarını indirgenmiş halde tutarak birçok proteinin ve enzimin inaktivasyonunu engeller. Aminoasitlerin membrandan geçişini sağlar. Glutasyonunun konsantrasyonu ve hücresel salınma hızı serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu oksidatif stresin bir göstergesidir (Halliwell, 1999).

Kurşun toksisitesi sonucu oluşan oksidatif stresin tam mekanizması günümüzde hala bilinmemektedir. Kurşun toksisitesinin etkilediğı mekanizmalardan biri de glutatyondur. Kurşun, GSH gibi sülfidril gruplara bağlanarak, tiyol oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarını değiştirmekte ve GSH gibi redükte tiyollerin kaybı ile hücresel fonksiyonları bozmaktadır (Gürer ve Ercal, 2000).

Bu çalışmada sublethal kurşun konsantrasyonlarına (0; 0,5; 2,5; 5 mg L^{-1}) *in vivo* etkide 14 gün süreyle bırakılan tilapia (*Oreochromis mossambicus*) balığı dokularında (solungaç, karaciğer, bağırsak, kas, böbrek ve beyin) GSH seviyesi incelenmiştir. 0.günde tüm balıklar kontrol grubu gibiyken dokularda ölçülen GSH seviyeleri sırasıyla; solungaçta $5,63 \mu\text{mol GSH g protein}^{-1}$, karaciğerde $4,97 \mu\text{mol GSH g protein}^{-1}$, bağırsakta $8,15 \mu\text{mol}$

GSH g protein⁻¹, kasta 6,65 µmol GSH g protein⁻¹, beyinde 5,76 µmol GSH g protein⁻¹ ve böbrekte 3,22 µmol GSH g protein⁻¹ dir. Kontrol grubunda elde edilen verilerin önceki çalışmalarda balıklarda belirlenen GSH seviyeleriyle benzer olduğu görülmüştür (Atlı ve Canlı, 2007; Fırat ve Kargin, 2010; Zirong ve Shijun, 2007; Hoyle ve ark., 2007).

Bu çalışmada GSH seviyesinin; zamana, konsantrasyona ve doku türüne göre değiştiği, bu üç faktörün interaksiyon halinde de enzim aktivitesi üzerinde etkili olduğu görülmüştür (p<0,05). Dolayısıyla dokuların GSH seviyesi üzerine etkisi konsantrasyon ve zamana göre, konsantrasyonların GSH aktivitesi üzerine etkisi dokulara ve zamana göre, zamanın GSH seviyesi üzerine etkisi konsantrasyon ve dokulara göre değişmektedir. Çalışmada GSH seviyesi solungaç dokusunda 7. günde tüm konsantrasyonlarda artarken (p<0,05), 14. günde sadece düşük dozda artmış (p<0,05) diğer dozlarda azalmıştır (p<0,05). Karaciğerde 7. günde düşük dozda artma (p<0,05) gösteren GSH seviyesi ise, yüksek dozda azalmıştır (p<0,05). GSH seviyesi 14. günde karaciğer dokusunda tüm konsantrasyonlarda artmıştır. Bağırsak dokusunda 7. günde düşük ve orta dozda azalmış, yüksek dozda artmıştır (p<0,05). 14. gün tüm bağırsak doku konsantrasyonlarında GSH azalma göstermiştir. Kas dokusunda ilk hafta sonu düşük ve orta dozda artan GSH, 14. gün yüksek dozda da önemli bir artış göstermiştir. Beyin dokusunda da ilk hafta sonunda tüm konsantrasyonlarda GSH düzeyinde artma görülürken, 14. günde sadece yüksek dozda artış görülmüştür. 7. günde böbrek dokusundaki GSH düzeyi çok değişmezken (düşük dozda artış hariç), 14. günde tüm dozlarda artışlar görülmüştür.

Elde edilen veriler sonucunda GSH seviyesinde görülen artışlar; ılımlı oksidatif stres koşullarında GSH sentezindeki artışa bağlı uyarlanabilir bir mekanizma olarak GSH miktarında meydana gelen artışlar olarak yorumlanabilir. Bunun yanında, yoğun oksidatif stres koşullarında GSH düzeyleri azalarak uyarlanabilir korunma mekanizması kaybedilmektedir (Zhang ve ark., 2004). Glutasyon hücre içi serbest radikalleri temizlemekle görevli en önemli antioksidandır. Oksidatif stres halinde glutasyon sentezinde artışlar olmakta ve bu hücre içi glutasyon seviyesini arttırmaktadır. Fakat kurşun, hücrelerde oksidan – antioksidan dengesini bozarak lipid peroksidasyonu ile DNA hasarı oluşturabilir ve hücrenin antioksidan savunma sistemlerini tüketebilir.

Bu çalışmada; bazı doku, konsantrasyon ve zamanlarda GSH düzeylerinde azalmalar görülmüştür. GSH miktarında ki bu azalmalar, serbest radikal oluşumunun ve lipid peroksidasyonunun uzun süreli artışına bağlı olarak hücrel antioksidan savunma sisteminin aşılması ve antioksidan enzim aktivitelere azalmaların görülmesiyle açıklanabilir. Bunun yanında bazı bilim adamları metal etkisinde GSH seviyelerindeki

azalmaları, GSH sentez mekanizmasının bloklanmasına da bağlamaktadırlar (Griffith, 1999).

Karaciğer, glutatyonun sentezlendiği ve metal etkisinde balığı oksidatif stresten korumak için birincil savunma mekanizması olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada ilk hafta sonunda karaciğerde sadece düşük dozda GSH seviyesinde artış gözlenmiş, yüksek dozda GSH seviyesinde azalma görülmüştür. Bu durum ılımlı oksidatif stres gözlenen düşük dozda GSH üretiminin arttığını, antioksidan enzimlerin daha tükenmediğini, yüksek dozda ise o sürede antioksidan enzimlerde yoğun oksidatif stres koşullarında tükenme olduğu ile açıklanabilir. Deneme sonunda incelenen tüm dokularda GSH seviyesinin yüksek bulunması, tüm konsantrasyonlarda canlının yoğun radikal üretimine karşı kendilerini savunmak için GSH üretimini maksimum arttırdığı ve antioksidan stoklarının tükenmediği olgusu ile açıklanabilir.

Yapılan çalışmalar kurşun ve diğer ağır metallerin balıklarda GSH düzeyinde artma ve azalmalara sebep olduğunu göstermektedir (Pena ve ark., 2000; Elia ve ark., 2003; El-Demerdash, 2004; Lima ve ark., 2006; Atlı ve Canlı, 2007; Fırat, 2010; Luschak, 2011). Lima ve ark. (2006), *Oreochromis niloticus*'u evsel ve hayvansal atık su kontaminasyonuna maruz bıraktıkları çalışmalarında balığın karaciğer dokusunda ilk hafta sonunda glutatyon seviyelerinde azalma, 90 gün sonra ise artma olduğunu gözlemişler ve balığın kronik toksisiteye adapte olduğunu bildirmişlerdir. Hoyle ve ark. (2007), Afrika yayın balığını bakır içeren (1,5 g Cu kg⁻¹) yemlerle besledikleri çalışmalarında 30 gün sonunda bağırsak GSH düzeyinde yaklaşık iki kat artış tespit etmişlerdir. Diğer yandan Ahmad ve ark. (2005), *Anguilla anguilla*'yı 1 ve 2,5 µM'lık Cu konsantrasyonlarına maruz bırakmışlar, balığın solungaç ve böbrek dokusu GSH seviyelerinde azalma tespit etmişlerdir. Bu sonucu balığın oksidatif stresten korunmak ve oluşan serbest radikal üretime karşılık GSH üretiminin artması ve stoklarda tükenme ile açıklamışlardır. Zirong ve Shijun (2007), yaptıkları çalışmalarında *O.niloticus*'u 3 mg L⁻¹ Cd konsantrasyonuna maruz bırakmışlar ve GSH stoklarında tükenme tespit etmişlerdir. Atlı ve Canlı (2007), çalışmalarında *O.niloticus*'u 0; 5; 10; 20 µM'lık Cu, Zn, Cd ve Pb konsantrasyonlarına maruz bırakarak karaciğer, bağırsak, solungaç, kas ve kanda GSH ve Metallothionein (MT) aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda GSH seviyelerindeki değişimlerin doku, metal türü ve maruz kalma süresiyle değiştiği, kurşuna maruz bırakma üzerine çalışılan dozlarda GSH seviyelerinde önemli değişimlerin olmadığı belirtilmiştir.

4.2.3. TBARS

Ağır metaller gibi çeşitli kirleticilerin etkisi altında organizmalarda serbest oksijen radikalleri (ROS) sayısında artış görülmektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1990). Serbest oksijen radikallerinin hücre savunma sisteminin koruyucu etkisini aşacak kadar fazla oluşması, metabolizmadaki zararlı etkisini en hassas bileşikler olan lipidler üzerinde gösterirler. Membranların yapısında yer alan doymamış fosfolipidler ve kolesterol, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek lipid peroksidasyonu oluşturur (Porter, 1984). Biyolojik membran birçok doymamış yağ asidi içerdiği için ROS için en önemli hedeftir. Organizmalarda lipid membran peroksidasyonu, akışkanlığın azalmasına, geçirgenliğin artmasına sebep olarak hücresel fonksiyonların değişmesine neden olur (Hirosumi ve ark., 1988).

Bu çalışmada sublethal kurşun konsantrasyonlarına (0; 0,5; 2,5; 5 mg L⁻¹) *in vivo* etkide 14 gün süreyle bırakılan tilapia (*Oreochromis mossambicus*) balığı dokularında (solungaç, karaciğer, bağırsak, kas, beyin ve böbrek) lipid peroksidasyonun göstergesi olan TBARS düzeyi incelenmiştir. Deneme başlangıcında sağlıklı balıkların organlarında TBARS seviyeleri; solungaç: 4,89 nmol mg protein⁻¹, karaciğer: 3,94 nmol mg protein⁻¹, bağırsak: 3,06 nmol mg protein⁻¹, kas: 3,02 nmol mg protein⁻¹, 3,35 nmol mg protein⁻¹, 4,69 nmol mg protein⁻¹ olarak bulunmuştur.

Bu çalışmada TBARS düzeyinin; zamana, konsantrasyona ve doku türüne göre değiştiği, bu üç faktörün interaksiyon halinde de enzim aktivitesi üzerinde etkili olduğu görülmüştür (p<0,05). Fakat dokuXkonsantrasyon interaksiyon etkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Dolayısıyla dokuların TBARS düzeyi üzerine etkisi konsantrasyon ve zamana göre, konsantrasyonların TBARS düzeyi üzerine etkisi dokulara ve zamana göre değişmektedir. Çalışmada, balığın solungaç dokusunda yüksek dozda 7 ve 14. günlerde TBARS düzeyinde artma, karaciğer ve bağırsak TBARS düzeyinde yüksek dozda sadece 7. günde artma gözlenmiştir (p<0,05). Kas TBARS düzeyinde herhangi bir değişiklik gözlenmezken, beyinde yüksek doz TBARS düzeyinde artma, böbrek düşük doz TBARS düzeyinde ise azalma görülmüştür (p<0,05).

Çalışmada sonucunda, 5 mg L⁻¹ kurşun konsantrasyonuna maruz bırakılan tilapia balığı dokularından beyin, karaciğer, böbrek, bağırsak ve solungaçlarda artan TBARS seviyeleri; serbest oksijen radikali seviyesinin yükseldiğini, bunun oksidatif strese yol açarak antioksidan enzimleri azalttığını bunun da lipid peroksidasyon oluşumunu arttırarak membran yapısını bozduğunu göstermektedir.

Kurşun toksisitesinin lipid peroksidasyon ve antioksidan savunma sistemlerinde değişimlere yol açtığı hayvanlar ve insanlar üzerine yapılan önceki çalışmalarda görülmüştür (Pillai ve Gupta, 2005; Ercal ve ark., 1996; Laxmiprya ve Gupta, 2006; Oruç ve Usta, 2006; Oropesa ve ark., 2009). Laxmiprya ve Gupta (2006), çalışmalarında kurşun, kadmiyum ve kurşun-kadmiyum karışımına sıçanları 15 gün boyunca *in vivo* ve *in vitro* olarak maruz bırakmışlar ve GSH seviyelerinde azalma, lipid peroksidasyon düzeyinde artma tespit etmişlerdir. Yine buna benzer olarak, Gerber ve ark. (1978) ve Shafiq-ur-Rehman (1995) sıçanlar üzerinde kurşun toksisitesi çalışmışlar ve beyinde lipid peroksidasyona rastlamışlardır. Ayrıca Shafiq-ur-Rehman ve ark. (1995), beynin farklı bölgelerinde birikimini incelediği kurşun konsantrasyonları ile oluşan lipid peroksidasyonun paralellik gösterdiğini vurgulamıştır.

Çalışmamızda beyin, solungaç, karaciğer, bağırsak ve böbrek dokularında 5 mg L⁻¹ kurşun konsantrasyonuna maruz bırakılan balıklarda oksidatif stres ve buna bağlı olarak lipid peroksidasyonu görülmüştür. Yapılan literatür taramalarında da kirletici etkileri altında bu dokularda lipid peroksidasyon oluştuğu görülmektedir. Balesteros ve ark. (2009), yaptıkları çalışmalarında *Jenynsia multidentata*'yı pestisitlerden sublethal endosülfan konsantrasyonlarına 24 saat maruz bırakmışlardır. Çalışma sonucunda, beyin ve karaciğer dokularında TBARS düzeyinde artış görülürken, solungaç, bağırsak ve kas TBARS düzeyinde kontrole göre bir değişim olmamıştır. Antioksidan enzimlerden GST dokularda inhibisyona uğrarken, GR-GPx enzim aktiviteleri beyin ve solungaç dokularında artış göstermiştir. Sonuç olarak beyni endosülfan etkisine karşı en hassas organ olarak belirtmişlerdir. Ahmad ve ark. (2004), ise atık su kirliliğine maruz bıraktıkları yılan balığında oksidatif hasara karşı en hassas organ olarak solungaçları bulmuşlardır. Çalışmalarında solungaç TBARS seviyelerinde artış ve solungaç antioksidan enzim aktivitelerinde inhibisyon tespit etmişlerdir. Ercal ve ark. (1996), kurşun toksisitesine maruz bıraktıkları sıçanların karaciğer dokusunda GSH aktivitesinde azalma, lipid peroksidasyonda artma meydana gelmiştir.

Karaciğerin detoksifikasyonda ana organ olduğu (Gluszczak ve ark., 2007) ve antioksidanların oksidatif mücadelede böbreğin hassasiyetini azalttıkları bilinmektedir (Seth ve ark., 2001). Bu çalışmada kurşun ağır metalinin karaciğer, bağırsak ve böbreklerde glutatyon seviyelerinde değişikliklere sebep olduğu ve TBARS düzeyini arttırdığı görülmüştür. Metallerin karaciğerde metabolize oldukları, bağırsak ve böbrekler yoluyla dışarı atıldıkları düşünülürse; çalışmada oksidatif stres oluşturma potansiyeli

incelenen kurşunun tilapia balığı dokularından karaciğer, bağırsak ve böbreklerde antioksidan savunma sistemlerinde ve organlarda hasara sebep olduğu söylenebilir.

4.2.4. Dokularda Kurşun Birikimi

Balıklar, metalleri sudan aktif ya da pasif süreçlerle alma ve bünyesinde biriktirme yeteneğine sahiptirler (Heath, 1987; Langston, 1990). Sucul ekosistemlerde yaşayan organizmaların dokularında metal birikimi genellikle, metalin maruz kalma süresine, metal türüne, pH, sıcaklık, tuzluluk, sertlik gibi suyun bazı fiziko-kimyasal özelliklerine ve dokulardaki metabolitik aktivitelere bağlıdır. Benzer şekilde balık dokularında metal birikimleri de metalin alınımlarına, depolanmasına ve atılımına bağlıdır (Heath, 1987; Langston, 1990).

Bu çalışmada, 0; 0,5; 2,5; 5 mg L⁻¹ kurşun konsantrasyonlarına *in vivo* etkide 14 gün süreyle maruz bırakılan tilapia (*Oreochromis mossambicus*) balığı dokularında (solungaç, karaciğer, bağırsak, kas, böbrek ve beyin) kurşun birikimlerinin zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi incelenmiştir. Bu bağlamda, tilapia balığı dokularında birikim gösteren kurşunun zamana, konsantrasyonlara ve doku türüne göre değiştiği görülmüştür.

Çalışma sonucunda kurşun ağır metalinin etkide kalma süresi ve dozlara göre dokulardaki birikimi sırasıyla; bağırsak>böbrek>beyin>solungaç>karaciğer>kas şeklinde olmuştur.

Balıklarda farklı metallerin birikimlerinin incelendiği araştırmalarda karaciğerin metalleri diğer organlara göre daha fazla biriktirdiği belirtilmektedir (Tulasi ve ark., 1992; Allen, 1994; Roesijadi ve Robinson, 1994). Karaciğer, vücuda giren metallerin kimyasal değişikliğe uğramasında, atılım ve detoksifikasyonunda önemli görevleri olan bir organdır (Çoğun, 2008). Sucul ekosistemden alınan metaller Metallothionein (MT) gibi metal bağlayıcı proteinlere bağlanarak atılımları gerçekleştirilir (Heath, 1987; Canlı ve ark., 1997; Ay ve ark., 1999). MT gibi metal bağlayıcı proteinlerin başlıca üretim yeri bağırsak, böbrek ve karaciğerdir. Bu sebeple ağır metaller bu dokularda yüksek konsantrasyonlarda görülmektedir (Thomas ve ark., 1983; Allen, 1994; Ay ve ark., 1999). Bu çalışmada karaciğer, kas dokusundan sonra en az kurşun biriktiren metal olarak bulunmuştur. Bunun sebebinin MT gibi metal bağlayıcı proteinlerin kurşun bağladığına dair kanıtların olmaması olduğu düşünülmektedir (Reichert ve ark., 1979; Roesijadi ve Robinson, 1994). Linde ve ark. (1999) alabalık ve yılan balığında bakır ve kurşun birikimi ve MT sentezinin üzerine

etkileri ile ilgili yaptıkları bir çalışmada bakırın MT' lere bağlandığını, kurşunun ise böyle proteinlerin sentezine neden olmadığını saptamışlardır.

