

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

SAZAN (*CYPRINUS CARPIO*) BALIĞINDA KROM (VI)'NİN
HİSTOPATOLOJİK VE MİKRONUKLEUS TESTİ İLE
GENOTOKSİK ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Müge ÇETİN

Biyoloji Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 12/01/2012

Tez Danışmanı:

Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR

Yrd. Doç. Dr. Mehmet Rıza GEZEN

ÇANAKKALE

YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

MÜGE ÇETİN tarafından YRD. DOÇ. DR. NESLİHAN DEMİR yönetiminde hazırlanan “SAZAN (*CYPRINUS CARPIO*) BALIĞINDA KROM (VI)’NİN HİSTOPATOLOJİK VE MİKRONUKLEUS TESTİ İLE GENOTOKSİK ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR

Danışman

Doç. Dr. Cüneyt AKI

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Hülya SİVAS

Jüri Üyesi

Sıra No :

Tez Savunma Tarihi: 12/01/2012

Prof. Dr. İsmet KAYA

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

Hazırlanan bu Yüksek Lisans tezi ÇOMÜ-BAP tarafından 2010/143 no’lu projeden 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.

Müge ÇETİN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen, her türlü problemin üstesinden gelmemde bana yardımcı olan ve olumlu yönlendirmeleriyle yanımda olan danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR'e;

Deneysel çalışmalarında bilimsel deneyimlerini paylaştan, tecrübelerinden ders çıkardığım yardımcı danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Mehmet Rıza GEZEN'e;

Bu çalışmayı 2010/143 no'lu proje kapsamında destekleyen Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı'na;

Laboratuvar çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Tıp Fakültesi Patoloji Laboratuvarında görev yapan Yrd. Doç. Dr. Aslı MURATLI'ya;

Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Bölümü laboratuvarının kullanılmasında emeği geçen Öğretim elemanlarına ve Su Ürünleri Fakültesi Temel Bilimler Bölüm hocalarına;

Yüksek lisansım boyunca her zaman yanımda olan ve sıkıntılarımı paylaştan Hülya Nur GÖRKEM, Araş. Gör. Nihan AKINCI, Nazmi İŞLER, Araş. Gör. Dr. Rıza AKGÜL, Araş. Gör. Dr. Sefer DEMİRBAŞ, Araş. Gör. Özlem KIPRAK, Araş. Gör. Selin ERTÜRK, Buket KESER, Ayşe GÖRKEM, Onur ESEN, Ertaç VURAL ve Merve BALLI'ya;

Hayatım boyunca emek ve destekleri ile beni ayakta tutan, bana inanan ve varlıklarından güç aldığım annem Hanife ÇETİN'e, babam Turan ÇETİN'e, ablalarım Mutlu SARIÇAM ve Mine SARI'ya, anneannem Rabia ÖZİŞİK'a, enişterim Sebahattin SARIÇAM ve Bünyamin SARI'ya, kısa bir süre önce aramızda ayrılan maneviyatını içimde hissettiğim teyzem Şehriye KIRHAN ve dayım Hüseyin ÖZİŞİK'a, varlıklarıyla hayatıma anlam katan yeğenlerim İlayda, Berkay, Irmak ve Miray'a;

teşekkürlerimi sunarım.

Müge ÇETİN

SİMGELER VE KISALTMALAR

- Ag** : Gümüş
Al : Alüminyum
Ar : Argon
As : Arsenik
Ca : Kalsiyum
CAT : Katalaz
Cd : Kadmiyum
CH₂O : Formaldehit
CN : Siyanür
Co : Kobalt
Cr : Krom
Cu : Bakır
CuSO₄.5H₂O : Bakır sülfat
Fe : Demir
H.E. : Hemotoksilen-Eozin
Hg : Civa
K₂Cr₂O₇ : Potasyum dikromat
LC : Letal konsantrasyon
Li : Lityum
MDA : Malondialdehit
Mg : Magnezyum
Mn : Mangan
MN : Mikronukleus
NaCl : Sodyum klorür
NaClO₄ : Sodyum perklorat
NB : Nuklear buds
Ni : Nikel
NO₂-N : Nitrit nitrojen
PAS : Periyodik Asit Schiff
Pb : Kurşun
Se : Selenyum
Üçlü Boya: Masson trichrome

Va : Vanadyum

Zn : Çinko

ÖZET

SAZAN (*CYPRINUS CARPIO*) BALIĞINDA KROM (VI)'NİN HİSTOPATOLOJİK VE MİKRONUKLEUS TESTİ İLE GENOTOKSİK ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Müge ÇETİN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Neslihan Demir

12/01/2012, 87

Bu çalışmada, sazan (*Cyprinus carpio*) balıkları üzerindeki krom (VI)'nin genotoksik etkileri mikronukleus frekansları ile histopatolojik değişiklikler ise solungaç, karaciğer ve kas dokuları kullanılarak laboratuvar şartları altında incelenmiştir.

Balıklar 14 gün boyunca krom (VI)'nin sublethal konsantrasyonlarına maruz bırakılmışlardır. Kan ve doku örnekleri maruziyetten 7 ve 14 gün sonra alınmıştır.

Hazırlanan doku örnekleri rutin histopatolojik işlemlerden geçirilerek Hematoksilen-Eosin (H.E.) ve Masson trichrome boyaları ile boyanarak mikroskopta değerlendirilmiştir. Eritrosit çekirdeklerindeki anormalliklerden biri olan mikronukleus (MN) testi periferal kanda bakılmıştır.

Doza ve zamana bağlı olarak histopatolojik değişikliklerde; kas lifleri arasında kollajen artışı, bağdokuda mononükleer hücre infiltrasyonu, kas liflerinde atrofi, vakuolizasyon ve destrüksiyon; solungaç taraklarının bazal membranında kalınlaşma, filament epitelyumunda hiperplazi, ödem, filament epitel ve sekonder lamellerde mukus hücrelerinde hiperplazi, kapillerlerde konjesyon ve perikapiller ödem, anevrizma, nekroz; karaciğer paransim hücrelerinde dejenerasyon, yağlanma, vakuolizasyon, piknotik çekirdek, nekrotik ve dejeneratif alanlar, Kupffer hücrelerinde artış sinüzoidlerde konjesyon ve dilatasyon gözlemlenmiştir. Mikronukleus frekansında doza ve süreye bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir.

Elde edilen sonuçlar, krom (VI)'nin histopatolojik ve genotoksik etkilerini sazan balığında (*Cyprinus carpio*)'da göstermektedir.

Anahtar sözcükler: *Cyprinus carpio*, ağır metal, krom (VI), genotoksisite, mikronukleus testi, histopatoloji, solungaç, kas, karaciğer.

ABSTRACT

ASSESSMENT OF HISTOPATHOLOGICAL AND MICRONUCLEUS TEST WITH GENOTOXIC EFFECTS OF HEXAVALENT CHROMIUM ON MIRROR CARPS (*CYPRINUS CARPIO*)

Müge ÇETİN

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Science and Engineering

Chair for Biology Thesis of Master of Science

Advisor: Assistant Prof. Dr. Neslihan DEMİR

12/01/2012, 87

In the present study, genotoxic effects was evaluated using the micronucleus frequency and histopathological changes analyzed using gill, muscle and hepatopancreas tissues under laboratory conditions in carp (*Cyprinus carpio*).

Fish were exposed to sublethal concentrations of chromium (VI) during 14 days. Blood and other tissue samples were taken after 7 and 14 days of exposure.

Following routine histological procedures of prepared tissue slides were stained with Hematoxylin-Eosin (H.E.) and mason trichrome then evaluated under a light microscope. Frequencies of erythrocytic nuclear abnormalities such as, micronuclei (MN) were investigated in peripheral blood of fish.

A dose and time dependent histopathological changes: Increase in collagen between the muscle fibers, infiltration in mononuclear cells at connective tissue, atrophy of the muscle fibers, vacuolation and destruction; basal membrane thickening of the gill bar, epithelial hyperplasia, oedema, filament epithelium, hyperplasia of secondary lamellar cells, congestion of capillaries and peri capillary oedema, aneurism; degeneration of liver parenchymal cells, excessive accumulation of fat, vacuolation, pycknotic nucleus, necrotic and degenerative spaces, increase in kupffer cells, sinusoids congestion and dilatation observed. Micronucleus frequency increased depending on exposure time and concentration.

These results indicated that chromium (VI) had histopathological and genotoxic effects on carp (*Cyprinus carpio*).

Keywords: *Cyprinus carpio*, heavy metal, chromium (VI), genotoxicity, micronucleus test, histopathology, gill, muscle, hepatopancreas.

| İÇİNDEKİLER | Sayfa |
|---|--------------|
| YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU..... | i |
| İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI..... | iii |
| TEŞEKKÜR..... | iv |
| SİMGELER VE KISALTMALAR..... | v |
| ÖZET..... | vii |
| ABSTRACT..... | viii |
| BÖLÜM 1 - GİRİŞ | 1 |
| 1.1. Ağır Metaller..... | 2 |
| 1.1.1. Krom | 4 |
| 1.2. Çalışılan Deney Hayvanı Hakkında Genel Bilgi..... | 7 |
| 1.3. Çalışılan Dokular Hakkında Genel Bilgi..... | 8 |
| 1.3.1. Solungaç dokusu | 8 |
| 1.3.1.1. Solungaç anatomisi..... | 8 |
| 1.3.1.2. Solungaç fizyolojisi..... | 8 |
| 1.3.1.3. Solungaç histolojisi..... | 9 |
| 1.3.2. Karaciğer dokusu | 10 |
| 1.3.2.1. Karaciğer anatomisi..... | 10 |
| 1.3.2.2. Karaciğer fizyolojisi | 10 |
| 1.3.2.3. Karaciğer histolojisi | 11 |
| 1.3.3. Kas dokusu..... | 12 |
| 1.3.3.1. Kas anatomisi | 12 |
| 1.3.3.2. Kas fizyolojisi | 12 |
| 1.3.3.3. Kas histolojisi | 13 |
| 1.4. Mikronukleus | 13 |
| BÖLÜM 2 - ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR | 16 |
| 2.1. Mikronukleus ile İlgili Daha Önce Yapılmış Çalışmalar..... | 16 |
| 2.2. Histopatoloji ile İlgili Daha Önce Yapılmış Çalışmalar..... | 18 |
| BÖLÜM 3 - MATERYAL VE YÖNTEM | 22 |
| 3.1. Deney Materyali..... | 22 |
| 3.2. Yöntem | 23 |
| 3.2.1. Mikronukleus analizleri | 23 |
| 3.2.2. Histopatolojik analizler | 24 |
| 3.2.2.1. Doku gömme işlemi | 24 |
| 3.2.2.2. Kesit alma | 24 |

| | |
|---|-----------|
| 3.2.2.3. Boyama işlemi..... | 24 |
| 3.2.2.4. Dokuların kapama ve değerlendirme işlemleri..... | 24 |
| BÖLÜM 4 - ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA | 25 |
| 4.1. Histopatolojik Bulgular..... | 25 |
| 4.1.1. İskelet kas dokusu histopatolojik bulguları..... | 25 |
| 4.1.1.1. İskelet kas dokusu kontrol grubu | 25 |
| 4.1.1.2. İskelet kas dokusu 7. gün düşük doz | 27 |
| 4.1.1.3. İskelet kas dokusu 7. gün orta doz..... | 28 |
| 4.1.1.4. İskelet kas dokusu 7. gün yüksek doz..... | 29 |
| 4.1.1.5. İskelet kas dokusu 14. gün düşük doz..... | 30 |
| 4.1.1.6. İskelet kas dokusu 14. gün orta doz..... | 31 |
| 4.1.1.7. İskelet kas dokusu 14. gün yüksek doz..... | 32 |
| 4.1.2. Karaciğer dokusu histopatolojik bulguları..... | 34 |
| 4.1.2.1. Karaciğer dokusu kontrol grubu..... | 34 |
| 4.1.2.2. Karaciğer dokusu 7. gün düşük doz | 36 |
| 4.1.2.3. Karaciğer dokusu 7. gün orta doz | 39 |
| 4.1.2.4. Karaciğer dokusu 7. gün yüksek doz..... | 41 |
| 4.1.2.5. Karaciğer dokusu 14. gün düşük doz | 44 |
| 4.1.2.6. Karaciğer dokusu 14. gün orta doz..... | 47 |
| 4.1.2.7. Karaciğer dokusu 14. gün yüksek doz..... | 50 |
| 4.1.3. Solungaç dokusu histopatolojik bulguları | 52 |
| 4.1.3.1. Solungaç dokusu kontrol grubu..... | 52 |
| 4.1.3.2. Solungaç dokusu 7. gün düşük doz..... | 55 |
| 4.1.3.3. Solungaç dokusu 7. gün orta doz | 56 |
| 4.1.3.4. Solungaç dokusu 7. gün yüksek doz | 58 |
| 4.1.3.5. Solungaç dokusu 14. gün düşük doz..... | 60 |
| 4.1.3.6. Solungaç dokusu 14. gün orta doz | 62 |
| 4.1.3.7. Solungaç dokusu 14. gün yüksek doz..... | 64 |
| 4.2. Mikronukleus Bulgular..... | 66 |
| 4.3. Tartışma | 70 |
| BÖLÜM 5 - SONUÇ VE ÖNERİLER..... | 75 |
| KAYNAKLAR | 77 |
| ÇİZELGELER | I |
| ŞEKİLLER..... | II |
| ÖZGEÇMİŞ..... | IV |

BÖLÜM 1**GİRİŞ**

Günümüzde, çevre kirliliği önüne geçilemeyecek kadar büyük bir problem teşkil etmektedir. Özellikle endüstrinin de gelişmesiyle birlikte insanlar için büyük önem taşıyan su, hava ve toprakta sağlığa zararlı olan maddelerin birikmesi önemli bir çevre ve sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. Endüstriyel atıklar, antropojenik kaynaklar ve asit yağmurları ile ırmak, göl ve yeraltı sularına ulaşmaktadır. Suların ağır metal konsantrasyonu, sediment tabakasının adsorbsiyon kapasitesinin sınırlı olmasından dolayı da sürekli olarak yükselmektedir (Ali, 2008; DüNDAR, 2010).

Sucul habitatların, kirleticileri arasında ağır metaller, biyotoksinler, parazitler, fiziksel-kimyasal faktörler, pestisit, hidrokarbon ve enfeksiyona neden olan mikroorganizmalar yer almaktadır (Lloyd, 1992).

Balıklar gibi sucul organizmalar, kontamine olmuş sulardaki kirleticileri ya doğrudan alırlar, ya da kirleticilere maruz kalmış sucul organizmaları besin olarak alarak dolaylı olarak biriktirirler. Bu birikimden öncelikle sucul canlılar, özellikle de besin zincirinin bir halkası olan ve önemli bir protein kaynağı olarak tüketilen balıklar büyük oranda zarar görmektedir (Summak, 2009; Halappa ve David, 2009).

Çalışmada kullandığımız krom ağır metali, doğada -2 'den +6 'ya kadar değişen farklı kimyasal formda bulunur. Krom metali hava, su ve toprak ekosistemlerinde doğal olarak bulunduğu gibi farklı formlarda toksik etki gösterebilmektedir. Kimyasal madde olarak en çok pigment ve deri tabaklamasında kullanılır. Krom bileşikleri seramik sırlarında ve cam yapımında renk verici madde olarak, yiyecek korumasında ve soğutma kulelerinde devreden su sistemlerinde pas önleyici olarak kullanılır. Krom (VI)'nın gerek insanlarda gerekse de hayvanlar için toksikolojik, mutajenik ve kanserojenik etkilerinin olduğu bilinmektedir (Stella ve ark., 1982; Rodriguez-Arnaiz ve Molina Marinez, 1986; Robles-Camacho ve Armienta, 2000; Çiftçi, 2010).

Balıklar, akut ve kronik toksisite çalışmalarında yaygın kullanılmakta olan sucul canlılar olup, kirleticilere karşı hassasiyetlerinde farklılıklar gözlemlendiği saptanmıştır (Croke ve McDonald, 2002). Balıklarda kirleticilere maruz kalmadan dolayı en büyük yapısal zararlar hedef organlarda olmaktadır. Bu canlılarda morfolojik, sitotoksik, immünolojik, hematolojik değişimler oluşabildiği gibi (Velma ve Tchounwou, 2010), DNA hasarı, büyümede gerileme de görülebilir (Farg ve ark., 2006).

Genotoksik testlerden biri olan mikronukleus testi yaygın olarak sucul

organizmalarda sitogenetik hasarın bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (Al-Sabti ve Kurelec, 1985; Venier ve ark., 1997; Ayylon ve Garcia-Vazquez, 2000).

Bu çalışmada toksik etkili bir ağır metal olan krom (VI)'nin laboratuvar koşullarında belirli süre ve ortam derişimlerinde kronik olarak suya verilmesiyle sazan (*Cyprinus carpio* L.) balığının solungaç, kas ve karaciğer dokularında histopatolojik etkisi ile birlikte mikronukleus testi ile de genotoksik etkisinin araştırılması amaçlanmaktadır.

1.1. Ağır Metaller

“Ağır metaller” periyodik cetvelin üçüncü ya da daha yüksek periyodunda bulunan (yoğunluğu 5 g/cm³'den büyük olan) metallerin yer aldığı gruptur.

Metaller Domingo (1998) tarafından 4 gruba ayrılmıştır:

1. Çevrede geniş oranda bulunan ve en fazla toksisiteye neden olan metaller

Argon (Ar), Kadmiyum (Cd), Kurşun (Pb), Civa (Hg)

2. Esansiyel iz metaller

Krom (Cr), Kobalt (Co), Mangan (Mn), Selenyum (Se), Çinko (Zn)

3. Biyolojik önemi olan diğer metaller

Nikel (Ni), Vanadyum (Va)

4. Farmakoloji ile ilgili metaller

Alüminyum (Al), Kalsiyum (Ca), Lityum (Li)

Kromunda içerisinde bulunduğu iz metaller çevre kirlenmesi bakımından yüksek konsantrasyonlu metallere oranla çok daha tehlikelidirler (Taylan ve Özkoç, 2007).

Günümüzde endüstrileşmenin getirdiği çevre kirliliğine bağlı olarak sucul canlılar birçok toksik maddenin farklı konsantrasyonlarına maruz kalmaktadırlar. Bu kirlenmenin sonucu dokularda toksik madde birikimine bağlı değişiklikler oluşmakta ve birçok patolojik durum ortaya çıkmaktadır (Katalay ve ark., 2007). Sucul ekosistemlere, antropojenik kaynaklarla ve/veya doğal yollarla ulaşan pek çok toksik madde besin zinciri yoluyla sucul canlılardan insanlara kadar ulaşan biyoakümülyasyon göstermektedir (Uçar ve Atamanalp, 2008; Vinodhini ve Narayanan, 2008).

Metaller ve diğer artıklardan oluşan kirleticiler, yaygın kirlenme nedeni oluşturmaları, çevre koşullarına dayanıklı olmaları, daima biyolojik sistemlere yönelik etki göstermeleri ve kolaylıkla besin zincirine girerek canlılarda artan yoğunluklarda birikebilmeleri nedeniyle diğer kimyasal kirleticiler arasında ayrı bir önem taşırlar (Baş ve Demet, 1992).

Ağır metaller, insanlar tarafından önemli bir besin kaynağı olan balıklarda da toksik etkiler oluşturmaktadır. Bu etkiler metalin cinsi ve konsantrasyonuna, su kalitesine ve

balığın tür ve yaşına bağlı olarak değişebilmektedir. Ağır metallerin balık vücudunda birikimi; beslenme, solunum ve ayrıca suyu süzmeleri esnasında meydana gelmektedir (Dündar, 2010).

İz metallerden krom hava, su ve toprak ekosistemlerinde doğal olarak bulunmakla beraber farklı formlarda toksik etki gösterebilmektedir (Robles-Camacho ve Armienta, 2000). Günümüzde krom pek çok endüstri alanında kullanılmaktadır. Başlıca deri endüstrisi, tekstil, boya sanayinde kullanıldığı gibi çeşitli endüstri soğutma sularında korozyon engelleyici olarak da kullanılmaktadır. Bu işlemler sonucu atık sulara karışabilmektedir (Kimbrough ve ark., 1999). Su kirliliğini kontrolünün iyi bir şekilde yapılabilmesi için, tüm sular kullanım amaçlarına göre sınıflandırılmalı ve kirlilik sınırlarının belirlenmesi gereklidir (Çizelge 1). Bu açıdan doğal su sistemlerindeki metallerin kimyasal konumlarının ve miktarlarının belirlenmesi daha da önem kazanmıştır. Çizelge 2’de insan vücuduna alınan bazı metaller ve oranları verilmiştir (Öztekin, 2009).

Çizelge 1. Sucul ortamda ağır metallerin kabul edilebilir değerleri (Anonim, 2002)

| Ağır metal | Kabul edilebilir değer(mg/l) |
|------------|------------------------------|
| As | 0,1 |
| Cu | 0,01 |
| Hg | 0,004 |
| Zn | 0,003 |
| Fe | 0,7 |
| Ag | 0,003 |
| Cd | 0,01 |
| Co | 1,0 |
| Pb | 0,1 |
| Cr | 0,1 |
| Mn | 1,0 |
| Ni | 0,3 |

Çizelge 2. İnsan vücuduna alınan bazı metaller ve oranları (Öztekin, 2009)

| Metaller | Günlük Alınan Miktar | | Zehirleyici Miktar (mg) | Vücuttaki Toplam Miktar (mg) | Vücuttaki Yarılanma Ömrü (gün) |
|-----------------|----------------------|---------|-------------------------|------------------------------|--------------------------------|
| | Besin ve Su (mg) | Hava | | | |
| Antimon | 0,1 | 0,0017 | 100 | 7,9 | 38 |
| Bakır | 1,325 | 0,0015 | 250-500 | 72 | 80 |
| Baryum | 0,735 | 0,03 | 200 | 22 | 65 |
| Civa | 0,025 | - | - | - | 70 |
| Çinko | 14,5 | 0,0168 | - | 2300 | 933 |
| Demir | 15 | 0,084 | - | 4200 | 800 |
| Kadmiyum | 0,16 | 0,074 | 3 | 50 | 200 |
| Kalay | 7,3 | 0,006 | 2000 | 17 | 35 |
| Kobalt | 0,39 | 0,00012 | 500 | 1,5 | 9,5 |
| Kurşun | 0,3 | 0,046 | - | 12 | 1460 |
| Krom | 0,245 | 0,0011 | 200 | 1,8 | 616 |
| Mangan | 4,4 | 0,0236 | - | 12 | 17 |
| Molibden | 0,335 | 0,0014 | - | 9,3 | 5 |
| Nikel | 0,6 | - | - | 10 | 667 |

1.1.1. Krom

Krom, yer kabuğunda 6. en çok bulunan ağır metaldir. Hidrosfer ve atmosfer arasında sürekli bir doğal döngüye sahiptir (Velma ve Tchounwou, 2010).

Krom ağır metali, doğada -2 'den +6 'ya kadar değişen birçok farklı kimyasal formda bulunur. Bunlardan +2, +4 ve +5 değerlikli formları stabil olmayıp +3 değerlikli forma dönüşürken, +3 değerlikli formu da +6 değerlikli forma oksitlenir. Krom, zor oksitlenen bir ajandır ve kromat ve dikromat iyonu formuyla çevrede bulunur (Velma ve Tchounwou, 2010). Bu geniş spektrumda kromun biyolojik bakımdan aktif formlarını Krom (III) ve Krom (VI) oluşturur (Çiftçi, 2010). Krom (VI)'nın fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 3'te verilmektedir.

Çizelge 3. Krom (VI) nin fiziksel ve kimyasal özellikleri

(http://www.tekkim.com.tr/lib_g_sertifika/59.PDF)

| Fiziksel Görünüş | Katı |
|------------------|--|
| Renk | Turuncu |
| Koku | Kokusuz |
| Yoğunluk | 2.69 g/cm ³ |
| Çözünürlük | 130 g/l |
| Erime Noktası | 398 °C |
| pH | ~3.57 100 g/l H ₂ O (20 °C) |

Kromun, Krom (III) ve Krom (VI) formlarının ikisi de biyolojik olarak aktif olmasına rağmen biyolojik zarlara geçiş özellikleri farklıdır. Krom (III) mutajenik olmasına rağmen, hücre membranından geçemediği için hücre için anında tehlike yaratmaz. Bunun yanında Krom (VI) hücre membranlarından oldukça kolay geçebilme özelliğine sahiptir (Leonard ve Lauwerys, 1980; Singh ve ark., 1998). Hayvansal organizmalarda Krom (III) düşük derişimlerde karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmasında işlev görürken, Krom (VI) yüksek düzeyde oksidasyon yeteneğine sahip olduğundan biyolojik membranlarla etkileşime girerek yapısal bütünlükte ve madde taşınımında bozukluğa neden olur. +6 değerlikli krom bileşikler oral yolla canlıya verildiğinde, +3 değerlikli kroma göre 10-100 kat daha toksik olduğu görülmüştür (Katz ve Salem, 1993; Çiftçi, 2010).

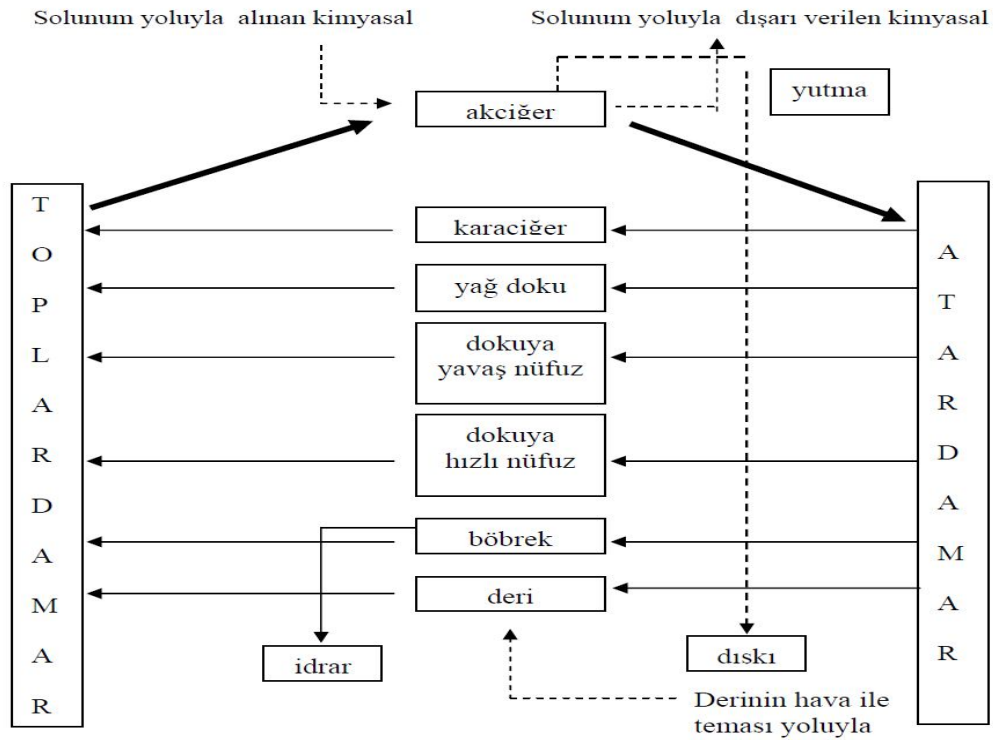
Gerek laboratuvar gerekse doğal ortam koşullarında, sucul omurgalı ve omurgasız türleri ile yürütülen +6 değerlikli krom toksisitesi araştırmalarında, metalin biyokimyasal, enzimolojik, genotoksik, histopatolojik ve immün cevapta sınırlayıcı etkileri saptanmıştır (Mishra ve Mohanty, 2008; Velma ve Tchounwou, 2010).

Kromun, kimyasal madde olarak kullanım alanları;

- KCr(SO₄)₂ gibi şapları dericilikte ve tekstil sanayide,
- Kromaj adı verilen kaplamacılıkta,
- Cr₂O₃ gibi az çözünen kromatları boya endüstrisinde pigment olarak,
- Paslanmaz çelik üretiminde,
- Korozyonu engellemek amacı ile kaplamacılıkta,
- Katalizör olarak,
- K₂Cr₂O₇ bileşiği yükseltgen ajan olarak ve birçok nicel analizde,
- Ateşe dayanıklı tuğla üretiminde,

- Direnç teli yapımında,
- Metalurji,
- Ferrokrom,
- İnşaat endüstrisinde (pigment olarak),
- Yazı endüstrisinde (fotomekanik yeniden üretim prosesleri ile),
- Yağ endüstrisinde (antikorozyon olarak),
- Eczacılık alanında,
- Tekstil endüstrisinde (boya maddesi olarak),
- Kibrit üretim endüstrisinde,
- Kaset, bant yapım endüstrisinde [krom(VI) oksidin kristalize formu],
- Bilgisayar sanayinde manyetik depolamada kullanılır (Vutukuru, 2005; Farag ve ark., 2006; Abbas ve Ali, 2007; Öztekin, 2009; Çiftçi, 2010).

İnsanın krom metale gereksinimi vardır ancak miktarı henüz tam olarak belli değildir. Ancak yüksek derişimlerde zehirlidir. Kromun en yüksek olduğu besinler bira ve mayadır. İnsanda krom bileşikleri glikoz metabolizması için gereklidir. Krom (VI) vücuda alınmasıyla krom (III)'e indirgenir. Günlük alınması gereken krom miktarı 0,014 mg'ı geçmemelidir (Öztekin, 2009). Canlı bünyesine giren kimyasalların izlediği yol (Şekil 1)'de verilmiştir.



Şekil 1. Yapay organik bileşiklerin canlı bünyesinde izledikleri yol (Yalvaç, 2005).

1.2. Çalışılan Deney Hayvanı Hakkında Genel Bilgi

Cyprinidae familyasının üyesi olan sazan (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) (Şekil 2) ortam koşullara adapte olması, hızlı büyümesi ve kültürünün kolaylıkla yapılması nedeniyle yaygın kullanılmakta olan bir türdür. Özellikle Türkiye, Avrupa ve Kuzey Asya'de geniş bir dağılım gösteren sazan balığı ticari amaçla kullanılmaktadır. Ülkemizde de göllerimizin (Eğirdir, Beyşehir, Akşehir, Eber, Bafa, Köyceğiz, Işıkli, Gölcük, Karataş, Sapanca, Marmara, Manyas) yanı sıra birçok doğal ve yapay göller ile akarsularımızda avlanan türler arasında ilk sıralarda yer almaktadır (Durna, 2009).



Şekil 2. *Cyprinus carpio* türünün morfolojik görünümü (Orijinal).