Çoğun (2008), yaptığı tez çalışmasında tilapia ve sazanı sublethal bakır ve kurşun konsantrasyonlarına bırakmış ve metal birikimini incelemiştir. Kurşun metalinin dokulardaki birikimini sırasıyla böbrek>solungaç>karaciğer>kas şeklinde iken, bakır etkisinde karaciğer>böbrek>solungaç>kas şeklinde olmuştur. Bir başka çalışmada Atlı ve ark. (2007), 0; 5; 10 ve 20 µM kurşun konsantrasyonlarına 14 gün boyunca maruz bıraktıkları tilapia balığında en fazla birikim yapan organ olarak solungaçları, sonra karaciğer ve kas olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada elden edilen veriler yapılan önceki çalışmalarda elde edilen bulgularla benzerlik göstermektedir (Ay ve ark., 1999; Linde ve ark., 1999; Atlı ve ark., 2007; Çoğun, 2008). Yapılan literatür taramalarında, araştırmacıların tilapia balığı (*Oreochromis niloticus*) dokularından karaciğer, böbrek, solungaç ve kas dokusunda kurşun birikim üzerine araştırmalar yaptıkları ve bu birikim sırasının böbrek>solungaç>karaciğer>kas şeklinde olduğu görülmektedir (Ay ve ark., 1999; Linde ve ark., 1999; Atlı ve ark., 2007; Çoğun, 2008).

Bu çalışmada literatür bilgilerine bir ilave olarak tilapia balığı bağırsak ve beyin dokularında kurşun birikimleri olmuştur. Çalışmamızda bağırsak dokusu en fazla kurşun biriktiren organ olmakla beraber beyin dokusu da böbreklerden sonra en ciddi kurşun birikimi gösteren organlar arasında yer almıştır. Balıklarda bağırsaklar, sindirim, besinlerin emilimi, sindirilen besinlerin atılımı ve osmoregülasyonda görev yapmaktadır. Böbrekler ise ağır metallerinin atılımında işlev gören önemli bir organdır. Ağır metallerin bu organlarda yüksek konsantrasyonlarda birikmesi bu organların işlevlerinden kaynaklanabilir (Cicik, 2003).

Balıklarda kaslar metal birikimi için çok aktif dokular değildirler. Bu çalışmada da balığın yenebilir kısmı olan kas dokusunda en düşük kurşun birikimleri tespit edilmiştir. Metallerin balık dokularıyla ilgili yapılan çalışmalarda da kaslar en az metal biriktiren organlar olarak bulunmuştur (Ay ve ark., 1999; Atlı ve ark., 2007; Çoğun, 2008).

Ağır metallerin balık dokularındaki birikimi etkide kalma süresi ve ortam derişimlerine göre değişiklik göstermektedir. Bu çalışmada da tilapia dokularında kurşun birikimi zamana ve konsantrasyonlara göre değişmiştir. Tao ve ark. (1999), *C. auratus*'u kurşun konsantrasyonlarına bıraktıkları çalışmalarında ortam kurşun derişimine bağlı olarak dokulardaki birikimin de arttığını bildirmişlerdir.

4.2.5. Kan Parametreleri

4.2.5.1. Hematolojik Parametreler

Hematolojik parametreler, metal toksisitesine karşı birçok balık türünde oluşan fizyolojik değişiklikleri belirlemek amacıyla kullanılmaktadır (Duthie ve Tort, 1985). Bu çalışmada, hematolojik parametrelerden hemoglobin, hematokrit, MCV, MCH, MCHC, eritrosit ve lökosit sayısı üzerine kurşun metalinin önemli etkileri olduğu görülmüştür.

Hemoglobin; kanda bulunan, solunum organından dokulara oksijen, dokulardan solunum organına ise karbondioksit ve proton taşıyan proteindir. Eritrositlerin içinde bulunan hemoglobin oksijeni içinde bulunan ⁺² değerlikli demir içeren “Hem” molekülü ile bağlar. Kurşun toksisitesinin ana hedeflerinden biri de hematopoetik (Hem) sistemdir (Ahamed ve Siddiqui, 2007). Kurşun toksisitesine uzun süre maruz kalan organizmalarda anemi oluştuğu bilinmektedir. Kurşun toksisitesi sonucu oluşan aneminin birbiriyle bağlantılı iki ayrı yolu vardır. Bunlardan birincisi hem sentezinde inhibisyon, ikincisi ise olgun eritrositlerin tahribatıdır (Goyer ve Clarkson, 2001). Bunlardan ilki ALAD enziminin inhibisyonu ile ilgiliyken, ikincisi serbest oksijen radikallerinin (ROS) hemolize neden olması sonucu oluşmaktadır. ALAD enzim inhibisyonu sadece hem sentezine değil, aynı zamanda ROS oluşumuna sebep olarak oksidatif stres oluşturabilmektedir (Monteiro ve ark., 1989; Rocha ve ark., 2003).

Bu çalışma sonucunda 2,5 ve 5 mg L⁻¹ dozlarda kontrol grubuna göre hemoglobin, hematokrit ve eritrosit sayısında azalmalar olduğu görülmüştür. Orta ve yüksek dozlarda görülen bu azalmalar bu dozlarda anemi oluştuğunun bir göstergesidir. Oluşan aneminin, kurşunun ALAD inhibisyonuna sebep olması ve hemoglobin sentezinde ciddi hasarlar yapması sonucu oluştuğu düşünülmektedir. Hodson (1976) ve Hodson ve ark. (1977)’ de bazı metallerin (Pb, Zn, Cd, Hg, Cu) *Salvelinus fontinalis*, *Salmo gairdnerii*, *Carassius carassius* ve *Lepidomus gibbosus* balıklarının kırmızı kan hücrelerinde ALAD aktivitesi üzerine etkilerini incelemişler ve sadece kurşun metalinin ALAD aktivitesinde inhibisyona sebep olduğunu bildirmişlerdir. Sjöbeck ve Larsson (1979), alabalığı 30 gün boyunca kurşuna maruz (300 µg L⁻¹) bıraktıkları çalışmalarında hemoglobin, MCH ve eritrosit hücre sayısında azalmalar oluştuğunu ve anemi görüldüğünü belirtmişlerdir. Aynı zamanda çalışmalarında hematokrit ve beyaz kan hücrelerinde istatistiksel bir fark görülmediğini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada *O. mossambicus* ’ta sürenin uzamasıyla kurşunun etkisinde gözlenen hemoglobin düzeyindeki azalmaların ya azalan alyuvar sayısı ile ya da hemoglobin sentez mekanizmalarının bozulmasıyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir. El Demerdash (2004),

hemoglobin konsantrasyonunun eritrosit oluşumunun engellenmesi ya da yıkımının artmasına bağlı olarak azalabileceğini bildirmiştir.

Yapılan çalışmada kurşun toksisitesine maruz bırakılan tilapia balığı eritrosit sayısında orta ve yüksek dozda kontrol grubuna göre azalmalar görülmüştür. Bu sonuçlar, orta ve yüksek dozda ALAD enzim aktivitesinin inhibisyonu ile hem sentezinde azalmaya, kurşun etkisinde demir alımının engellenmesi ve demir metabolizmasının hasar görmesine, sonuçta ise kısa ömürlü eritrositlerin oluşmasına bağlanabilir. Ribarov ve ark. (1981) kurşunun eritrositler üzerine oldukça toksik olduğunu ve bu etkilerini hem sentezinde yer alan enzimleri inhibe ederek gösterdiğini belirtmişlerdir. Fırat (2007), yaptığı tez çalışmasında Zn, Cd ve Zn-Cd karışım konsantrasyonlarının *O. niloticus*' ta ortam derişimleri ve sürelerle bağlı olarak alyuvar ve akyuvar sayılarında azalmalara sebep olduğunu bildirmiştir.

Kanda hesaplamalarla elde edilen ortalama hücre hemoglobin miktarı (MCH) ve ortalama hücre hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) değerleri araştırmacılara eritrositlerin durumu ve hemoglobin sentezi için gerekli bileşenlerin durumu hakkında yararlı bilgiler sağlar (Larson ve ark., 1985). Ortalama hücre hacmi (MCV) ise eritrositlerin durumu, eritrositlerin ebatları ve eritrosit oluşumu boyunca normal ve anormal hücre bölümlerini gösterir. Bu çalışmada 5 mg L⁻¹ kurşun konsantrasyonuna maruz bırakılan grupta deneme sonunda MCHC indeksinde artma, MCV' de azalma görülmüştür. Elde edilen bu bulgu yüksek doz grubunda hipokromik mikrositik anemi oluştuğunu göstermektedir. Toksikantların balık hematolojisi üzerine etkilerini inceleyen bazı araştırmalarda da bu çalışma ile uyumlu olarak hipokromik mikrositik anemi oluşumları görülmüştür. Atamanalp ve ark. (2011), gökkuşuğu alabalığını kobalt klorid konsantrasyonlarına maruz bıraktıkları çalışmalarında MCV indeksinde azalma MCHC'de artma tespit etmişlerdir. Benzer olarak pestisit (fenvalerate) toksisitesine maruz bırakılan *Labeo rohita* türünde de MCV indeksinde azalma MCHC'de artma görülmüştür, araştırmacılar bu durumu hipokromik mikrositik aneminin göstergesi olarak değerlendirmişlerdir (Prusty ve ark., 2011). MCV' deki azalma kurşun toksisitesi sonucu eritrosit hücrelerinin küçülmesi ile ortalama büyüklüğü normalden daha küçük eritrositlerin oluşturduğu mikrositik anemi oluşumudur. MCH ve MCHC' deki artışların eritrosit sayısı ve üretimi ile oluşan karışıklığa ayak uydurduğu ayrıca kırmızı kan hücrelerinin yıkımına bağlı olarak eritrosit sayısında azalma ve her bir hücredeki hemoglobin içeriğinin azalmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir (Sakthivel ve Sampath, 1992).

4.2.5.2. Biyokimyasal Parametreler

4.2.5.2.1. Serum Enzimleri

Kan enzimleri, artan kirliliğin neden olduğu stres, hastalık gibi durumların belirlenmesi ve izlenmesinde biyokimyasal indikatörler olarak kullanılmaktadır (William, 1997; Adham ve ark., 1997, 1999).

Lipaz enzimleri yağların hücre membranını geçmesi için yağ asidine parçalanmasını sağlayan önemli enzimlerdir (Fırat, 2007). Lipaz, pankreatik asiner hücreler içinde üretilir, depolanır ve kanal sistemi içine salınır (Tietz ve Shuey, 1993). Pankreas hasarına yol açan bozukluklarda, pankreatik lipaz devreye girer. Lipaz aktivitesi pankreas hasarlarının belirlenmesi ve değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (Steinhauer ve ark., 2002). Bu çalışmada ilk hafta sonunda lipaz aktivitesinde görülen artışların, kurşunun pankreas hasarına sebebiyet vermesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Fırat 2007' de çinko, kadmiyum ve metal karışımına maruz bıraktıkları *O. niloticus*' ta metal etkisinde serum lipaz enzim aktivitesinin artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde Al-Attar ve ark. (2007), yaptıkları çalışmalarında nikel etkisinde serum lipaz aktivitesinin tilapia balığında artış gösterdiğini belirtmişlerdir.

Dehidrogenaz ve fosfataz enzimleri biyolojik süreçler için önemli ve kritik enzimler olup, makro moleküllerin detoksifikasyonundan ve biyosentezinden sorumludurlar (Yousef ve ark., 2007). Bu enzimlere herhangi bir müdahale biyokimyasal bozukluklara, doku ve hücre fonksiyonlarında lezyonlara sebep olur. Bu çalışmada ALP aktivitesi denemenin ilk haftası tüm dozlarda artış gösterirken, deneme sonunda düşük ve orta dozda kontrol grubuna göre artış göstermiştir. LDH aktivitesinde ise deneme sonunda tüm dozlarda kontrol grubuna göre artış görülmüştür. Tilapia balığı kan serum enzimlerinden LDH ve ALP aktivitesindeki artmalar kurşun metali etkisinde karaciğer hasarını göstermektedir. Bu enzimlerin karaciğer hasarı sonucu, karaciğer sitoplazmasından kan akışı içine doğru sızıntı yapması sonucu artışların meydana geldiği düşünülmektedir. Wang ve Zhai (1988), Rahman ve ark. (2000); kirleticilere maruz kalan balıklarda karaciğerdeki hücre ölümleri sonucu LDH enzimin kana geçmesi sonucu arttığını belirtmişlerdir.

ALT ve AST gibi Transaminaz' lar protein ve aminoasit metabolizmasında önemli rol oynarlar. Bu enzimler, metallerin toksik etkilerinde dokularda oluşan hasar ya da fonksiyon bozuklukları durumlarında plazma içine salınırlar. Plazma ya da hücre dışı sıvıda bu enzim aktivitelerindeki artışlar, düşük düzeydeki hücre hasarlarının bile duyarlı belirteçleri olarak kabul edilmektedir (Vaglio ve Landriscina, 1999; De la Torre ve ark., 2000; Levesque ve ark., 2002). Bu çalışmada AST aktivitesinde tüm konsantasyonlarda

artış gözlenirken, ALT enzim aktivitesinde zamana ve konsantrasyonlara göre artma ve azalma belirlenmiştir. Bu enzim aktivitelerindeki artışların, depo organı olan karaciğer dokusunda oluşan hasarlar sonucu enzimlerin dolaşım sistemi içine salınması ile oluştuğu düşünülmektedir. Öner ve ark. (2008), bakır ve kadmiyumun tilapia’ da ALT ve AST enzim aktivitelerini arttırdığını bildirmişlerdir. Fırat (2007), çalışmasında Zn, Cd ve Zn-Cd karışımlarının tilapia balığı ALT ve AST enzim aktivitelerinde artışlara neden olduğunu ve bunun karaciğer hasarı sonucu oluştuğunu belirtmiştir. Vaglio ve Landriscina (1999), karaciğerin ALT ve AST enzimleri bakımından zengin olduğunu ve karaciğer hasarlarında bu enzimlerin büyük bir miktarının kana geçtiğini bildirmişlerdir. Singh ve Reddy (1990), 0,25 mg L⁻¹ bakırın *Heteropneustes fossilis*’ te ALT ve AST aktivitesinde artışlara neden olduğunu bunun nedenin ise doku hasarı ve balığın metabolizmasının bozulması olarak nitelendirmişlerdir. Bu çalışmada değerlendirilen serum enzimlerinden, ALT, AST, ALP ve LDH enzimleri sucül ekosistemde ağır metallerle oluşan kirliliğe karşı erken uyarı mekanizmaları olmaları nedeniyle ekotoksikolojik çalışmalarda hassas biyomarkırlar olarak kullanılmaya uygundurlar (Vaglio ve Landriscina, 1999; De la Torre ve ark., 2000).

4.2.5.2.2. Glikoz, Serum Proteinleri ve Bilurubin

Glikoz, yaşamsal olaylar için gereksinim duyulan enerjinin başlıca kaynağı olup, serumdaki düzeyi, endokrin sistem aracılığı ile kontrol edilmektedir (Dange, 1986). Balıklarda açlık, yoğun stoklama gibi stres etmenlerinin yanı sıra metaller gibi kirleticiler de kortizol, epinefrin ve glukokortikoid hormonların salınımını arttırarak, karbonhidrat metabolizmasında değişikliklere neden olmaktadır (Sastry ve Subhadra, 1985). Serum glikoz düzeyi, metale, ortam derişimine ve metale maruz kalma süresine bağlı olarak değişim gösterdiği gibi türe ve ortam koşullarına bağlı olarak da değişmektedir (Dethloff ve ark., 1999). Bu çalışmada kullanılan kurşun metali ve ortam derişimlerinin etkisinde serum glikoz düzeylerinin kontrol grubuna göre arttığı saptanmıştır. Bu artışın stres altında kanda hiperglisemi (kan şeker artışı) oluşturduğu, ayrıca karaciğerde hasarlara ve hormon düzensizliklerine (insülin eksikliği) sebep olduğu düşünülmektedir. Martinez ve ark. (2004), *Prochilodus lineatus*’u sublethal kurşun konsantrasyonlarına maruz bıraktıkları çalışmalarında kan glikoz seviyelerinde artma ile birlikte lipid ve protein seviyelerinde azalma tespit etmişlerdir. Kanda oluşan hiperglisemi’yi “stres şartlarına karşı oluşturulan bir adaptasyon” durumu olarak tanımlamışlardır. Öner ve ark. (2008), Cu⁺², Zn⁺² ve Ag⁺ metali etkisi altında tilapia balığı glikoz seviyelerinin ortam derişimine bağlı olarak arttığını, bu artışların da böbrek ve karaciğer hasarı ile ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir.

Dange ve ark. (1986), kadmiyumun sublethal derişimlerinin etkisinde uzun süre bırakılan *O. mossambicus*'da metal etkisinin serum glikoz ve kortizol düzeyini arttırdığını bildirmişlerdir.

Serum toplam protein ve spesifik serum proteinlerinden albumin, karaciğerde sentezlenir. Toplam protein kandaki erimemiş maddelerin taşınması, kolloid osmatik basıncın düzenlenmesi, kanın pıhtılaşması ve savunma sisteminde görev almaktadır. Serum total protein, serumda bulunan başta serum albumin ve globulinler olmak üzere tüm proteinlerin toplamıdır. *O. mossambicus*' ta sublethal kurşun konsantrasyonlarında toplam protein düzeyinde artış gözlenmiştir. Albumin seviyesinde ise 7. günde yüksek dozda kontrol grubuna göre artış, 14. günde yüksek ve düşük dozda azalma görülmüştür. Bu sonuçlara göre serum albumin ve toplam proteindeki değişimler ile karaciğerde hasar oluştuğu, emilimin azalmış olabileceği ve protein kayıplarının yaşanabileceği düşünülmektedir. Rupariella ve ark. (1989), tilapia' da sublethal kurşun etkisinde toplam protein seviyesinin arttığını ve bunun karaciğerdeki protein sentez mekanizmasının uyarılmasından kaynaklanabileceğini bildirmiştir.

Bu çalışmada serum bilirubin düzeyinde ilk hafta sonunda tüm konsantrasyonlarda artışlar görülmüştür. Kanda bilirubin artışı safranin salgılanmaması, çok fazla hemoglobin yıkımı veya karaciğerin hemoglobini aktif olarak işlememesinden kaynaklanabilmektedir. Bu çalışmada bilirubin seviyelerinde meydana gelen artışların karaciğer fonksiyonlarında oluşan bozukluklardan meydana geldiği düşünülmektedir.