Sazan balığının sistematığı;

| | | | |
|-----------|---|--|-----------------------|
| Alem | : | Animalia | (hayvanlar) |
| Şube | : | Chordata | (kordalılar) |
| Üst sınıf | : | Pisces | (balıklar) |
| Sınıf | : | Actinopterygii | (ışınsal yüzgeçliler) |
| Takım | : | Cypriniformes | (sazansılar) |
| Familya | : | Cyprinidae | (sazangiller) |
| Cins | : | Cyprinus | |
| Tür | : | <i>Cyprinus carpio</i> (Linnaeus), 1758 | |

1.3. Çalışılan Dokular Hakkında Genel Bilgi

1.3.1. Solungaç dokusu

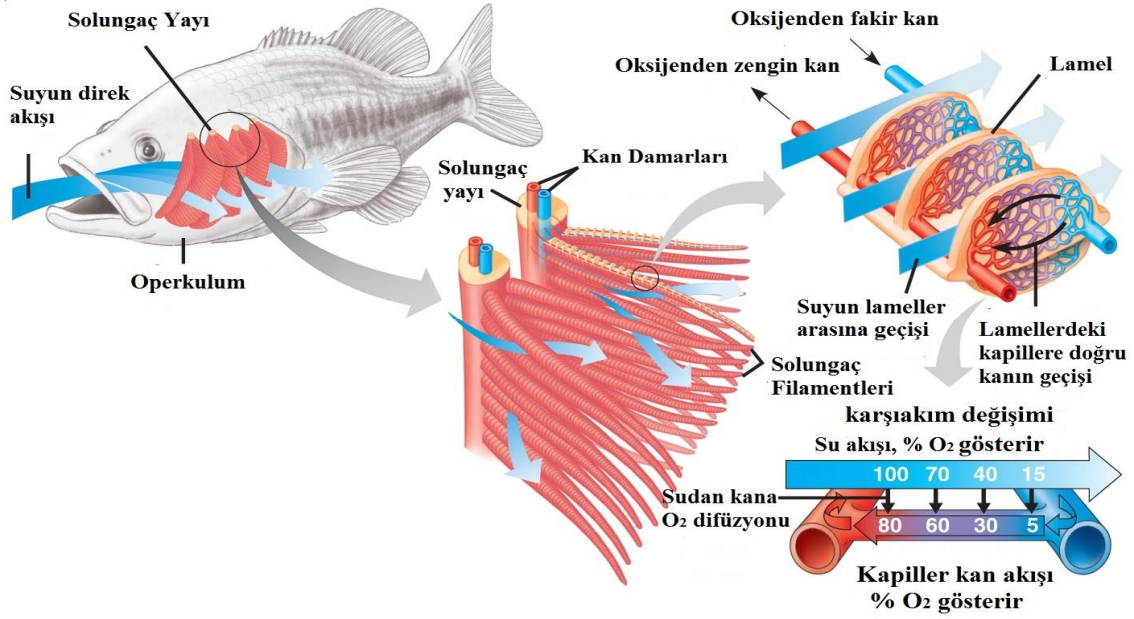
1.3.1.1. Solungaç anatomisi

Solungaçlar, suda yaşayan omurgalılarda dış solungaç ve iç solungaç olmak üzere iki gruba ayrılır. Kemikli balıklarda iç solungaç bulunmaktadır. Solungaçlar, yutak bölgesinde her iki yanda içten dışa doğru uzanan cep ya da yarık içinde bulunur. Bu tip solungaç yaprakları, kıkırdaktan yapılmış solungaç yayları üzerinde yer alır (Özmen, 1997; Wong ve Wong, 2000; Evans ve ark., 2005).

Birbirine komşu dört solungaç yayı vardır. Her bir yay, iki sıra birincil filament taşımaktadır. Solungaçlar primer ve sekonder lamellerin bulunduğu filamentlerden oluşmuştur. Filamentlerden gelen kan kırmızı renklidir. Her bir birincil filament, çok sayıda disk şeklinde lameller taşımaktadır. Bu lameller, afferent arterlerden efferent artere (kalpten solungaçlara gelen kanı geri götüren) uzanan çok sayıda kılcal damar içermektedir (Timur, 2008).

1.3.1.2. Solungaç fizyolojisi

Balıklarda solungaç, solunum organı olup, doğrudan ortam ile ilişkisi olduğundan toksikoloji çalışmalarında hedef organ olarak seçilmektedir (Pelgrom ve ark., 1995). Solungaçlar kanın oksijence zenginleştiği yerdir. Balıklar, solunumları sırasında ağızlarına aldıkları suyu solungaçlarından dışarıya bırakır. Suyun dışarı atılmasında ağız boşluğu pompa görevi üstlenmektedir. Suyun solungaç yaprakları arasında geçişi sırasında kandaki karbondioksit suya, sudaki çözünmüş oksijen de kana geçer. Bu değişimde solungaç filamentlerindeki zengin kılcal damarlar önemli görev üstlenir (Timur, 2006). Suda erimiş oksijen, tek sıra halindeki kapiller endotelyumdan kana geçerek, kan pigmenti olan hemoglobin tarafından tutulur ve dolaşım sistemi vasıtasıyla vücudun her hücresine ulaştırılır (Dündar, 2010) (Şekil 3).



Şekil 3. Balık solungaç fizyolojisi (<http://mycozynook.com/102RGCh200H.html>).

Balıklarda solungaç dokusu, gaz alış verişi, asit baz dengesi, iyon (Na^+ , Cl^- ve Ca^{+2}) taşınması ve azotlu atıkların atılmasında görev alan çok fonksiyonlu bir yapıya sahiptir. Solungaç epitelyumu, iyon taşınması ve gaz alış verişini kolaylaştırmak için dış ortamla etkileşecek geniş bir yüzey alanına sahiptir. Aynı zamanda yüksek damarlı yapıya sahip olması nedeniyle epitelyum, toksik maddeler için birincil hedef olmaktadır (Wong ve Wong, 2000; Evans ve ark., 2005; Olsvik ve ark., 2000).

Balıklar, Ca^{++} taşınması için özelleşmiş olan solungaçlara ve Ca^{++} homeostasisini gerçekleştirmek için gelişmiş bir Ca^{++} taşınma mekanizmasına sahiptir (Çoğun, 2008).

Solungaçlar, elektrokimyasal değişime karşı gerçekleştirilen, deniz suyundan pasif olarak giren fazla miktardaki NaCl (sodyum klorür)' nin atılmasında ve de tatlı sularda bunun tersi olarak ortamdan NaCl alımından sorumlu temel osmoregülatör organdır (Spry ve Wiener, 1991).

1.3.1.3. Solungaç histolojisi

Solungaç filamentlerini primer ve sekonder lamel yapıları oluşturur. Primer lamellerin ortasında hiyalin kıkırdak ve bu kıkırdak çevreleyen ekstrasellüler matriks mevcuttur. Kıkırdak etrafında kan damarları ve epitel hücreleri bulunmaktadır. Solunum yüzeyinin artmasında etkin rol oynayan sekonder lamel yapısında kapiller, destek hücreleri (pillar hücreleri), mukus ve solunum epitel hücreleri bulunur. Her iki sekonder lamel ile primer lamelin birleştiği bölgede ise iyon alışverişinin yapıldığı klorid hücreleri yer alır (Camargo ve Martinez, 2007).

Gaz alışverişini yapan epitelyum hücreleri, sekonder lamellerin dış boşluğa bakan yüzlerinde yassılaştırmış şekilde gözlemlenir. Mukus salgısının üçlü boyama ile belirlendiği mukus hücreleri ise hem sekonder lamellerde, hem de primer lamellerde bulunurlar (Evans ve ark., 2005).

1.3.2. Karaciğer dokusu

1.3.2.1. Karaciğer anatomisi

Karaciğer dokusu tüm balıklarda büyük olup, sazan balıklarında ön bağırsağın üstünde uzanır veya ön bağırsağı sarar. Karaciğerin sağ lobunun alt kısmında safra kesesi bulunurken, sol lob ise dalağı örter (Timur, 2008). İki loblu olan karaciğerin, her lobundan bir hepatik kanal çıkar ve safra kesesinden çıkan sistik kanalla birleşip genel safra kanalını oluşturur (Özmen, 1997).

Karaciğere kan iki kan damarı yolu ile gelmektedir. Portal ven (gelen kan hacminin %75-80'i), sindirim yolu, dalak ve pankreastan gelen kanı taşıırken; hepatik arter, oksijenlenmiş kanın %20-25'ini karaciğere ulaştırır (Kierszenbaum, 2006).

1.3.2.2. Karaciğer fizyolojisi

Balık karaciğeri, birçok hayati fonksiyonu kontrol eden anahtar organ olup, hem anabolizma hem de katabolizmada görev aldığı için balık fizyolojisinde önemli bir yere sahiptir. Karaciğer detoksifikasyon yapan hayati bir organdır (Mishra ve Mohanty, 2008). Toksik maddelere maruz kalınması, karaciğerde histolojik değişimlere neden olduğundan bu organ iyi bir biyolojik göstergedir (Uçar ve Atamanalp, 2008).

Karaciğerin görevleri, safra salgısı üretmek, glikozu glikojene çevirerek depolamak, çeşitli mineral ve vitaminleri depolamak, kanın pıhtılaşmasını sağlayan ve pıhtılaşmayı önleyen maddeler üretmek, ömrünü tamamlamış eritrositleri tahrip etmek, zehirli maddeleri zararsızlaştırmak, kan hücreleri üretmek ve kan depolamaktır (Timur, 2006; Dündar, 2010).

Safra yağları, emülsiyon haline getiren safra tuzlarıyla, kırmızı kan hücreleri ve hemoglobinin parçalanmasından oluşan bilirubin ve biliverdin gibi safra pigmentleri de içerir. Safra tuzları, yalnız yağların hidrolizine yardım etmeye değil, aynı zamanda bağırsaktaki sindirim öz sularının ve sindirim enzimlerinin iş görebilmesi için uygun alkaliniteye getirilmesine de yarar (Özmen, 1997).

Sinüzoid epiteli arasında bulunan kupffer hücrelerinin başlıca fonksiyonları, yaşlı eritrositleri metabolize etmek, hemoglobini sindirmek ve immünolojik olaylarla ilgili proteinleri salgılamaktır (Bulut, 2006). Kupffer hücreleri fagositoz yapar ve bu hücrelerin

yoğun fagositik yetenekleri ancak onlara yabancı madde verilmesiyle ortaya çıkar (Welsch, 1999).

1.3.2.3. Karaciğer histolojisi

Karaciğer, sazan balığı gibi bazı balıklarda hepatopankreas şeklinde bulunur. Hepatopankreas, balığın pankreas dokusunun diffüz bir şekilde karaciğerin içinde veya doku üzerinde yer almasıdır (Çelik, 2005). Sazan balıklarının karaciğer paraneşimini, poligonal şekilli karaciğer hücreleri ve bu hücreler arasında yer alan sinüzoidler oluşturur. Paraneşimin içerisinde, bölümler halinde pankreas ile safra kanalları mevcuttur (Gezen ve ark., 2005).

Karaciğer hücrelerinin çekirdeği, merkezi yerleşimli tek ve ökromatiktir. Bazen çift çekirdek gözlenebilir. Hematoksilin-Eozin (H.E.) boyama ile çekirdek ortasında bir adet koyu mor renkte çekirdekçik bulunur. Bazı karaciğer hücresi çekirdeklerinde iki ya da daha fazla çekirdekçik bulunabilir. Hematoksilin-Eozinle boyanmış kesitlerde, çok sayıda mitokondri ve bir miktar düz endoplazmik retikulumun bulunması nedeniyle hepatositin sitoplazması eozinofiliktir (Bulut, 2006).

Karaciğer hücreleri arasında düzensiz bir şekilde dağılmış olan sinüzoidler bulunur. Sinüzoidler ince bir bazal membran ile çevrili olup, tek katlı yassı sinüzoid epitel ile örtülmüştür. H.E. boyamaları ile bu hücrelerin sitoplazmaları boya almaz ancak yassı olan çekirdek koyu mor renkte gözlemlenir. Sinüzoidlerin kenarlarında fagositoz özelliğine sahip yıldız şeklinde kupffer hücreleri bulunur. Bu hücrelerin çekirdeği koyu mor boyanır ve çekirdekleri heterokromatin yapıdadır. Bu hücreler canlı herhangi bir toksik etkiye maruz kaldığında artış gösterirler (Eroschenko, 2001). Sinüzoidler içerisinde bol miktarda çekirdekli kan hücresi bulunmaktadır. Bu özellik, balıklarda karaciğerin kan depolamasından kaynaklandığını düşündürmektedir. Karaciğer paraneşiminde sinüzoidlere besinden zengin kanı getiren venler, kirli kanı götüren venler ve oksijenli kanı getiren arterler bulunmaktadır. Karaciğer hücrelerinin arasında sinüzoidlerin sonlandığı merkezi ven bulunur. Merkezi venlerin lümenlerinde kan hücreleri gözlemlenir (Gezen ve ark., 2005).

Karaciğerin birçok alanında lobçuklar halinde yayılmış pankreas asinusları bulunur. Bu yapılar, sitoplazmalarında bol miktarda zymogen granüller içeren poligonal şekilli hücrelerden oluşmaktadır. Bu hücrelerin sitoplazmaları H-E boyaması ile eozinofik görünümündedirler (Welsch, 1999).

1.3.3. Kas dokusu

1.3.3.1. Kas anatomisi

Balıklarda başın arkasından başlayan iskelet kasları, birbirine benzer segmentler halinde devam eder. Myomer olarak adlandırılan kas segmentleri omur sayısına eşit olup (Dünder, 2010), birbirlerine bağ doku bölmeleri ile (myoseptum) bağlanır ve vücudun tüm kaslarını oluştururlar (Timur, 2008).

Balıklardaki kas fibrilleri yapısal olarak sıcakkanlı canlıların kas fibrilleri ile aynıdır. Tek farkı uzunluklarıdır. Myomerlerin kalınlığı myofibrillerin uzunluğunu belirler. Myomerler, bağ doku yapısındaki myospektrumlar tarafından bölümlere ayrılmıştır. Dik yönde ayrılanlara myospektrum, zigzaglı (transversal) formda ayrılanlara ise myocommata denir (Dünder, 2010).

Balıklarda yan çizgi boyunca omurgaya doğru gelişen ve bağ dokusundan yapılmış bir yatay septum vardır. Bu septum, miyomerleri dorsal ve ventral olarak ikiye böler. Dorsal kısma epaksial, ventral kısma hipaksial kaslar denir. Dorsal kaslar, deri ile omurga arasındaki boşluğu dolduracak şekilde, tüm vücut boyunca iyi gelişmişlerdir. Ventraldeki kaslar ise, iç organlar bölmesinde ince bir tabaka halindedir. Epaksiyal kaslar, dorsal median septumların yan tarafında uzanan ve baştan kuyruk yüzgeçinin kaidesine kadar uzanan segmentli ve kitle halinde gelişmiştir ve bu kaslara, Musculus Lateralis Superior adı verilir (Sarihan ve Cengizler, 2006).

Kas dokusu, metabolik aktivite bakımından solungaç, karaciğer ve böbrek gibi organlarla karşılaştırıldığında daha az aktif olmasına karşın; sucul organizmalarda başlıca tüketilebilir kısmı oluşturduğundan, bu dokudaki metal birikiminin incelenmesi metalin besin zincirindeki aktarımını yansıtması bakımından önem taşımaktadır. Sucul organizmalarla yapılan araştırmalarda kas dokusundaki ağır metal birikiminin diğer doku ve organlara göre daha düşük olduğu ancak birikimin, etkide kalma süresindeki artışa bağlı olarak arttığı saptanmıştır (Çiftçi, 2010).

1.3.3.2. Kas fizyolojisi

İskelet kaslarının kasılma ve gevşemeleri istemlidir. Kasın kasılmasında, kas proteinleri, ATP ve Ca iyonlarına ihtiyaç vardır. Ca, kas aktivitesini regüle eden bir ajandır. Sinir impulsu kasa ulaşınca sarkoplazmik retikulumdan Ca iyonları serbest kalarak kasılma meydana gelir. Sinir impulsu durur durmaz, Ca süratle sarkoplazmik retikulum membranındaki Ca pompa sistemi ile geri alınır (Noyan, 2006).

Kas fibrilinin kasılması esnasında sarkomer kısalmaktadır. Buradaki aktin

filamentlerin M bandı yönünde kaymaları ve I ile H bantlarının da kısılması ile kasılma gerçekleşmektedir. Kasılmanın temeli fibrillerin kısalıp filamentlerin kaymasıdır (Öber ve İzzetoğlu, 2006).

1.3.3.3. Kas histolojisi

İskelet kasları fibra muskularis adı verilen kasın fonksiyonu ve yerine göre uzunlukları ve kalınlıkları değişiklik gösteren uzun kas liflerinden oluşur. Kas liflerinin çekirdekleri periferde yerleşik olup birden fazla bulunur. Kas lifinin plazma zarı sarkolemma, sitoplazması sarkoplazma, endoplazmik retikulumu ise sarkoplazmik retikulum olarak adlandırılır (Junqueira ve Carneiro, 2009).

Kas liflerinin etrafını endomizyum adı verilen ince bir bağ dokusu çevreler. Birçok kas lifi bir araya gelerek primer demetleri ya da kas fasiküllerini oluştururlar. Primer demetlerin etrafı perimizyum adı verilen kalın bir bağ dokusu ile çevrilmiştir (Welsch, 1999). Kas lifleri, kasılabilir özellikte olan aktin ve miyozin filamentlerinden oluşur. Bu filamentler kaslara çizgилilik özelliklerini verirler (Welsch, 1999).

Kas liflerinin arasını dolduran endomizyum retiküler ipliklerce zengindir. Primer demetleri oluşturan bağ dokusu sıkı yapıda olup, kollajen iplikler, kan damarları ve sinir lifleri ile fibroblast, fibrosit, makrofaj, plazma hücreleri ve lökosit gibi bağ dokusu hücrelerini içermektedir (Eroschenko, 2001).

1.4. Mikronukleus

Genotoksik testlerden biri olan mikronukleus (MN) testi, yaygın olarak balıklarda ve diğer sucul organizmalarda kolaylıkla uygulanabilir bir testtir (Anderson ve ark., 1994; Burgeot ve ark., 1995; Al-Sabti ve Metcalfe, 1995; Bolognesi ve ark., 1999; Saotome ve ark., 1999; Campana ve ark., 2003; Ali ve ark., 2008; Summak, 2009) (Şekil 4). Mikronukleus oluşum hızındaki artış, kimyasal ve fiziksel ajanların genetik materyalde oluşturduğu sitogenetik hasarın göstergesi olmaktadır. Mikronukleus (MN) hücrenin mitoz bölünme evresinde, ana çekirdeğe dahil olmayan kromozom parçalarından ve/veya tam kromozomlarından köken alan oluşumlardır (Al-Sabti ve Kurelec, 1985; Bolognesi 1996; Venier ve ark., 1997; Ayylon ve Garcia-Vazquez, 2000).

MN testinin diğer kromozom anormallikleri testlere göre daha yaygın kullanılma sebepleri arasında; kolay yapılabilir olması, daha kısa zamanda sonuç vermesi, güvenilir olması, az sayıda örneğin analiz için yeterli olması, ekonomik açıdan ucuz olması gibi nedenler gelmektedir (Al-Sabti ve Metcalfe, 1995; Burgeot ve ark., 1995). Bu sebepler doğrultusunda hem *in vivo* hem de *in vitro* çalışmalarda farklı ajanların mutajenik etkilerini değerlendirmek amacı ile kullanılmaktadırlar (Yırtıcı, 2007; Hovhannisyan, 2010).

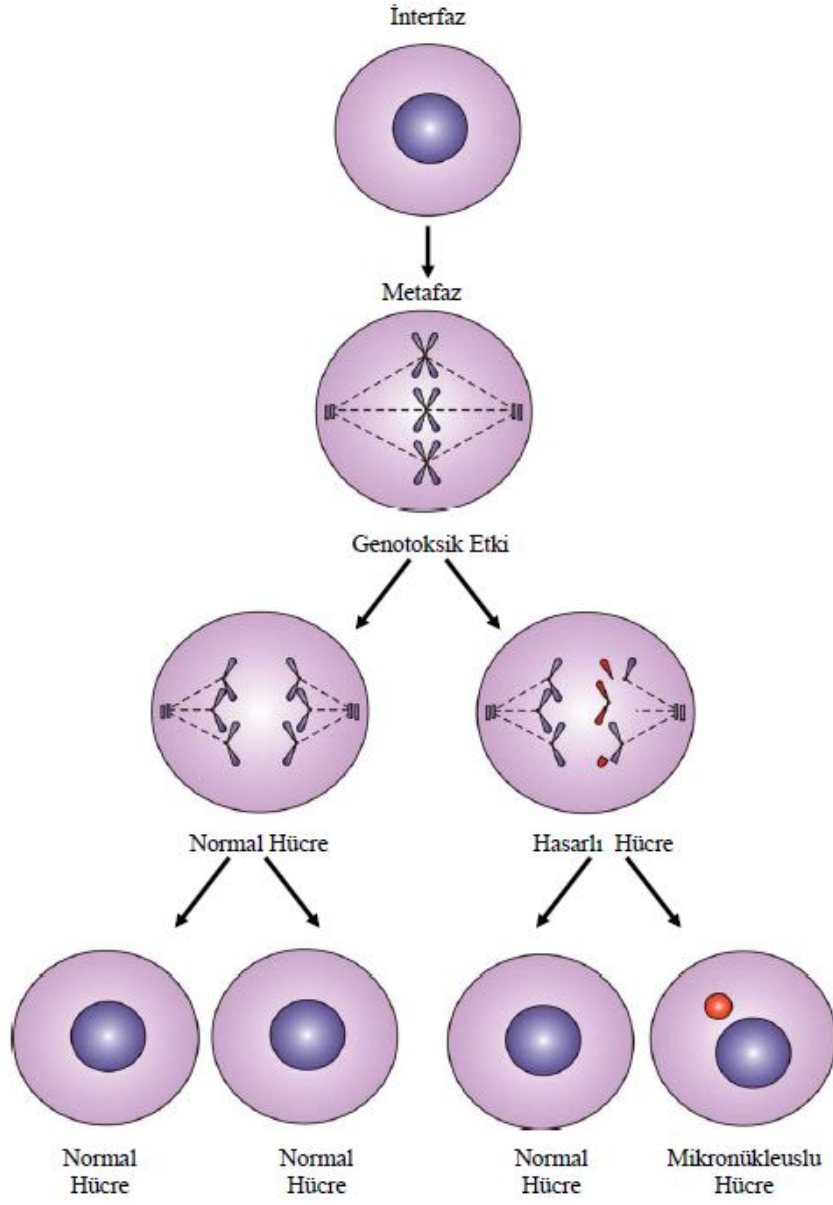
Mikronukleusun oluşumunda tanımlanmış 4 mekanizma belirlenmiştir. Bunlar;

- mitotik asentrik fragmentlerinden köken alan,
- kromozomal kırık ve değişimlerin mekanik sonuçlarındaki çeşitlilik,
- mitoz sırasındaki mitotik iğ ipliklerindeki hatadan veya anafazdaki kompleks konfigürasyonlardan dolayı bütün kromozomun kaybı ve
- apoptozistir (Demirel ve Zamani, 2002; Yırtıcı, 2007; Sevinç, 2008).

MN testi, mitoz geçiren hücre popülasyonu gerektirir. Bu nedenle hücre döngüsünün süresi bilinmelidir. Bu süre, türler arasında farklılık gösterir. Balıklar poikiloterm hayvanlardır. Bu nedenle yaşam alanlarının sıcaklığı önemlidir. Hücreler, retikülosit evresindeyken (mutagenezde polikromatik eritrositler olarak bilinir) normokromatik eritrositlere olgunlaşacağı yer olan periferel dolaşıma salınır (Yırtıcı, 2007).

MN sıklığının değerlendirilmesinde dikkate alınması gereken durumlar arasında:

- hücrenin hasar görmemiş olması ve diğer hücrelerle füzyon oluşturmaması,
- mikronukleusun etrafının düzgün ve büyüklüğü ana nukleusun 1/3'ü ile 1/16'sı arasındaki büyüklükte olması ve aynı boyanma özelliklerini göstermesi,
- nüklear olmayan partiküllerden farklı olarak ışığı yansıtması gerekir (Fenech ve Morley, 1985).



Şekil 4. Mikronükleus oluşum aşamaları (Könen, 2008).

BÖLÜM 2**ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR****2.1. Mikronukleus ile İlgili Daha Önce Yapılmış Çalışmalar**

Bombail ve ark. (2001) genotoksik etkiyi iki farklı bölgeden temin ettikleri butterflyfish (*Pholis gunnellus*) üzerinde mikronukleus ve nukleus değişikliklerini inceleyerek tespit etmişlerdir. Endüstriyel kirliliğin olduğu Firth of Forth, Scotland bölgesinin iç kısmından alınan balıklarda eritrosit mikronukleus frekanslarının, bölgenin dış kısmından (kontrol alanı) alınan örneklerde görülenden daha fazla olduğunu bulmuşlardır. Bunun nedeninin de bölgenin iç kısmında kontaminasyon yaratan ajanlardan dolayı olduğunu belirtmişlerdir.

Russo ve ark. (2004), İtalya’da farklı mutajenik kirleticilere maruz bir alan olan Sarno Nehri ve çalışmada kontrol alanı olarak kullanılan Astroni Gölünden aldıkları doğu sivrisinek balıkları (*Gambusia holbrooki*) üzerinde eritrosit mikronukleus çalışmaları yapmışlardır. Mikronukleus frekansının, kirli olan Sarno Nehrinden alınan örneklerde, kontrol bölgesinden alınan örneklemelere göre istatistiksel olarak daha yüksek oranda olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda Sarno Nehri’ndeki kirleticilerin genotoksik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.

Baršienė ve ark. (2006), çalışmalarında ham petrole maruz kalan kalkan balığı (*Scophthalmus maximus*) ve atlantik morinasında (*Gadus morua*) sefalik böbrek ve periferalden alınan kan eritrositlerinde mikronukleus ve diğer nükleer anormalliklerine (çentikli nükleus, tomurcuklu nükleus, loblu nükleus ve binükleus) bakmışlardır. Balıklar ortama alıştıktan sonra 3 hafta boyunca 0.5 ppm ham petrole, 30 ppb nonylphenol, 0.5 ppm Hint sümbülü yağına maruz bırakılarak, kontrol grubuyla periferik kan örnekleri, böbrek üstü bezleri ve nükleer anormallikler karşılaştırılmıştır.

Bolognesi ve ark. (2006), yaptıkları çalışmada kalkan balığında (*Scophthalmus maximus*) mikronukleus ve çekirdek anomalilerini incelemiştir. Balıkları farklı kimyasallara (dialkil fitalat, bisfenol A ve tetra bromo difenil ether) tek tek maruz bıraktıkları gibi kimyasalları bir arada da vermişlerdir. Özellikle kimyasallar birlikte verildiğinde, mikronukleus ve çekirdek anomalilerinde anlamlı bir artış olduğu gözlemlenmiştir.

Deguchi ve ark. (2006) çalışmalarında Japon balığını (*Carassius auratus*), 9 gün süresince endüstriyel ve yerel atık alanlarındaki sızıntı sularına maruz bırakarak, genotoksik etkiyi eritrosit ve solungaç dokularında mikronukleus testini uygulayarak belirlemişlerdir. Normal ya da işlenmiş sızıntı sularında yapılan deneylerle mikronukleus

frekansları değerlendirilmiştir. Solungaç eritrosit hücrelerinde mikronukleus frekansı yüksek olurken, periferik eritrosit hücrelerinde mikronukleus tespiti yapılamamıştır.

Ergene ve ark. (2007a), yaptıkları çalışmada Göksu Deltasının 2 sucül ekosistemi olan Paradeniz ve Akgöl Nehirlerinden aldıkları karayayın (*Clarias gariepinus*), inci balığı (*Alburnus orontis*) ve has kefal (*Mugil cephalus*) türlerini inceleyerek nehirdeki ağır metallerin (Cu, Cd, Ni, Pb) balıklar üzerine genotoksik etkilerini, mikronukleus (MN) ve nükleer buds (NB) değerlerine bakarak belirlemişlerdir. Çalışma sonunda Göksu Deltası'nın genotoksik kirleticiler ile kontamine olduğu, bununla tarım ve antropojenik atık sularının deşarjı ile ilgili olduğunu belirtmişlerdir.

Ergene ve ark. (2007b), yaptıkları bir diğer çalışmada Berdan Nehrinde biriken endüstriyel ve evsel atıkların balıklarda genotoksik etkisini araştırmak için mikronukleus testini kullanmışlardır. Laboratuvarında Nil tilapyası (*Oreochromis niloticus*) balıkları nehrin farklı bölgelerinden, farklı mevsimlerde alınan su örneklerine 2, 4 ve 6 gün boyunca maruz bırakılmıştır. Balıklarda, periferalden alınan kan eritrositleri, solungaç hücreleri ve kaudal yüzgeç epitel hücrelerindeki mikronukleus frekanslarına bakıldığında nehrin farklı bölgelerinden alınan su örneklerine göre balık dokularındaki MN frekanslarının değiştiği görülmüştür.

Yırtıcı (2007), çalışmasında *Cyprinus carpio*'nun eritrositlerinde tartrazinin (gıda katkı maddesi) genotoksik etkisinin araştırmıştır. Balıklar tartrazinin 250, 500, 1000 ve 1500 mg/L dozlarına 24, 48 ve 72 saat süreyle maruz bırakılmıştır. Mikronukleus frekansı kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, hem doza hem de zamana bağlı bir artış gösterdiğini belirtmişlerdir.

Ali ve ark. (2008), çalışmalarında Nil Nehri ve diğer 3 bölgeden (Abou Homous, Kafr Eldawar ve Mariout Nehri) alınan balıklar, nil tilapyası, mavi tilapya, tatlı su çuprası ve karabalık (*Oreochromis niloticus*, *Oreochromis aureus*, *Tilapia zilli* ve *Clarias gariepinus*) üzerinde MN frekanslarına bakmışlardır. Nil Nehrinden alınan örnekler Nil Nehri suyu içme suyu olarak kullanılmasından dolayı kontrol grubu olarak belirlenirken diğer 3 bölgeden alınan balıklar deneme grubu olarak kullanılmıştır. Farklı bölgeler ve türler arasındaki MN frekansı bakılarak en yüksek MN frekansının Mariout Nehrindeki *Clarias gariepinus* türünde olduğunu belirtmişlerdir.

Koca ve ark. (2008), Büyük Menderes Nehrinde iki balık türü bıyıklı balık ve karaburun (*Barbus capito pectoralis* ve *Chondrostoma nasus*) üzerinde su kirliliğinin genotoksik ve histopatolojik etkilerini araştırmışlardır. Eritrosit mikronukleus frekansı istasyonlar arasında farklılık göstermemiştir. Bunun yanında histopatolojik bakımdan incelenen solungaç, karaciğer ve kas dokusunda farklılıklar tespit edilmiştir.

Summak (2009), yaptığı çalışmada Nilüfer Çayında kirleticilerin genotoksik etkilerini İsrail sazanında (*Oreochromis niloticus*) mikronukleus testi ile belirlemiştir. Çalışmada Nilüfer Çayının üç farklı bölgesinden alınan su örneklerinin fizikokimyasal analizlerinde Al, Cd, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb ve Zn oranlarının oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir. İstasyonlar kendi aralarında mikronukleus oranı açısından karşılaştırılmıştır. Baraklı (temiz bölge) ile Buttım ve Balıklı (kirli bölgeler) bölgelerine ait su örneklerine maruz bırakılan balıkların eritrositlerinde önemli oranda mikronukleus artışı olduğunu gözlenmiştir.

2.2. Histopatoloji ile İlgili Daha Önce Yapılmış Çalışmalar

Walsh ve ark. (1994), laboratuvar ortamında kefal balıkları (*Chelon labrosus*) üzerinde yaptıkları kontrollü çalışmada, balıklar deri tabaklama atıklarının içerdiği Cr (III) derişimlerine 2 ay süreyle maruz bırakılmış ve karaciğer dokusundaki krom birikiminin diğer dokulara oranla daha yüksek düzeyde olduğu saptanmıştır. Deney süresi sonunda balıklarda mortalite gözlenmezken, karaciğer dokusundaki yüksek metal birikimine rağmen herhangi bir histopatolojik değişim gözlenmemiştir.

Özmen (1997), çalışmasında yeme verdiği selenyumun sazan balığı (*Cyprinus carpio* L.) üzerine etkisinin incelendiği bu çalışmada, 2.5, 5.0, 10.0 ve 20.0 ppm Se (Na_2SeO_3) yeme katılarak, balıkları 5 ay beslemiştir. Balığın karaciğer, böbrek, et, deri, solungaç, bağırsak örneklerinde biriken ve dışkı ile atılan selenyum düzeyleri belirlenerek sonuçları kontrol grubu ile karşılaştırmıştır. Deney sonuçlarında, yemde artan selenyum miktarına bağlı olarak, dışkı ile atılan, dokular ve organlarda biriken Se miktarında da artma olduğunu göstermiştir. Doku ve organlardaki birikim miktarının ise en fazla karaciğerde en az ise kas dokusunda olduğunu belirlemiştir.

Walsh ve O'Halloran (1997), araştırmasında mavi midye (*Mytilus edulis*) de kromun farklı formlarının (Cr (III)-albümin, tabakhane atık Cr (III), Cr (OH) 3, Cr (VI), Cr (III) sitrat)'ın 4 hafta süre ile maruziyetinde hepatopankreas, kas, manto, solungaç ve böbrek dokusunda metal birikimi incelenmiş ve tüm formlarının etkisinde birikimin en yüksek hepatopankreas dokusunda olduğunu belirlemiştir.

Barlas (1999) tarafından Yukarı Sakarya Havzasında 5 istasyonda mevsimsel olarak sazan (*Cyprinus carpio*) balıklarının solungaç, karaciğer ve böbrek dokularında histopatolojik çalışmalar yapılmıştır. Kirlilięe bağlı olarak en fazla morfolojik değişikliklerin solungaçta, daha sonra karaciğer ve böbrekte olduğu tespit edilmiştir. Solungaç histopatolojisinde, sekonder solungaç lamellerinin birbiri ile kaynaşıp normal görünümünün bozulduğu, solungaç epitelinde hiperplazi, mukus hücrelerinde

hipersegregasyonu ve primer lamelin ayrıldığı görülmüştür.

Korwin-Kossakowski ve Ostaszewska (2003), kuluçkahaneden alınan üç günlük sazan (*Cyprinus carpio*) balığı larvaları otuz günlük olana kadar 7 mg. NO₂-N dm⁻³ (nitrit nitrojen) suya eklenen tanklarda kültüre alınmışlardır. Larval süresi tamamlanan balıklarda histopatolojik çalışmalar yapmışlardır. Solungaç, kalp, karaciğer, böbrek, boğaz ve mesanede histolojik doku değişimlerini belirterek nitritin sucul hayvanlara olan toksik etkilerini belirtmişlerdir.

Karaytug ve ark. (2007), çalışmasında kadmiyumun 0,1, 0,2, 0,4 ve 0,8 ppm derişimlerinin 1, 3, 15 ve 30 gün sürelerle etkisinde bırakılan sazan (*Cyprinus carpio*) balığının solungaç, karaciğer, böbrek, dalak, kas ve beyin dokularındaki kadmiyum birikiminin ICP-AES spektrofotometrik yöntemler kullanarak belirlemişlerdir. Kadmiyum birikiminin dokular arasındaki ilişkisi Böbrek>Solungaç>Karaciğer>Dalak>Kas>Beyin olarak tespit ederek, böbrek dokusunun kadmiyum için hedef organ olduğunu saptamışlardır.

Katalay ve ark. (2007), çalışmalarında kirliliğinin çevre sağlığına olan etkilerini belirlemek için İzmir körfezinin temiz ve kirli bölgeleri olarak belirlenen kısımlarından alınan kaya balıklarında (*Gobius niger*) histopatolojik çalışma ile toksisitenin solungaç dokusundaki etkisinin araştırılması ve beslenme yolu ile sığanlara olan yansımını çalışmışlardır. Solungaç dokusu incelenen balıklarda toksik etkinin minimal değişiklikler olarak gözlenmesi çevre kirliliğinin varlığına işaret etmektedir. Bu balıklarla beslenmiş sığanlarda hem gebelikte hem de gelişimde patolojiye rastlanmaması, balıkta saptanan minimal toksik etkinin insan sağlığına tehdit oluşturmadığını göstermiştir.

Mishra ve Mohanty (2008), çalışmalarında *Channa punctatus* balığında krom (VI) (K₂Cr₂O₇) LC₅₀ değerini belirleyerek akut kronik test için 20 mg/L ve 40 mg/L konsantrasyonlarında 96 saat bu ağır metale maruz bırakmışlardır. Çalışma sonunda, karaciğer, solungaç ve böbrek dokularında histopatolojik değişimleri değerlendirmişlerdir. Solungaçdaki dejenerasyonun karaciğer ve böbreğe göre daha fazla olduğu görülmüştür. Akut krom toksitesi, vital organlarda birçok etki ve davranış değişimi göstermesinden dolayı, balık popülasyonuna zararlı olabileceği çalışma sonuçları göstermektedir.

Vinodhini ve Narayanan (2008), çalışmalarında kontamine sularda ağır metale maruz kalan tatlı su balıklarının çeşitli organlarındaki ağır metalin biyoakümüülasyonunu belirlemişlerdir. Bu amaçla, deney balıkları 32 gün krom (Cr), nikel (Ni), kadmiyum (Cd) ve bakırın (Pb) sublethal konsantrasyonlarına maruz kalmıştır. Analizler atomik absorpsiyon spektrofotometri yöntemi kullanılarak 8, 16, 32. gün yapılmış olup kontrol grubu ile karşılaştırmıştır. Çalışmada böbrek, solungaç ve karaciğer dokularında kurşun ve

kadmiyum, krom ve nikele göre daha çok biriktiğini gözlemlemişlerdir. Solungaç ve karaciğer dokusunda $Cd > Pb > Ni > Cr$ ve $Pb > Cd > Ni > Cr$, böbrek dokusunda $Pb > Cd > Cr > Ni$ birikim oranlarını vermiştir.

Kolbaşı (Tekkan) (2008), kullanım alanı çok geniş olup, çevreye karşı büyük tehdit oluşturan kimyasal maddelerden biri olan perklorat tuzlarından sodyum perkloratın ($NaClO_4$) çevre sağlığına olan etkilerini Moli balığı (*Poecilia sphenops*) üzerinde uygulayarak göstermiştir. Farklı perklorat konsantrasyonlarına (1, 5, 25 ve 125 ppm) 10 gün boyunca maruz bırakılan hayvanların karaciğer ve tiroid dokularında histolojik incelemeler yapmıştır. Tiroid dokusunda perklorat konsantrasyonu artışına çoğunlukla paralel olarak folikül hücrelerinde hipertrofi ve hiperplazi, kolloid sıvısında azalma ve/veya heterojen görünüm ile yeni damar oluşumları ve folikülleri çevreleyen damarlarda genişlemeler gözlemiştir. Karaciğer dokusunda ise melanomakrofaj merkezlerindeki hücre sayılarında artış; sinüoitlerde ve hepatopankreasta kanlanma; hepatositlerde yağlanma; nukleus şekillerinde bozulma; nekroz ve fibröz doku oluşumu gözlenen değişimler arasındadır.

Velma ve Tchounwou (2010), Japon balığı (*Carassius auratus*) üzerinde, krom VI'nın farklı konsantrasyonları ($LC_{12.5}$, LC_{25} ve LC_{50}) ile 96 saat statik yenileme uygulayarak yaptıkları çalışmalarında balığın karaciğer ve böbrek dokularındaki histopatolojik değişimlere bakmışlardır. Histopatoloji analizleri sonucunda karaciğer ve böbrekteki patolojik bulguların kromun dozlarıyla doğru orantılı arttığını ve çeşitli lezyonlar tespit ettiklerini belirtmişlerdir.

Bulut (2010), tez çalışmasında balık hastalıklarında profilaktif ve tedavi amacıyla yaygın bir şekilde kullanılan bakır sülfat ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) ve formaldehitin (CH_2O) gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) histopatolojik ve hematolojik etkilerini incelemiştir. Bakır sülfatın 0,5 mg/L (24 saat), 3,0 mg/L (18 saat), 500 mg/L (1-2 dk.) ve formaldehitin 250 ml/L (1 saat), 500 ml/L (45 dk.) konsantrasyonlarına balıkları maruz bırakmıştır. Histopatolojik bulgularda solungaç lamellerinde, pillar ve epitelyum hücrelerinde dejenerasyon, nekroz, kas dokularında dejenerasyon, karaciğerde sinuzoidal boşluklar, venalarda konjesyon, damarlarda hasar ve hepatositlerde dejenerasyon belirlenmiştir.

Çiftçi (2010), araştırmasında krom (VI)'nın 0,5, 1,0 ve 2,0 ppm'lik derişimlerini 7, 15 ve 30. gündeki etkisini Nil tilapyası (*Oreochromis niloticus*), sazan (*Cyprinus carpio*), karayayın (*Clarias gariepinus*) ve mavi yengeç (*Callinectes sapidus*) dokularındaki metal birikimine bakmıştır. Çalışılan kas, solungaç, karaciğer ve hepatopankreas dokularında krom birikimi, metalin ortam derişimi ve etkide kalma süresindeki artışa bağlı olarak

artmıştır. Birikim balıklarda en yüksek karaciğer, *C. sapidus*'da ise 0,5 ppm dışında solungaçlarda olurken, balık türleri arasında en yüksek *C. gariepinus*'da olduğu belirlenmiştir.

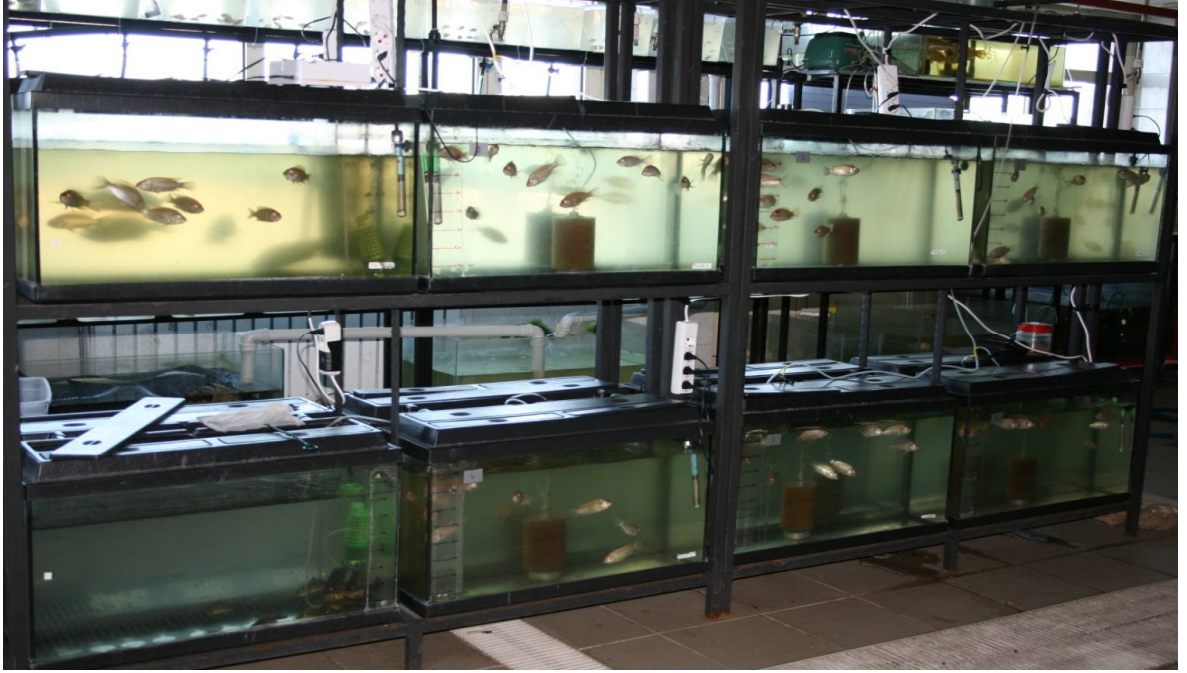
Dündar (2010), çalışmasında arsenik (As) toksisitesine maruz kalan pullu sazan (*Cyprinus carpio*) balıklarında meydana gelen oksidatif strese karşı propolisin etkilerini gözlemek amacıyla biyokimyasal, hematolojik, histolojik ve mikrobiyolojik analizler yapmıştır. Kontrol grubu, arseniğe maruz bırakılmış sazan, propolis uygulanmış sazan ve arsenik ile birlikte propolis uygulanmış sazan balıkları olmak üzere 4 grup oluşturmuştur. Histopatolojik çalışmalar sonucunda; arseniğin karaciğer ve kas dokularında çok bariz histopatolojiye neden olmadığı gözlenirken solungaç dokusunda sekonder lamellerde birleşmelerin ve hücre kayıplarının olduğu, hatta yer yer sekonder lamellerin düzleştiğini görmüştür. Arsenik ve propolis beraber uygulandığında dokularda bu hasarların daha az olduğunu tespit edilmiştir. Eritrosit morfolojileri bakımından gruplar arasında belirgin bir farklılık gözlenmemiştir.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Deney Materyali

Bu çalışma kapsamında kullanılan sazan (*Cyprinus carpio* L.) balıkları Akdeniz Su Ürünleri Araştırma ve Eğitim Enstitüsünden satın alınmıştır. Balıklar Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik Laboratuvarlarına getirildikten sonra adaptasyon tanklarına alınarak, on iki saat aydınlık on iki saat karanlık fotoperiyotta, uygun balık yemleriyle beslenmiştir. İki hafta ortama adapte edilen balıklar 100 litrelik cam akvaryumlara alınarak iki hafta da cam akvaryumlarda ortama adapte edilmişlerdir (Şekil 5).



Şekil 5. Deney akvaryumları düzeneği.

Deneyde ortalama $35,8 \pm 4$ gr. ağırlığında, $12,3 \pm 1,12$ cm. boyunda balıklar kullanılmıştır. Deneyler süresince balıklar, günde bir kez aynı saatte toplam biyomasın %2'si kadar hazır sazan yemi ile beslenmişlerdir.

Çalışmamızda dinlenmiş çeşme suyu (pH $6,9 \pm 0,3$, çözülmüş oksijen $4,68 \pm 0,6$ mg/L, tuzluluk 0,2 ppt, amonyak 0,142 mg/L, sıcaklık $21,2 \pm 0,7$ °C) kullanılmıştır.

Sazan balığı için $K_2Cr_2O_7$ konsantrasyonlarının belirlenmesinde, 96 saatteki LC_{50} ($93,6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) değeri baz alınmıştır (Al- Akel ve Shamsı, 1996). Çalışmada kullanılan

krom (VI) metali Merck firmasından temin edilmiştir.

Kontrol grubu tanklara krom içermeyen dinlenmiş çeşme suyu konmuştur. Deneme 3 tekerrürlü dizayn edilip, çalışmamızda 3 kontrol tankı 9 deneme tankı olmak üzere toplam 12 tank kullanılmıştır. Her akvaryuma 10'ar adet balık konulmuştur. Deney tanklarındaki krom miktarı LC₂₅ (37,44 ppm), LC_{12,5} (18,72 ppm) ve LC_{6,25} (9,36 ppm) olarak suya çözülmüş olarak verilmiştir. Balıklar 14 gün boyunca belirlenen farklı krom (VI) konsantrasyonlarına maruz bırakılmıştır. Balıklarda deney sürecinde mortalite gözlemlenmemiştir.

Araştırmalar süresince akvaryumlardaki krom çözeltilerinin derişiminde adsorbsiyon, presipitasyon ve evaporasyon gibi nedenlerle değişimler olabileceğinden, deney çözeltileri her gün stok çözeltiden uygun seyreltmeler yapılarak, sabah akvaryumdaki suyun % 30'u, akşam %70'i olmak üzere değiştirilmiş ve ortam yenilenmiştir.

Denemede 0. gün ve 7. gün her akvaryumdan 3'er balık, 14. gün ise her akvaryumdan 4'er balık alınarak bütün balıklar incelenmiştir. Alınan balıklar MS222 (Sigma) (Yıldırım ve ark. 2009) anestezi maddesi ile bayıldıktan sonra öncelikle mikronukleus testi için kaudal venalarından kan örnekleri alınmıştır. Daha sonra histopatolojik analizler için balıklar diseksiyon edildikten sonra karaciğer, solungaç ve kas dokuları alınarak incelemeler yapılmıştır ve önemli alanlar mikrofotografi metoduyla fotoğraflanmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Mikronukleus analizleri

Mikronukleus analizleri balıkların kuyruk yüzgecinden periferik kan örnekleri alınarak gerçekleştirilmiştir.

Her örnek için üç yayma preparat hazırlanarak, preparatlar havada kurutulduktan sonra %95'lik etanolde 20 dk. süresince fikse edilmiştir. Fikse edilen preparatlar tekrar havada kurutulduktan sonra %5'lik Giemsa (Bio Optica) solüsyonunda 20 dk. süresince boyanmıştır. Boyama işleminden sonra preparatlar saf sudan geçirilerek fazla boyadan arındırılmışlardır. Preparatlar kuruduktan sonra entellen ile lameller kapatılarak daimi preparatlar hazırlanıp ışık mikroskobu (Olympus BX51) altında değerlendirilmiştir. Her preparattan 1000 hücre sayılarak mikronukleus (MN) ve çekirdek anomalileri (tomurcuklu, çentikli, loblu, binukleus) tesbit edilmiştir. MN ve çekirdek anomalileri mikrofotografi metoduyla fotoğraflandırılmıştır.

Mikronukleus çalışmalarındaki veriler istatistiksel değerlendirmede tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak yapılmıştır. Konsantrasyon ve uygulama süresi arasındaki ilişkiyi belirlemek için çift yönlü varyans analizi kullanılmıştır.

3.2.2. Histopatolojik analizler

Krom (VI) verilen balıkların solungaç, karaciğer ve kas dokuları alındıktan sonra %10'luk formaldehit solüsyonunda 24 saat süre ile fikse edildikten sonra akarsuda 12 saat yıkanan dokular dereceli alkollerden (%70, %80, %90, %96, %100) toplam 6 saat süre geçirilerek dehidrasyon sağlandı. Dokular % 50 alkol + % 50 xylene karışımında 30 dk bırakıldıktan sonra 2 saat xylene bekletilerek şeffaflandırıldı.

3.2.2.1. Doku gömme işlemi

Xylenen çıkartılan dokular 58 derecedeki etüv içinde bir (1) saat süre ile xylene+parafin karışımında bekletildi. Daha sonra 3 saat parafin içine konuldu. İnkübatörden (Nüve EN055) alınan örnekler parafine gömme cihazı (Slee MPS) ile gömüldü. Gömülen doku örnekleri kesilinceye kadar -20 de bekletildi.

3.2.2.2. Kesit alma

Doku örnekleri mikrotomda (Thermo Scientific) 4-5 mikron kalınlığında kesildikten sonra parafin banyosu içinde açtırılarak lam üzerine alındı.

3.2.2.3. Boyama işlemi

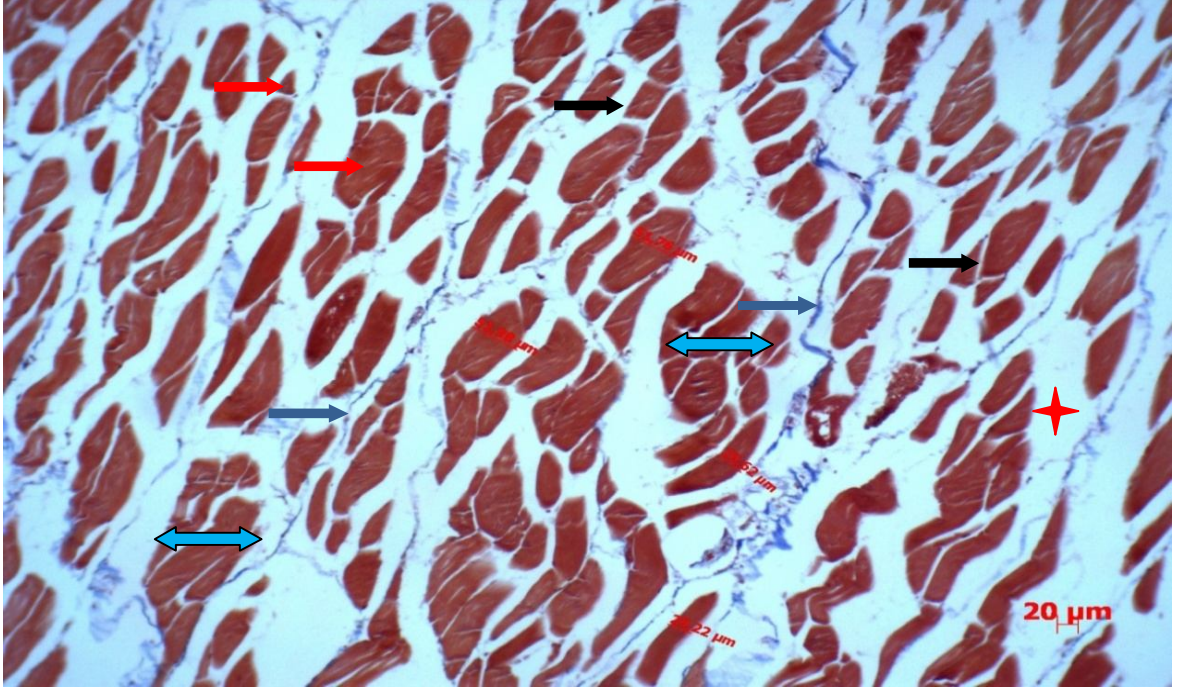
Lama alınan dokular kuruduktan sonra, boyama cihazı (Leica Austainer XL) ile Hematoksilen-Eosin (H&E) (Bio-Optica 05-06004) ile boyandı (Luna, 1968). Masson trichrome (Bio-Optica 04-010802) boyaması ile hücrenin çekirdek ve sitoplazmalarının yanı sıra bağ dokudaki yapılar da boyandı.

3.2.2.4. Dokuların kapama ve değerlendirme işlemleri

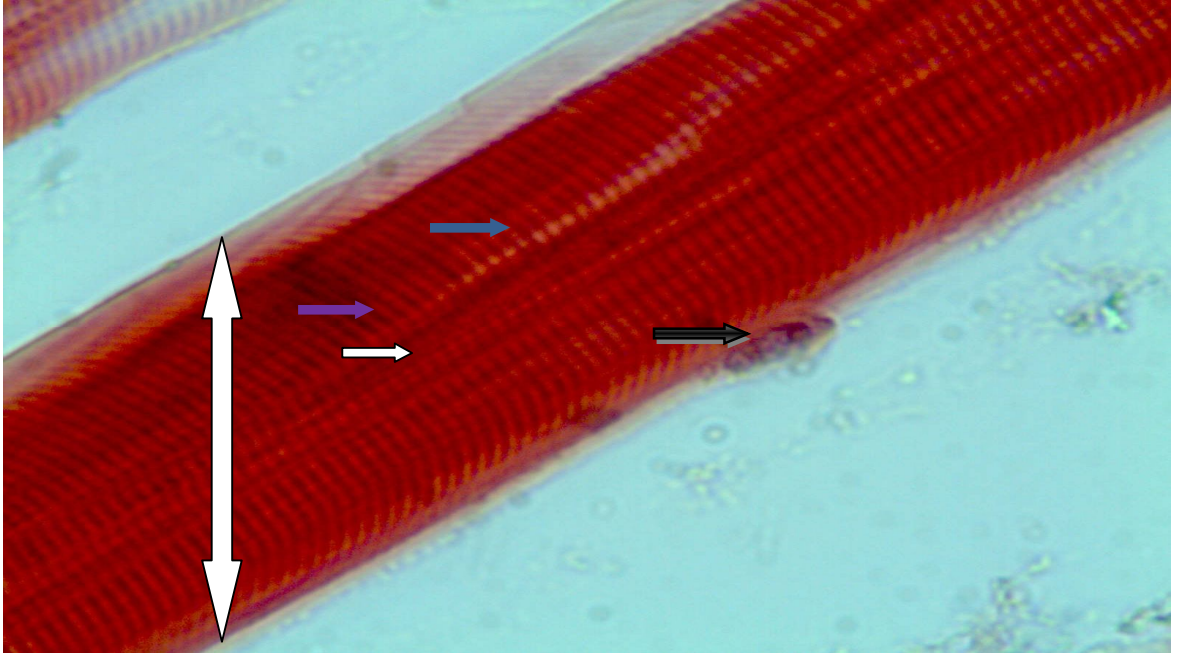
Boyanan preparatların kalıcı olmasını sağlamak amacıyla dokular üzerine lamel entellan yapıştırıcısı ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopunda (ZEISS AX10-Scope.A1) değerlendirildikten sonra bulgular dijital kamera (Zeiss AxioCam ICc3 3.3 megapixel) ile fotoğraflandı.

BÖLÜM 4**ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA****4.1. Histopatolojik Bulgular:****4.1.1. İskelet kas dokusu:**

4.1.1.1. İskelet kas dokusu kontrol grubu: Sazan balıklarının iskelet kası dokuları Hematoksilen-Eozin (H.E.) ve Masson trikrom boyamaları ile boyandı. Masson trikrom boyaması ile hücreler arası bağ dokusunu oluşturan kollajen lifleri mavi, hücre çekirdekleri siyah, hücre sitoplazmaları ise kırmızı boyandı. H.E. ve Masson trikrom ile boyanan kas dokularının normal yapısının kas lifleri ile bu lifleri çevreleyen endomizyum, kas liflerinin birleşmesi ile oluşan primer demetler ve bu demetleri çevreleyen perimizyum adı verilen bağdokusundan oluştuğu gözlemlendi. Primer demetlerin bir araya gelerek sekonder kas demetlerini oluşturdukları gözlemlendi. Sekonder demetleri bağlayan bağdokusunda kollajen yoğun iken, primer demetler arasında daha az olarak belirlendi. Kas lifleri arasında ise kollajene çok az rastlandı (Şekil 6). H.E. boyaması ile kırmızı renkte boyanan kas liflerinin hücre çekirdeklerinin periferde yerleşik ve birden fazla sayıda oldukları görüldü. Her iki boyama sonucunda kas liflerinin farklı çaplarda oldukları tespit edildi. H.E. boyaması ile kas liflerinde aktin ve miyozin filamentlerinin oluşturduğu kalın ve ince bantlar gözlemlendi (Şekil 7).

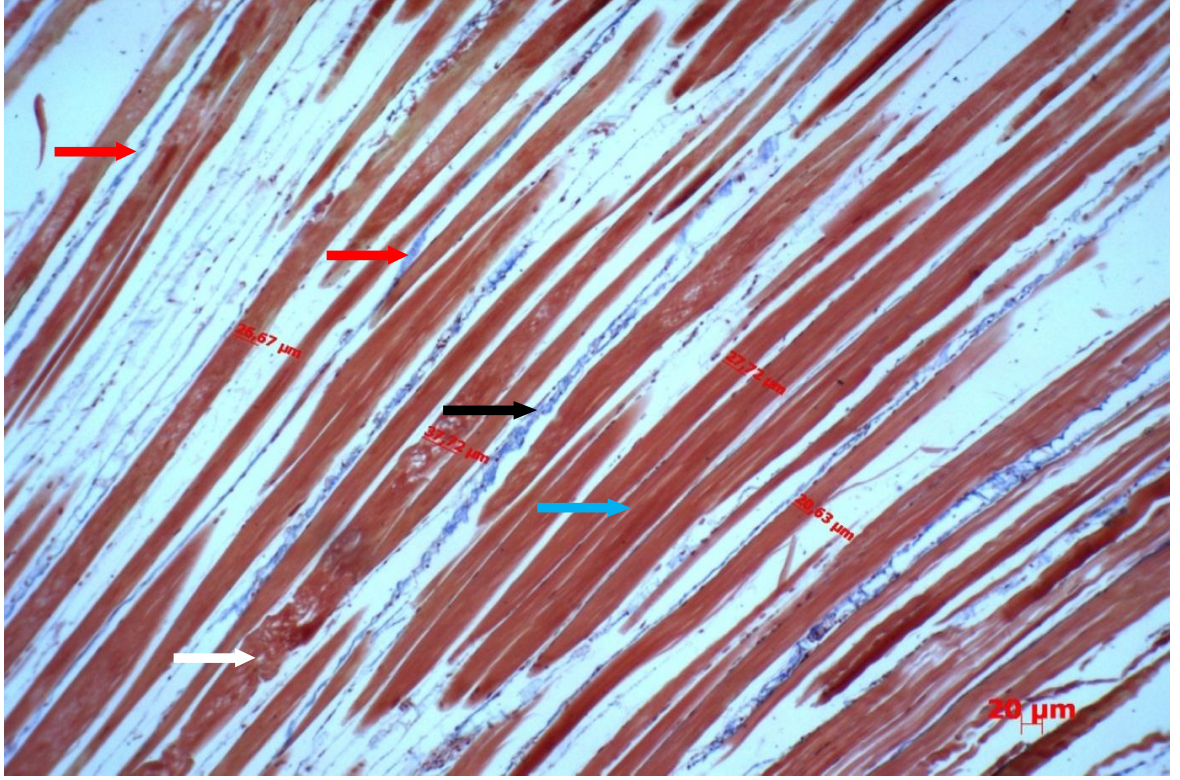


Şekil 6. İskelet kası kontrol grubu. Farklı çaplardaki kas fibrilleri (kırmızı ok), primer demetler (mavi ok), endomizyum (siyah ok), perimizyum (kırmızı yıldız), kas lifleri ve kas demetleri arasındaki kollajen (mor ok). Masson trichrome x 10.