4.2.5.2.3. Serum Yağları

Ana görevi hücresel enerjiyi sağlamak olan trigliseridler balıklarda beslenme durumunun biyoindikatörü olarak kabul edilirler (Yang ve Chen, 2003). Balıklarda trigliserid seviyeleri, lipid metabolizmasının değerlendirilmesinde, oluşan artışlar ise böbrek fonksiyonlarında hasarlar ve glikojen stoklarında bozuklukların göstergesi olarak kabul edilmektedir. Kolesterol tüm hücre membranları için esansiyel bir bileşen olup, yağların sentezinde rol oynayan safranin salgılanmasında, kortizol ve steroid hormonlarının sentezinde görev almaktadır (Handin ve ark., 2003). Kolesterolün kanda taşınması suda çözünebilen kolesterol ve diğer yağ türevlerini taşıyabilen lipoproteinler aracılığıyla olmaktadır. (Handin ve ark., 2003). Lipoproteinler yoğunluklarına göre alt gruplara ayrılmaktadır. Bunlardan düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL), ekstrahepatik (karaciğere bağlı olmayan) dokuda, karaciğerde ve makrofaj hücrelerinde katabolize edilmektedir (Garcia ve ark., 2009). Bu çalışmada sublethal kurşun konsantrasyonlarının

serum yağlarında değişimlere yol açtığı görülmüştür. Kurşun konsantrasyonlarında trigliserid seviyelerinde deneme gruplarında kontrole göre artma meydana gelirken, kolesterol seviyelerinde zamana ve dozlara bağlı artma ve azalmalar, LDL seviyesinde orta ve yüksek dozda kontrol grubuna göre azalmalar tespit edilmiştir. Levesque ve ark. (2002), kronik Zn, Cd, Cu kirliliği olan sulara *Perca fluviatilis*'in trigliserid seviyesinde mevsimlere göre azalmalar olduğunu bildirmişlerdir. Rupariella ve ark. (1989), tilapia sublethal kurşun etkisinde kolesterol düzeyinin azaldığını belirtmişlerdir. Membranın önemli bir bileşeni ve bütün steroid hormonların öncüsü olan kolesterol düzeylerinde, böbrek ve karaciğerdeki hasarlar sonucu kana salınması ile artışların oluşabileceği düşünülmektedir. (Öner ve ark., 2008) . Ağır metal kirliliğine maruz kalan balıklarda oluşan stres etmeni altında kolesterol seviyelerinde artış görülebilmektedir (Yang ve Chen, 2003; Singh ve Reddy, 1990). Ağır metallerin hücre yapısını bilhassa membran yapısını bozduğu bilinmektedir. Bu bağlamda kolesterol ve trigliserid düzeyleri çevresel stres indikatörü olarak kullanılabilirler. Öner ve ark. (2008), bakır ve kadmiyumun tilapia' da kolesterol düzeylerini arttırdığını, trigliserid düzeylerini ise azalttığını bildirmişlerdir.

4.2.5.2.4. Üre, Ürik Asit ve Kreatinin

Balıklarda üre eksojen ve endojen olarak arjinin ve pürin nükleotidlerinden oluşmaktadır. Pürin ise üre döngüsündeki amonyaktan oluşur (Walsh ve Mommsen, 2001). Karaciğer tarafından üretilen ürenin birincil atılım yeri solungaçlardır. Bu çalışmada kurşun konsantrasyonlarına maruz bırakılan tilapia' da üre seviyelerinde yüksek doz grubunda kontrol grubuna göre artma görülmüştür. Artan üre seviyelerinin, protein metabolizmasındaki artışlarla ilişkili olduğu ve amonyağın üreye çevrilmesi sonucu arginin enzimlerinin sentezindeki artmalara bağlı olarak ürede artışların olduğu düşünülmektedir. Ürede görülen artışlar solungaç ve böbrek hasarlarının önemli bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Serum üre seviyelerinin metal etkisinde genellikle artış gösterebildiği belirtilmiştir (Mc Donald ve Grosell, 2006; Yang ve Chen, 2003).

Balıklarda kreatinin, kreatinden meydana gelir ve böbrekler tarafından salgılanır (Campbell ve ark., 2005). Kreatinin böbrek hasarlarının tespiti veya fonksiyon bozukluklarının belirlenmesinde kullanılan bir biyoindikatördür (Adams ve Greeley, 2000). Ürik asit ise eksojen ve endojen olarak pürin nükleotidlerden oluşmaktadır. Ürik asit karaciğerde üreye dönüştürülür ve solungaçlardan atılır (Stoskopf, 1993). Bu çalışmada metalin etkide kalma süresine ve dozuna bağlı olarak ürik asit ve kreatinin miktarlarında kontrol grubuna göre artışlar tespit edilmiştir. Bu artışların böbrek

hasarlarından oluşabileceği düşünülmektedir. El-Demerdash (2004), kadmiyum toksisitesine maruz bıraktıkları sığanlarda üre ve kreatinin seviyelerinde artışlar tespit etmişler ve bu artışların böbrek dokusunda fonksiyon bozukluklarına bağlı ağırlık artışına bağlamışlardır. Grosell ve ark. (2004), sublethal bakır toksisitesi üzerine çalıştıkları araştırmalarında metal uygulaması sonrasında balıkta üre konsantrasyonunun üç kat arttığını bildirmişlerdir.

4.2.5.2.5. Serum Elektrolitleri

Sucul organizmalar değişen ortam şartlarına karşı hayatta kalabilmek, su ve iyon homeostazisini sürdürebilmek için plazmanın osmotik basıncını korumak zorundadırlar. Kemikli balıklarda bu düzenlemenin sağlanabilmesi için gelişmiş yapılar bulunmakta ve bu yapılar balıkta inorganik iyon konsantrasyonlarını çok yakın seviyelerde muhafaza etmektedirler. İyon seviyelerinde oluşabilecek değişimler strese neden olarak organizmada hasarlara sebep olurlar (Sjöbeck ve Larsson, 1979).

Kalsiyum, iyon regülasyonu, membran geçirgenliği, kas ve sinir hücre fonksiyonları, iskelet kemiği metabolizmasında ve kanın pıhtılaşmasında görevleri olan bir iyondur. Kurşun toksisitesi için en önemli serum elektroliti kalsiyumdur. Kurşun metali ile kalsiyum arasında bir rekabet olduğu yapılan çalışmalarla ispatlanmıştır (Hodson ve ark., 1978; Varanasi ve Gmur, 1978; Settle ve Patterson, 1980). Bu metal kalsiyumun bağlanma bölgelerine bağlanarak kalsiyum ile rekabet etmektedir. Bu da sonuçta hipokalsemi (kanda kalsiyum azlığına) ve balıkta ölüme neden olmaktadır. Bu çalışmada kurşun konsantrasyonlarına maruz bırakılan tilapia balığında kalsiyum seviyelerinde kontrol grubuna göre azalmalar tespit edilmiştir. Bu azalmalar literatür bilgileriyle uyumlu olarak bulunmuş ve kan kalsiyum seviyelerinde azalma (hipokalsemi oluşumu) olduğu görülmüştür. Ayrıca; Sjöbeck ve Larsson (1979), tatlı su balıklarında kan kalsiyum seviyelerindeki azalmaların böbrek hasarına sebebiyet vereceğini, böbrekte tübular geri emme mekanizmasında hasarlar oluşabileceğini, bağırsakta alımında hasarlar oluşabileceğini bildirmişlerdir. Rogers ve ark. (2003), yaptıkları çalışmalarında 1 mg L^{-1} kurşun konsantrasyonuna maruz bıraktıkları alabalıklarda kalsiyum seviyelerinde azalma tespit etmişlerdir. Flik ve ark. (1993), kurşunun içinde kalsiyuma yüksek hassasiyeti olan ATPaz enziminin ve Na^+ , K^+ değişiminin yapıldığı, bazolateral taşıma mekanizmasında inhibisyona sebep olabileceğini bildirmiştir.

Magnezyum iyon regülasyonu, metabolizma faaliyetleri ve kas hücre fonksiyonlarında görev alan bir iyondur. Bu çalışmada kalsiyum iyonlarının aksine

magnezyum elektrolitinde kurşun etkisinde artışlar görülmüştür. Yapılan literatür taramaları kalsiyum ile magnezyum arasında ters bir ilişki olduğunu göstermektedir (Hardwick ve ark., 1990; Kayne ve Lee, 1993; Marshall, 2002). Örneğin Cowey ve ark. (1977), yaptıkları çalışmada alabalıklarda düşük Mg^{+2} alımı ve yüksek Ca^{+2} konsantrasyonları tespit ederek bu ters ilişkiden bahsetmişlerdir. Mg yukarıdaki membranlardan (solungaç ve bağırsak) aşağı membran boyunca hareket eder. Kalsiyumun bu harekette önemli bir rolü vardır (Flik ve ark., 1993). Kan kalsiyum seviyesinin azalması üst membran (solungaç ve bağırsak) oluşan elektrokimyasal gradyanda hasara sebep olabilir (Rogers ve Wood, 2004).

Klorür, osmatik basınç ve iyon dengesi, asit-baz dengesinde görev almaktadır. Bu çalışmada kurşun etkisinde deneme gruplarında kontrol grubuna göre Cl^{-} iyon düzeylerinde artmalar görülmüştür. Na^{+} ve Cl^{-} düzeyleri balıklarda ozmolariteden sorumlu iyonlardır. Bu iyonlarda meydana gelen değişimler solungaç geçirgenliğinde artış ve osmoregülasyonda hasarlara sebep olabilir. Yapılan bazı çalışmalarda kirleticiler altında solungaç Na^{+}/K^{+} -ATPaz enzim aktivitesinde meydana gelen inhibisyonların Na^{+} ve Cl^{-} iyon regülasyonunda bozukluklara yol açtığı bildirilmektedir (Janicki ve Kinter, 1971; Kinter ve Pritchard, 1977; Haux ve Larsson, 1979). Bu çalışmada da Na^{+}/K^{+} -ATPaz enzim aktivitesinde inhibisyonlar meydana gelmiş ve bu inhibisyonlar balığın iyon dengesinde bozukluklara neden olmuştur. Metallerin elektrolitler üzerine etkilerini inceleyen bazı çalışmalarda örneğin; *C. carpio*'da bakırın subletal derişiminin 30 gün süreyle etkisi serum klorür ve kalsiyum düzeyini arttırırken (Dhanapakiam ve Ramasamy, 2001), *P. scorfa*'da bakırının 25 ve 29 ppb'lik derişimlerinin akut etkisi serum Na^{+} ve Cl^{-} düzeylerini azalttığı, K^{+} düzeyini ise arttırdığı bildirilmiştir (Mazon ve ark., 2002).

Bu çalışmada incelenen elektrolitlerden demir ve fosfor seviyelerinde zamana ve konsantrasyonlara bağlı olarak artma ve azalmalar görülmüştür. Demir, indirgenme-yükseltgenme reaksiyonlarında ve oksijen taşınmasında rolleri bulunan bir elementtir. Balıklarda demir eksikliği hemoglobin, hematokrit, MCV ve MCHC miktarlarında azalmalara ve kansızlığa sebep olur (Lim ve ark., 2001). Fosfor ise kalsiyumla beraber iskelet yapısının oluşumunda, asit-baz dengesinin sağlanmasında büyük öneme sahiptir. Balıklarda fosfor eksikliğinde, serum fosfor miktarında azalma, serum ALP aktivitesinde artma, karaciğer glikojeninde azalma, karaciğer ve kas dokusunda yağlanma gibi sorunlar görülmektedir (Lall, 2002).

4.2.5.3. İmmunolojik Parametreler

Bu çalışmada kullanılan fagositik aktivite ve indeks, NBT, lizozim ve myeloperoksidaz analizleri birbirlerini takip eden ve destekleyen bir mekanizma gibidir. Fagositik aktivite ve indeks bakterilerin fagositik hücreler tarafından yutulması ve yutulan bakteri sayısı hakkında bilgi vermektedir. Bu iki parametredeki artışlar mikroorganizmalarla mücadelenin arttığının birer göstergesi olarak kabul edilmektedir. Fagositlerin bakteriler tarafından uyarılması ile ilk olarak üretilen O_2^- ve artan NBT indirgenmesi respirator yıkım miktarının tespitinde kullanılır. Savunma hücreleri tarafından yutulan partiküller hücre içinde respiratorik yıkım dışında lizozomal enzim sindirimi ile de yok edilmektedirler (Diker, 2005).

Lizozim antibakteriyal (özellikle gram pozitiflerde) özelliğe sahiptir ve spesifik substratlarını N-asetilglukosamin ve N-asetilmuramik oluşturmaktadır. Lizozim aktivitesi bakterilerin hücre duvarlarını parçalayarak balıkların hastalıklara karşı direncini arttırmaktadır (Ossermann ve Lawlor, 1966).

Myeloperoksidaz enziminin (MPO) mekanizması ise şu şekilde gerçekleşmektedir: süperoksit anyonları süperoksit dismutaz (SOD) enziminin etkisiyle hidrojen peroksiti (H_2O_2) oluşturur (Brown ve Netea, 2007). SOD enziminin etkisiyle oluşan hidrojen peroksit nötrofillerin içerisinde bulunan myeloperoksidaz enzimi (MPO) tarafından hipoklorit asit iyonlarına dönüştürülür (Laurence ve ark., 2006). Oksidatif metabolizma olarak adlandırılan bu reaksiyonlarda oluşan hidrojen peroksit, hipoklorid veya hipoklorit asit bakterileri parçalar (Klebanoff, 1968; Diker, 2005). Hipoklorid ayrıca lizozomal enzimlerin etkisini de artırır (Diker, 2005). MPO enzimi genellikle azurofilik granüositler ve nötrofillerin respiratör yıkımı süresince artmaktadır.

Bu nedenle ağır metal uygulamaları sonucu fagositik aktivite ve indeks, NBT, lizozim ve myeloperoksidaz miktarlarında meydana gelecek azalmalar balık sağlığının olumsuz etkilendiğinin bir göstergesidir. Bu durumda balıkların bakteriyel hastalıklara yakalanma riski artacak veya diğer çevresel faktörlere dayanıklılıkları azalacaktır. Örneğin; tilapia (*Oreochromis niloticus*) balıklarında yapılan bir çalışmada balıklar kadmiyum, civa ve kurşuna maruz bırakılmış ve bakteri enjeksiyonundan sonra ölüm oranı en yüksek %66 ile kurşun grubunda gerçekleşmiştir (Aboud, 2010). Bunun nedeni balıkların bağışıklığının ağır metalden olumsuz etkilenmesidir. Bilindiği gibi; birçok ağır metal balıklarda “immunotoxic” etkiye sahiptir. Ağır metallere kurşunun bağışıklık hücreleri üzerinde hasar yapabildiği veya bu hücrelerin ölümüne neden olabildiği bildirilmiştir (Sweet ve Zelikoff, 2010). Kurşun, *Ameiurus nebulosus* balıklarında böbrek nötrofil miktarını,

bakterisidal ve lizozim aktivitelerini azaltmış ve deneme sonunda balıklara bakteri uygulandığında kurşuna maruz bırakılanlar %79–87 oranında ölmüştür (Iwanowicz ve ark., 2009). Bu çalışmada da; özellikle nötrofil miktarının, NBT, lizozim, myeloperoksidaz, fagositik aktiviteleri ve fagositik indeksin kurşun uygulaması sonucu deneme gruplarında kontrol grubuna göre önemli oranda azalması immun hücrelerindeki olumsuz veya öldürücü etkisini ve dolayısıyla bakteri dirençlerinin azalmasını desteklemektedir. Kurşunun bu etkisi sadece balıkta değil, diğer birçok hayvanda bildirilmiştir. Örneğin; kurşun farelerde lizozim aktivitesini (Teijon ve ark., 2003) ve kurbağada fagositik aktiviteyi (Rosenberg ve ark., 2003) azaltarak bağışıklığı olumsuz etkilemiştir. Kurşunda elde ettiğimiz benzer bulgular farklı ağır metallerde de elde edilmiştir. Levrek balıklarında bakır ve kadmiyum uygulamaları sonucu fagositik aktivitede önemli oranda azalma tespit edilmiştir (Bennani ve ark., 1996). Alabalıklarda yapılan farklı bir çalışmada ise kadmiyum, çinko ve civanın farklı oranlarda birbirleriyle karışımları fagositik aktiviteyi azaltırken, üçünün birlikte uygulandığı gruplarda lizozim aktivitesi artmıştır (Sanchez-Dardon ve ark., 1999). Benzer olarak kadmiyum tilapia balıklarında lizozim aktivitesini arttırmış, ancak diğer bir bağışıklık parametresi olan ACH50 miktarını azaltmıştır (Wu ve ark., 2007). Sazan balıklarında da lizozim aktivitesi bakır uygulaması ile artış göstermiştir (Dautremepuits ve ark., 2004).

Alınan bu sonuçlardan ağır metallerin bazen bağışıklık parametrelerinden birinde artmaya neden olabileceği görülmekle birlikte, aynı anda diğer bir parametrede azalma gerçekleşebilmektedir. Bunun nedeni ağır metallerin doz, uygulama şekli ve etki ettiği mekanizmanın farklılığıyla açıklanabilir.

BÖLÜM 5**SONUÇLAR VE ÖNERİLER****5.1. Sonuçlar**

Bu çalışmada kurşun ağır metalinin tilapia (*Oreochromis mossambicus*) balığı fizyolojisinde meydana getirdiği değişimler, Na⁺, K⁺, ATPaz, Glutasyon ve TBARS biyomarkırları, balık dokularında kurşun birikimleri ve kan parametreleri incelenerek ortaya konulmuştur. Çalışma sonucunda elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

1. Tilapia balığı *in vivo* etkide 14 gün boyunca 0, 0,5, 2,5 ve 5 mg L⁻¹ kurşun konsantrasyonlarına maruz bırakılmıştır. 5 mg L⁻¹ kurşun konsantrasyonuna maruz bırakılan balıklarda 10 ve 13. günlerde farklı tekerrürlerde birer adet (toplam iki balık) balık ölümü görülmüştür.

2. Bu çalışmada kurşunun solungaç Na⁺, K⁺, -ATPaz enzim aktivitesinde ciddi inhibisyonlara neden olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç, kurşunun tilapia balığında osmoregülatif hasara sebep olduğunu göstermektedir. Kurşunun, Na⁺, K⁺, -ATPaz enzimi, Na⁺ ve Ca⁺² gibi iyonların taşındığı bazolateral taşıma mekanizmasına zarar verdiği ve iyon regülasyonunda hasarlara sebep olduğu görülmüştür.

3. Sublethal kurşun konsantrasyonlarına maruz bırakılan *O.mossambicus*' da Glutasyon seviyelerinin doku türü ve metal etkisinde kalma süresine bağlı olarak değiştiği belirlenmiştir. Glutasyon seviyesinin ılımlı oksidatif stres koşullarında artış gösterip dokulardaki radikalleri temizlerken, yüksek oksidatif koşullarda azaldığı ve yeniden geri dönemediği görülmüştür.

4. Bu çalışmada 5 mg L⁻¹ kurşun konsantrasyonuna maruz bırakılan *O.mossambicus*' da beyin, karaciğer, böbrek, bağırsak ve solungaçlarda artan TBARS seviyeleri, lipid peroksidasyon oluşumunu ve membranda hasarlar oluştuğunu göstermektedir.

5. 14 gün boyunca *in vivo* etkide farklı kurşun konsantrasyonlarına maruz bırakılan tilapia balığı dokularında kurşun birikimi etkide kalma süresi ve derişime bağlı olarak değişmiştir. Etkide kalma süresi ve derişime bağlı olarak dokularda kurşun birikimi sırasıyla, bağırsak>böbrek>beyin>solungaç>karaciğer>kas şeklinde olmuştur.

6. 2,5 ve 5 mg L⁻¹ kurşun konsantrasyonlarına maruz bırakılan gruplarda kanda anemi oluştuğu görülmüştür.

7. Bu çalışmada kan biyokimya parametrelerinden;

LDH, ALP, ALT, AST, glukoz, toplam protein, albumin, bilirubin ve kolesterol seviyelerindeki değişimler sublethal kurşun derişimlerinin karaciğerde oluşturduğu hasarı ortaya koymaktadır.

Glukoz, kolesterol, üre, ürik asit, kreatinin ve kalsiyum seviyelerindeki değişimler sublethal kurşun derişimlerinin böbrekte oluşturduğu hasarı ortaya koymaktadır.

Üre, klorür, magnezyum, kalsiyum ve klorür seviyelerindeki değişimler sublethal kurşun derişimlerinin solungaçta oluşturduğu hasarı ortaya koymaktadır.

8. Bu çalışmada immunolojik parametrelerden fagositik aktivite, fagositik indeks, NBT, lizozim aktivitesi ve myeloperoksidaz aktivitesinde meydana gelen azalmalar balığın bağışıklığının ağır metalden olumsuz etkilendiğini göstermektedir.

5.2. Öneriler

Sucul ekosistemler doğal veya antropojenik etkilerle sürekli olarak ağır metal kirliliği tehdidi altındadır. Ağır metallere dolaylı olarak sucul ekosistemde oluşacak herhangi bir olumsuz etki tüm canlılarla beraber balık ve balığı tüketen insan sağlığını da etkileyecektir. Metallerin balıklarda neden olabileceği muhtemel değişiklikleri belirlemek ve izlemek ekosistem geleceği ve sürdürülebilirliği açısından çok önemlidir.

Bu çalışmada kullanılan biyomarkırlar (Na^+ , K^+ , -ATPaz, GSH, TBARS) ekotoksikolojik çalışmalarda sucul organizmalar üzerine kirleticilerin etkilerinin belirlenmesi ve çevresel izleme çalışmaları için uygun biyomarkırlardır. Ayrıca çalışmada değerlendirilen *Oreochromis mossambicus* türü ekotoksikolojik çalışmalarda model balık olarak kullanılabilir.

Balık kan parametrelerindeki değişiklikler dokuların hasar görmesi ve balık sağlığında oluşan sorunlar nedeniyle meydana geliğinden, bu parametreler çeşitli dokularda kirleticilerin meydana getirdiği hasarların tespiti için kullanılabilir.

Toksikolojik çalışmalarda metallerin neden olduğu doku hasarlarının tespiti için moleküler çalışmaların yanında dokularda histopatolojik çalışmaların da yapılması yararlı olabilir.

Laboratuvar ortamında balık fizyolojisi üzerine metal etkileri araştırılırken kullanılan biyokimyasal parametrelerin arazi ortamında da geniş şekilde kullanılarak doğal ortam ile laboratuvar şartları arasında bağlantı kurulması önerilir.

Küresel ısınmanın arttığı günümüzde suyun fiziko-kimyasal parametreleri ile kurşun metali arasındaki ilişkilerin daha detaylı bir şekilde çalışılması önerilir. Örneğin

sularda sıcaklık artışı ve pH düşüşü (asidik sular) durumunda kurşun metalinin daha toksik olacağı ve canlılara etkilerinin daha farklı olacağı tahmin edilmektedir.

Literatürde deniz balıklarında kurşun toksisitesi ile ilgili çalışma eksikliği görülmüştür. Kurşun toksisitesinin deniz balıklarında etki mekanizmasının farklı olacağı ve bu konuda yeni çalışmalar yapılması gerektiği öngörülmektedir. Ayrıca, sera gazı etkisinin artması ve küresel ısınma ile beraber kurşunun denizlerimizde olan çözünürlüğü ve toksisitesi artabileceğinden bu konuda çalışmaların yapılması daha da önem kazanmaktadır.

KAYNAKLAR

- Abdollahi M., Bahreini-Moghadam A., Emmami B., Fooladian F. ve Zafariet K., 2003. Increasing Intracellular cAMP and cGMP Inhibits Cadmium-induced Oxidative Stress in Rat Submandibular Saliva. *Comp. Biochem. Physio, C: Comp. Pharma.*, 135(3): 331-336.
- Aboud O.A.S.A., 2010. Impact of Pollution with Lead, Mercury and Cadmium on the Immune Response of *Oreochromis niloticus*. *New York Science Journal* , 3(9): 5p.
- Adams E.S., 1975. Effects of Lead and Hydrocarbons from Snowmobile Exhaust on Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*). *Trans. Am. Fish. Soc.*, 104: 363-373.
- Adams S.M. ve Greeley M.S., 2000. Ecotoxicological Indicators of Water Quality: Using Multi-response Indicators to Assess the Health of Aquatic Ecosystems. *Water, Air, and Soil Pollution*, 123(1-4): 103-115.
- Adham K.G., Khairalla A., Abu-Shabana M., Abdel-Maguid N. ve Abd El-Moneim A., 1997. Environmental Stress in Lake Maryût and Physiological Response of *Tilapia zilli*. *Gerv. J. Environ. Sci. Health*, 32: 2585-2598.
- Adham K.G., Hassan I.F., Taha N. ve Amin T.H., 1999. Impact of Hazardous Exposure to Metals in the Nile and Delta Lakes on the Catfish, *Clarias lazera*. *Environ. Monitor. Assess.*, 54: 107-124.
- Adonaylo V.N. ve Oteiza P.I., 1999. Lead Intoxication: Antioxidant Defenses and Oxidative Damage in Rat Brain. *Toxicology*, 135: 77-85.
- Ahamed M. ve Siddiqui M.K.J., 2007. Low Level Lead Exposure and Oxidative Stress: Current Opinions. *Clinica Chimica Acta*, 383(1-2): 57-64.
- Ahmad I., Hamid T., Fatima M., Chand H.S., Jain S.K., Athar M. ve Raisuddin S., 2000. Induction of Hepatic Antioxidants in Freshwater Catfish (*Channa punctatus* Bloch) is a Biomarker of Paper Mill Effluent Exposure. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1523: 37-48.
- Ahmad I., Pacheco M. ve Santos M.A., 2004. Enzymatic and Nonenzymatic Antioxidants as an Adaptation to Phagocyte-induced Damage in *Anguilla anguilla* L. Following

in Situ Harbor Water Exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 57: 290-302.

Ahmad I., Oliveira M., Pacheco M. ve Santos M.A., 2005. *Anguilla anguilla* L. Oxidative Stress Biomarkers Responses to Copper Exposure with or without-naphthoflavone Pre-exposure. *Chemosphere*, 61: 267-275.

Alkahemal-Balawi H.F., Ahmad Z., Al-Akel A.S., Al-Misned F., Suliman E.A.M., Al-Ghanim K.A., 2011. Toxicity bioassay of lead acetate and effects of its sublethal exposure on growth, haematological parameters and reproduction in *Clarias gariepinus*. *African Journal of Biotechnology*, 10(53): 11039-11047.

Allen P., 1994. Accumulation Profiles of Lead and the Influence of Cadmium and Mercury in *Oreochromis aureus* During Chronic Exposure. *Toxicol. Environ. Chem.*, 44: 101-112.

Allien P., 1993. Effects of Acute Exposure to Cadmium (II) Chloride and Lead (II) Chloride on the Haematological Profile of *Oreochromis aureus*. *Comp. Biochem. and Physiol. C: Comp. Pharma.*, 105(2): 213-217.

Al-Attar A.M., 2007. The Influences of Nickel Exposure on Selected Physiological Parameters and Gill Structure in the Teleost Fish, *Oreochromis niloticus*. *Journal of Biological Sciences*, 7(1): 77-85.

Almeida J.A., Diniz Y.S., Marques S.F.G., Faine L.A., Ribas B.O., Burneiko R.C. ve Novelli E.L.B., 2002. The Use of the Oxidative Stres Responses as Biomarkers in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Exposed to in Vivo Cadmium Contamination. *Environment International*, 27: 673-679.

Aronson A.L., 1971. Biologic Effects of Lead in Fish. *J. Wash. Acad. Sci.*, 61: 124-128.

Atamanalp M., Aksakal E., Kocaman E.M., Uçar A., Şişman T., Türkez H., 2011. The Alterations in the Hematological Parameters of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*, Exposed to Cobalt Chloride. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 17: 73-76.

- Atlı G., 2009. Bakır, Çinko, Kadmiyum, Krom ve Gümüşün *Oreochromis Niloticus*'un Solungaç ve Böbrek Dokusundaki Na⁺/K⁺-ATPaz, Ca⁺²- ATPaz Ve Mg⁺²- ATPaz ile Kas Dokusundaki Ca⁺²- ATPaz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkileri (Doktora Tezi). Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, 222s.
- Atlı G. ve Canlı M., 2007. Enzymatic Responses to Metal Exposures in a Freshwater Fish *Oreochromis niloticus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 145: 282-287.
- Atlı G. ve Canlı M., 2011. Essential metal (Cu, Zn) Exposures Alter the Activity of ATPases in Gill, Kidney and Muscle of Tilapia *Oreochromis Niloticus*. *Ecotoxicology*, 20: 1861-1869.
- ATSDR, 2006. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, *CERCLA Priority List of Hazardous Substances*. Online: 05 October 2011 from <http://www.atsdr.cdc.gov/cercla/05list.html>.
- Avellini L., Spaterna A., Rebold G.P. ve Gaiti A., 1993. Defense Mechanism Against Free Radical-induced Damage in Sheep, Cattle and Dog Erythrocytes. *Comp.Biochem. Physiol., B*, 106: 391-394.
- Ay Ö., Kalay M. ve Canlı M., 1999. Copper and Lead Accumulation in Tissues of Freshwater Fish *Tilapia zillii* and Its Effects on the Branchial Na,K-ATPase Activity. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 62: 160-168.
- Balesteros M.L., Wunderlin D.A. ve Bistoni M.A., 2009. Oxidative Stress Responses in Different Organs of *Jenynsia Multidentata* Exposed to Endosulfan. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 199-205.
- Barth D., Berlin A., Engel R., Recht P. ve Smeets J., 1973. Environmental Health Aspects of Lead. *Proceedings International Symposium*. Comis. European Commun., Luxembourg, 1: 168 p.

- Bechara E.J.H., 2004. Lead Poisoning and Oxidative Stress. Institute of de Quimica, Universidade de Sao Paulo, Brazil. SFRR`s 12th Biennial Meeting Programme and Abstracts. *Free Radic. Biol. Med.*, 22 p.
- Bennani N., Alliana A.S. ve Lafaurite M., 1996. Immunotoxic Effects of Copper and Cadmium in the Sea Bass *Dicentrarchus Labrax*. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 18: 129- 144.
- Berglind R., Dave G. ve Sjobeck M.L., 1985. The Effects of Lead on Aminolevulinic Acid Dehydratase Activity, Growth, Hemoglobin Content and Reproduction in *Daphnia magna*. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 9: 216-229.
- Berman E., 1980. Lead in ‘*Toxic Metals and Their Analysis*’. Heyden and Son LTD., London, 177-132.
- Blaxhall P.C. ve Daisley K.W., 1973. Routine Haematological Methods for Use with Fish Blood. *Journal of Fish Biology*, 5: 771-781.
- Boggess W.R., 1977. *Lead in the Environment*. Natl. Sci. Found. 272 p. Avail. from U.S. Gov. Printing Office, Washington, D.C.
- Borgmann U., Kramar O. ve Loveridge C., 1978. Rates of Mortality, Growth and Biomass Production of *Lymnaea Palustris* During Chronic Exposure to Lead. *J. Fish. Res. Board Can.*, 35: 1109-1115.
- Bouskill J.N., Handy R.D., Ford E.T. ve Galloway S.T., 2005. Differentiating Copper and Arsenic Toxicity Using Biochemical Biomarkers in *Asellus aquaticus* and *Dressiena polymorpha*. *Ecotoxicol. Environ. Safe.*, 65(3): 342-349.
- Bradford M.M., 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Anal. Biochem.*, 72: 248-254.
- Bricknell I.R., Bowden T.J., Bruno D.W., Maclachlan P., Johntone R. ve Ellis A.E., 1999. Susceptibility of Atlantic Halibut, *Hippoglossus hippoglossus* to Infection with Typical and Atypical *Aeromonas salmonicida*. *Aquaculture*, 175: 1-13.

- Brown G.D. ve Netea M.G., 2007. *Immunology of Fungal Infections*. Springer, Netherlands. 492 p.
- Brown R.J., Galloway T.S., Lowe D., Browne M.A., Dissanayake A., Jones M.B. ve Depledge M.H., 2003. Differential Sensitivity of Three Marine Invertebrates to Copper Assessed Using Multiple Biomarkers. *Aquatic Toxicology*, 66: 267-278.
- Burtis C.A., Ashwood E.R. ve Tietz N.W., 1996. *Fundamentals of Clinical Chemistry*. Dallas, TX: Saunders; 49-58.
- Cadenas E., 1989. Biochemistry of Oxygen Toxicity. *Ann. Rev. Biochem.*, 58: 79-110.
- Camejo G., Wallin B., ve Enojärvi M., 1998. Analysis of Oxidation and Antioxidants Using Microtiter Plates. In Free Radical and Antioxidant Protocols. (ed. D. Armstrong), *Methods in Molecular Biology*, 108: 377-386.
- Campbell M.S., Kotlyar D.S., Brensinger C.M., Lewis C.D., Shetty K., Bloom R.D., Markmann C.F., Olthoff K.M., Shaked A. ve Reddy K.J., 2005. Renal Function After Orthotopic Liver Transplantation is Predicted by Duration of Pretransplantation Creatinine Elevation. *Liver Transplantation*, 11(9): 1048-1055.
- Canfield R.L., Henderson C.R.J., Cory-Slechta D.A., Cox C., Jusko T.A. ve Lanphear B.P., 2003. Intellectual Impairment in Children with Blood Lead Concentrations Below 10 Microgram per Deciliter. *N. Eng. J. Med.*, 348: 1517-1526.
- Canlı M. ve Stagg R.M., 1996. The Effects of *in Vivo* Exposure to Cadmium, Copper and Zinc on the Activities of Gill ATPases in the Norway Lobster *Nephrops norvegicus*. *Archive of Environmental Contamination and Toxicology*, 31: 491-501.
- Canlı M., Stagg R.M. ve Rodger G., 1997. The Induction of Metallothionein in Tissues Of The Norway Lobster *Nephrops norvegicus* Following Exposure to Cadmium, Copper and Zinc: The Relationships Between Metallothionein and the Metals. *Environmental Pollution*, 96(3): 343-350.

- CDC, 1991. Centre for Disease Control and Prevention. Preventing Lead Poisoning in Young Children. A Statement by the CDC. Atlanta GA: US Dept. Of Health and Human Services.
- Chen C.Y., Wooster G.A., Getchell R.G., Bowser P.R. ve Timmons M.B., 2003. Blood Chemistry of Healthy, Nephrocalcinosis-affected and Ozone-treated Tilapia in a Recirculation System with Application of Discriminant Analysis. *Aquaculture*, 218: 89-102.
- Chen H. ve Tappel A.L., 1994. Protection of Vitamin E, Selenium, Trolox C, Ascorbic Acid Palmitate, Acetylcysteine, Coenzyme Q₀, Coenzyme Q₁₀, Beta-carotene, Canthaxanthin and (+) -Catechin Against Oxidative Damage to Rat Blood and Tissues in Vivo. *Free Radical Biology and Medicine*, 18(5): 949-953.
- Chiodo L.M., Jacobson S.W. ve Jacobson J.L., 2004. Neurodevelopmental Effects of Postnatal Lead Exposure at Very Low Levels. *Neurotoxicol Teratol*, 26: 359-371.
- Christie N.T. ve Costa M., 1984. *In Vitro* Assessment of the Toxicity of Metal Compounds. IV. Disposition of Metals in Cells: Interaction With Membranes, Glutathione, Metallothionein and DNA. *Biol. Trace. Elem. Res.*, 6: 139-158.
- Cicik B., 2003. The Effects of Copper-Zinc Interaction on the Accumulation of Metals in Liver, Gill and Muscle Tissues of Common Carp (*Cyprinus carpio* L.). *Ekoloji*, 12 (48): 32-36.
- Coimbra A.M., Fernandes A.F. ve Henriques M.A.R., 2007. Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Liver Morphology, CYP1A Activity and Thyroid Hormones After Endosulfan Dietary Exposure. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 89(3): 230-236.
- Collins M.F., Hrdina P.D., Whittle E. ve Singhal R.L., 1982. Lead in Blood and Brain Regions of Rats Chronically Exposed to Low Doses of the Metal. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 65: 314-322.
- Conroy D.A., 1972. Studies on the Haematology of the Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Symp. Zool. Soc. Lond.*, 30: 101-127.

- Coughlan D.J., Gloss S.P. ve Kubota J., 1986. Acute and Sub-chronic Toxicity of Lead to the Early Life Stages of Smallmouth Bass (*Micropterus dolomieu*). *Water, Air, Soil Pollut.*, 28: 265-275.
- Cowey C.B., Knox D., Adron J.W., George S. ve Pirie B., 1977. The Production of Renal Calcinosis by Magnesium Deficiency in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). *Br. J. Nutr.*, 38: 127-135.
- Czech D.A. ve Hoiium E., 1984. Some Aspects of Feeding and Locomotor Activity in Adult Rats Exposed to Tetraethyl Lead. *Neurobehav. Toxicol. Teratology*, 6: 357-361.
- Çapkın E., Altınok I. ve Karahan S., 2005. Water Quality and Fish Size Affect Toxicity of Endosulfan, an Organochlorine Pesticide to Rainbow Trout. *Chemosphere*, 64(10): 1793-800.
- Çaylak E., 2006. Kurşun Asetat ile Oksidatif Stres Oluşturulmuş Sıçanların Çeşitli Dokuları Üzerine Bazı Kükürlü Bileşiklerin Antioksidatif Etkisinin İncelenmesi (Doktora Tezi). Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya ve Klinik Biyokimya Anabilim Dalı. 113s.
- Çoğun H.Y., 2008. *Oreochromis Niloticus* ve *Cyprinus Carpio* da Bakır ve Kurşun Birikiminin Solungaç, Kas, Karaciğer, Böbrek Ve Kan Dokularındaki İyon Dağılımı Üzerine Etkisi (Doktora Tezi). Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı.189s.
- Dhanapakiam P. ve Ramasamy V.K., 2001. Toxic Effects of Copper and Zinc Mixtures on Some Haematological and Biochemical Parameters in Common Carp, *Cyprinus carpio*. *J. Environ. Biol.*, 22(2): 105-111.
- Dai W., Du H., Fu L., Jin C., Xu Z. ve Liu H., 2008. Effects of Dietary Pb on Accumulation, Histopathology and Digestive Enzyme Activities in the Digestive System of Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Biological Trace Element Research*, 127(2): 124-131.