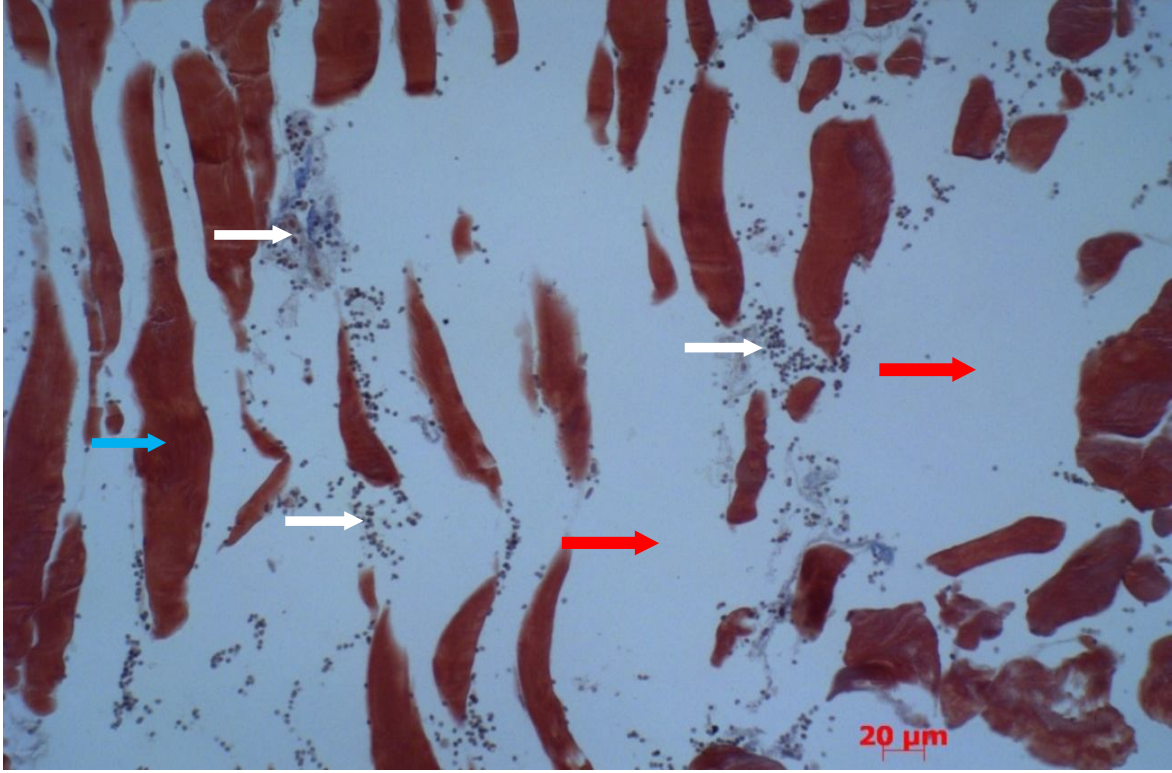
Şekil 7. İskelet kası kontrol grubu. Sazan balığının kas lifi (çift yönlü beyaz ok), hücre çekirdeği (siyah ok), A bandı (mavi ok), I bandı (beyaz ok). H.E. x 100.

4.1.1.3. İskelet kas dokusu 7. gün orta doz (18,72 ppm): Yedi (7) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen sazan balıklarının iskelet kası liflerinin arasındaki kollajenin kontrol ve düşük doz grubuna göre artış gösterdiği belirlendi. Bazı kas liflerinde dejeneratif değişiklikler gözlenmiştir (Şekil 9).



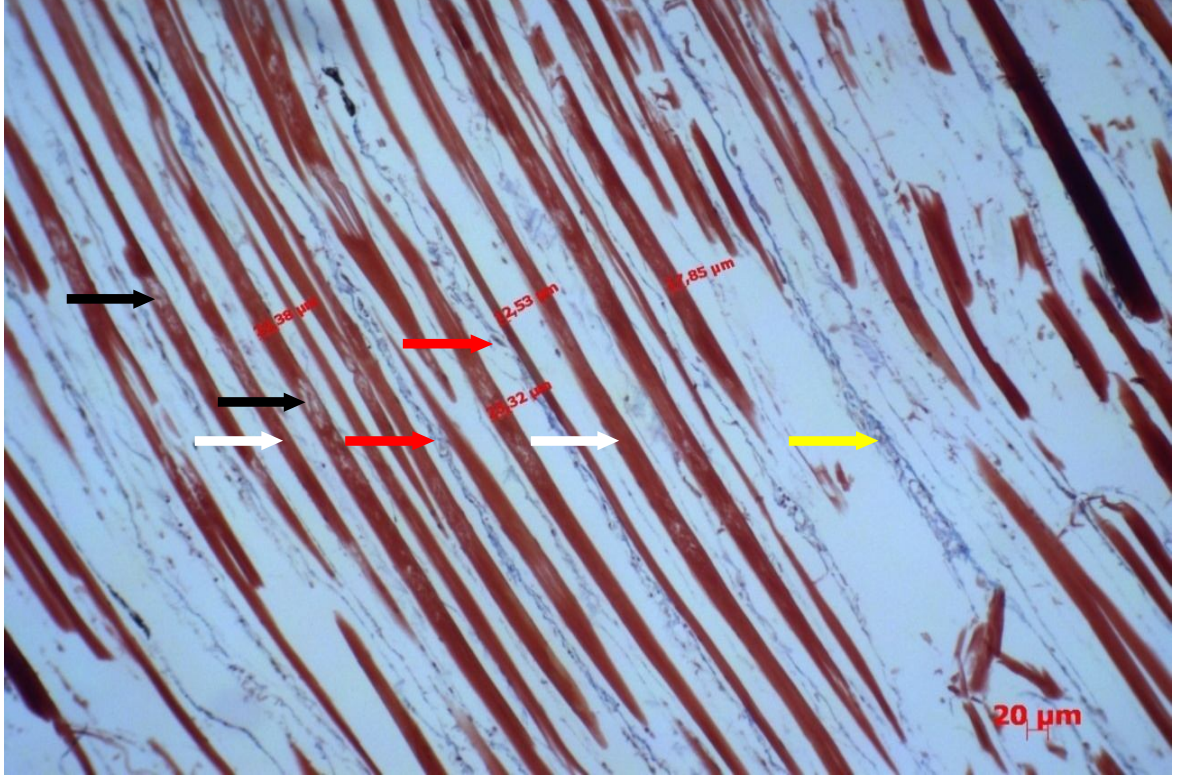
Şekil 9. Yedi (7) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen iskelet kası. İskelet kas lifleri arasındaki kollajen (kırmızı ok), primer demetler arasındaki kolajen artışı (siyah ok), kas lifindeki dejenerasyon başlangıcı (beyaz ok), kas liflerinin uzunlamasına kesiti (mavi ok). Masson trichrome x 10.

4.1.1.4. İskelet kas dokusu 7. gün yüksek doz (37,44 ppm) : Yedi (7) gün süre ile yüksek dozda krom (VI) verilen sazan balıklarının kas lifleri arasında mono nükleer hücre infiltrasyonu tespit edildi. İskelet kas lifleri arasındaki perimizyumu oluşturan bağ dokusunda artış gözlenmiştir (Şekil 10).



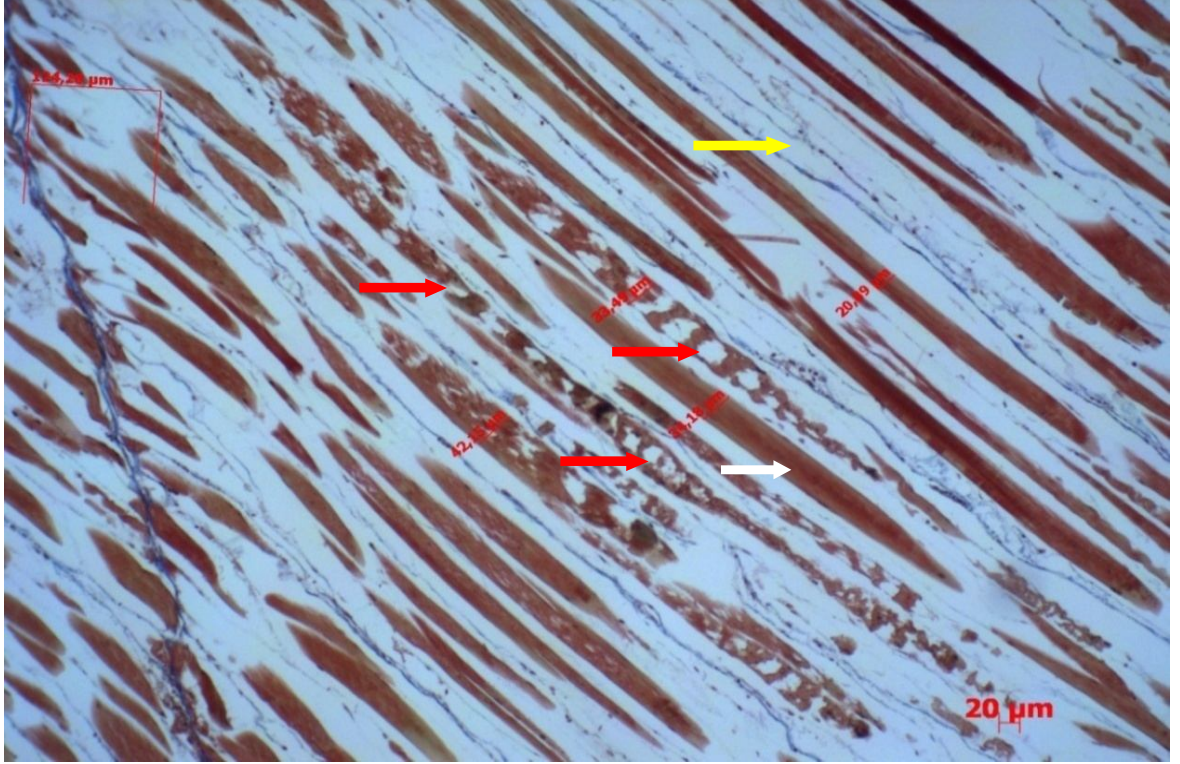
Şekil 10. Yedi (7) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen iskelet kası. İskelet kas lifleri arasındaki bağ dokuda mono nükleer hücre infiltrasyonu (beyaz ok), uzunlamasına kesit gösteren iskelet kası lifleri (mavi ok), iskelet kas lifleri arasında artış gösteren perimizyumu oluşturan bağ dokusu (kırmızı ok). H.E. x 20.

4.1.1.5. İskelet kas dokusu 14. gün düşük doz (9,36 ppm): Ondört (14) gün süre ile düşük dozda krom (VI) verilen sazan balıklarının kas lifleri arasında Masson trichrome boyaması ile mavi renkle görülen kollajen ile birlikte bağ dokusu artışı ve kas liflerinde dejenere alanlar gözlenmiştir (Şekil 11).



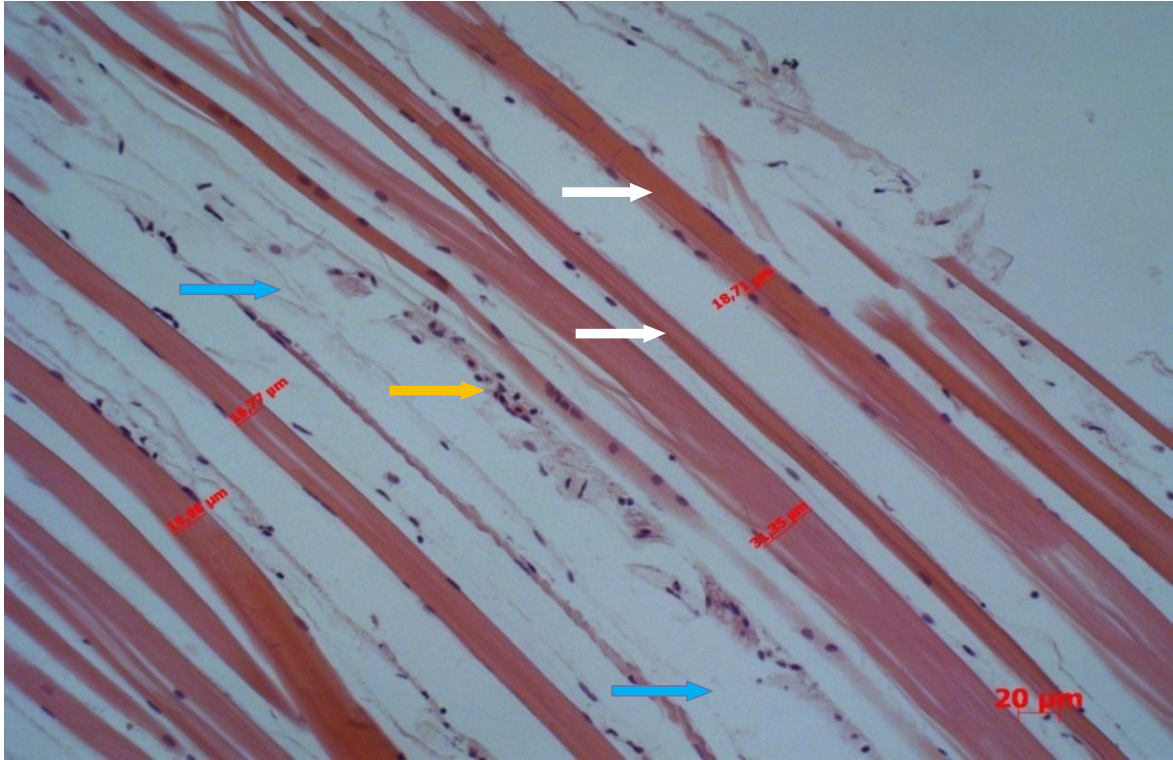
Şekil 11. Ondört (14) gün süre ile düşük doz krom (VI) verilen kas. İskelet kas lifleri (beyaz ok), kas lifleri arasındaki kollajen artışı (kırmızı ok), kas lifleri arasındaki kollajen artışı (sarı ok), kas liflerindeki dejenere alanlar (siyah ok). Masson trichrome x 10.

4.1.1.6. İskelet kas dokusu 14. gün orta doz (18,72 ppm): Ondört (14) gün süre ile orta dozda krom (VI) verilen sazan balıklarının kas lifleri arasındaki bağ doku ile dejenere olan kas liflerinde artış gözlenmiştir(Şekil 12).

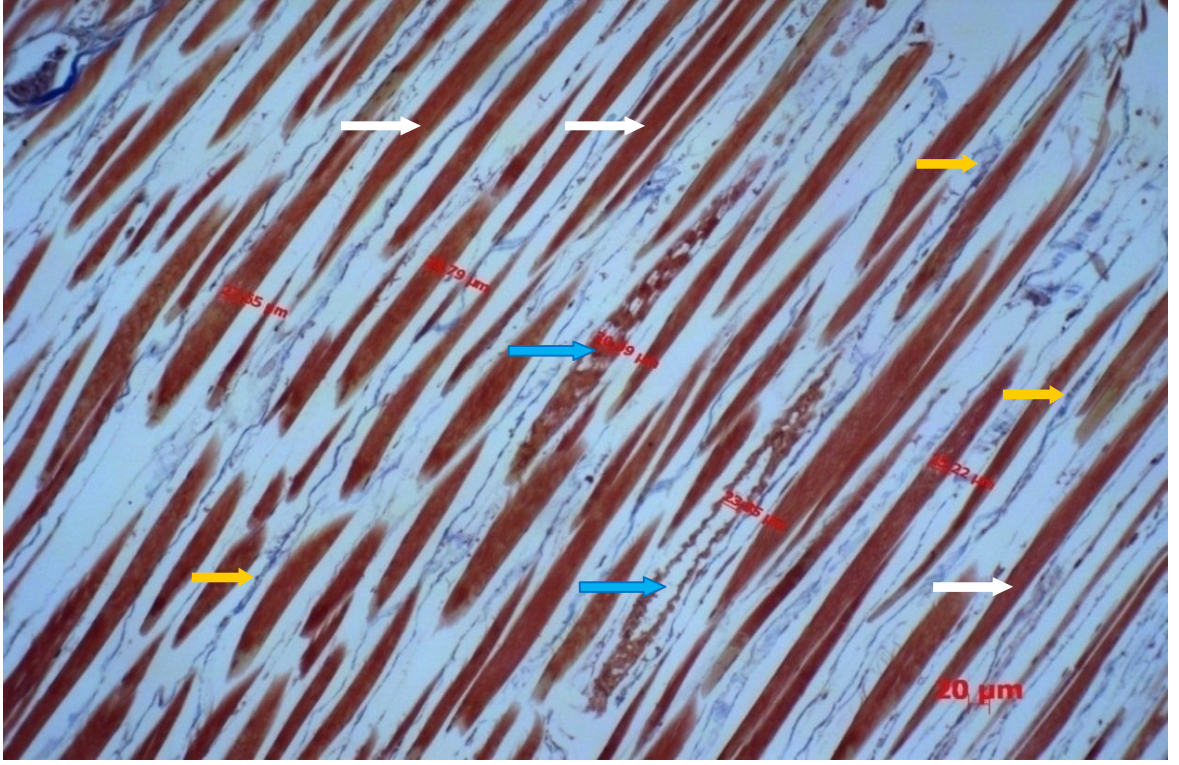


Şekil 12. Ondört (14) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen iskelet kası. Normal iskelet kası lifleri (beyaz ok), dejenere iskelet kası lifleri (kırmızı ok), bağ doku artışı (sarı ok). Masson trichrome x10.

4.1.1.7. İskelet kas dokusu 14. gün yüksek doz (37,44 ppm): Ondört (14) gün süre ile yüksek dozda krom (VI) verilen sazan balıklarının H.E. boyaması ile iskelet kas lifleri arasındaki bağ dokuda artış ve mono nükleer hücre infiltrasyonu gözlemlendi (Şekil 13). Masson trichrome boyaması ile iskelet kası liflerinin ve primer demetlerin aralarındaki bağdokuda kollajen artışı ile bazı kas liflerinde belirgin bir dejenerasyon gözlenmiştir (Şekil 14).



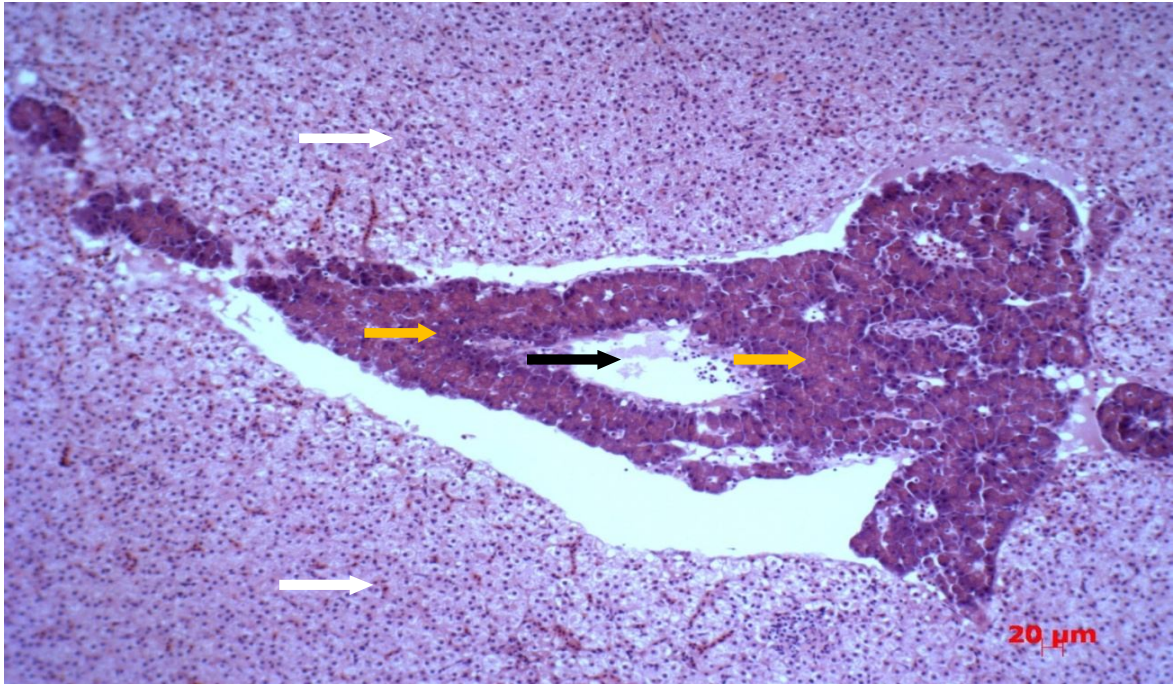
Şekil 13. Ondört (14) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen iskelet kası. İskelet kası lifleri (beyaz ok), bağ doku (mavi ok), mono nükleer hücre infiltrasyonu (sarı ok). H.E. x 20.



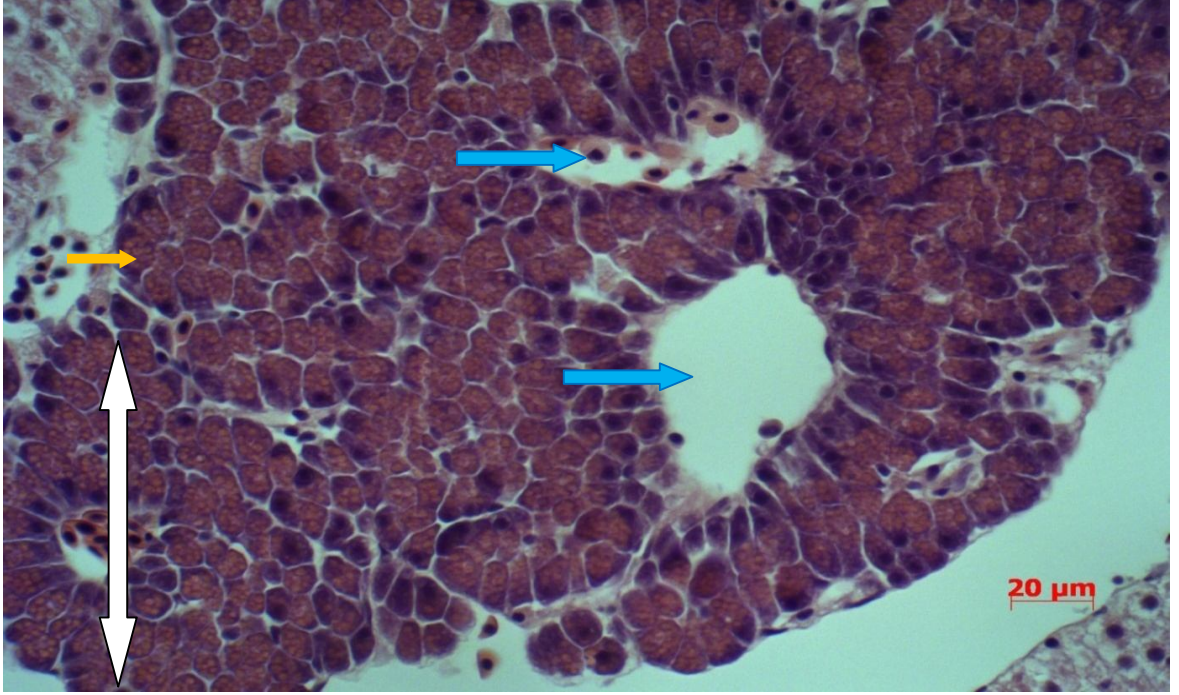
Şekil 14. Ondört (14) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen iskelet kas dokusu. Normal kas lifleri (beyaz ok), dejenere kas lifleri (mavi ok), kas lifleri arasındaki bağ dokusunda kollajen artışı (sarı ok). Masson trichrome x 10.

4.1.2. Karaciğer dokusunun histopatolojik bulguları: Sazan balıklarının karaciğer dokuları H.E. ve Masson trichrome boyaları ile boyanarak değerlendirildi.

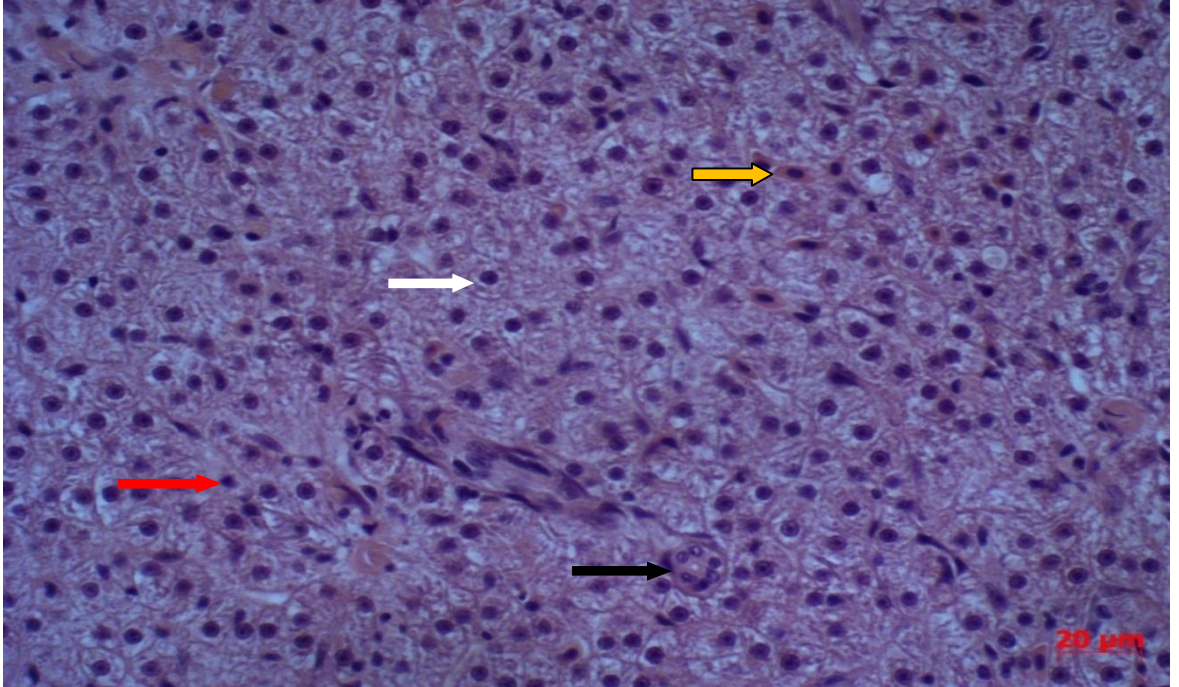
4.1.2.1. Karaciğer dokusu kontrol grubu: H.E. ile boyanan sazan balığı karaciğer dokusunun hepatopankreas yapısında olduğu gözlemlendi. Pankreas asinusları ya da lobları karaciğer dokusu içine yayılmış olarak gözlemlendi (Şekil 15). Pankreas asinüslerinin merkezlerinde ven içerdikleri belirlendi. Asinus hücrelerinin çekirdeklerinin bazala yerleştiği ve bu hücrelerin sitoplazmasında bol miktarlarda salgı granüllerine rastlanıldı (Şekil 16). Kesitlerimizde pankreas kanalı ve Langerhans adacıklarına rastlanılmadı. Karaciğer paraneşim hücrelerinin çekirdekleri H.E. boyası ile mor, sitoplazmaları pembe renkte boyandı. Paraneşim hücrelerinin aralarında içlerinde genelde kan hücrelerinin bulunduğu sinüzoidler mevcuttu. Sinüzoidlerin kenarlarında yıldız şekilli kupffer hücreleri ile tek katlı yassı sinüzoid epitelium hücreleri gözlemlendi. Sinüzoidlerin açıldığı merkezi ven birçok kesitte ortaya çıkmıştı. Karaciğer paraneşiminde dikkati çeken diğer bir yapı da safra kanallarıydı. Bu kanallar genelde tek katlı kübik epitelium ile döşenmiş olarak görüldü (Şekil 17).



Şekil 15. Kontrol grubu. Hepatopankreas. Karaciğer paraneşimi (beyaz ok), Pankreas (sarı ok), pankreas merkezindeki ven (siyah ok). H.E. x 10.

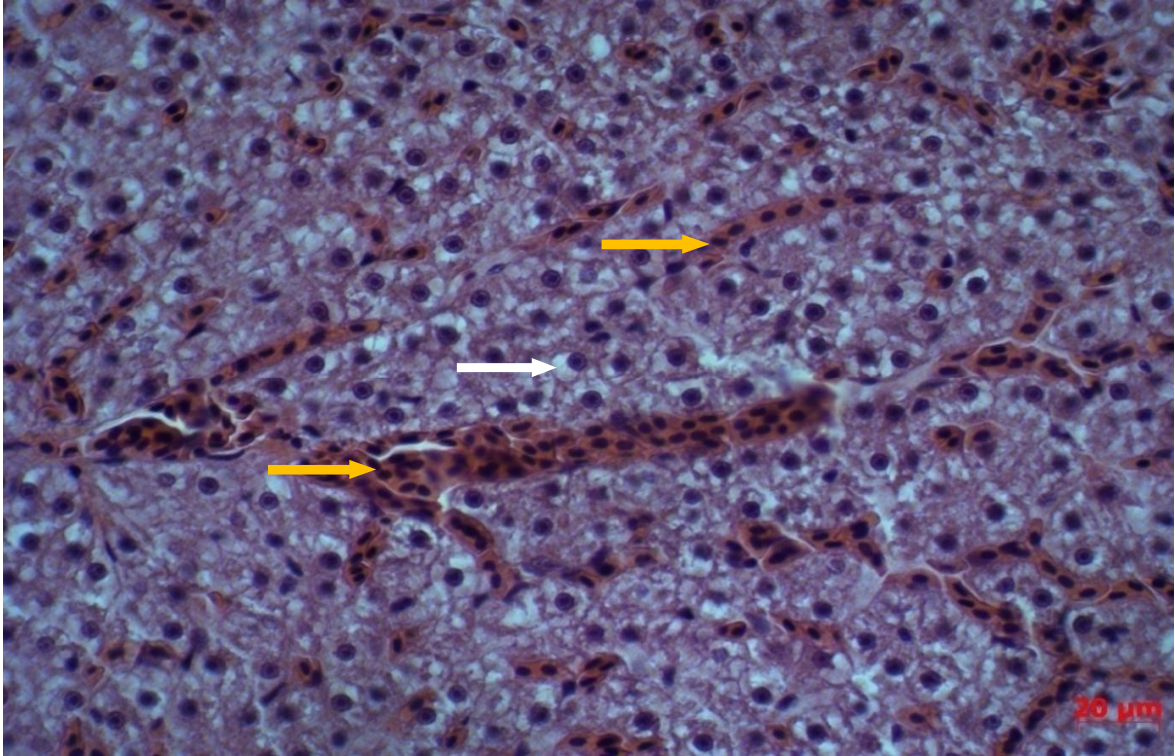


Şekil 16. Kontrol grubu karaciğer. Pankreas asinüsü (çift yönlü beyaz ok), salgı granülleri (sarı ok), pankreas asinüs veni (mavi ok). H.E. x 40.