- Dange D.A., 1986. Changes in Carbohydrate Metabolism in Tilapia, *Oreochromis (Sarotherodon) mossambicus*, During Short-term Exposure to Different Types of Pollutants Environmental Pollution Series A. *Ecological and Biological*, 41(2): 165-177.
- Dautremepuits C., Palacios S.P., Betoulle S. ve Vernet G., 2004. Modulation in Hepatic and Head Kidney Parameters of Carp (*Cyprinus carpio* L.) Induced by Copper and Chitosan. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 137(4): 325-333.
- Davies P.H., Goettl Jr. J.P., Sinley J.R. ve Smith N.F., 1976. Acute and Chronic Toxicity of Lead to Rainbow Trout *Salmo gairdneri*, in Hard and Soft Water. *Water Res.*, 10: 199-206.
- De Michele S.J., 1984. Nutrition of Lead. *Comp. Biochem. Physiol.*, 78: 401-408.
- De La Torre F.R., Salibian A. ve Ferrari L., 2000. Biomarkers Assessment in Juvenile *Cyprinus carpio* Exposed to Waterborne Cadmium. *Environmental Pollution*, 109: 277-282.
- De La Torre F.R., Salibian A. ve Ferrari L., 2005. Biomarkers of a Native Fish Species (*Cnesterodon decemmaculatus*) Application to the Water Toxicity Assessment of a Peri-urban Polluted River of Argentina. *Chemosphere*, 59(4): 577-583.
- De La Torre F.R., Salibian A. ve Ferrari L., 2007. Assessment of the Pollution Impact on Biomarkers of Effect of a Freshwater Fish. *Chemosphere*, 68: 1582-1590.
- Dellali M., Barelli M.G., Romeo M. ve Aissa P., 2001. The Use of Acetylcholinesterase Activity in *Ruditapes decussatus* and *Mytilus galloprovincialis* in the Biomonitoring of Bizerta Lagoon. *Comparative Biochemistry and Physiology, C*, 130: 227-235.
- Demayo A., Taylor M.C., Taylor K.W. ve Hodson P.V., 1982. Toxic Effects of Lead and Lead Compounds on Human Health, Aquatic Life, Wildlife Plants and Livestock. *CRC Crit. Rev. Environ. Control*, 12: 257-305.

- Dethloff G.M., Schlenk D., Hamm J. ve Bailey H.C., 1999. Alterations in Physiological Parameters of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) with Exposure to Copper and Copper/Zinc Mixtures. *Ecotoxicol. Environ. Safe.*, 42: 256-264.
- Diaz M., Cozzi S., Almansa E., Casariego M., Bolanos A., Cejas J. ve Lorenzo A., 1998. Characterization of Intestinal Na⁺-K⁺-ATPase in the Gilthead Seabream (*Sparus aurata*). Evidence for a Tissue-Specific Heterogeneity. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 121: 65-76.
- Diker K.S., 2005. *İmmunoloji* (2. Baskı), Medisan, Ankara. 304 s.
- Djordjevic V.B., 2004. Free Radicals in Cell Biology. *Internal Review of Cytology*, 237: 57-89.
- Douhri H. ve Sayah F., 2008. The Use of Enzymatic Biomarkers in Two Marine Invertebrates *Nereis Diversicolor* and *Patella Vulgata* for the Biomonitoring of Tangier's Bay (Morocco). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 394-399.
- Duthie G.G. ve Tort L., 1985. Effects of Dorsal Aortic Cannulation on the Respiration and Haematology of Mediterranean Living *Scyliorhinus canicula* L. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 81(4): 879-883.
- Dündar Y. ve Aslan R., 2005. Yaşamı Kuşatan Ağır Metal Kurşunun Etkileri. *Kocatepe Tıp Dergisi* 6: 1-5.
- Eisenreich S.J., Metzger N.A., Urban N.R. ve Robbins J.A., 1986. Response of Atmospheric Lead to Decreased Use of Lead in Gasoline. *Environ. Sci. Technol.*, 20: 171-174.
- Eisler R., 1977. Toxicity Evaluation of A Complex Metal Mixture to the Softshell Clam *Mya arenaria*. *Mar. Biol.*, 43: 265-276.
- Eisler R., 1981. Trace Metal Concentrations in Marine Organisms. Pergamon Press, New York, 687 p.

- Eisler R., 1984. Trace Metal Changes Associated with Age of Marine Vertebrates. *Biol. Trace Elem. Res.*, 6: 165-180.
- Eisler R., 1988. Lead Hazards to Fish, Wildlife, and Invertebrates: A Synoptic Review. *U.S. Fish Wildlife Service Biology Report*, 85: 1-14.
- El-Ashmawy I.M., Ashry K.M., El-Nahas A.F. ve Salama O.M., 2006. Protection by Turmeric and Myrrh Against Liver Oxidative Damage and Genotoxicity Induced by Lead Acetate in Mice. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.*, 98: 32-37.
- Elia A.C., Galarini R., Taticchi M.I., Dorr A.J.M. ve Mantilacci L., 2003. Antioxidant Responses and Bioaccumulation in *Ictalurus melas* Under Mercuryexposure. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 55: 162-167.
- Ellis A.E., 1990. Lysozyme assays. In: Stolen, J.S., Fletcher T.C., Anderson D.P., Roberson B.S., Van Muiswinkel, W.B., Eds. *Techniques in Fish Immunology*. NJ: SOS Publications. 101-103.
- Ellsaesser C.T. ve Clem L.W., 1987. Blood Serum Chemistry Measurements of Normal and Actely Stressed Channel Catfish. *Comp. Biochem. Physiol.*, A, 3: 589-594.
- El- Demerdash F.M., 2004. Antioxidant Effect of Vitamin E and Selenium on Lipid Peroxidation, Enzyme Activities and Biochemical Parameters in Rats Exposed to Aluminium. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 18: 113-121.
- EPA, 1979. The Health and Environmental Impacts of Lead and an Assessment of a Need for Limitations. U.S. Environ. Protection Agency Rep., 494 p.
- EPA, 1980. Ambient Water Quality Criteria for Lead. U.S. Environ. Protection Agency Rep. 151 p. Avail. from Natl. Tech. Infor. Serv., 5285 Port Royal Road, Springfield, Virginia.
- EPA, 1985. Ambient Water Quality Criteria for Lead - 1984. U.S. Environ. Protection Agency Rep. 81 p. Avail. from Natl. Tech. Infor. Serv., 5285 Port Royal Road, Springfield, Virginia.

- Ercal N., Treeratphan P., Lutz P.M., Hammond T.C. ve Matthews R.H., 1996. N-acetylcysteine Protects Chinese Hamster Ovary (CHO) Cells From Lead Induced Oxidative stress. *Toxicology*, 108: 57-64.
- European Commission., 1998. Council Directive (98/83/EC) of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption. Official Journal, L330/32, 5 December 1998.
- Evans D.H., 1980. Kinetic Studies of Ion Transport by Fish Gill Epithelium. *Amer. J. Physiol.*, 238: 224-230.
- Fantin A.M.B., Franchini A., Ottaviani E. ve Benedetti L., 1985. Effect of Pollution on Some Freshwater Species. II. Bioaccumulation and Toxic Effects of Experimental Lead Pollution on the Ganglia in *Viviparus ater* (Mollusca, Gastropoda). *Basic Appl. Histochem.*, 29: 377-387.
- Federici G., Shaw B. ve Handy R.D., 2007. Toxicity of Titanium Dioxide Nanoparticles to Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*): Gill Injury, Oxidative Stress and Other Physiological Effects. *Aquatic Toxicology*, 84: 415-430.
- Fırat Ö., 2007. *Oreochromis niloticus*'ta Metal (Zn, Cd) ve Metal Karışımının (Zn+Cd) Kan Dokusunda Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi (Doktora Tezi). Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Adana, 274s.
- Fırat Ö., Coğun Y.H., Aslanyavrusu S. ve Kargın F., 2009. Antioxidant Responses and Metal Accumulation in Tissues of Nil Tilapia *Oreochromis niloticus* under Zn, Cd and Zn+Cd Exposures. *Journal of Applied Toxicology*, 29: 295-301.
- Fırat Ö. ve Kargın F., 2010. Response of *Cyprinus carpio* to Copper Exposure: Alterations in Reduced Glutathione, Catalase and Proteins Electrophoretic Patterns. *Fish Physiol. Biochem.*, 36: 1021-1028.
- Flegel A.R., 1985. Lead in a Pelagic Food Chain. Pages 83-90 in J. Salanki (ed.). Heavy Metals in Water Organisms. *Symposia Biologica Hungarica*, 29: 313-322. Akademiai Kiado, Budapest, Hungary.

- Flik G., Van Der Velden J.A., Dechering K.J., Verbost P.M., Schoenmakers T.J.M., Kolar Z.I. ve Wendelaar Bonga S.E., 1993. Ca²⁺ and Mg²⁺ Transport in Gills and Gut of Tilapia, *Oreochromis mossambicus*, a Review. *The Journal of Experimental Zoology*, 265: 356-365.
- Floyd R.A., 1999. Antioxidants, oxidative stress and degenerative neurological disorders, *Experimental Biology and Medicine*, 222: 236- 245.
- Fraser J., 1980. Acclimation to Lead in the Freshwater Isopod *Asellus aquaticus*. *Oecologia*, 45: 419-420.
- Garcia-Santos S., Fontainhas-Fernandes A. ve Wilson J.M., 2006. Cadmium Tolerance in the Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Following Acute Exposure: Assessment of Some Ionoregulatory Parameters. *Environment Toxicology*, 21(1): 33-46.
- Garcia L.C., Minghetti M., Navarro I. ve Tocher D.R., 2009. Molecular Cloning, Tissue Expression and Regulation of Liver X Receptor (LXR) Transcription Factors of Atlantic salmon (*Salmo salar*) and Rainbow Trout (*Oncorhynch mykissus*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 153: 81-88.
- Gerber G.B., Maes J., Gilliavod N. ve Casale G., 1978. Brain Biochemistry of Infants and Rats Exposed to Lead. *Toxicol. Lett.*, 2: 51-63.
- Griffith O.W., 1999. Biologic and Pharmacologic Regulation of Mammalian Glutathione Synthesis. *Free Radical Biology and Medicine*, 27: 922-935.
- Gluszczak L., Miron D.D.S., Moraes B.S., Simões R.R., Schetinger M.R.C., Vânia V.M. ve Loro L., 2007. Acute Effects of Glyphosate Herbicide on Metabolic and Enzymatic Parameters of Silver Catfish (*Rhamdia quelen*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 146: 519-524.
- Gould E. ve Greig R.A., 1983. Short-term Low-salinity Response in Lead-Exposed Lobsters, *Homarus americanus* (Milne Edwards). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 69: 283-295.

- Goyer R.A. ve Clarkson T.W., 2001. *Toxic Effects of Metals*. In: Klaassen, C.D. (Ed.), Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons. McGraw-Hill, New York.
- Gözükara E., 2001. *Biyokimya*. Nobel Yayınevi. Cilt 1: 709-712.
- Grosell M., Mc Donald M.D., Walsh P.J ve Wood C.M., 2004. Effects of Prolonged Copper Exposure in the Marine Gulf Toadfish (*Opsanus beta*) II: Copper Accumulation, Drinking Rate and Na⁺/K⁺-ATPase Activity in Osmoregulatory Tissues. *Aquatic Toxicology*, 68(3): 263-275.
- Gül Ş., Kurutaş E.B., Yıldız E., Şahan A. ve Doran F., 2004. Pollution Correlation Modifications of Liver Antioksidant Systems and Histopatology of Fish (Cyprinidae) Living in Seyhan Dam Lake, Turkey. *Environment International*, 30: 605-609.
- Gürer H. ve Ercal N., 2000. Can Antioxidants Be Beneficial in the Treatment of Lead Poisoning? *Free Radical Biology and Medicine*, 29(10): 927-945.
- Haux C. ve Larsson A., 1979. Effects of DDT on Blood Plasma Electrolytes in the Flounder *Platichthys flesus* (L). in Hypotonic Brackish Water. *Ambio*, 8(4): 171-173.
- Halliwell B. ve Gutteridge J.M.C., 1990. Role of Free Radicals and Catalytic Metal Ions in Human Disease : An Overview. *Methods in Enzymology*, 186: 1-85.
- Halliwell B. ve Gutteridge J.M.C., 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, Inc., New York, USA. 3: 936p.
- Halliwell B., 1999. Antioxidant Defence Mechanisms: From the Beginning to the End (of the Beginning). *Free Radical Research*, 31(4): 261-272.
- Hamed R.R., Farid N.M., Elowa S.H.E. ve Abdalla A.M., 2003. Glutathione Related Enzyme Levels of Freshwater Fish as Bioindicators of Pollution. *The Environmentalist*, 23: 313-322.

- Handin R.I., Lux S.E., Stossel T.P., 2003. *Blood : Principles and Practice of Hematology*, Philadelphia, Pa., Lippincott Williams and Wilkins, (2nd ed.), 2304 p.
- Handy R.D., Eddy F.B. ve Baines H., 2002. Sodium-Dependent Copper Uptake Across Epithelia: A Review of Rationale with Experimental Evidence from Gill and Intestine. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1566: 104-115.
- Hardwick L.L., Jones M.R., Buddington R.K., Clemons R.A. ve Lee D.B.N., 1990. Comparison of Calcium and Magnesium Absorption: *In Vivo* and *in Vitro* Studies. *Am. J. Physiol.*, 259: 720-726.
- Harrison R.M. ve Laxen D.P.H., 1981. *Lead Pollution. Causes and Control*. Chapman and Hall, New York, 168 p.
- Haux C., Larsson A., Lithner G. ve Sjobeck M.L., 1986. A Field Study of Physiological Effects on Fish in Lead-contaminated Lakes. *Environ.Toxicol. Chem.*, 5: 283-288.
- Heath A.G., 1987. *Water Pollution and Fish Physiology*. CRC pres., Florida, USA, 245 p.
- Herzog V. ve Fahimi H.D., 1973. A New Sensitive Colorometric Assay for Peroxidase Using 3'3 diaminobenzidine as Hydrojen Donor. *Analytical Chemistry*, 52(2); 554-562.
- Hinton D.E., 1993. Toxicologic Histopathology of Fishes: A Systemic Approach and Overview. In: *Pathobiology of Marine and Estuarine Organisms*, Couch J.A. ve Fournie J.W., Eds. CRC Press: Boca Raton, 177-216.
- Hirosumi J., Ouchi Y., Watanabe M., Kusunoki J. Nakamura T., Orimo H., 1988. Effect of Superoxide and Lipid Peroxide on Cytosolic Free Calcium Concentration in Cultured Pig Aortic Endothelial Cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 152(1): 301-307.
- Hodson P.V., 1976. Delta-amino Levulinic Acid Dehydratase Activity of Fish Blood as an Indicator of a Harmful Exposure to Lead. *J. Fish. Res. Board Can.*, 33: 268-271.

- Hodson P.V., Blunt B.R., Spry D.J. ve Austen K., 1977. Evaluation of Erythrocyte -amino Levulinic Acid Dehydratase Activity as a Short-term Indicator in Fish of a Harmful Exposure to Lead. *J. Fish. Res. Board Can.*, 34: 501-508.
- Hodson. P.V., Blunt B.R. ve Spry D.J., 1978. Chronic Toxicity of Waterborne and Dietary Lead to Rainbow Trout (*Salmon gairdneri*) in Lake Ontario. *Water Res.*, 12: 869-878.
- Hodson P.V., Hilton J.W., Blunt B.R. ve Slinger S.J., 1980. Effects of Dietary Ascorbic Acid on Chronic Lead Toxicity to Young Rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 37: 170-176.
- Hodson P.V., Dixon D.G., Spry D.J., Whittle D.M. ve Sprague J.B., 1982. Effect of Growth Rate and Size of Fish on Rate of Intoxication by Waterborne Lead. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 39: 1243-1251.
- Hodson P.V. ve Spry D.J., 1985. Effect of Sulfite Dechlorination on the Accumulation of Waterborne Lead by Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 42: 841-844.
- Holcombe G.W., Benoit D.A., Leonard E.N. ve McKim J.M., 1976. Long-term Effects of Lead Exposure on Three Generations of Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*). *J. Fish. Res. Board Can.*, 33: 1731-1741.
- Hoyle I., Shaw B.J ve Handy R.D., 2007. Dietary Copper Exposure in the African Walking Catfish, *Clarias gariepinus*: Transient Osmoregulatory Disturbances and Oxidative Stress. *Aquatic Toxicology*, 83: 62-72.
- <http://en.wikipedia.org/wiki/Na%2B/K%2B-ATPase>. Online: 20.08.2011.
- Hsu J.M., 1981. Lead Toxicity as Related to Glutathione Metabolism. *J. Nutr.*, 111: 26-33.
- Hunaiti A., Soud M.ve Khalil A., 1995. Lead Concentration and the Level of Glutathione, Glutathione Stransferase, Reductase and Peroxidase in the Blood of Some Occupational Workers From Irbid City, Jordan. *Sci. Total Environ.*, 170: 95-100.