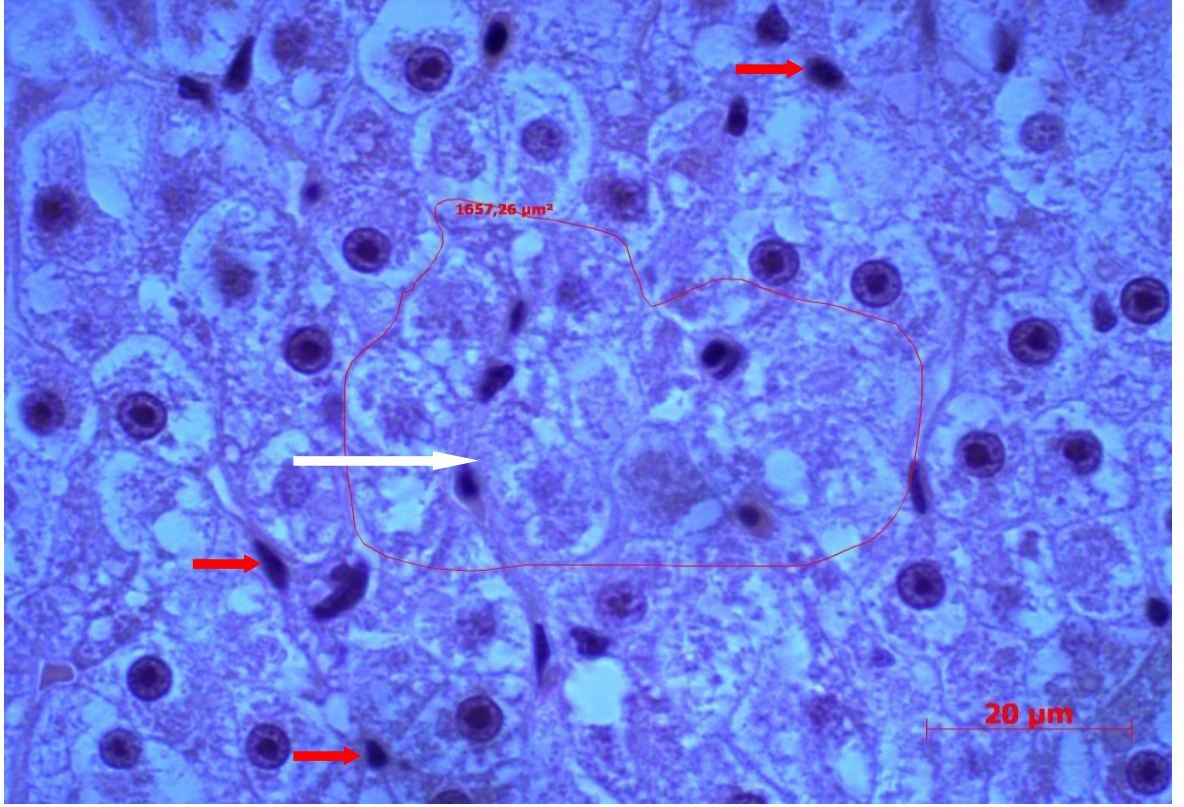


Şekil 17. Kontrol grubu karaciğer. Karaciğer paransim hücreleri (beyaz ok), sinüzoid (sarı ok), kupffer hücresi (kırmızı ok), Safra kanalı (siyah ok). H.E. x 40.

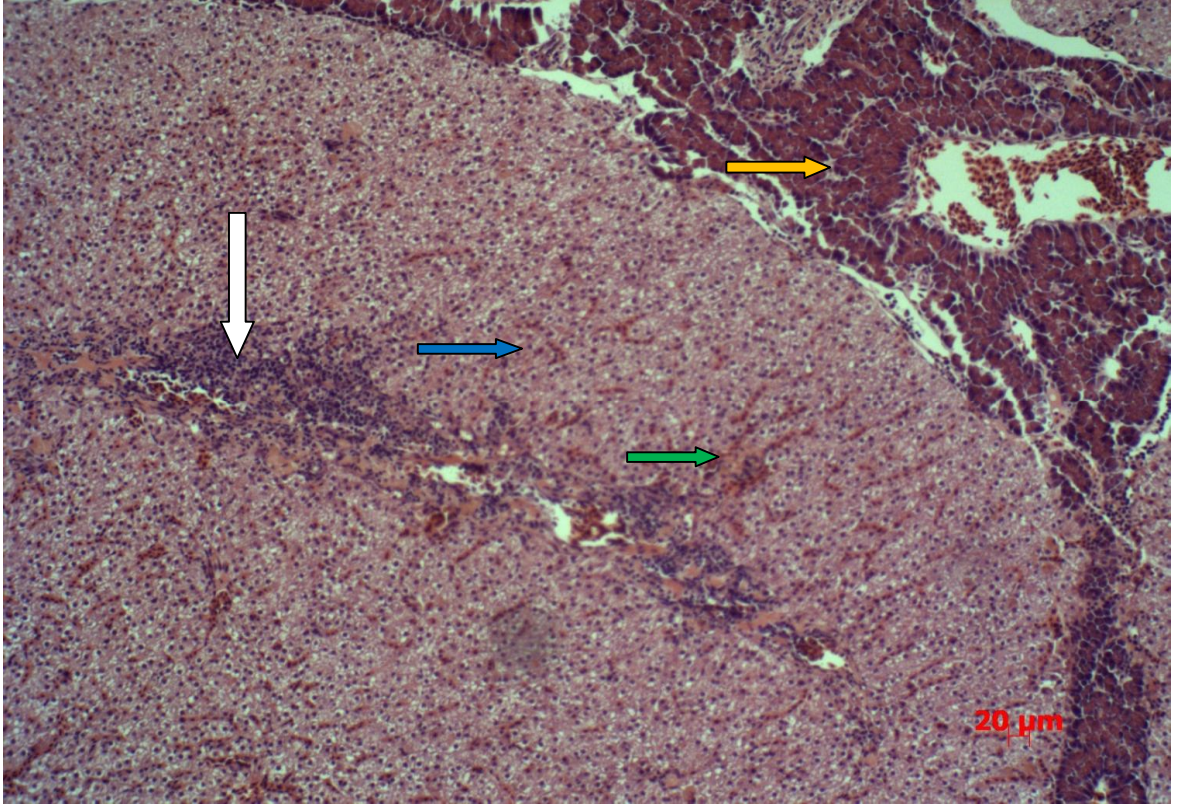
4.1.2.2. Karaciğer dokusu 7. gün düşük doz (9,36 ppm): Yedi (7) gün süre ile düşük doz krom (VI) verilen sazan balıklarının H.E. boyaması ile birkaç karaciğer paransim hücresinin sitoplazmalarında az miktarda yağlanma, sinüzoidlerde genişleme ve konjesyon gözlemlendi (Şekil 18). Masson trichrome ile yapılan boyamada ise bazı karaciğer paransim hücrelerinde yağlanma ve dejenerasyon ile bu bölgedeki kupffer hücre sayısında artış tespit edildi (Şekil 19). H.E. ile yapılan boyamada karaciğer paransiminde geniş olarak lokalize olan mono nükleer hücre infiltrasyonu görüldü (Şekil 20).



Şekil 18. Yedi (7) gün süre ile düşük doz krom (VI) verilen karaciğer. Yağlanma gösteren karaciğer paransim hücresi (beyaz ok), genişlemiş sinüzoidler ve lumenlerinde kan hücre birikimi (sarı ok). H.E. x 40.

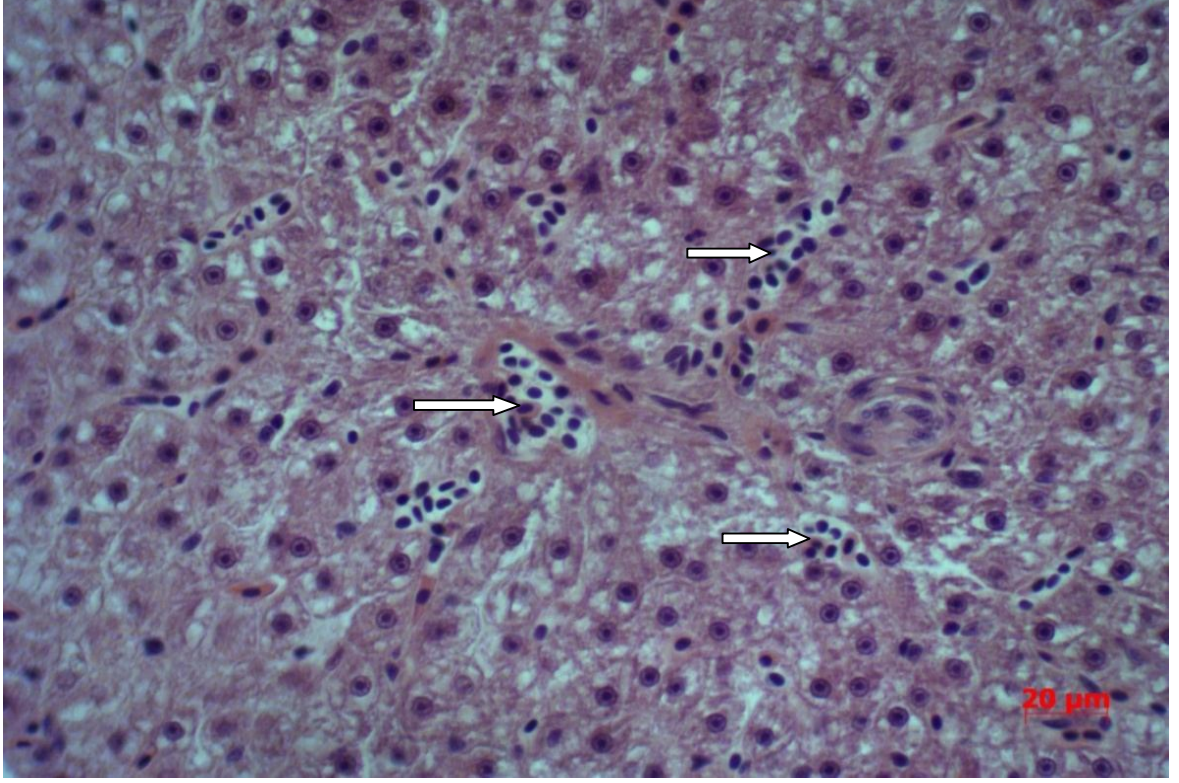


Şekil 19. Yedi (7) gün süre ile düşük doz krom (VI) verilen karaciğer. Karaciğer paransiminde dejenerasyon bölgesi (beyaz ok), Kupffer hücreleri (kırmızı ok), Masson trichrome. x 100.

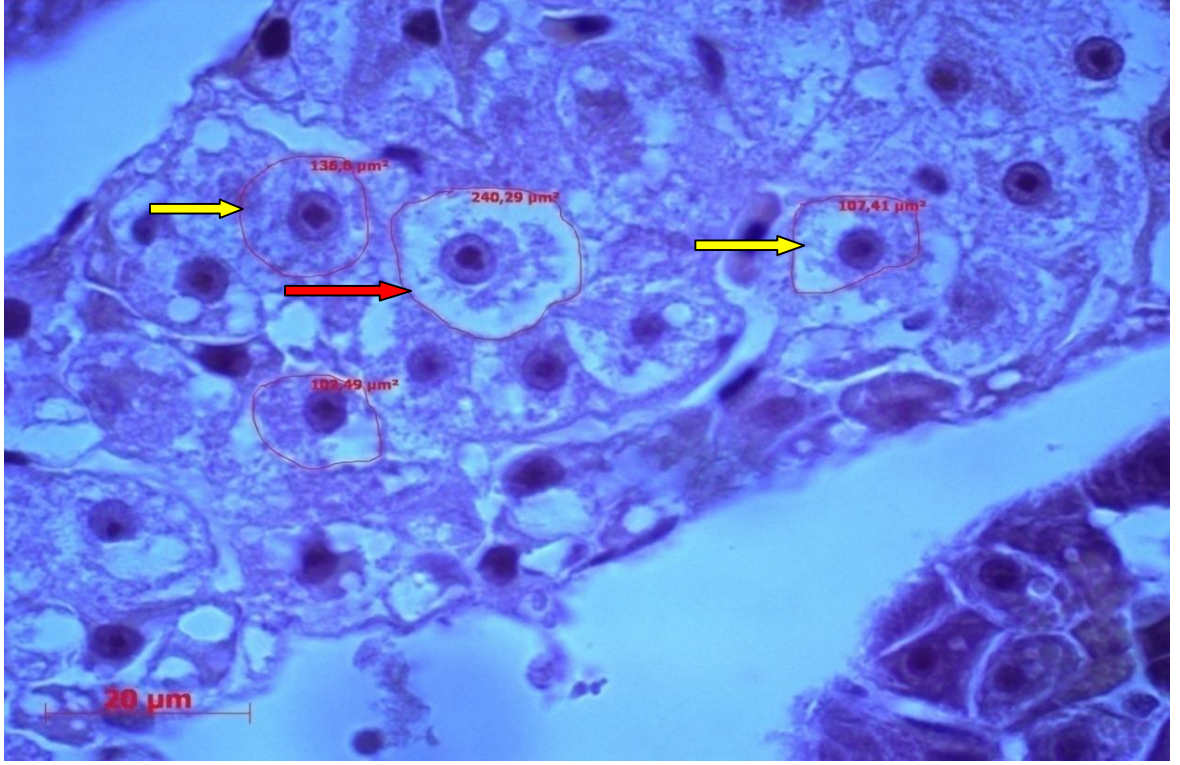


Şekil 20. Yedi (7) gün süre ile düşük doz krom (VI) verilen karaciğer. Karaciğer paransiminde yaygın mono nükleer hücre infiltrasyonu (beyaz ok), pankreas (sarı ok), karaciğer paransim hücreleri (mavi ok), sinüzoidler (yeşil ok). H.E. x 10.

4.1.2.3. Karaciğer dokusu 7. gün orta doz (18,72 ppm): Yedi (7) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen sazan balıklarının H.E. boyaması ile karaciğer paransimindeki sinüzoidlerde genişleme (dilatasyon) (Şekil 21), karaciğer paransim hücrelerinde şişme (hipertrofi) gözlemlendi (Şekil 22).

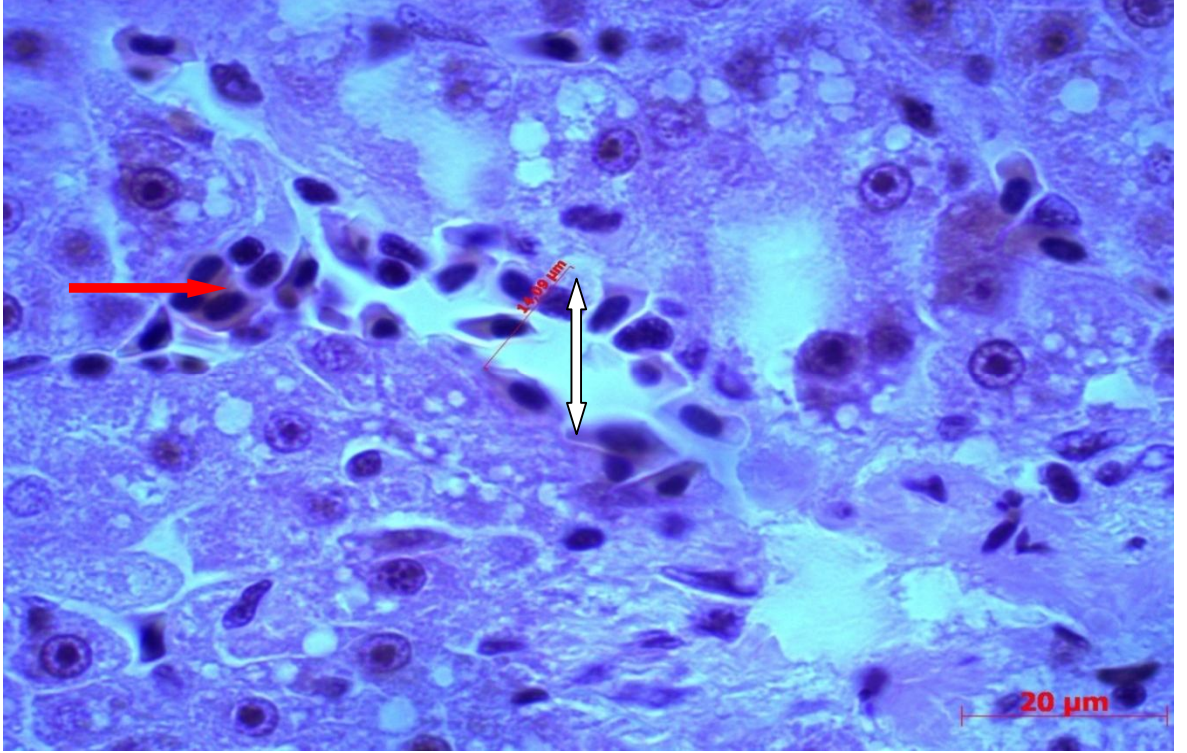


Şekil 21. Yedi (7) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu. Sinüzoidlerde genişleme (beyaz ok). H.E. x 40.

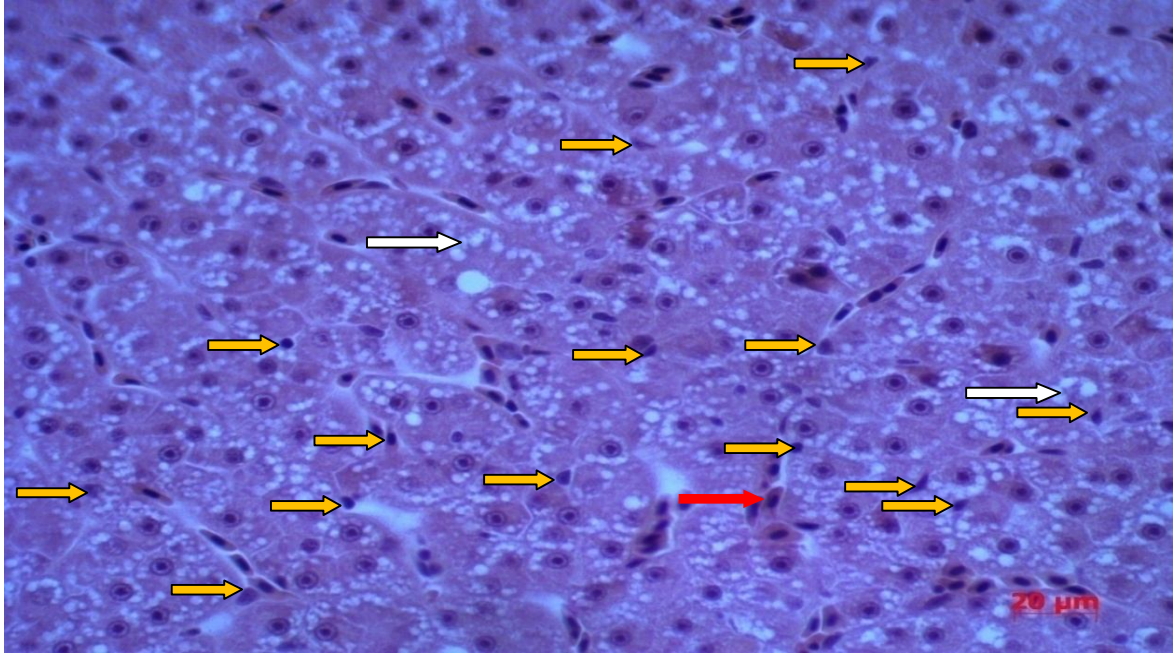


Şekil 22. Yedi (7) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu. Normal karaciğer paransim hücresi (sarı ok), Karaciğer paransim hücrelerinde şişme (kırmızı ok). Masson trichrome x 100.

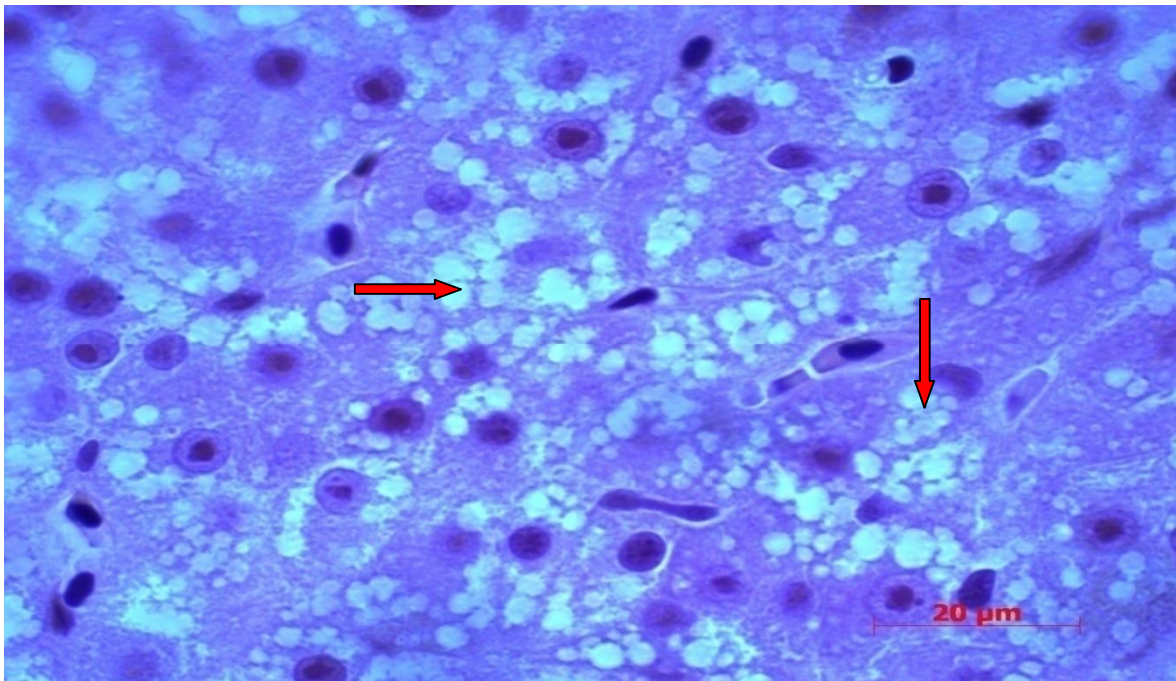
4.1.2.4. Karaciğer dokusu 7. gün yüksek doz (37,44 ppm): Yedi (7) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen sazan balıklarının Masson trichrome ve H.E. boyaması ile karaciğer paransimindeki sinüzoidlerde genişleme ve konjesyon (Şekil 23), karaciğer paransim hücrelerinde vakuolizasyon (Şekil 24, 25), karaciğer paransiminde nekrotik alanlar gözlemlendi (Şekil 26).



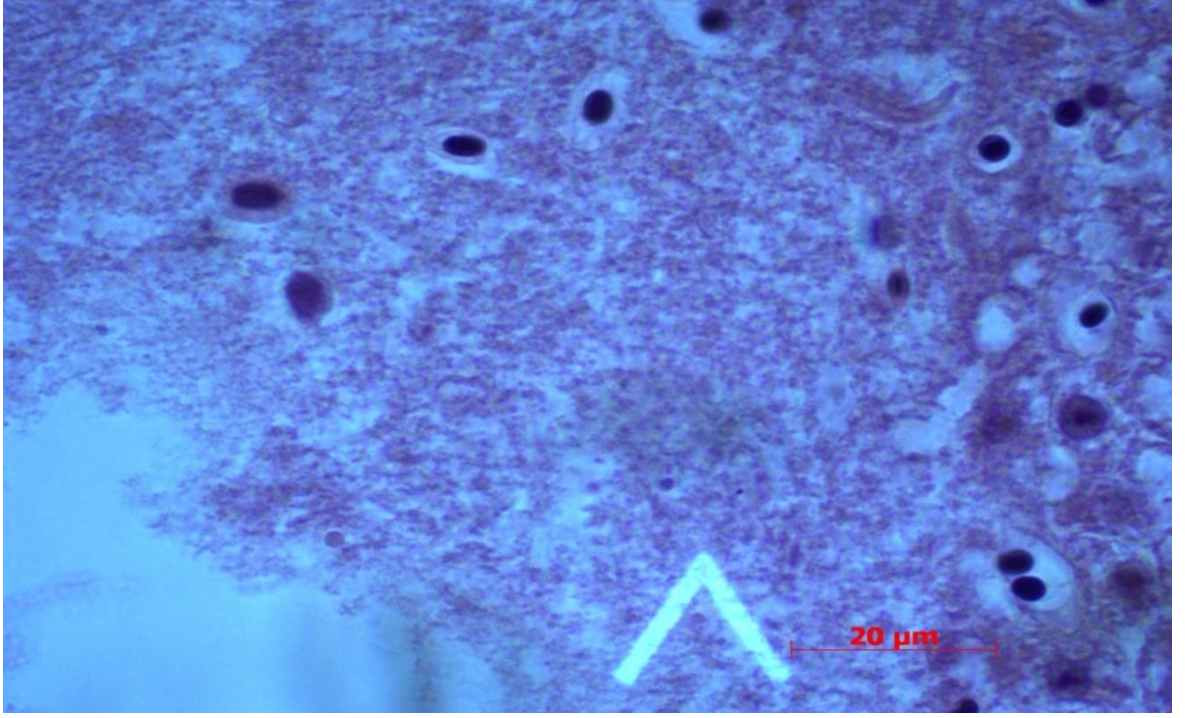
Şekil 23. Yedi (7) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu. Karaciğer sinüzoidlerinde genişleme (beyaz ok) ve konjesyon (kırmızı ok). Masson trichrome x100.



Şekil 24. Yedi (7) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu. Karaciğer paransim hücrelerinin sitoplazmalarında vakuolizasyon (beyaz ok), sinuzoidlerde konjesyon (kırmızı ok), Kupffer yıldız hücreleri sayısında artış (sarı ok). H.E. x 40.

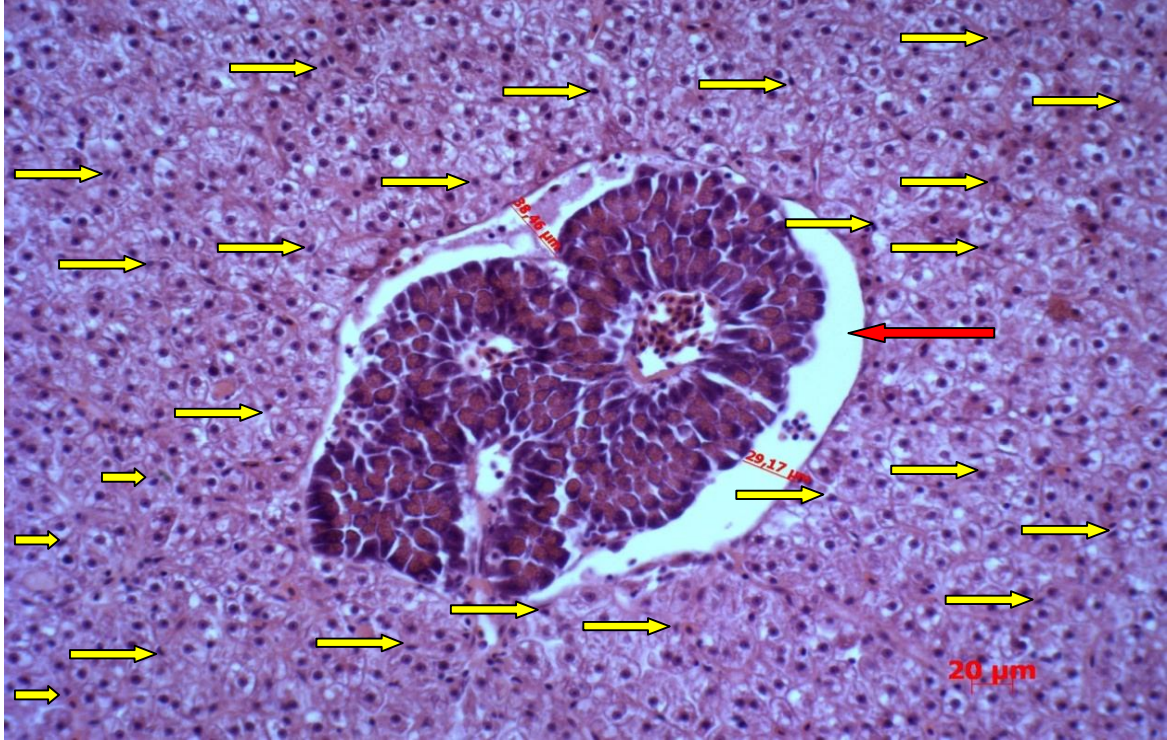


Şekil 25. Yedi (7) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu. Karaciğer paransim hücrelerinin sitoplazmalarında vakuolizasyon (kırmızı ok). Masson trichrome x100.