- Irmer U., Wachholz I., Schafer H. ve Lorch D.W., 1986. Influence of Lead on *Chlamydomonas reinhardtii* Danegard (Volvocales, Chlorophyta): Accumulation, Toxicity and Ultrastructural Changes. *Environ. Exper.*, 26: 97-105.
- Işık İ., 2007. Bazı Zirai Mücadele İlaçlarının Balıkların Solungaç Karaciğer ve Kas Dokularındaki Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Glutatyon ve Lipid Peroksidasyon Seviyeleri Üzerine Etkileri (Yüksek Lisans Tezi). Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van, Türkiye.
- Iwanowicz L.R., Blazer V.S., McCormick S.D., Vanveld P.A. ve Ottinger C.A., 2009. Aroclor 1248 Exposure Leads to Immunomodulation, Decreased Disease Resistance and Endocrine Disruption in the Brown Bullhead, *Ameiurus nebulosus*. *Aquatic Toxicology*, 93(1): 70-82.
- Janicki R.H. ve Kinter W.B., 1971. DDT Inhibits Na⁺, K⁺, Mg⁺²-ATPase in the Intestinal Mucosae and Gills of Marine Teleost. *Nature*, 233: 148-149.
- Jenkins D.W., 1980. Biological Monitoring of Trace Metals. Toxic Trace Metals in Plants and Animals of the World. Part II. U.S. *Environ. Protection Agency Rep.*, 2: 619-778.
- Johansen J.S., Harris A.K., Rychly D.J. ve Ergül A., 2005. Oxidative Stress and the Use of Antioxidants in Diabetes: Linking basic Science to Clinical Practice. *Cardiovascular Diabetology*, 4(1): 5.
- Johanson-Sjoberck M.L. ve Larsson A., 1978. The Effects of Cadmium on the Hematology and on the Activity of Delta-Aminolevulinic Acid Dehydratase (ALA-D) in Blood and Hematopoietic Tissues of the Flounder *Pleuronectes flesus*. *Environ. Res.*, 17: 1991-2004.
- Johansson-Sjoberck M.L. ve Larsson A., 1979. Effects of Inorganic Lead on Delta-aminolevulinic Acid dehydratase Activity and Hematological Variables in the Rainbow Trout *Salmo gairdneri*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 8: 419-431.
- Kahvecioğlu Ö., Kartal G., Güven A. ve Tim S., 2006. Metallerin Çevresel Etkileri. İTÜ Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, Türkiye.12s.

- Kaya E., 2005. Klorprifos ve Deltamethrin'in Kan ve Beyi Lipid Peroksidasyon ve Antioksidan Enzim Aktivitelerine Etkileri (Yüksek Lisans Tezi). Süleyman Demirel Üniversitesi Kimya Anabilim Dalı, 77s.
- Kayne L.H. ve Lee D.B.N., 1993. Intestinal Magnesium Absorption. *Miner Electrolyte Metab.*, 19: 210-217.
- Kinter W.B. ve Pritchard J.B., 1977. Altered Permeability of Cell Membranes. *In Handbook of Physiology*, Section 9, Reactions to Environmental Agents (S. R. Geiger, ed.). 563-576. Waverly Press. Baltimore.
- Klassen C.D., Amdur M.O. ve Doull J., 1986. *Toxicology* (3th Ed). Macmillan Publishing Company, Newyork, USA.
- Klebanoff S.J., 1968. Myeloperoxidase-Halide-Hydrogen Peroxide Antibacterial System. *Journal of Bacteriology*, 95(6): 2131-2138.
- Kobayashi N., 1971. Fertilized Sea Urchin Eggs as an Indicatory Material for Marine Pollution Bioassay, Preliminary Experiments. *Publ. Seto Mar. Biol. Lab.*, 18: 379-406.
- Kumar S. ve Pant S.C., 1984. Comparative Effects of the Sublethal Poisoning of Zinc, Copper and Lead on the Gonads of the Teleost *Puntius Conchonus*. *Ham. Toxicol. Lett.*, 23: 189-194.
- Kuşatan Z., 2004. *Clarias lazera* (Valenciennes, 1840)'nın Çeşitli Dokularındaki Kadmiyum Birikiminin Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkileri (Yüksek Lisans Tezi). Mersin Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Mersin, Türkiye. 55s.
- Lall S.P., 2002. The Minerals. In: Halver J.E., Hardy R.W., Eds. *Fish Nutrition* (3rd ed.) Academic Press. 260-309.
- Larson A., Haux C. ve Sjöbeck M.L., 1985. Fish Physiology and Metal Pollution: Results and Experiences from Laboratory and Field Studies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 9: 250-281.

- Langston W.J., 1990. Toxic Effects of Metals and the Incidence of Marine Ecosystems In: Heavy Metals in the Marine Environment (eds: Furness RW, Rainbow PS). CRC Press, New York. 256p.
- Lauren D.J. ve McDonald D.G., 1987. Acclimation to Copper by Rainbow Trout, *Salmo gairdneri*: Biochemistry. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 44: 105-111.
- Laurence A., Chowdary P. ve Ancliff P., 2006. Disorders of Granulopoiesis and Granulocyte Function. In: Arceci, R.J., Hann, I.M., Smith, O.P., Ed. Pediatric Hematology (3rd Ed.). *Blackwell Publishing*, Massachusetts. 305-339.
- Laxmiprya P.N. ve Gupta S., 2006. Simultaneous Effect of Lead and Cadmium on Granulosa Cells: A Cellular Model for Ovarian Toxicity. *Reproductive Toxicology*, 21(2): 179-185.
- Levesque H.M., Moon T.W., Campbell G.C. ve Hontela A., 2002. Seasonal Variation in Carbohydrate and Lipid Metabolism of Yellow Perch (*Perca flavescens*) Chronically Exposed to Metals in the Field. *Aquat. Toxicol.*, 60: 257-267.
- Lewis S.M., Bain B.J. ve Bates I., 2006. *Dacie and Lewis Practical Haematology* (10th edition). Churchill Livingstone Elsevier, Philadelphia. 736p.
- Lim C., Klesius P.H. ve Shoemaker C.A., 2001. Dietary Iron and Fish Health. In: Lim C., Wester C.D., Eds. *Nutrition and Fish Health*. Food Products Press. 189-200.
- Lima P.L., Benassi J.C., Pedrosa R.C., Dal Magro J., Oliveira T.B. ve Wilhelm Filho D., 2006. Time-course Variations of DNA Damage and Biomarkers of Oxidative Stress in Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Exposed to Effluents From a Swine Industry. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 50: 23-30.
- Linde A.R., Sanchez-Galan S., Klein D., Garcia-Vazquez E. ve Summer K. H., 1999. Metallothionein and Heavy Metals in Brown Trout (*Salmo trutta*) and European Eel (*Anguilla anguilla*): A Comparative Study. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 44: 168-173.

- Logan M., 2010. *Biostatistical design and analysis using r : a practical guide*. Wiley-Blackwell, London. 546p.
- Lushchak V.I., 2011. Environmentally Induced Oxidative Stress in Aaquatic Animals. *Aquat. Toxicol.*, 101: 13-30.
- MacKenzie W.M. ve Perry S.F., 1997. Branchial and Renal Calcium Fluxes in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) During Metabolic Alkalosis. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 118: 637-645.
- Maddock B.G. ve Taylor D., 1980. The Acute Toxicity and Bioaccumulation of Some Lead Alkyl Compounds in Marine Animals. *Lead in the Marine Environment*, 233-261.
- Mallat J., 1985. Fish Gill Structural Changes Induced by Toxicants and Other Irritants: A Statistical Review. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 42: 630-648.
- Marshall W., 2002. Na, Cl, Ca² and Zn² Transport by Fish Gills: Retrospective Feview and Prospective Synthesis. *J. Exp. Biol.*, 293: 264-283.
- Martinez C.B.R., Nage M.Y., Zaia C.T.B.V. ve Zaia D.A.M., 2004. Acute Morphological and Physiological Effects of Lead in the Neotropicalfish *Prochilodus lineatus*. *Braz. J. Biol.*, 64(4): 797-807.
- May T.W. ve McKinney G.L., 1981. Cadmium, Lead, Mercury, Arsenic, and Selenium Concentrations in Freshwater Fish, 1976-77 *National Pesticide Monitoring Program*. *Pestic. Monitor. J.*, 15: 14-38.
- Mazon A.F., Monteiro E.A.S., Pinheiro G.H.D. ve Fernandes M.N., 2002. Hematological and Physiological Changes Induced by Short-term Exposure to Copper in the Freshwater Fish, *Prochilodus scrofa*. *Braz. J. Biol.*, 62(4A): 621-631.
- Mc Cord J.M. ve Fridovich I., 1969. Superoxide Dismutase: An Enzymatic Function For Erythrocyuprein (Hemocuprein). *J. Biol. Chem.*, 24: 6049–6055.

- Mc Donald A., Silk L., Schwartz M. ve Playle R.C., 2002. A Lead- Gill Binding Model to Predict Acute Lead Toxicity to Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp. Biochem. Physiol, C*. 133: 227-242.
- Mc Donald M.D. ve Grosell M., 2006. *Maintaining Osmotic Balance with an Agglomerular Kidney*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 14: 447-458.
- Meister A. ve Anderson M.E., 1983. Glutathione. *Ann Rev Biochem.*, 52: 11-760.
- Monteiro H.P., Abdalla D.S., Augusto O. ve Bechara E.J., 1989. Free Radical Generation During Delta-aminolevulinic Acid autoxidation: Induction by Hemoglobin and Connections with Porphyrinopathies. *Arch. Biochem. Biophys.*, 271: 206-216.
- Monteiro V., Cavalcante D.G.S.M., Vilela M.B.F.A., Sofiab S.H. ve Martineza C.B.R., 2011. In Vivo and in Vitro Exposures for the Evaluation of the Genotoxic Effects of Lead on the Neotropical Freshwater Fish. *Prochilodus Lineatus Aquatic Toxicology*. 104: 291- 298.
- Morgan I.J., Henry R.P. ve Wood C.M., 1997. The Mechanism of Acute Silver Nitrate Toxicity in Freshwater Fish Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) is Inhibition of Gill Na⁺ and Cl⁻ Transport. *Aquat Toxicol.*, 38: 145-163.
- Nevşat İ.E., 1995. Cyprinus Carpio'nun Karaciğer, Solungaç ve Kas Dokularındaki Kurşun Birikimleri Üzerine Ortam Değişimi ve Sürenin Etkisi (Yüksek Lisans Tezi). Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı. 33s.
- NRCC., 1973. Lead in the Canadian Environment. Natl. Res. Coun. Canada Publ. BY73-7 (ES). 116 p. Avail. from Publications, NRCC/CNRC, Ottawa, Canada.
- Nriagu J.O., (ed.). 1978a. *The biogeochemistry of lead in the environment*. Part A. Ecological cycles. Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam. 422 p.
- Nriagu J.O., (ed.). 1978b. *The Biogeochemistry of Lead in the Environment*. Part B. Biological Effects. Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam. 397 p.

- Nussey G., Van Vuren J.H.J. ve Du Preez H.H., 1995. Effect of Copper on the Haematology and Osmoregulation of the Mozambique Tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae). *Comp. Biochem. Physiol. C: Comp. Pharma. and Toxicol.*, 111(3): 369-380.
- Oropesa J.P., Garcí'a-Camberso L., Go'mez V. ve Roncero F.S., 2008. Effect of Long-term Exposure to Simazine on Histopathology, Hematological and Biochemical Parameters in *Cyprinus carpio*. *Environmental Toxicology*, 24(2): 187-199.
- Oruç E.Ö. ve Üner N., 2002. Marker Enzyme Assesment in the Liver of *Cyprinus carpio* (L.) Exposed to 2,4-D and Azinphosmethyl. *J. Biochem Molecular Toxicology*, 16: 182-188.
- Oruç E.Ö. ve Usta D., 2006. Evaluation of Oxidative Stress Responses and Neurotoxicity Potential of Diazinon in Different Tissues of *Cyprinus carpio*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 23: 48-55.
- Osserman E.F. ve Lawlor D.P., 1966. Serum and Urinary Lysozyme (Muramidase) in Monocytes and Monomyelocytic Leukemia. *Journal of Experimental Medicine*, 124: 921-952.
- Owens C.W.I. ve Belcher R.V., 1965. A Colorometric Micro-Method for Determination of Glutathione. *Biochem. J.*, 94: 705-711.
- Ozoh P.T.E., 1980. Effect of Lead on Pigment Pattern Formation in Zebrafish (*Brachydanio rerio*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 24: 276-282.
- Öner M., Atlı G. ve Canlı M., 2008. Changes in Serum Biochemical Parameters of Freshwater Fish *Oreochromis niloticus* Following Prolonged Metal (Ag, Cd, Cr, Cu, Zn) Exposures. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27: 360-366.
- Özmen M., Ayas Z., Güngördü A., Ekmekçi F.G. ve Yerli S., 2007. Ecotoxicological Assessment of Water Pollution in Sariyar Dam Lake, Turkey. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 70: 163-173.

- Patrick L., 2006. Lead Toxicity Part II: The Role of Free Radical Damage and the Use of Antioxidants in the Pathology and Treatment of Lead Toxicity. *Alternative Medicine Review* u, 11(2): 1-14.
- Pena S., Pena J.B., Rios C., Sancho E., Fernandez C. ve Ferrando M.D., 2000. Role of Glutathione in Thiobencarb Resistance in the European Eel *Anguilla anguilla*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 46: 51-56.
- Petronijevic N.D., Micic D.V., Duricic B., Marinkovic D., Paunovic V.R., 2003. Substrate kinetics of erythrocyte membrane $\text{Na}^+, \text{K}^+/\text{ATPase}$ and lipidperoxides in schizophreina. *Progress in Neuro-Psychopharmacology&Biological Psychiatry*, 27: 431-440.
- Pillai A. ve Gupta S., 2005. Effect of Gestational and Lactational Exposure to Lead and/or Cadmium on Reproductive Performance and Hepatic Oestradiol Metabolizing Enzymes. *Toxicol. Lett.*, 155: 179-186.
- Porter N.A., 1984. Chemistry of Lipid Peroxidation. *Methods in Enzmology*, 105: 273-283.
- Prusty A.K., Kohli M.P.S., Sahu N.P., Pal A.K., Saharan N., Mohapatra S., Gupta S.K., 2011. Effect of short term exposure of fenvalerate on biochemical and haematological responses in *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 100 : 124–129.
- Rahman M.F., Siddiqui M.K. ve Jamil K., 2000. Acid and Alkaline Phosphatase Activities in a Novel Phosphorothionate (RPR-11) Treated Male and Female Rats. Evidence of Dose and Time-dependent Response. *Drug. Chem. Toxicol.*, 23: 497-509.
- Rai R. ve Qayyum M.A., 1984. Haematological Responses in a Freshwater Fish to Lead Poisoning. *J. Environ. Biol.*, 5: 53-56.
- Reddy P.M. ve Bashamoiden M.D., 1989. Fenvalerate and Cypermethrin Induced Changes in the Haematological Parameters of *Cyrinus carpio*. *Acta. Hydrochim. Hydrobiol.*, 17: 101-107.

- Reichert W.L., Federighi D.A. ve Malins D.C., 1979. Uptake and Metabolism of Lead and Cadmium in Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 63: 229-234.
- Reish D.J. ve Gerlinger T.V., 1964. The Effects of Cadmium, Lead, and Zinc on Survival and Reproduction in the Polychaetous Annelid *Neanthes Arenaceodentata* (*F. Nereididae*), 383-389 in P.A. Hutchings (ed.) Proceedings of the First International Polychaete Conference. Sydney. Linnean Soc. N.S.W., Australia.
- Reiter R.J., 1998. Oxidative damage in the central nervous system: Protection by melatonin, *Progress in Neurobiology*, 56: 359-384.
- Ribarov SR., Benov LC. ve Benchev IC., 1981. The Effect of Lead on Hemoglobin catalyzed Lipid Peroxidation. *Biochim Biophys Acta.*, 664: 453-9.
- Ricciardi F., Binelli A. ve Provini A., 2005. Use of Two Biomarkers (CYP450 and Acetylcholinesterase) in Zebra Mussel for the Biomonitoring of Lake Maggiore (Northern Italy). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 63: 406-412.
- Rivkin R.B., 1979. Effects of Lead on the Growth of the Marine Diatom *Skeletonema costatum*. *Mar. Biol.*, 50: 239-247.
- Rocha M.E., Dutra F., Bandy B., Baldini R.L., Gomes S.L., Faljoni-Alario A., Liria C.W., Miranda M.T. ve Bechara E.J., 2003. Oxidative Damage to Ferritin by 5-aminolevulinic Acid. *Arch. Biochem. Biophys.*, 409: 349-356.
- Roesijadi G. ve Robinson WE., 1994. *Metal Regulation in Aquatic Animals* : Mechanism of Uptake, Accumulation and Release. In: *Aquatic Toxicology; Molecular, Biochemical and Cellular Perspectives*. (eds: Malins DC, Ostrander GK) Lewis Publishers, London. 539 p.
- Rogers J.T., Richards J.G. ve Wood C.M., 2003. Ionoregulatory Disruption as the Acute Toxic Mechanism for Lead in the Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology*, 64: 215-234.

- Rogers J.T. ve Wood C.M., 2004. Characterization of Branchial Lead–calcium Interaction in the Freshwater Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss*. *J. Exp. Biol.*, 207: 813–825.
- Rombaugh P.J., 1985. The Influence of the Zona Radiata on the Toxicities of Zinc, Lead, Mercury, Copper and Silver Ions to Embryos of Steelhead Trout *Salmo gairdneri*, *Comp. Biochem. Physiol.*, 82: 115-117.
- Rosenberg C.E., Fink N.E., Arrieta M.A. ve Salibian A., 2003. Effect of Lead Acetate on the in Vitro Engulfment and Killing Capability of Toad (*Bufo arenarum*) Neutrophils. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 136: 25–233.
- Royce S. E. ve Needelman H.L., 1990. *Case Studies in Environmental Medicine: Lead Toxicity*. Atlanta, GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry.
- Ruparelia S.G., Verma Y., Mehta N.S. ve Salyed S.R., 1989. Lead- Induced Biochemical Changes in Freshwater Fish *Oreochromis mossambicus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 43: 310-314.
- Sakthivel M. ve Sampath K., 1992. Effects of Dye Staff Effluent and Different Levels of Protein on Blood Parameters of *Cyprinus carpio*. *Proc. Nat. Symp. Environ. Biol.*, Palayamkottai, India. 131-139.
- Sanchez D.C., Voccia I., Hontela A., Monczyk S.C., Dunier M., Boermans H., Blakley B. ve Fournier M., 1999. Immunomodulation by Heavy Metals Tested Individually or in Mixtures in Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) Exposed in Vivo. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18: 1492–1497.
- Sandhir R., Julka D. ve Gill K.D., 1994. Lipoperoxidative Damage on Lead Exposure in Rat Brain and Its Implications on Membrane Bound Enzymes. *Pharmacol Toxicol.*, 74: 66-71.
- Sarma K., Pal A.K., Sahu N.P., Mukherjee S.C. ve Kartik Baruah, 2009. Biochemical and Histological Changes in the Brain Tissue of Spotted Murrel, *Channa punctatus* (Bloch), Exposed to Endosulfan. *Fish Physiology and Biochemistry*, 36 (3): 597-603.