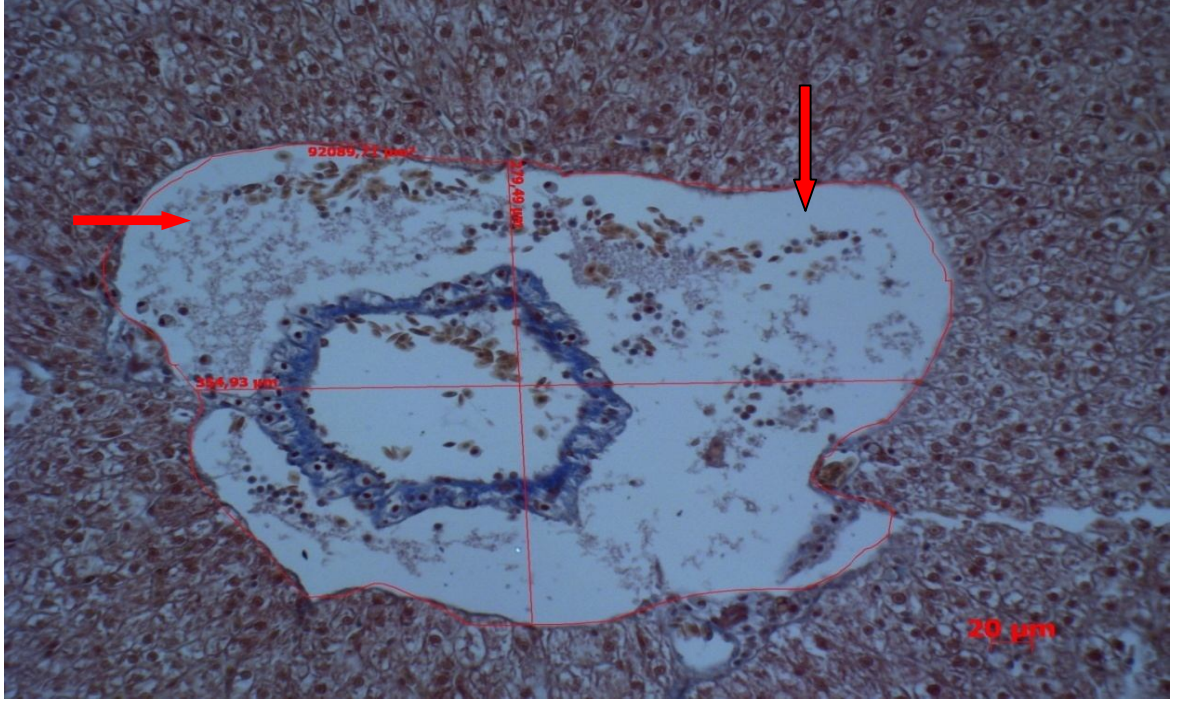


Şekil 26. Yedi (7) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu. Karaciğer paransiminde nekroz (ok ucu). Masson trichrome x 100.

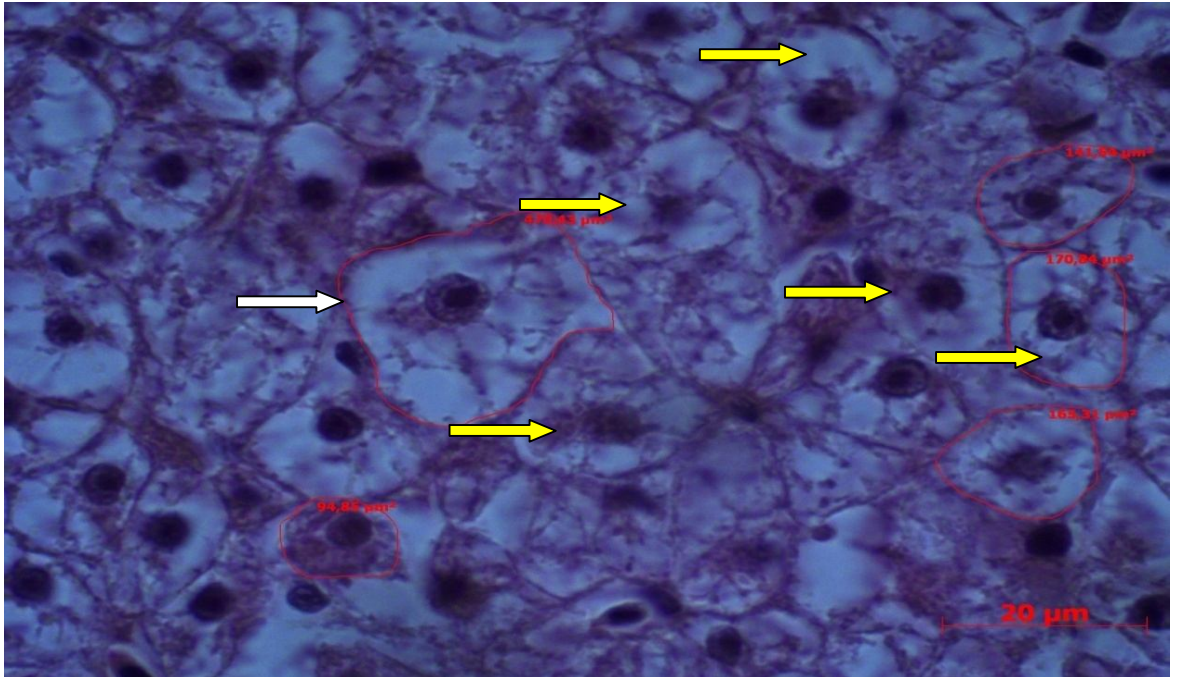
4.1.2.5. Karaciğer dokusu 14. gün düşük doz (9,36 ppm): Ondört (14) gün süre ile düşük doz krom (VI) verilen sazan balıklarının pankreas loblarının çevresinde (Şekil 27) ve periarterial alanlarda (Şekil 28) ödematöz değişiklikler, karaciğer paraneşim hücrelerinde şişme (hipertrofi) ve yağlanma (Şekil 29), karaciğer paraneşimindeki sinüzoidlerde genişleme ve karaciğer paraneşim hücrelerinde piknotik çekirdek (Şekil 30), Kupffer hücrelerinde artış (Şekil 27) gözlemlendi.



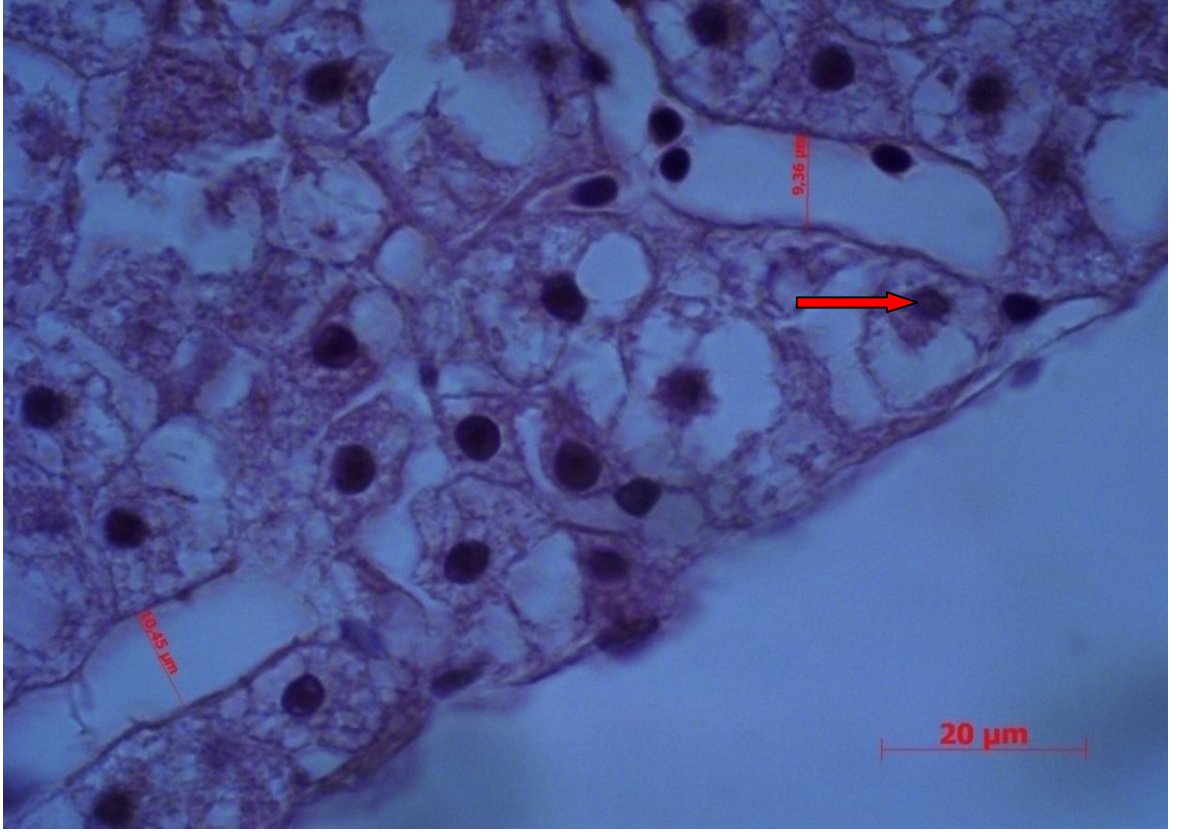
Şekil 27. Ondört (14) gün süre ile düşük doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu. Pankreas çevresinde ödematöz değişiklikler (kırmızı ok), Kupffer hücreleri (sarı ok). H.E. x 20.



Şekil 28. Ondört (14) gün süre ile düşük doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu. Periarterial alanlarda ödematöz değişiklikler (kırmızı ok). Masson trichrome x 40.

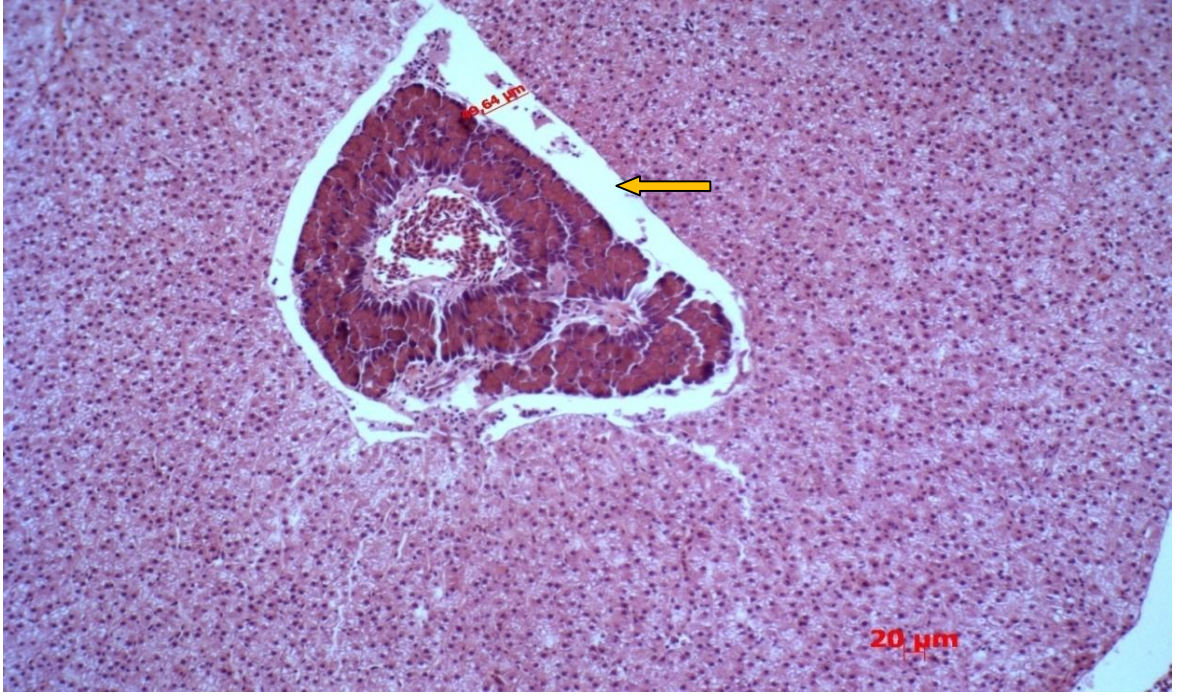


Şekil 29. Ondört (14) gün süre ile düşük doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu. Karaciğer paranzim hücrelerinde şişme (beyaz ok) ve yağlanma (sarı ok). H.E. x 100.

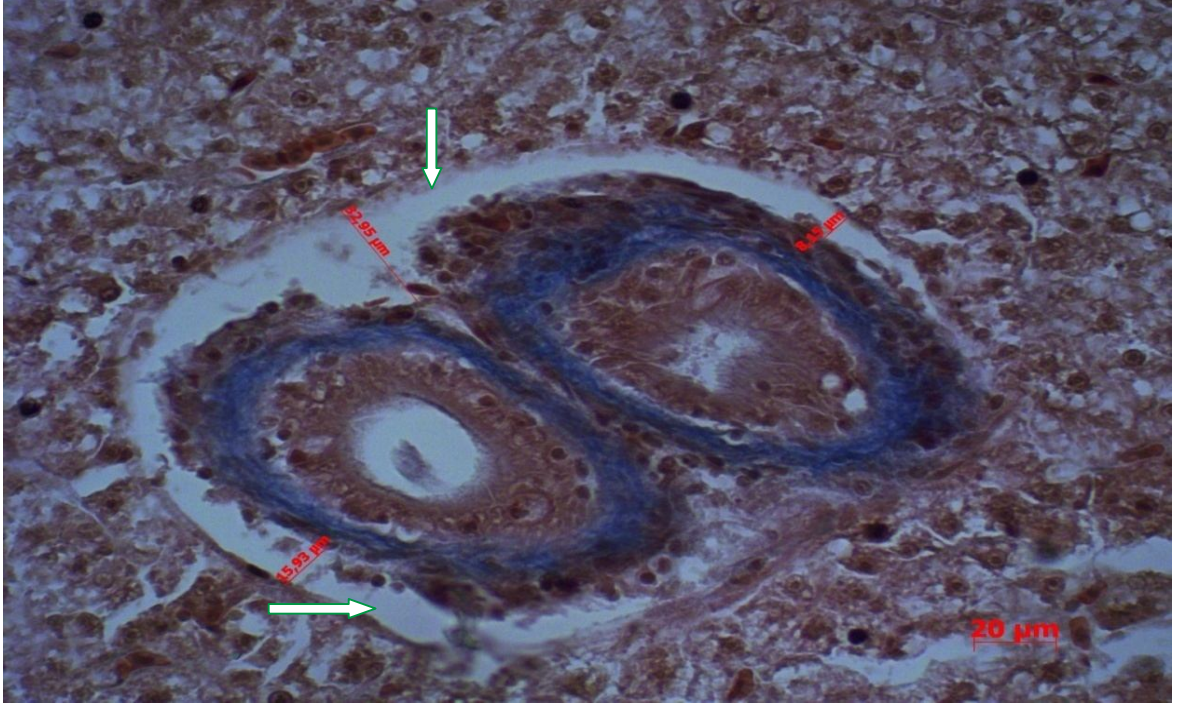


Şekil 30. Ondört (14) gün süre ile düşük doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu. Karaciğer paransimindeki sinüzoidlerde genişleme ile karaciğer paransim hücrelerinde piknotik görüntü (kırmızı ok). H.E. x 100.

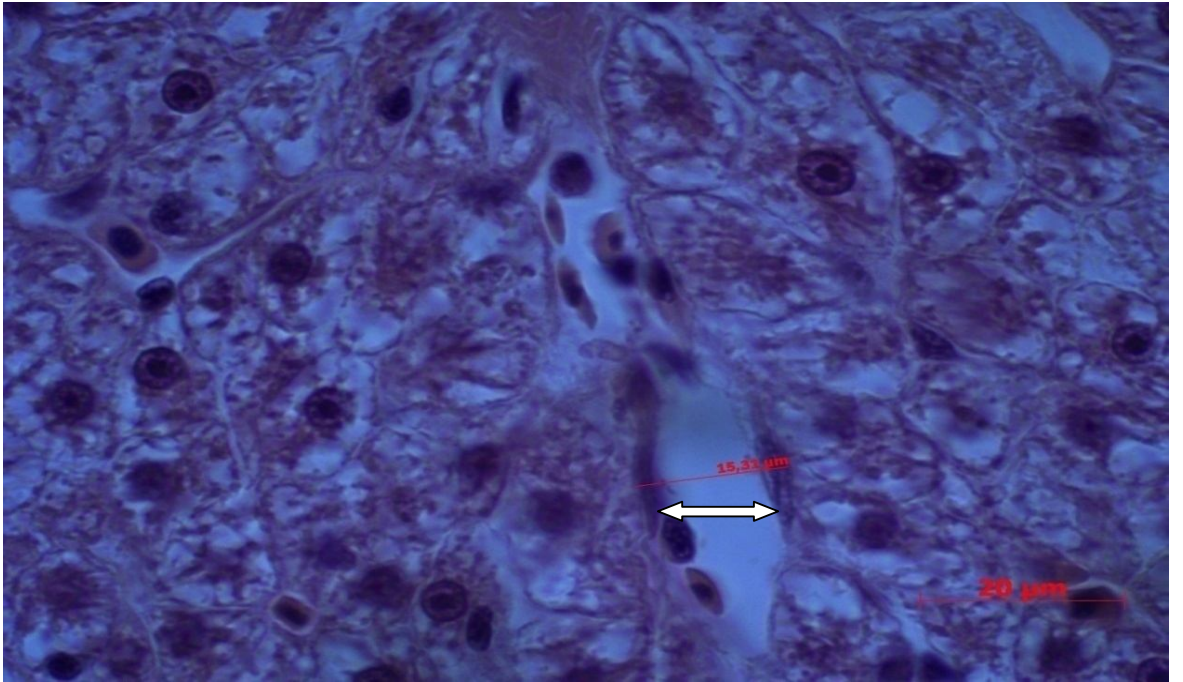
4.1.2.6. Karaciğer dokusu 14. gün orta doz (18,72 ppm): Ondört (14) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen sazan balıklarının pankreas loblarının çevresinde (Şekil 31) ve karaciğer paransimindeki periarterial bölgelerde ödematöz alanlar tespit edildi (Şekil 32). Sinüzoidlerde genişleme (Şekil 33) ve karaciğer paransim hücrelerinde şişme (hipertrofi) (Şekil 34) ve yaygın dejenerasyon (Şekil 35) gözlemlendi.



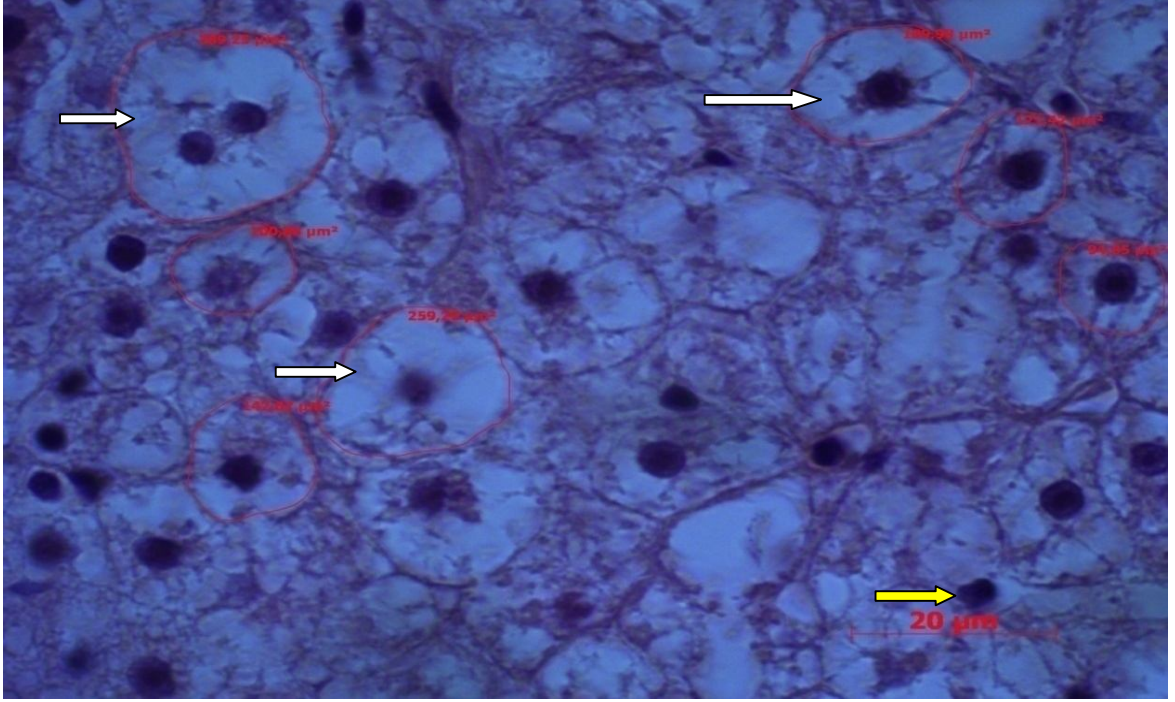
Şekil 31. Ondört (14) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu. Pankreas loblarının çevresindeki ödematöz alanlar (sarı ok). H.E. x 10.



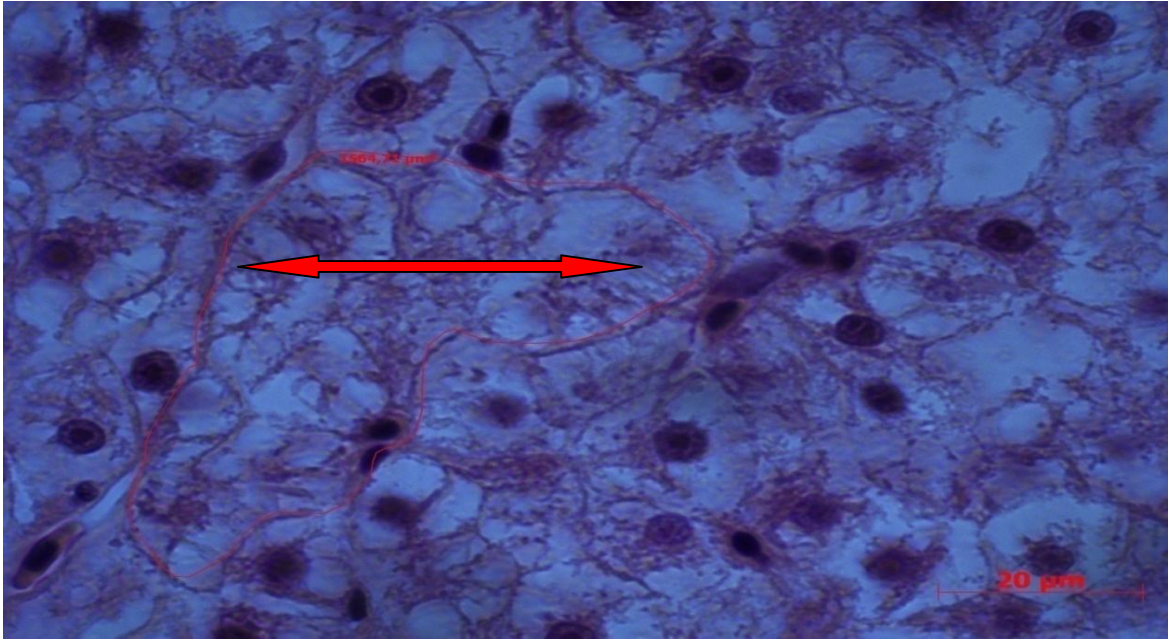
Şekil 32. Ondört (14) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu. Arterlerin çevresindeki ödematöz alanlar (beyaz ok). Masson trichrome x 40.



Şekil 33. Ondört (14) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu. Sinüzoidlerde genişleme (çift yönlü beyaz ok). Masson trichrome x 100.

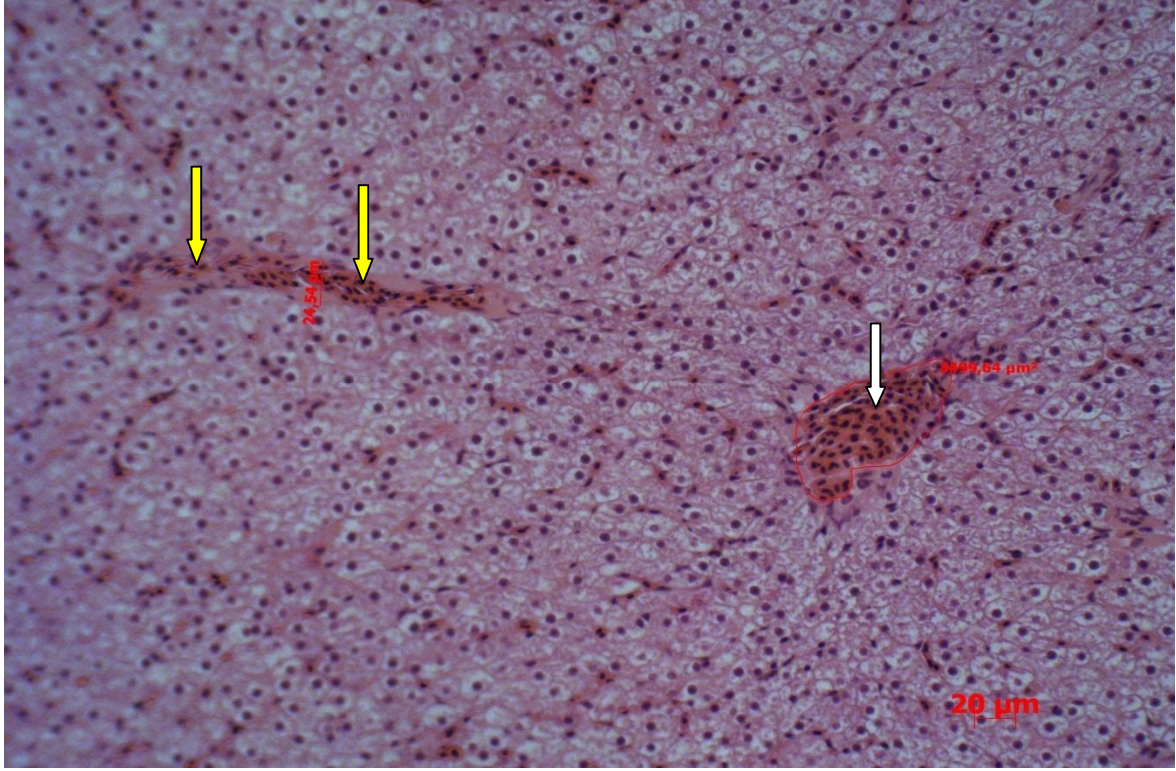


Şekil 34. Ondört (14) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu. Karaciğer paransim hücrelerinde şişme (beyaz ok), piknotik çekirdek (sarı ok). H.E. x 100.

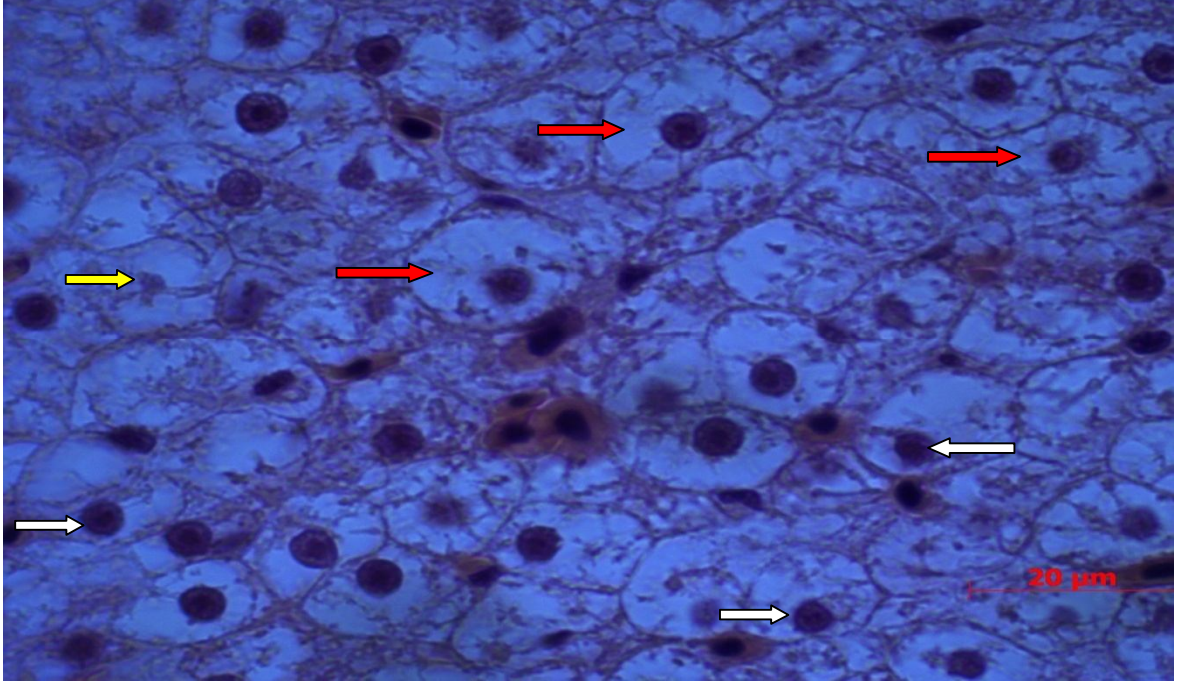


Şekil 35. Ondört (14) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu. Karaciğer paransim hücrelerinde dejeneratif alanlar (çift yönlü kırmızı ok). H.E. x 100.

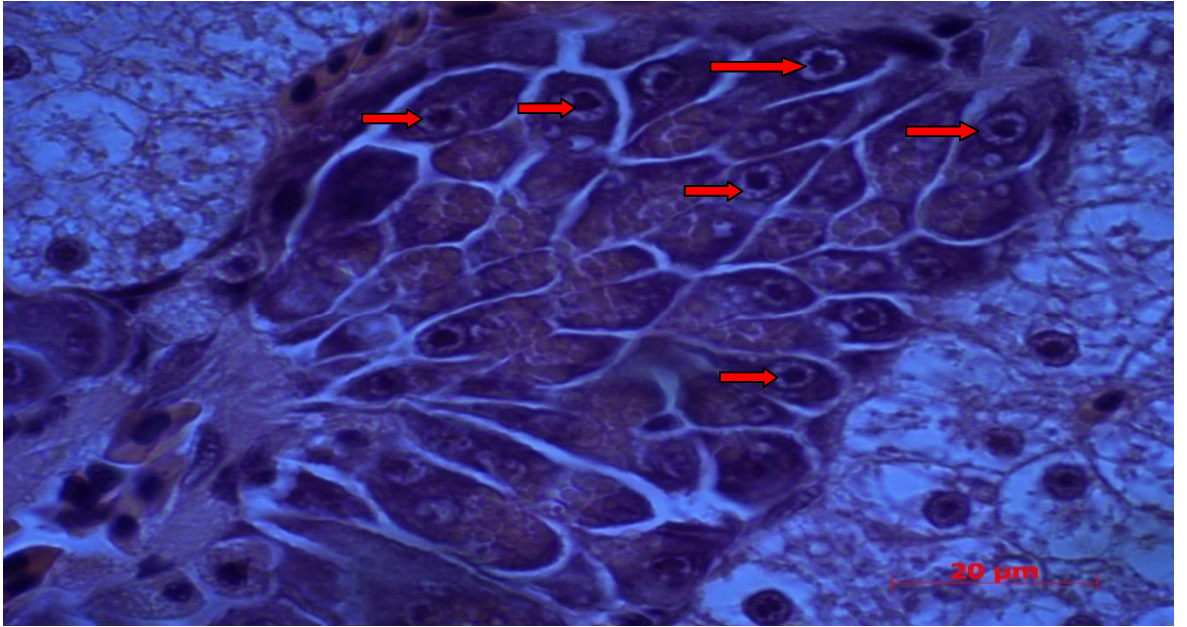
4.1.2.7. Karaciğer dokusu 14. gün yüksek doz (37,44 ppm): Ondört (14) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen sazan balıklarının karaciğer sinüzoidlerinde genişleme ve konjesyon (Şekil 36) karaciğer parankimin hücrelerinde şişme ve hücre çekirdeklerinde eksantrik yerleşim (Şekil 37), pankreas asinus hücre çekirdeklerinde bozulmalar (Şekil 38) gözlemlendi.



Şekil 36. Ondört (14) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu. Sentral vende konjesyon (beyaz ok), sinüzoidlerde konjesyon ve genişleme (sarı ok). H.E. x 40.



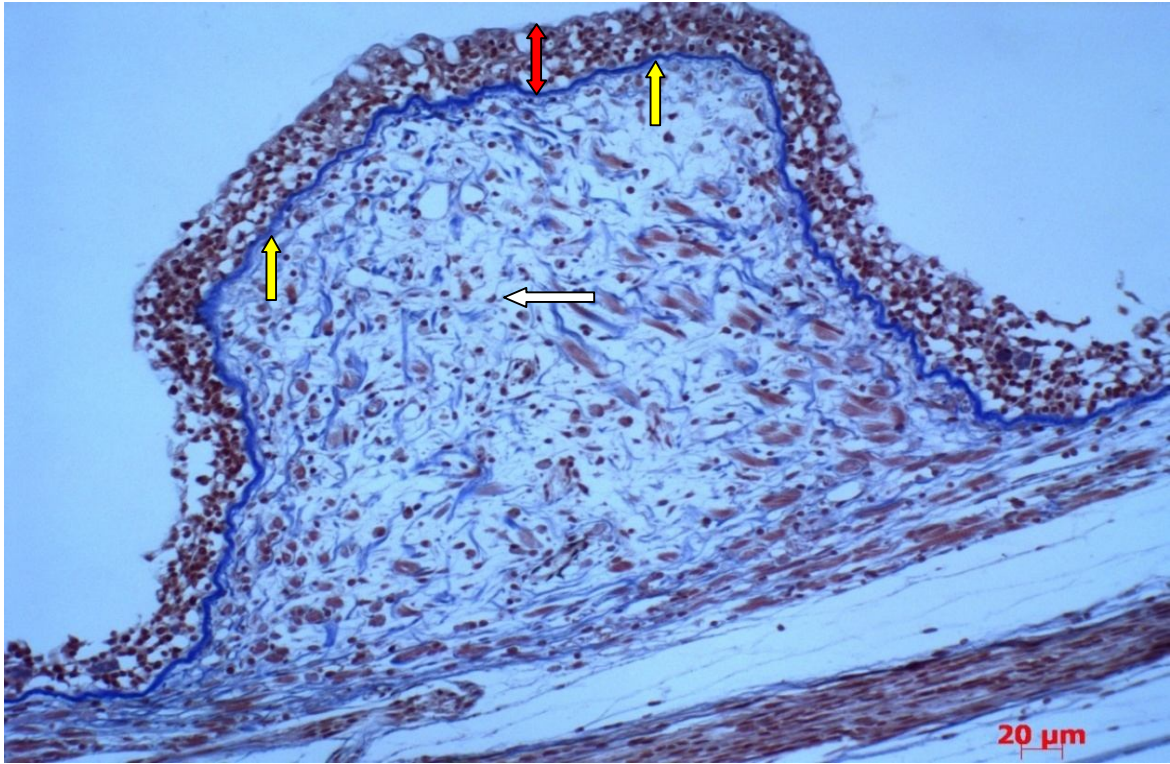
Şekil 37. Ondört (14) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu. Karaciğer paransim hücrelerinde şişme (kırmızı ok) ve çekirdeklerin eksantrik yerleşimi (beyaz ok), piknotik çekirdek (sarı ok). H.E. x100.



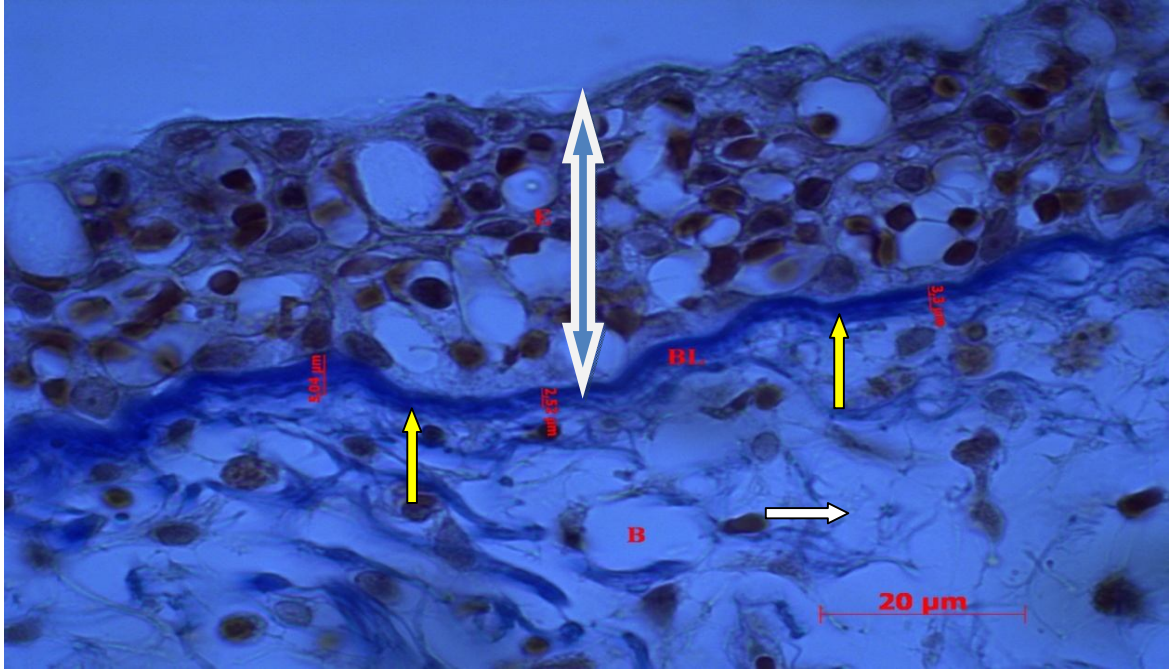
Şekil 38. Ondört (14) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu. Pankreas asinus hücre çekirdeklerinde bozulmalar (kırmızı ok). H.E. x 10.

4.1.3. Solungaç dokusu histopatolojik bulguları: Sazan balıklarının solungaç dokuları H.E. ve Masson trichrome boyaları ile boyanarak değerlendirildi.

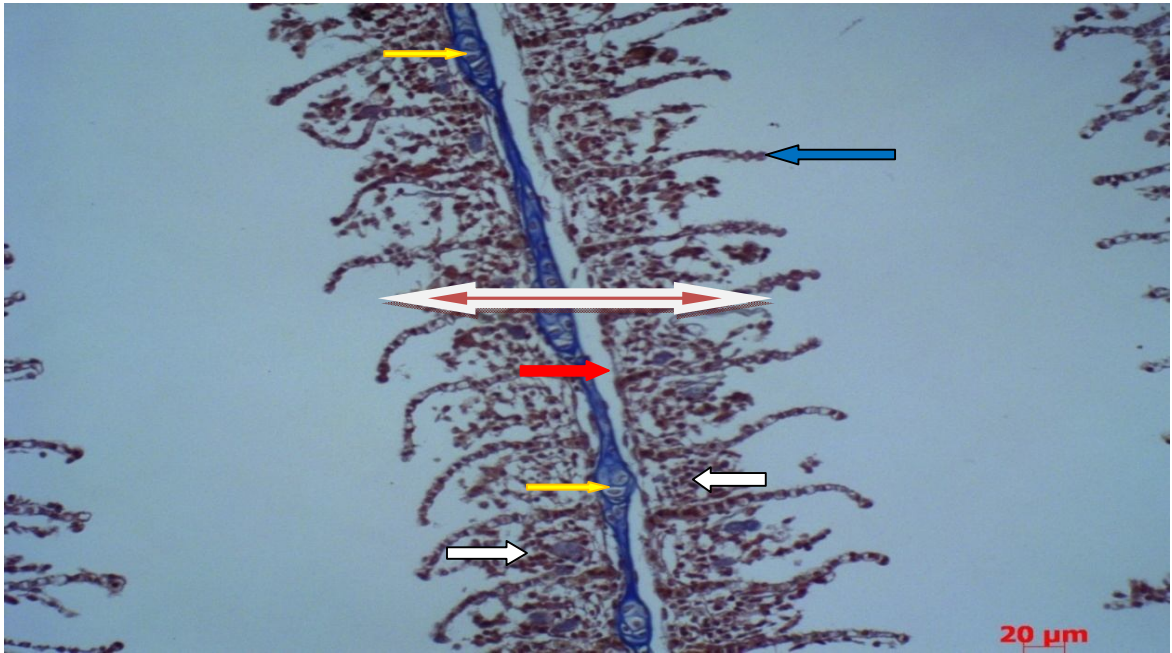
4.1.3.1. Solungaç dokusu kontrol grubu: Sazan balıklarının solungaçlarındaki solungaç taraklarının, bazal membran üzerinde yerleşik çok katlı epitelyumdan ve bazal membran altındaki bağ dokudan oluştuğu gözlemlendi (Şekil 39, 40). Solungaç taraklarının altındaki bağ dokusuna bağlantılı olan solungaç filamentlerinin de primer ve sekonder lamellerden meydana geldiği tespit edildi (Şekil 41). Filamentlerin ortasında uzunlamasına seyreden hiyalin kıkırdak yapısı ve bu kıkırdak yapısının etrafında damarlar, damarlarla sekonder filamentlerin arasında filament epitelyum hücreleri, bu hücreler arasında kıkırdak çevresindeki venlerden çıkan kapillerler (Şekil 41), filament epitelyum hücreleri ve sekonder lameller arasında mukus salgılayan mukus hücreleri (Şekil 42) ile klorid hücreleri, sekonder lamellerde tek katlı yassı solunum epitelyum hücreleri (respiratorik hücreler) ile destek hücreleri (pillar hücreler) görüldü (Şekil 43).



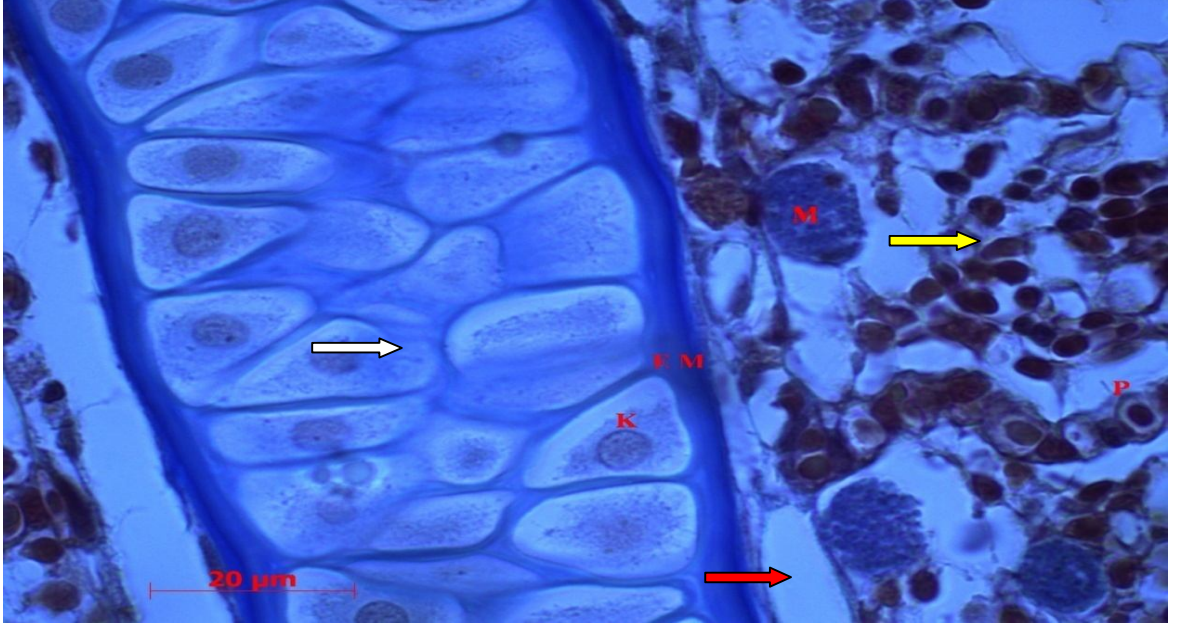
Şekil 39. Kontrol solungaç dokusu. Solungaç tarağındaki epitelyum (çift yönlü kırmızı ok), bazal membran (sarı ok) ve tarak bağ dokusu (beyaz ok). Masson trichrome x 10.



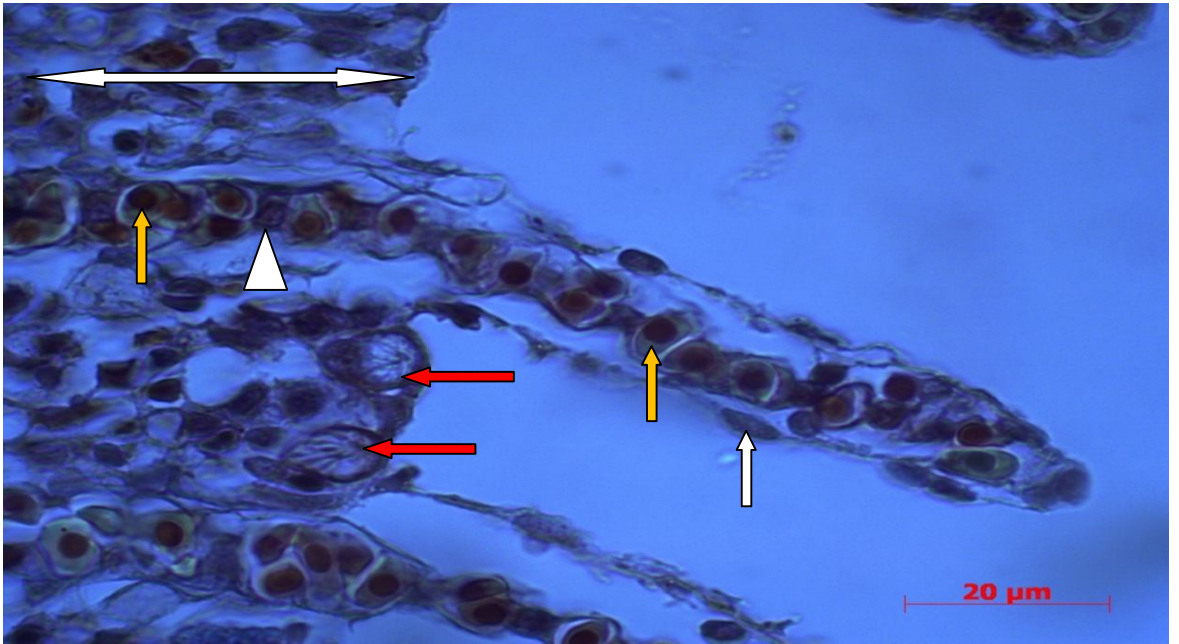
Şekil 40. Kontrol solungaç dokusu. Solungaç tarağındaki epitelyum (çift yönlü beyaz ok), bazal membran (sarı ok) ve tarak bağ dokusu (beyaz ok). Masson trichrome x 100.



Şekil 41. Kontrol solungaç filament. Filament içindeki kıkırdak (sarı ok), ven (kırmızı ok), filament epitelyumu (beyaz ok), primer lamel (çift yönlü içi kırmızı beyaz ok), sekonder lamel (mor ok). Masson trichrome x 20.

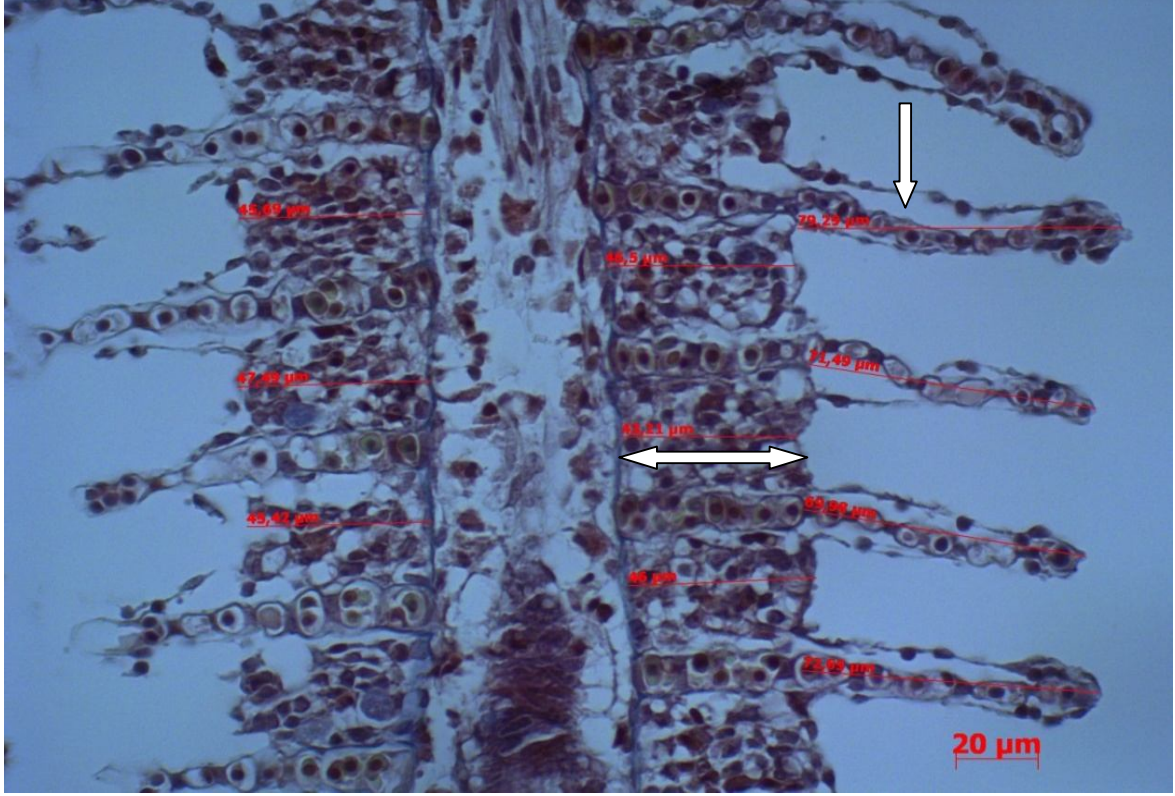


Şekil 42. Kontrol solungaç dokusu. Hiyalin kıkırdak (beyaz ok), kıkırdak çevresindeki venler (kırmızı ok), mukus hücreleri (M), filament epitelyumu (sarı ok), ekstrasellüler matriks (EM). Masson trichrome x 100.



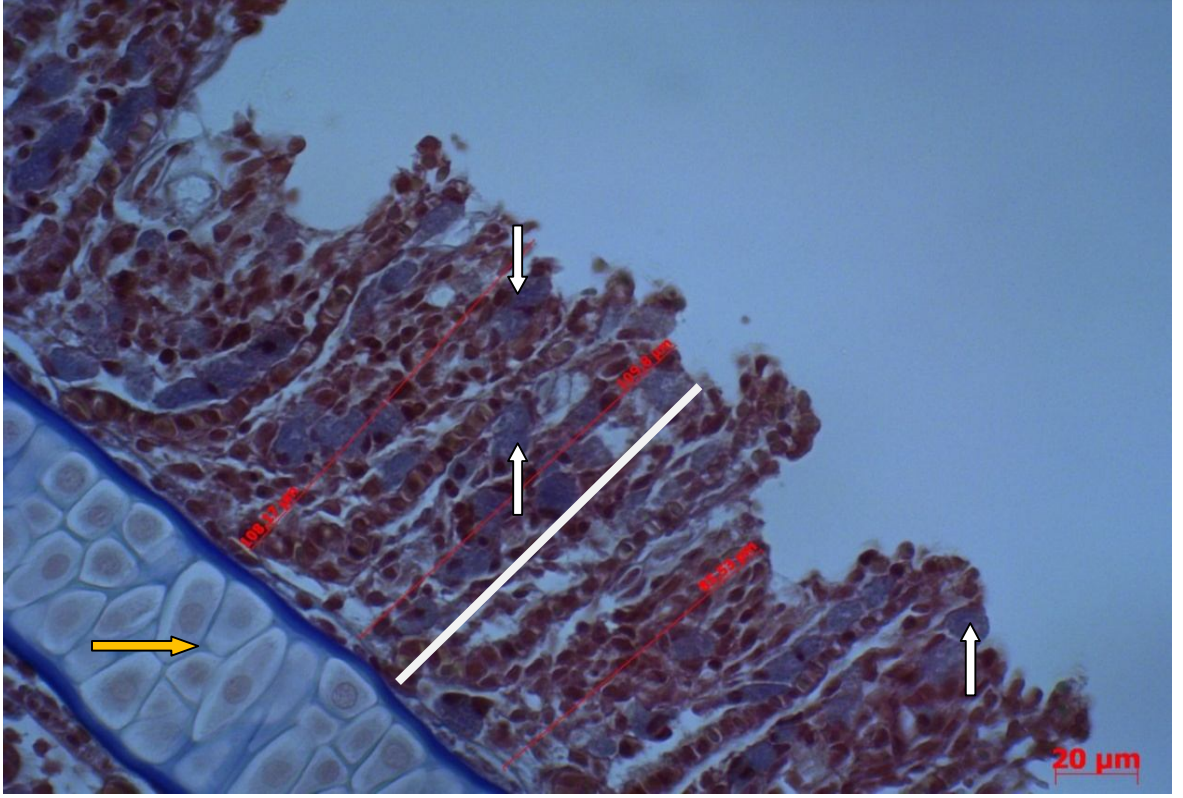
Şekil 43. Kontrol solungaç dokusu. Filament epitelyum hücreleri (çift yönlü beyaz ok), sekonder lameller içindeki kapillerler ve kan hücreleri (sarı ok), solunum epitelyumu (beyaz ok), destek hücresi (ok başı), klorid hücreleri (turuncu ok). Masson trichrome x 100.

4.1.3.2. Solungaç dokusu 7. gün düşük doz (9,36 ppm): Yedi (7) gün süre ile düşük doz krom (VI) verilen sazan balıklarının solungaç dokusunda filament epitelyum hücrelerindeki çoğalmaya bağlı olarak primer lamellerde kalınlaşma (hipertrofi), sekonder lamelleri oluşturan kapillerin etrafında hafif ödem tespit edildi (Şekil 44).

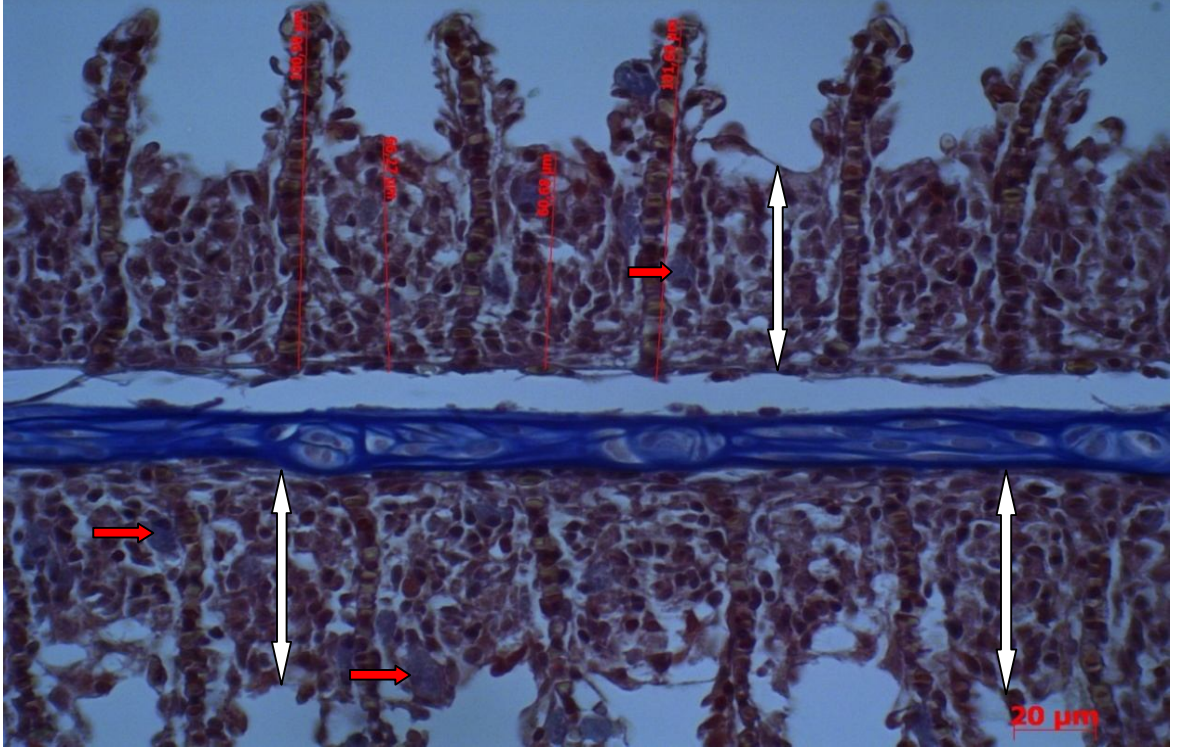


Şekil 44. Yedi (7) gün süre ile düşük doz krom (VI) verilen solungaç dokusu. Filament epitelyum hücrelerindeki kalınlaşma (çift yönlü beyaz ok), primer lamellerdeki perikapiller ödem (kırmızı ok). Masson trichrome x 40.

4.1.3.3. Solungaç dokusu 7. gün orta doz (18,72 ppm): Yedi (7) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen sazan balıklarının solungaç dokusunda filament epitelyumun hücrelerinde düşük doz grubuna göre kalınlaşmanın arttığı gözlemlendi (Şekil 45). Filament epitelyumu ile sekonder lameller arasında mukus hücrelerinde belirgin bir artış tespit edildi (Şekil 46).

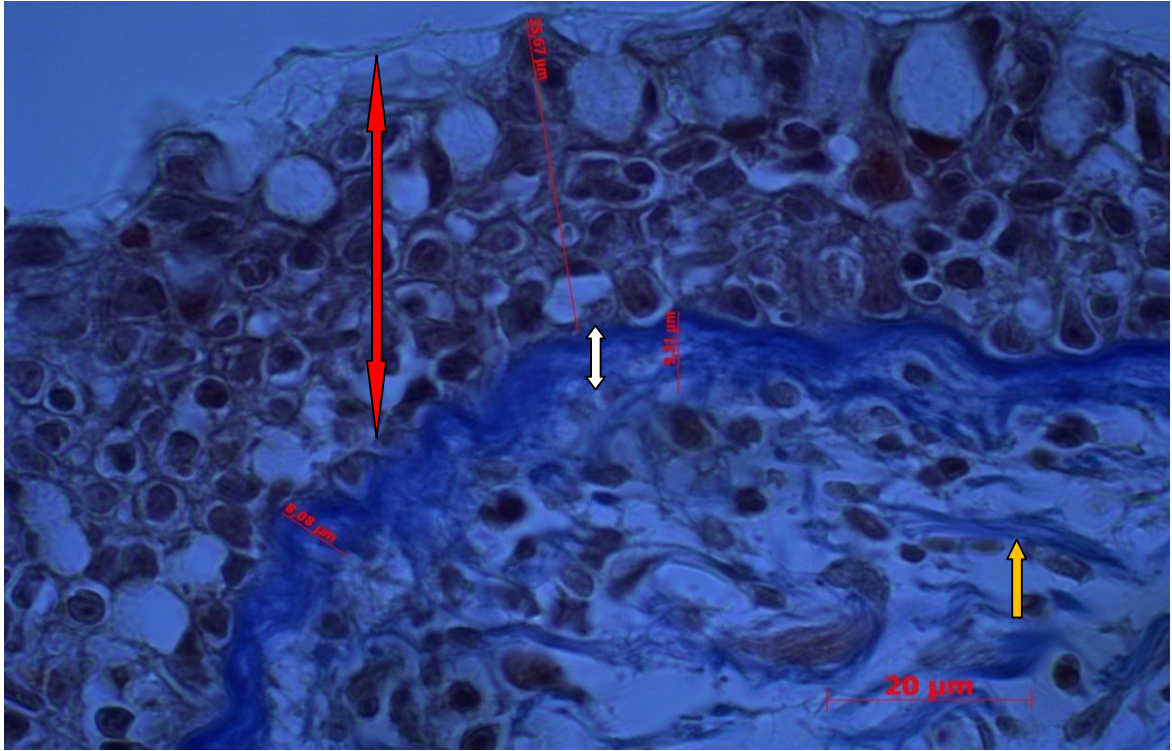


Şekil 45. Yedi (7) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen solungaç dokusu. Hiyalin kıkırdak (sarı ok), filament epitelyumundaki kalınlaşma (beyaz çizgi), mukus hücrelerindeki hipertrofi (beyaz ok), Masson trichrome x 40.