- Sastry K.V. ve Subhadra K.M., 1985. In Vivo Effects of Cadmium on Some Enzyme Activities in Tissues of the Freshwater Catfish, *Heteropneustes fossilis*. *Environ. Res.*, 36: 32-45.
- Schmitt C.J., Dwyer F.J. ve Finger S.E., 1984. Bioavailability of Pb and Zn from Mine Tailings as Indicated by Erythrocyte -aminolevulinic Acid Dehydratase (ALA-D) Activity in Suckers (Pisces: Catostomidae). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 41: 1030-104.
- Schmitt C.Y., Whyte J.J., Roberts A.P., Annis M.L., May T.W. ve Tillitt D.E., 2007. Biomarkers of Metals Exposure in Fish from Lead-Zinc Mining Areas of Southern Missouri, USA. *Ecotoxicol. Environ. Safe.*, 67: 31-47.
- Schulz-Baldes M., 1972. Toxicity and Accumulation of Lead in the Common Mussel *Mytilus edulis* in Laboratory Experiment. *Mar. Biol.*, 16: 226-229.
- Schulz-Baldes M., 1974. Lead Uptake From sea Water and Food, and Lead Loss in the Common Mussel, *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.*, 25: 177-193.
- Schulz-Baldes M. ve Lewin R.A., 1976. Lead Uptake in Two Marine Phytoplankton Organisms. *Biol. Bull.*, 150: 118-127.
- Scoullou M.J., 1986. Lead in Coastal Sediments: The Case of the Elefsis Gulf, Greece. *Sci. Total Environ.*, 49: 199-219.
- Serezli R., Akhan S. ve Sonay F.D., 2011. Acute effects of copper and lead on some blood parameters on Coruh trout (*Salmo coruhensis*). *African Journal of Biotechnology*, 10 (16): 3204-3209.
- Sevgiler Y., 2007. *Oreochromis niloticus*'da Karaciğer ve Böbrek Dokularında Fenthionun Nac ve Bso Modülatörlüğünde Glutatyon Metabolizmasına Oksidatif Etkileri (Doktora Tezi). Çukurova Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı. 95s.
- Seth V., Banerjee B.D. ve Chakravorty A.K., 2001. Lipid Peroxidation, Free Radical Scavenging Enzymes, and Glutathione Redox System in Blood of Rats Exposed to Propoxur. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 71(3): 133-139.

- Settle D.M. ve Patterson C.C., 1980. Lead in Albacore: Guide to Lead Pollution in Americans. *Science*, 207: 1167.
- Shah S.L. ve Altındağ A., 2005. Alterations in the Immunological Parameters of Tench (*Tinca tinca*, L. 1758) After Acute and Chronic Exposure to Lethal and Sublethal Treatments with Mercury, Cadmium and Lead. *Turk J. Anim. Sci.*, 29: 1163-1168.
- Shah S. L., 2006. "Hematological Parameters in Tench *Tinca tinca* After Short Term Exposure to Lead", *Journal of Applied Toxicology*, 26: 223-228.
- Shafiq-ur-Rehman S., Rehman S., Chandra O. ve Abdulla M., 1995. Evaluation of Malondialdehyde as an Index of Lead Damage in Rat Brain Homogenates. *Biometals*, 8: 275-279.
- Silva P., Solomon R., Spokes K. ve Epstein F.H., 1977. Ouabain Inhibition of Gill Na-K-ATPase: Relationship to Active Chloride Transport. *J. Exp. Zool.*, 199: 419-426.
- Singh H.S. ve Reddy T.V., 1990. Effect of Copper Sulfate on Hematology, Blood Chemistry, and Hepatosomatic Index of an Indian Catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch), and Its Recovery. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 20:30-35.
- Siwicki A.K. ve Anderson D.P., 1993. Immunostimulation in Fish: Measuring the Effects of Stimulants by Serological and Immunological Methods. Abstract. *Symposium on Fish Immunology*, Lysekil, Sweden.
- Sjöbeck M.L.J. ve Larsson A., 1979. Effects of Inorganic Lead on Delta-aminolevulinic Acid Dehydratase Activity and Hematological Variables in the Rainbow Trout, *Salmo gairdnerii*. *Arch. Environm. Contam. Toxicol.*, 8: 419-431.
- Skerfving S. ve Bergdahl I.A., 2007. Lead. In: Nordberg, G.F., Fowler, B.A., Nordberg, M., Friberg, L. (Eds.), *Handbook of Toxicology of Metals* (third ed.). Elsevier Publishers, Amsterdam. 599-643.
- Skou J.C., 1957. The Influence of Some Cations on an Adenosine Triphosphatase from Peripheral Nerves. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 23: 394-401.

- Smith C., Shaw B. ve Handy R.D., 2007. Toxicity of Single Walled Carbon Nanotubes to Rainbow Trout, (*Oncorhynchus mykiss*): Respiratory Toxicity, Organ Pathologies, and Other Physiological Effects. *Aquatic Toxicology*, 82(2): 94-109.
- Spehar R.L., Anderson R.L. ve Fiandt J.T., 1978. Toxicity and Bioaccumulation of Cadmium and Lead in Aquatic Invertebrates. *Environ. Pollut.*, 15: 195-208.
- Stagg R.M. ve Shuttleworth T.J., 1982. The Effects of Copper on Ionic Regulation by the Gills of the Seawater-Adapted Flounder (*Platichthys flesus* L.). *Journal of Comparative Physiology*, 149: 83-90.
- Stagg R., Goksoyr A. ve Rodger G., 1992. Changes in Branchial Na⁺,K⁺-ATPase, Metallothionein and P450 1A1 in Dab *Limanda limanda* in the German Bight: Indicators of Sediment Contamination. *Marine Ecology Progress Research*, 91: 105-115.
- Steinhauer J.R., Hardy R.W., Robinson C.A., Daly T.M., Chaffin C. ve Konrad R.J., 2002. Comparison of Non-diglyceride- and Diglyceride-based Assays for Pancreatic Lipase Activity. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 16(1): 52-55.
- Stoskopf M.K., 1993. *Fish Medicine*. Philadelphia: W. B. Saunder Co. 882p.
- Sweadner K.J., 1989. Isozymes of the Na⁺/K⁺-ATPase. *Biochemica et Biophysica Acta*, 988: 185-220.
- Sweet I.L. ve Zelikoff J.T., 2001. Toxicology and Immunotoxicology of Mercury: A Comparative Review in Fish and Humans. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 4(2):161-205.
- Tao S., Liang T., Cao J., Dawson RW. ve Liu C., 1999. Synergistic Effect of Copper and Lead Uptake by Fish. *Ecotoxicol. Environ. Safe.*, 44: 190-195.
- Teijon C., Olmo R., Blanco M.D., Romero A. ve Teijon J.M., 2003. Effects of Lead Administration at Low Doses by Different Routes on Rat Spleens. Study of Response of Splenic Lymphocytes and Tissue Lysozyme. *Toxicology*, 191(2-3): 245-258.

- Thaker J., Chhaya J., Nuzhat S. ve Mittal R., 1996. Effects of Chromium (VI) on Some Independent ATPases in Gills, Kidney and Intestine of A Coastal Teleost *Periophthalmus dips.* *Toxicology*, 112: 237-244.
- Thomas D.G., Cryer A., Solbe F.D.L.G. and Kay J., 1983. A Comparison of the Accumulation and Protein Binding of Environmental Cadmium in the Gills, Kidney and Liver of Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). *Comp. Biochem and Physiol.*, 76: 241-246.
- Tietz N.E. ve Shuey D.F., 1993. Lipase in Serum-the Elusive Enzyme: An Overview *Clin. Chem.*, 39(5): 746-756.
- TS 266., 2005. İnsani tüketim amaçlı sular hakkında yönetmelik, 17 Şubat 2005 tarihli Resmi Gazete.
- Tulasi S.J., Reddy P.U. ve Ramana Rao J.V., 1992. Accumulation of Lead and Effects on Total Lipid Derivatives in the Freshwater Fish *Anabas testudineus* (Bloch). *Ecotox. Environ. Safe.*, 23(1): 33-38.
- Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, 2008. 17 Mayıs 2008 tarih 26879 sayılı Resmi Gazete.
- USEPA., 2004. Drinking water standards and health advisories, EPA 822-R-04-005, Office of water, US Environmental protection Agency, Washington D.C.
- USEPA., 2006. National Recommended Water Quality Criteria. Office of Water, Washington, DC.
- Vaglio A. ve Landriscina C., 1999. Changes in Liver Enzyme Activity in the Teleost *Sparus aurata* in Response to Cadmium Intoxication. *Ecotoxicol. Environ. Safe.*, 43B: 111-116.
- Val A.L., De Menezes G.C. ve Wood C.M., 1998. Red Blood Cell Adrenergic Responses in Amazonian Teleost. *J. Fish. Biol.*, 52: 83-93.

- Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M. ve Mazur M., 2006. Free Radicals, Metals and Antioxidants in Oxidative Stress-induced Cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160: 1-40.
- Van Dyk J.C., Pieterse G.M. ve Van Vuren J.H.J., 2007. Histological Changes in the Liver of *Oreochromis mossambicus* After Exposure to Cadmium and Zinc. *Ecotoxicol. Environ. Safe.*, 66: 432-440.
- Varanasi U. ve Gmur D.J., 1978. Influence of Water-borne and Dietary Calcium on Uptake and Retention of Lead by Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 46: 65-75.
- Velmurugan B., Bhuvaneswari V. ve Nagini S., 2002. Antiperoxidative Effects of Lycopene During N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine-induced Gastric Carcinogenesis. *Fitoterapia*, 73(7-8): 604-611.
- Vendemiale G., Grattagliano I., Portincasa P., Serviddio G., Palasciamo G. ve Altomare E., 2001. Oxidative Stress in Symptom- free HCV Carriers: Relation with ALT Flare-up. *European Journal of Clinical Investigation*, 31(1): 54-63.
- Venkateswara Rao J., 2006. Biochemical Alterations in Euryhaline Fish, *Oreochromis mossambicus* Exposed to Sub-lethal Concentrations of an Organophosphorus Insecticide, Monocrotophos. *Chemosphere*, 65(10): 1814-1820.
- Ventrella V., Trombetti F., Pagliarani A., Trioari G. ve Anna Borgatti R., 1990. Gill (Na⁺-K⁺) - and Na⁺-stimulated Mg²⁺-dependent ATPase Activities in the Gilthead Bream (*Sparus auratus* L.). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 95(1): 95-105.
- Verma S.R., Jain M. ve Tong I.P., 1983. In vivo Effects of Mercuric Chloride on Tissue ATPase of *Notopterus notopterus*. *Toxicology Letters*, 16(3-4): 305-309.
- Vighi M., 1981. Lead Uptake and Release in an Experimental Trophic Chain. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 5: 177-193.

- Walsh P.J. ve Mommsen T.P., 2001. Evolutionary Considerations of Nitrogen Metabolism and Excretion. *Fish Physiology*, 20: 1-30.
- Wang X. ve Zhai W., 1988. Cellular and Biochemical Factors in Bronchoalveolar Lavage Fluids of Rats Exposed to Fenvalerate. *Zhongguo Yaolixue Yu Dulixue Zoghi.*, 2: 271-276.
- Watson T.A. ve Beamish F.W.H., 1981. The Effects of Zinc on Branchial Adenosine Triphosphatase Enzymes in Vitro from Rainbow Trout, *Salmo gairdneri*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 68: 167-173.
- Weber D., Russo A., Seale D.B. ve Spieler R.E., 1991. Waterborne Lead Affects Feeding Abilities and Neurotransmitter Levels of Juvenile Fathead Minnows (*Pimephales promelas*). *Aquat. Toxicol.*, 21: 71-80.
- Weber D., 1993. Exposure to Sublethal Levels of Waterborne Lead Alters Reproductive Behavior Patterns in Fathead Minnows (*Pimephales promelas*). *Neurotoxicology*, 14: 347-358.
- World Health Organization, 1973. Lead. In: Trace elements in Human nutrition. Geneva: Report of WHO expert committee No. 532, 1973: 46-47.
- World Health Organization, 2003. Lead in drinking water: Background document for development of WHO Guidelines for drinking water quality. World Health Organization, Geneva, Switzerland (WHO/ SDE/ WSH/ 03.04 / 09).
- William J.P., 1997. Nongenetic Variation, Genetic Environmental Interactions and Altered Gene Expression. Temperature, Photoperiod, Diet, PH and Sex-related Effects. *Comp. Biochem. Physiol.*, 117: 11-66.
- Wong P.T.S., Silverberg B.A., Chau Y.K. ve Hodson P.V., 1978. *Lead and the Aquatic Biota*. 279-342 in J.O. Nriagu (ed.). The Biogeochemistry of Lead in the Environment. Part B. Biological Effects. Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam. 397p.

- Wong P.T.S., Chau Y.K., Kramar O. ve Bengert G.A., 1981. Accumulation and Depuration of Tetramethyllead by Rainbow Trout. *Water Res.*, 15: 621-625.
- Wu S.M., Shih M.J. ve Ho Y.C., 2007. Toxicological Stress Response and Cadmium Distribution in Hybrid Tilapia (*Oreochromis sp.*) Upon Cadmium Exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 145: 218-226.
- Xie Z. ve Askari A., 2002. Na⁺/K⁺-ATPase as a Signal Transducer. *Eur. J. Biochem.*, 269: 2434-2439.
- Yang J.L. ve Chen H.C., 2003. Effects of Gallium on Common Carp (*Cyprinus carpio*): Acute Test, Serum Biochemistry and Erythrocyte Morphology. *Chemosphere*, 53: 877-882.
- Young I.S. ve Woodside J.V., 2001. Antioxidants in Health and Disease. *J Clin Pathol.*, 54: 176-186.
- Yousef M.I., Awad T.I., Elhag F.A. ve Khaled F.A., 2007. Study of the Effect of Ascorbic Acid Against the Toxicity of Stannous Chloride on Oxidative Damage, Antioxidant Enzymes and Biochemical Parameters in Rabbits. *Toxicol.*, 235(3): 194-202.
- Zaroogian G.E., Morrison G. ve Heltshe J.F., 1979. *Crassostrea Virginica* as an Indicator of Lead Pollution. *Mar. Biol.*, 52: 189-196.
- Zhang J., Shen H., Wang X., Wu J. ve Xue Y., 2004. Effects of Chronic Exposure of 2,4-dichlorophenol on the Antioxidant System in Liver of Freshwater Fish *Carassius auratus*. *Chemosphere*, 55: 167-174.
- Zirong X. ve Shijun B., 2007. Effects of Waterborne Cd Exposure on Glutathione Metabolism in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) Liver. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 67(1): 89-94.

EKLER



Resim 1. Deneme dizaynı (Orijinal)



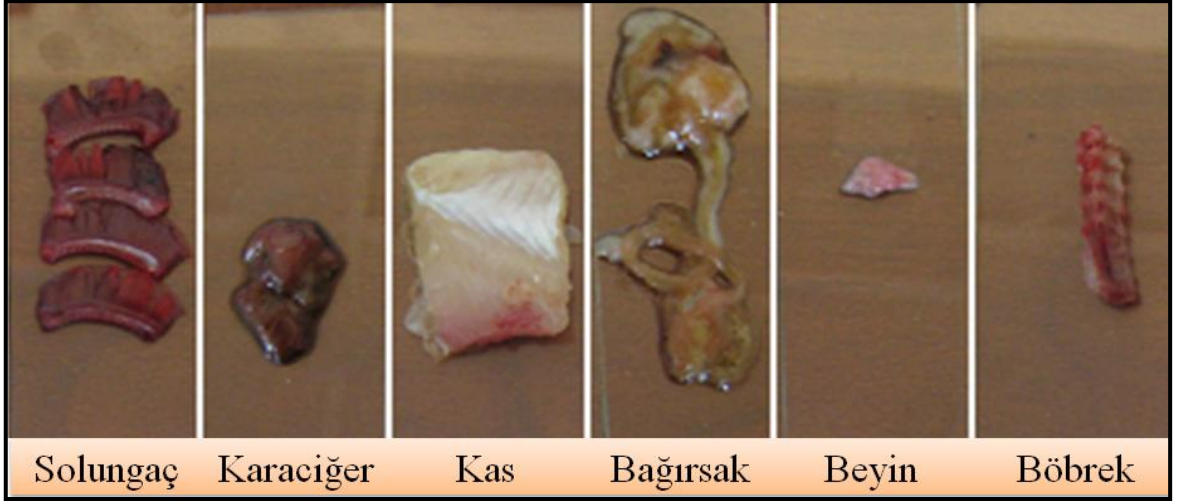
Resim 2. Adaptasyon tankları (Orijinal)



Resim 3. Balıklardan kan alınması (Orijinal)



Resim 4. Dokuların diseksiyonu (Orijinal)



Resim 5. Deneme sonunda kurşuna maruz kalan gruplardan disekte edilen doku örnekleri (Orijinal)



Resim 6. Biyomarkır analizlerinde kullanılan mikropılaka (Orijinal)

Çizelge 1. Kurşun ağır metalinin kimyasal özellikleri	2
Çizelge 2. Kurşunun inorganik ve organik formları	3
Çizelge 3. Türkiye’de ve dünyada içme suyunda bulunmasına izin verilen kurşun değerleri	5
Çizelge 4. Su Ürünlerinde izin verilen kurşun değerleri	5
Çizelge 5. Kurşunun bazı sucul organizmalar üzerine lethal ve sublethal etkileri	11
Çizelge 6. Adaptasyon ve deneme süresince kullanılan yem hammadde miktarları ve besin madde içeriği	42
Çizelge 7. Potasyum içeren ve potasyum içermeyen analiz çözeltisi	47
Çizelge 8. Glutasyon analizi standart stok solusyonların hazırlanması.....	51
Çizelge 9. Glutasyon analizinde kullanılan kimyasallar ve hazırlanışları	52
Çizelge 10. TBARS analizi standart stok solusyonların hazırlanması	54
Çizelge 11. Na ⁺ /K ⁺ -ATPaz enzimi üç yönlü varyans analizi	62
Çizelge 12. Glutasyon seviyesi üç yönlü varyans analizi	68
Çizelge 13. TBARS düzeyi üç yönlü varyans analizi.....	74
Çizelge 14. Dokuda kurşun metali birikimi üç yönlü varyans analizi.....	80
Çizelge 15. Hematolojik kan parametrelerinin iki yönlü varyans analizi.....	84
Çizelge 16. Beyaz kan hücre tipleri iki yönlü varyans analizi.....	91
Çizelge 17. Eritrosit morfolojisinde meydana gelen değişimlerin tek yönlü varyans analizi.....	96
Çizelge 18. Serum kan enzimleri iki yönlü varyans analizi	100
Çizelge 19. Serum kan proteinleri iki yönlü varyans analizi	107
Çizelge 20. Serum kan yağları iki yönlü varyans analizi	112
Çizelge 21. Serum üre, ürik asit ve kreatinin bulguları iki yönlü varyans analizi.....	116
Çizelge 22. Serum elektrolitleri iki yönlü varyans analizi.....	120
Çizelge 23. İmmunolojik parametreler iki yönlü varyans analizi.....	130

ŞEKİLLER

Sayfa No

Şekil 1. Kurşunun hem sentezi üzerine etkileri	7
Şekil 2. İnorganik kurşunun çocuk ve yetişkinler üzerine etkileri	9
Şekil 3. Oksidatif stres oluşumu	18
Şekil 4. Kurşun toksisitesi sonucu oksidatif stres oluşumu ve antioksidanların muhtemel etkilenme yolları	21
Şekil 5. Lipid peroksidasyon oluşumu	23
Şekil 6. Glutasyon'un yapısı	26
Şekil 7. Kurşunun glutasyon mekanizmaları üzerine etkileri	28
Şekil 8. Na ⁺ /K ⁺ -ATPaz tarafından Na ⁺ ve K ⁺ iyonlarının taşınma mekanizmalarına ait şematik görüntü.....	29
Şekil 9. Deneme dizaynı	40
Şekil 10. Denemede kullanılan tilapia (<i>Oreochromis mossambicus</i>) balığı.....	41
Şekil 11. Fosfat derişimi ve absorbans arasındaki doğrusal ilişki	47
Şekil 12. Stok sığır albuminden (BSA) hazırlanan standart derişimler ve absorbans arasındaki doğrusal ilişki	49
Şekil 13. İndirgenmiş glutasyon'dan hazırlanan standart derişimler ve absorbans arasındaki doğrusal ilişki.....	51
Şekil 14. 1,1,3,3- tetra exhoxy propane'dan hazırlanan standart derişimler ve absorbans arasındaki doğrusal ilişki	55
Şekil 15. Solungaç dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı Na ⁺ /K ⁺ -ATPaz enzim aktivitesi değişimi	63
Şekil 16. Karaciğer dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı Na ⁺ /K ⁺ - ATPaz enzim aktivitesi değişimi	63
Şekil 17. Bağırsak dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı Na ⁺ /K ⁺ - ATPaz enzim aktivitesi değişimi	64
Şekil 18. Kas dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı Na ⁺ /K ⁺ - ATPaz enzim aktivitesi değişimi.....	64
Şekil 19. Beyin dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı Na ⁺ /K ⁺ - ATPaz enzim aktivitesi değişimi	65
Şekil 20. Böbrek dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı Na ⁺ /K ⁺ - ATPaz enzim aktivitesi değişimi	65
Şekil 21. Solungaç dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı glutasyon seviyesi değişimi.....	69

Şekil 22. Karaciğer dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı glutatyon seviyesi değişimi.....	69
Şekil 23. Bağırsak dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı glutatyon seviyesi değişimi	70
Şekil 24. Kas dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı glutatyon seviyesi değişimi	70
Şekil 25. Beyin dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı glutatyon seviyesi değişimi... ..	71
Şekil 26. Böbrek dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı glutatyon seviyesi değişimi.....	71
Şekil 27. Solungaç dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı TBARS değişimi	75
Şekil 28. Karaciğer dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı TBARS değişimi.....	75
Şekil 29. Bağırsak dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı TBARS değişimi	76
Şekil 30. Kas dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı TBARS değişimi	76
Şekil 31. Beyin dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı TBARS değişimi.....	77
Şekil 32. Böbrek dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı TBARS değişimi.....	77
Şekil 33. Solungaç dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı kurşun ağır metali değişimi.....	81
Şekil 34. Karaciğer dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı kurşun ağır metali değişimi.....	81
Şekil 35. Bağırsak dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı kurşun ağır metali değişimi.....	82
Şekil 36. Kas dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı kurşun ağır metali değişimi	82
Şekil 37. Beyin dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı kurşun ağır metali değişimi.....	83
Şekil 38. Böbrek dokusunda zamana ve konsantrasyona bağlı kurşun ağır metali değişimi.....	83
Şekil 39. Zamana ve konsantrasyonlara bağlı hemoglobin değişimi.....	85
Şekil 40. Zamana ve konsantrasyonlara bağlı hematokrit değişimi	86
Şekil 41. Zamana ve konsantrasyonlara bağlı eritrosit sayısında meydana gelen değişimler.....	87
Şekil 42. Zamana ve konsantrasyonlara bağlı olarak MCH’da meydana gelen değişimler.....	88
Şekil 43. Zamana ve konsantrasyonlara bağlı olarak MCV’ de meydana gelen değişimler.....	89

Şekil 44. Zamana ve konsantrasyonlara bağlı olarak MCHC' de meydana gelen değişimler.....	90
Şekil 45. Zamana ve konsantrasyonlara bağlı olarak lenfosit hücre miktarında (%) meydana gelen değişimler	92
Şekil 46. Zamana ve konsantrasyonlara bağlı olarak nötrofil hücre miktarında (%) meydana gelen değişimler	93
Şekil 47. Zamana ve konsantrasyonlara bağlı olarak monosit hücre miktarında (%) meydana gelen değişimler	94
Şekil 48. Kontrol grubu beyaz ve kırmızı kan hücreleri.....	95
Şekil 49. Kontrol grubu ve yüksek doz eritrosit hücre görünümleri	96
Şekil 50. Eritrosit çekirdek alanının konsantrasyonlara ve zamana göre değişimi	97
Şekil 51. Eritrosit çekirdek uzunluğunun konsantrasyonlara ve zamana göre değişimi	97
Şekil 52. Eritrosit çekirdek genişliğinin konsantrasyonlara ve zamana göre değişimi.....	98
Şekil 53. Eritrosit sitoplâzma alanının konsantrasyonlara ve zamana göre değişimi	98
Şekil 54. Eritrosit sitoplâzma uzunluğunun konsantrasyonlara ve zamana göre değişimi.....	99
Şekil 55. Eritrosit sitoplâzma genişliğinin konsantrasyonlara ve zamana göre değişimi....	99
Şekil 56. Zamana ve konsantrasyonlara bağlı lipaz enzim aktivitesi değişimi	101
Şekil 57. Zamana ve konsantrasyonlara bağlı ALP enzim aktivitesi değişimi.....	102
Şekil 58. Zamana ve konsantrasyonlara bağlı AST enzim aktivitesi değişimi.....	103
Şekil 59. Zamana ve konsantrasyonlara bağlı ALT enzim aktivitesi değişimi	104
Şekil 60. Zamana ve konsantrasyonlara bağlı CK-NAC enzim aktivitesi değişimi.....	105
Şekil 61. Zamana ve konsantrasyonlara bağlı LDH enzim aktivitesi değişimi	106
Şekil 62. Glikoz seviyesinin zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi	108
Şekil 63. Toplam proteinin zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi	109
Şekil 64. Albumin'in zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi.....	110
Şekil 65. Bilurubin'in zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi	111
Şekil 66. Triglised'in zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi	113
Şekil 67. Kolesterol'ün zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi	114
Şekil 68. LDL'nin zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi	115
Şekil 69. Üre'nin zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi	117
Şekil 70. Ürik asit'in zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi	118
Şekil 71. Kreatin'in zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi	119
Şekil 72. Kalsiyum'un zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi	122

Şekil 73. Magnezyum'un zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi	122
Şekil 74. Demir'in zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi.....	123
Şekil 75. Klorür 'un zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi	123
Şekil 76. Fosfor'un zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi.....	124
Şekil 77. Fagositik aktivite'nin zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi	125
Şekil 78. Fagositik indeks'in zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi.....	126
Şekil 79. NBT'nin zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi	127
Şekil 80. Lizozim aktivitesi'nin zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi	128
Şekil 81. Miyeloperoksidaz aktivitesi'nin zamana ve konsantrasyonlara bağlı değişimi.....	129

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Hasan KAYA

Doğum Yeri: Çanakkale

Doğum Tarihi : 13.09.1981

EĞİTİM DURUMU

LİSANS

Üniversite : Ege Üniversitesi
Akademik Birim : Su Ürünleri Fakültesi
Program/Bölüm/Diğer : Su ürünleri
Ülke : Türkiye
Mezuniyet Yılı : 2005

YÜKSEK LİSANS

Üniversite : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi
Enstitü : Fen Bilimleri Enstitüsü
Tez Konusu : Su Ürünleri
Tez Başlığı : “Atikhisar Barajı ve Sarıçay’da Pestisit ve Eysel Kirliliğin Araştırılması”
Ülke : Türkiye
Mezuniyet Yılı : 2007
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

Yayınlar

a. Yayınlar – SCI - Diğer

1. Türkmen, C., Ayyıldız O., Akbulut, M., Kaya, H., 2012. Microbial Quality in Coastal Waters of Dardanelles in Relation to the Pollution Sources and Transport Pathways. *CLEAN- Soil, Air, Water*, In press.
2. Çelik E., Kaya H., Yılmaz S., 2012. Changes in Hematological and Biochemical Parameters of European Chub (*Squalius cephalus* L.) in Unpolluted Reservoir and Polluted Creek. *The Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, University of Kafkas*, In press.

3. Çelik, E.Ş., Kaya, H., Yılmaz, S., 2012. Effects of Phosalone on Mineral Contents and Spinal Deformities in Common Carp (*Cyprinus carpio*, L.1758). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, In press.
4. Çelik, E.Ş., Kaya, H., Yılmaz, S., Çakıcı, H., 2012. Effect of Water Temperature, Salinity, Season, Reproduction, Sex, Size and Age on Hematological Parameters of Horse Mackerel (*Trachurus trachurus*). *The Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, University of Kafkas*, In press.
5. Akbulut, M., Kaya, H., Çelik, E. Ş., Odabaşı, D. A., Odabaşı, S. S., Selvi, K., 2010. Assessment of Surface Water Quality in the Atikhisar Reservoir and Sarıçay Creek (Çanakkale, Turkey). DOI:10.5053/*Ekoloji*. 7417 Vol:19, No: 74, 139-149.
6. Akbulut M., Çelik Ş. E., Odabaşı D., Kaya H., Selvi K., Aslan N and Odabaşı S., 2009. Seasonal distribution and composition of benthic macroinvertebrate communities in Menderes Creek Çanakkale-Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin (FEB)* Vol: 18, No:11a.
7. Akbulut, M., Odabasi, D.A., Kaya, H., Celik, E.S., Yıldırım, M.Z., Odabasi, S and Selvi, K., 2009. Changing of Mollusca Fauna In Comparison With Water Quality: Saricay Creek and Atikhisar Reservoir Models (Canakkale-Turkey) *Journal of Animal and Veterinary Advances* 8 (12): 2699-2707.
8. Özekinci,U., Altınağaç,U., Ayaz, A., Cengiz,Ö., Ayyıldız, H., Kaya, H., Odabaşı, D. (2007) ‘Monofilament Gillnet Selectivity Parameters for European Chub (*Leuciscus cephalus* L.1758) in Atikhisar Reservoir, Canakkale, Turkey.’ *Journal of Biological Sciences* 10 (8): 1305-1308,200

b. Bildiriler – Uluslararası – Ulusal

1. Kaya H., Çelik E.S., Akbulut M., Sevdan Y, Aydın S., Duysak M., Aydın F., 2011. Radiodiagnostic examination of common carp (*Cyprinus carpio*, L. 1758) vertebra exposed to phosalone. Abstracts of the 47th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX). *Toxicology Letters* Volume 205, Supplement, 28 August 2011, Pages I-XXXVIII
2. Kaya H., Akbulut M., Çelik E.S., Sevdan Y, Aydın F., Duysak M., 2011. Effects of lead nitrate on haematological and immunological parameters in the tilapia (*Oreochromis*

mossambicus, L. 1758). Abstracts of the 47th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX). *Toxicology Letters* Volume 205, Supplement, 28 August 2011, Pages I-XXXVIII

3. Çelik E.Ş., Sevdan Y., Kaya H., Selvi K., 2011. Çanakkale Boğazı'ndaki Karagöz (*Diplodus vulgaris*, E. Geoffroy Saint-Hilaire, 1817) Balığının Bazı Hematolojik Parametre Değerleri. X. Ekoloji ve Çevre Kongresi. 4-7 Ekim 2011. Çanakkale.
4. Selvi, K., Kaya, H., Akbulut, M., Çelik, E.Ş., 2011. Kurşun Nitratın Pb(NO₃)₂ *Gammarus aequiceda* (Krustase:Amfipod) Üzerine Akut Toksisitesi. X. Ekoloji ve Çevre Kongresi. 4-7 Ekim 2011. Çanakkale.
5. Selvi, K., Kaya, H., Akbulut, M., Çelik, E.Ş., 2011. Atikhisar Barajı'ndan Avlanan Sazan ve Turna Balığı Dokularında İz Element Değerleri Üzerine Bir Ön Araştırma. X. Ekoloji ve Çevre Kongresi. 4-7 Ekim 2011. Çanakkale.
6. Akbulut M.,Döner B.,Yamuk, H., Odabaşı D., Odabaşı S., Kaya H., Selvi K.,2011. Sarıçay ve Kocabaş Çayı'ndaki Amphipoda Faunası Hakkında Bir Ön Araştırma (Çanakkale-Türkiye) X. Ekoloji ve Çevre Kongresi. 4-7 Ekim 2011. Çanakkale.
7. Demir, N., Ballı, M., Çetin, Kaya,H., 2011. Çanakkale Boğazı'ndaki Midyelerde (*Mytilus galloprovincialis*) Mikronükleus Testi ile Genotoksik Etkinin Araştırılması. X. Ekoloji ve Çevre Kongresi. 4-7 Ekim 2011. Çanakkale.
8. Kaya, H., Akbulut, M., Çelik,E.Ş., Akbağ, E., 2010.Pesticide Contamination of Water and Its Control: Atikhisar Reservoir and Sarıçay Creek (Çanakkale - Turkey) Models, World Universities Congress 2010, p;981-984 (Çanakkale - Turkey).
9. Akbulut, M., Arslan, N., S.Odabaşı, S., Çelik, E. Ş., Odabaşı, D.A., Kaya, H., Selvi, K., 2009. Seasonal Distribution and Species Composition of Oligochaeta and Hirudinae Fauna of Karamenderes Creek (Çanakkale-Turkey). The Eleventh International Syposium on Aquatic Oligochaeta (5-12 October 2009, Alanya-Antalya/Türkiye).
10. Kaya, H., Akbulut, M., Çelik, E. Ş., Odabaşı, D. A., Selvi, K.,2008. Pestisitlerin Sucul Ekosisteme Etkileri. Çanakkale İli Değerleri Sempozyumları, 25-26 Ağustos 2008, Çanakkale.
11. Çelik, E. Ş., Selvi, K.,Akbulut, M., Kaya, H., Odabaşı, D. A., 2008. Ağır Metallerin Sucul Eksisteme Etkileri. Çanakkale İli Değerleri Sempozyumları, 25-26 Ağustos 2008, Çanakkale.

12. Akbulut, M., Odabaşı, D. A., Kaya, H., Çelik, Ş. E., Yıldırım, M. Z., Sağır-Odabaşı, S., Selvi, K., 2008. Atikhisar Barajı ve Sarıçay'ın (Çanakkale) Molluska Faunasının Su Kalitesine Bağlı Olarak Tür Kompozisyonu ve Aylık Değişimleri. III. Ulusal Limnoloji Sempozyumu, Ege Üniv. Su Ürünleri Fak., 27-29 ağustos 2008, Urla-İzmir.
13. Selvi, K., Akbulut, M., Kaya, H., Odabaşı, D. A., Çelik, E. Ş., 2008. Çanakkale Sarıçay'daki Nikel, Demir, Çinko ve Bakırın *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771) Üzerine Toksisitesi. Çanakkale İli Değerleri Sempozyumları, 25-26 Ağustos 2008, Çanakkale.
14. Bilgin S., Özen Ö., Alpaslan M., Kaya H., Gönener S., Kuşcu A., 2008. Çanakkale Civarı Balıkçılığıyla Yunusların Etkileşimi: Karaya Vuran Yunuslar. Çanakkale Merkez Değerleri Sempozyumu, 25- 26 Ağustos 2008, Sayfa: 303-311.
15. Alparslan, M. Özalp, B. Kaya, H. “İntepe Karanlık Limanın Sualtı Zenginlileri”, 2.Troas Bölgesi Değerleri Sempozyumu, 31 Ağustos – 2 Eylül 2007, İntepe, Çanakkale.
16. Selvi, K., Akbulut, M., Kaya, H., Sağır-Odabaşı, S., Odabaşı, D. A., Çelik, Ş. E., 2008. Nikel, Demir, Çinko ve Bakırın *Carcinus aestuarii* Nordo, 1847 Üzerine Toksisitesi. III. Ulusal Limnoloji Sempozyumu, Ege Üniv. Su Ürünleri Fak., 27-29 Ağustos 2008, Urla-İzmir.

c. Katıldığı Projeler

1. Çanakkale ve Balıkesir İlleri İçin Su Ürünleri Endüstrisine Dayalı Ekonomik Gelişme Modeli. DPT/GMKA (Güney Marmara Kalkınma Ajansı) 2011-2012
2. Tilapia'da (*Oreochromis mossambicus*) Kurşun (Pb) Toksisitesi: Oksidatif Stres ve Bazı Fizyolojik Etkiler. ÇOMU BAP 2010-2012
3. Phosalone'nin Tilapia Balığı'ndaki (*Oreochromis mossambicus*) Kan Parametre Değişimleri ve Histopatolojik Etkilerinin Araştırılması. ÇOMU BAP 2010-
4. Çanakkale Boğazında Ağır Metal Kirliliğinin Biyomarkerlar Kullanılarak Akdeniz Midyesi (*Mytilus galloprovincialis* L., 1819) Üzerinde İzlenmesi. ÇOMU BAP 2010-
5. Çanakkale Boğazındaki Akdeniz Midyelerinde (*Mytilus galloprovincialis*) Mikrobiyolojik Kalitenin Araştırılması. ÇOMU-BAP 2009-2011.
6. Pestisit ve Evsel Kirliliğin Sarıçay ve Atikhisar Barajındaki Bentik Makroomurgasız ve Balık Faunasına Etkileri . TÜBİTAK 2005-2008.

7. Menderes ayı'nın Bentik Makroomurgasız Faunasının Taksonomik ve Ekolojik Açıdan Araştırılması ÇOMÜ BAP 2005-2007.

8. anakkale Boğazı Kıyı Deniz Sularında Koliform Kirliliğinin Araştırılması. ÇOMÜ BAP 2006-2009.

İŐ DENEYİMİ

anakkale Onsekiz Mart Üniversitesi – Su Ürünleri Fak. 2006 – 2012 (Çanakkale)

İLETİŐİM

E-posta Adresi: hasankaya@comu.edu.tr, hkaya17@hotmail.com