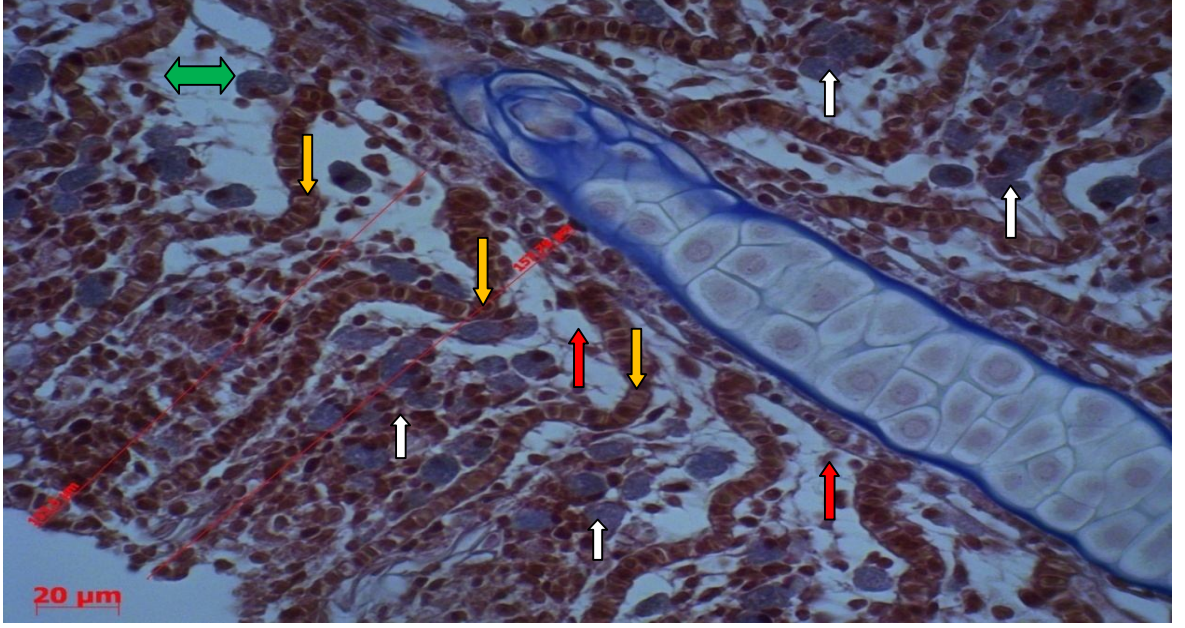


Şekil 46. Yedi (7) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen solungaç dokusu. Filament epitelyumunda kalınlaşma (beyaz ok), mukus hücrelerindeki artış (kırmızı ok). Masson trichrome x 40.

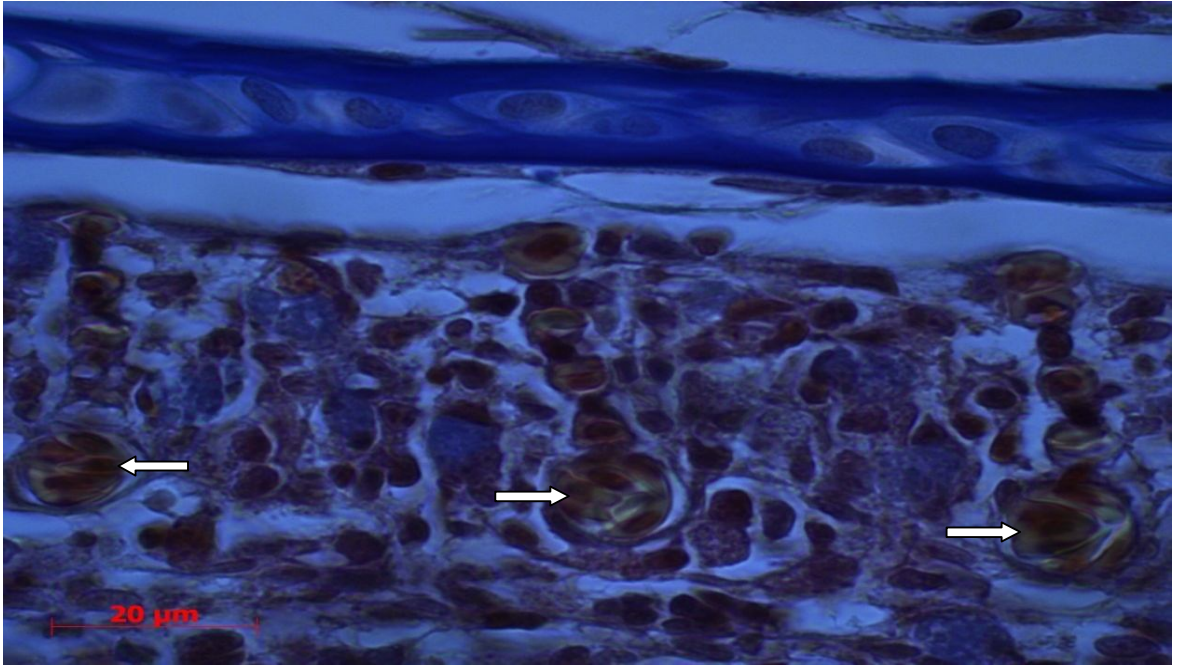
4.1.3.4. Solungaç dokusu 7. gün yüksek doz (37,44 ppm): Yedi (7) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen sazan balıklarının solungaç dokusunda doza bağlı olarak tarak epitelyumunun oturduğu bazal membran da kalınlaşma tespit edildi (Şekil 47). Filament epitelyumun bazal kısımlarındaki hücrelerde dejenerasyon, kapillerde kıvrılmalar ve ödem (Şekil 48), Sekonder lamel kapillerinde konjesyon ve anevrizma gözlemlendi (Şekil 49).



Şekil 47. Yedi (7) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen solungaç dokusu. Solungaç tarak epitelyumu (kırmızı ok), bazal membran (beyaz ok), solungaç tarak bağ dokusu (sarı ok). Masson trichrome x 100.

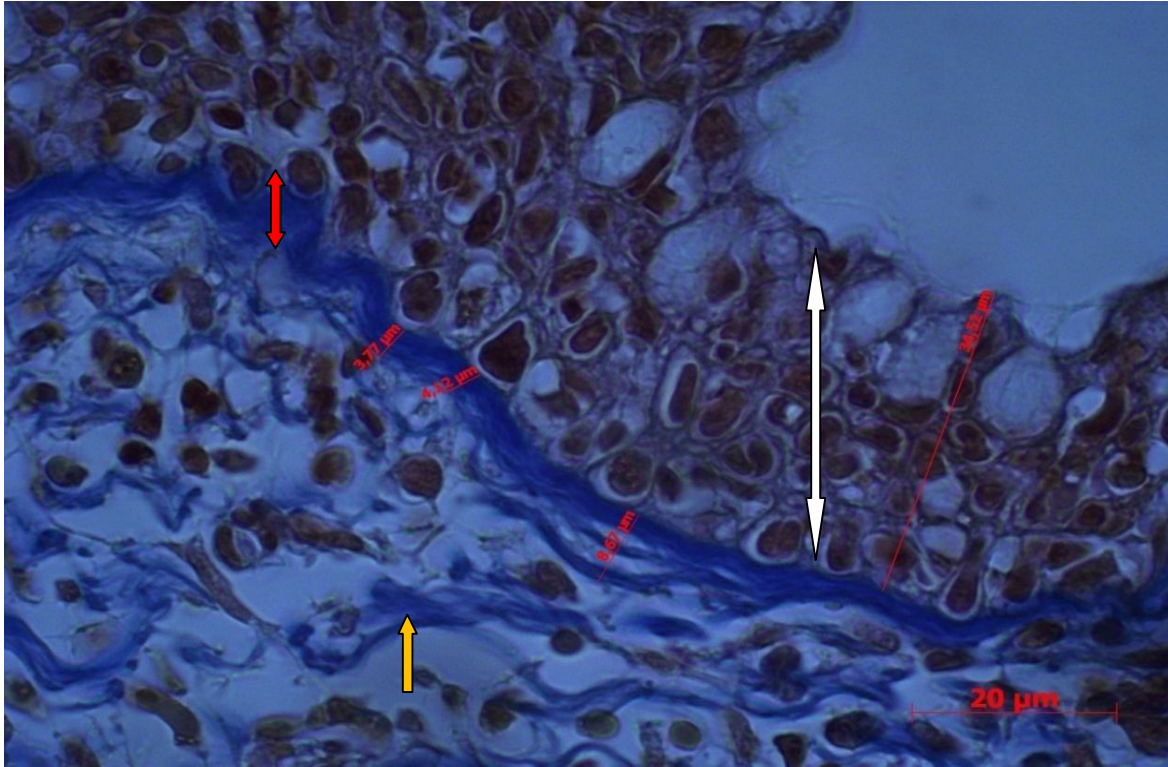


Şekil 48. Yedi (7) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen solungaç dokusu. Filament epitelyumu ile sekonder lameller arasında mukus hücrelerindeki artış (beyaz ok), filament epitelyumun bazal kısımlarındaki hücrelerde dejenerasyon (kırmızı ok), kapillerde kıvrılmalar (sarı ok), ödem (çift yönlü yeşil ok). Masson trichrome x 40.

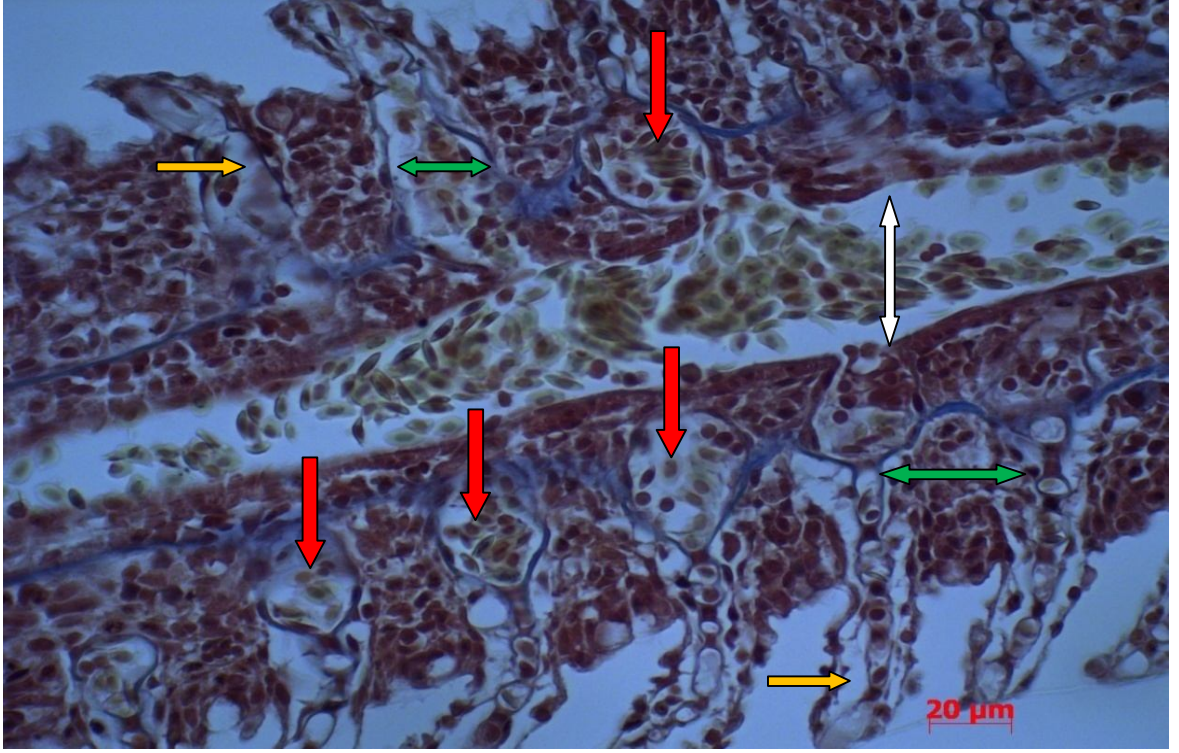


Şekil 49. Yedi (7) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen solungaç dokusu. Sekonder lamel kapillerinde konjesyon ve anevrizma (beyaz ok), Masson trichrome x 100.

4.1.3.5. Solungaç dokusu 14. gün düşük doz (9,36 ppm): Ondört (14) gün süre ile düşük doz krom (VI) verilen sazan balıklarının solungaç dokusunda kontrol grubuna göre tarak epitelyumun oturduğu bazal membranda kalınlaşma tespit edildi (Şekil 50). Primer lamel veninde dilatasyon, sekonder lamel kapillerinde konjesyon ve anevrizma, kapiller etrafında ödem, sekonder lamellerde kalınlaşma (Şekil 51).

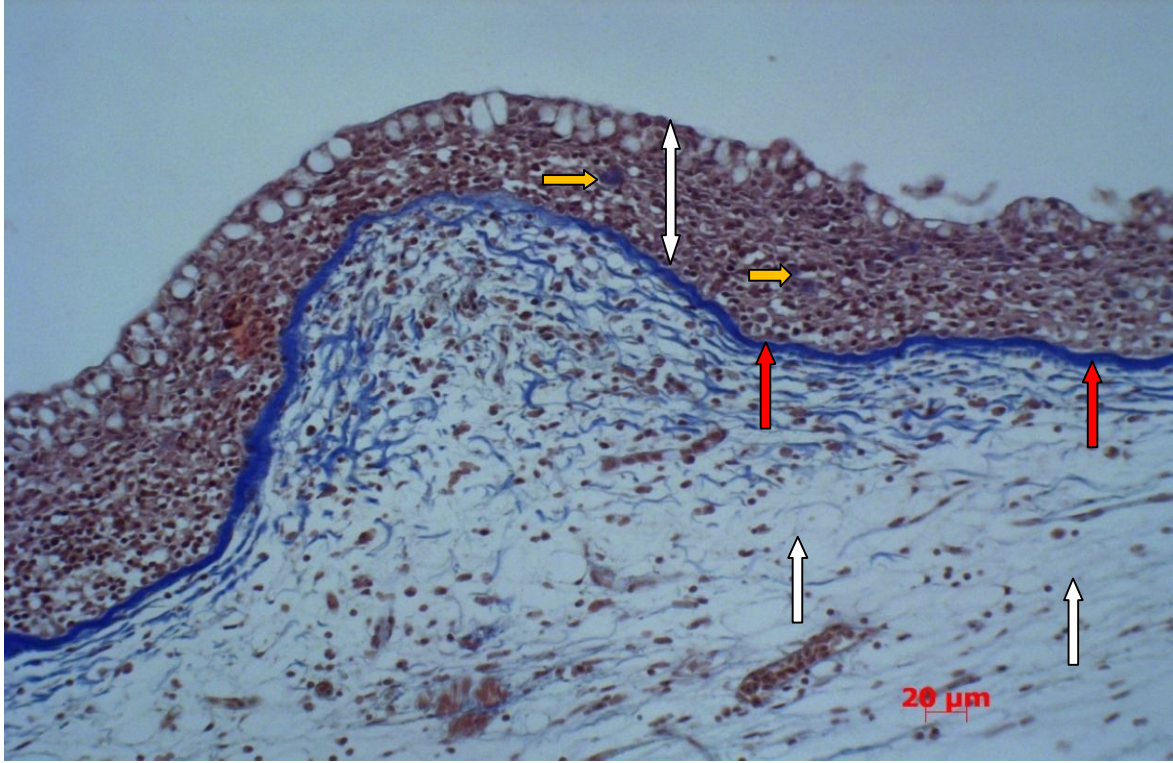


Şekil 50. Ondört (14) gün süre ile düşük doz krom (VI) verilen solungaç dokusu. Solungaç tarak epitelyumi (beyaz ok), bazal membran (kırmızı ok), solungaç tarak bağ dokusu (sarı ok). Masson trichrome x 100.

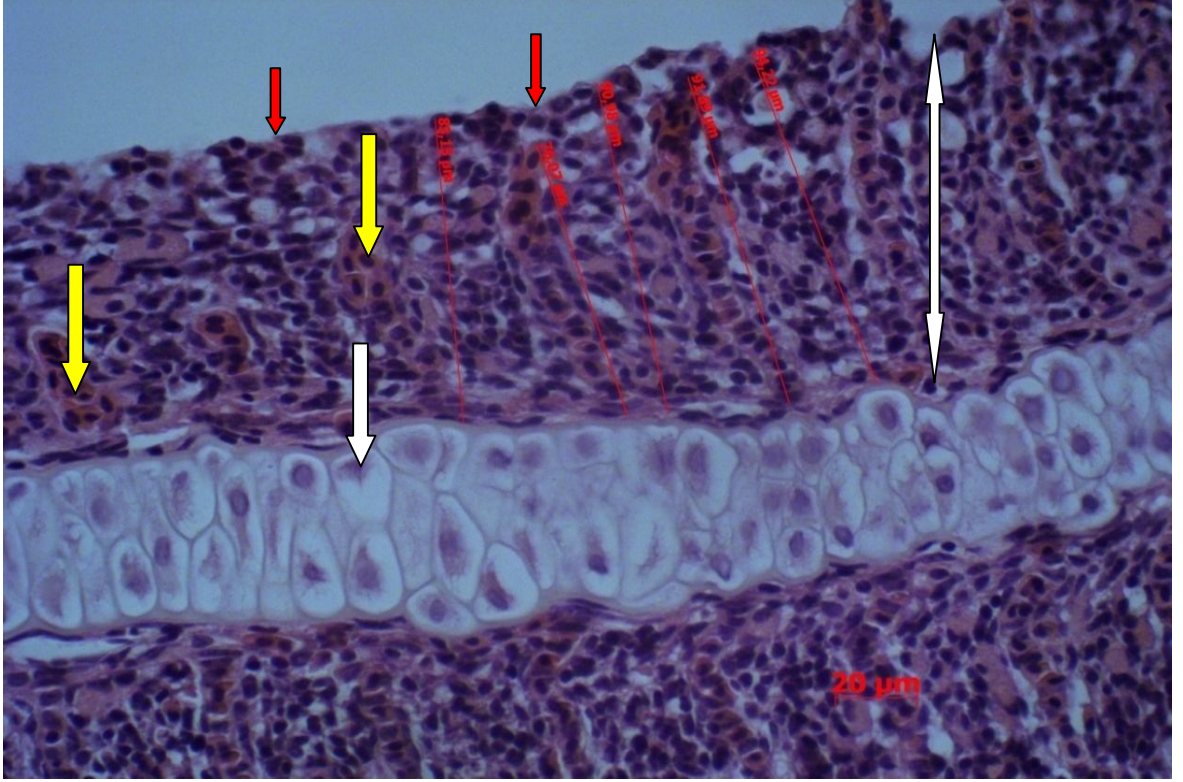


Şekil 51. Ondört (14) gün süre ile düşük doz krom (VI) verilen solungaç dokusu. Primer lamel veninde dilatasyon (çift yönlü beyaz ok), sekonder lamel kapillerinde konjesyon ve anevrizma (kırmızı ok), kapiller etrafında ödem (sarı ok). Masson trichrome x 40.

4.1.3.6. Solungaç dokusu 14. gün orta doz (18,72 ppm): Ondört (14) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen sazan balıklarının solungaç dokusunun solungaç taraklarının bazı epitelyum bölgelerinde hiperplazi, epitelyum içinde mukus salgı yapan hücreler, epitelyumun altındaki bazal membranda kalınlaşma gözlemlendi (Şekil 52). Filament epitelyumunda kalınlaşma ve sekonder lamellerin yapışması düşük doz verilen gruba göre daha belirgindi. Sekonder lamellerin kapillerlerinde genişleme tespit edildi (Şekil 53).

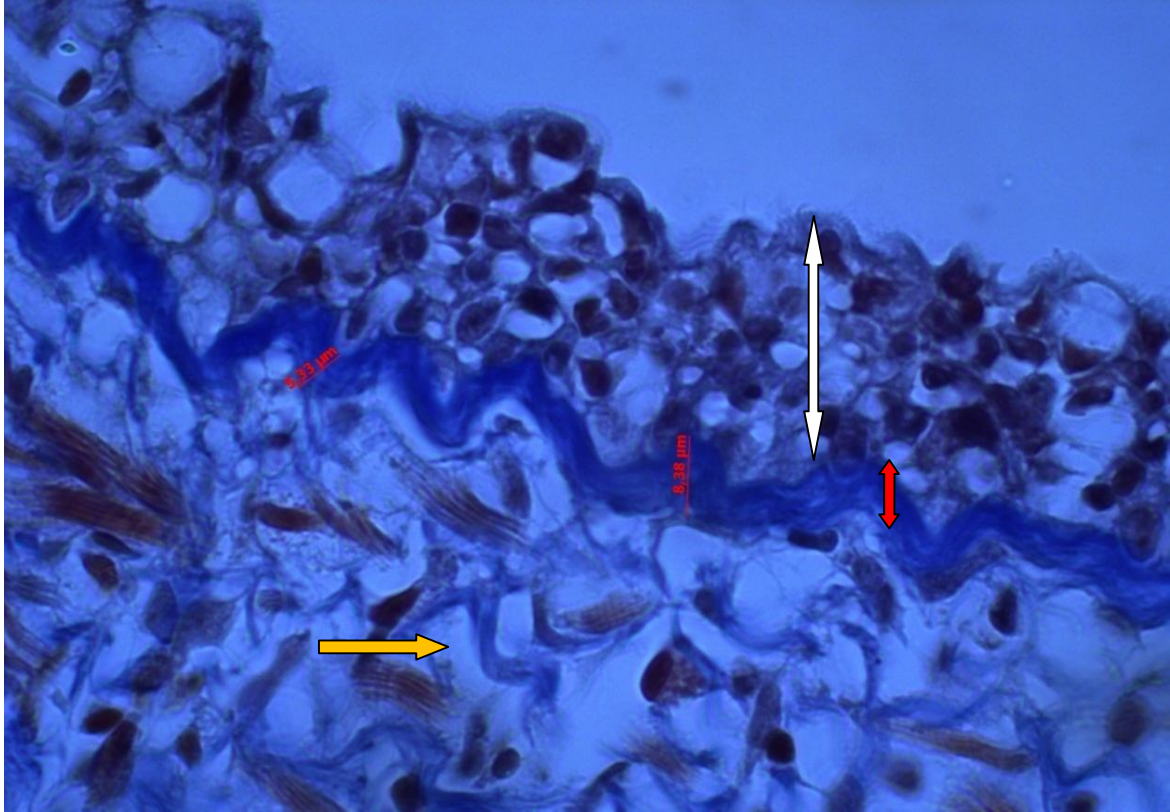


Şekil 52. Ondört (14) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen solungaç dokusu. Solungaç tarak epitelyumu (çift yönlü beyaz ok), epitelyum arasındaki mukus hücreleri (sarı ok), bazal membran (kırmızı ok), solungaç tarak bağ dokusu (beyaz ok). Masson trichrome x 20.

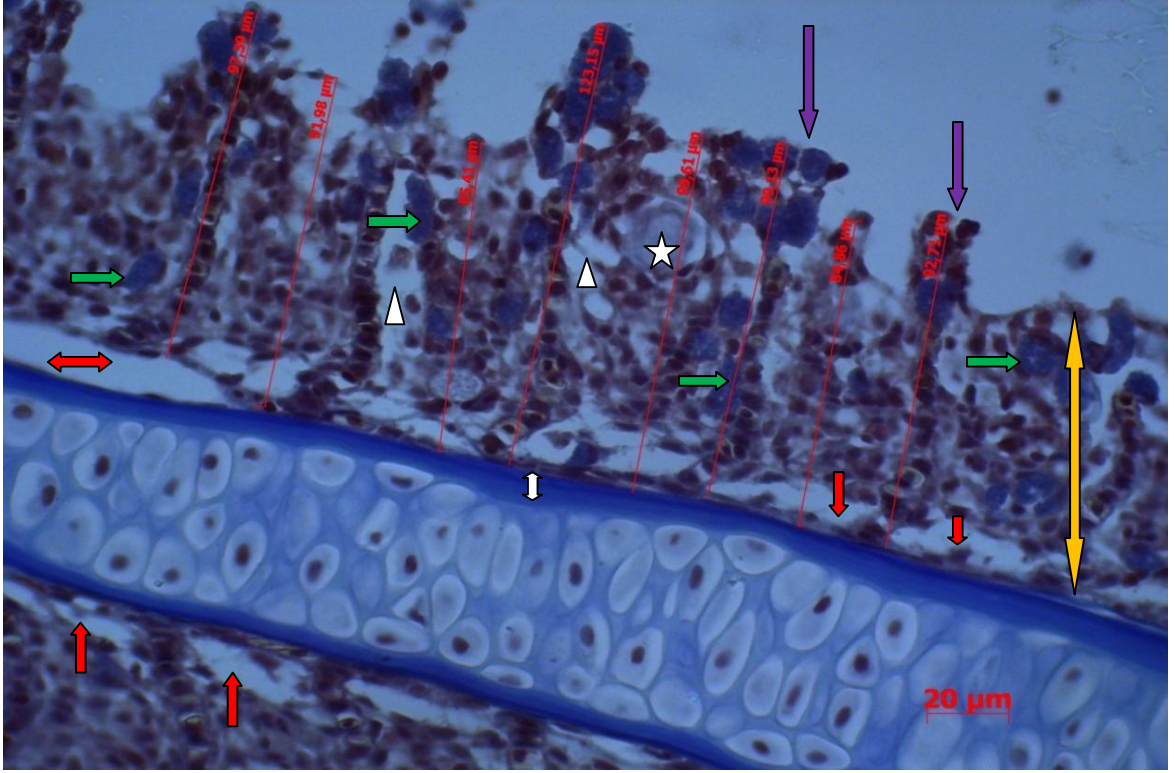


Şekil 53. Ondört (14) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen solungaç dokusu. Filament epitelyumunda kalınlaşma (çift yönlü beyaz ok), sekonder lamellerde yapışma (kırmızı ok), sekonder lamellerin kapillerlerinde dilatasyon (sarı ok), kıkırdak hücrelerinde dejenerasyon (beyaz ok). H.E. x 40.

4.1.3.7. Solungaç dokusu 14. gün yüksek doz (37,44 ppm): Ondört (14) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen sazan balıklarının solungaç dokusunun solungaç taraklarının epitelyumunun altındaki bazal membranın kalınlığının diğer gruplara göre arttığı gözlemlendi (Şekil 54). Filament epitelyumunda ödem, kalınlaşma, nekrotik alanlar, sekonder lamellerde mukus hücre artışı ve sekonder lamellerde yapışma ile yer yer kopmalar, perikapiller alanlarda ödem tespit edildi (Şekil 55).



Şekil 54. Ondört (14) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen solungaç dokusu. Solungaç tarak epitelyumu (çift yönlü beyaz ok), bazal membran (kırmızı ok), solungaç tarak bağ dokusu (sarı ok). Masson trichrome x 100.



Şekil 55. Ondört (14) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen solungaç dokusu. Hiyalin kıkırdak (beyaz ok), filament epitelyumunda ödem (kırmızı ok), kalınlaşma (sarı ok), nekrotik alanlar (yıldız), filament epitelyumunda ve sekonder lamellerde mukus hücre artışı (yeşil ok), sekonder lamellerde yapışma yer yer düzleşme (mor ok), perikapiller alanlarda ödem (üçgen). Masson trichrome x 40.

4.2. Mikronukleus Bulgular:

Sazan balıkları krom (VI)'nın düşük (9,36 ppm), orta (18,72 ppm) ve yüksek (37,44 ppm) konsantrasyonlarına 7 ve 14 gün boyunca maruz bırakılmışlardır. Çalışmada her grup için 10 örnek üzerinden 1000 hücre sayılmıştır. Periferal kan eritrositlerinde tespit edilen MN frekansları Çizelge 4'de verilmiştir. Deneme dozlarında meydana gelen MN frekansları ve kontrol grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P < 0,001$). Doz ve uygulama süresi karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir ($P > 0,05$).

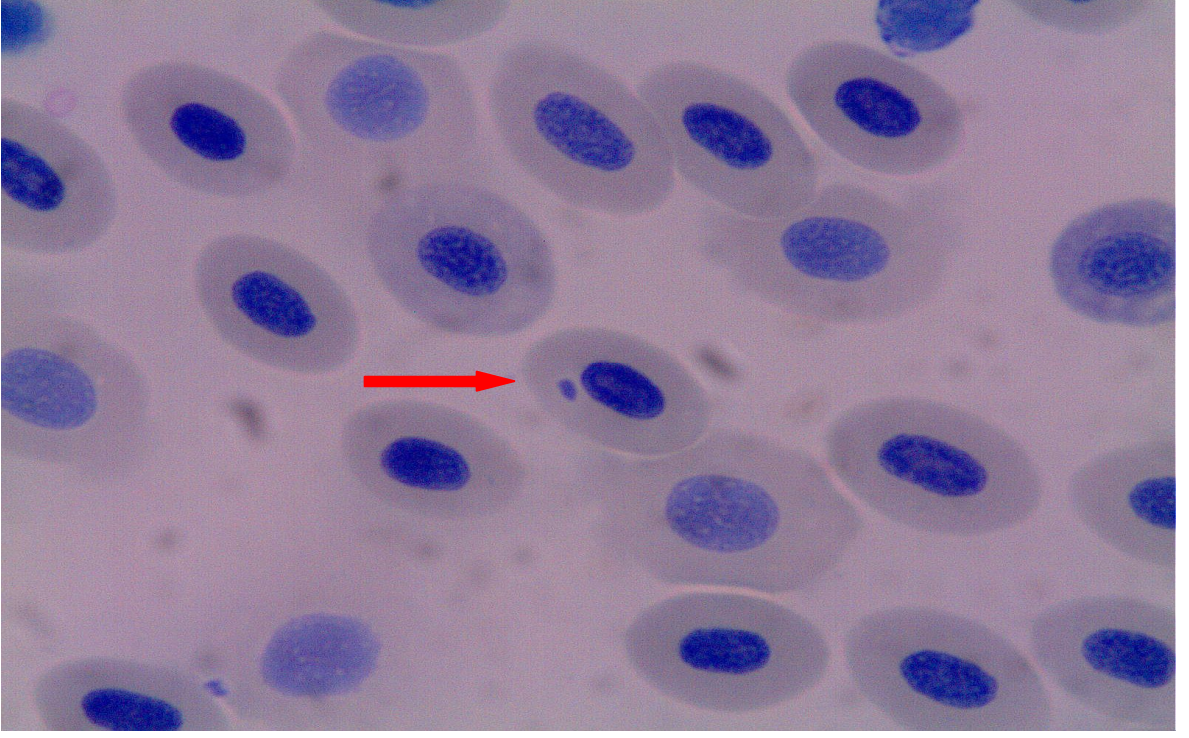
Çalışmada 7 gün sonunda krom (VI)'nin kontrol grubundaki MN frekansı %2, düşük doz %9,5 ve yüksek doz %14 olarak belirlenmiştir. Yedinci gün sonunda, yüksek doz preparatlar üzerinde boya kalıntılarına rastlandığı ve bunun sonucunu etkileyeceği düşünüldüğünden hesaplama katılmamıştır.

Çalışmada 14 gün sonunda krom (VI)'nin kontrol grubundaki frekansı % 2,25 iken, düşük doz, orta doz ve yüksek dozda rastlanılan MN frekansı sırasıyla %7,33, %10 ve %17,2'dir.

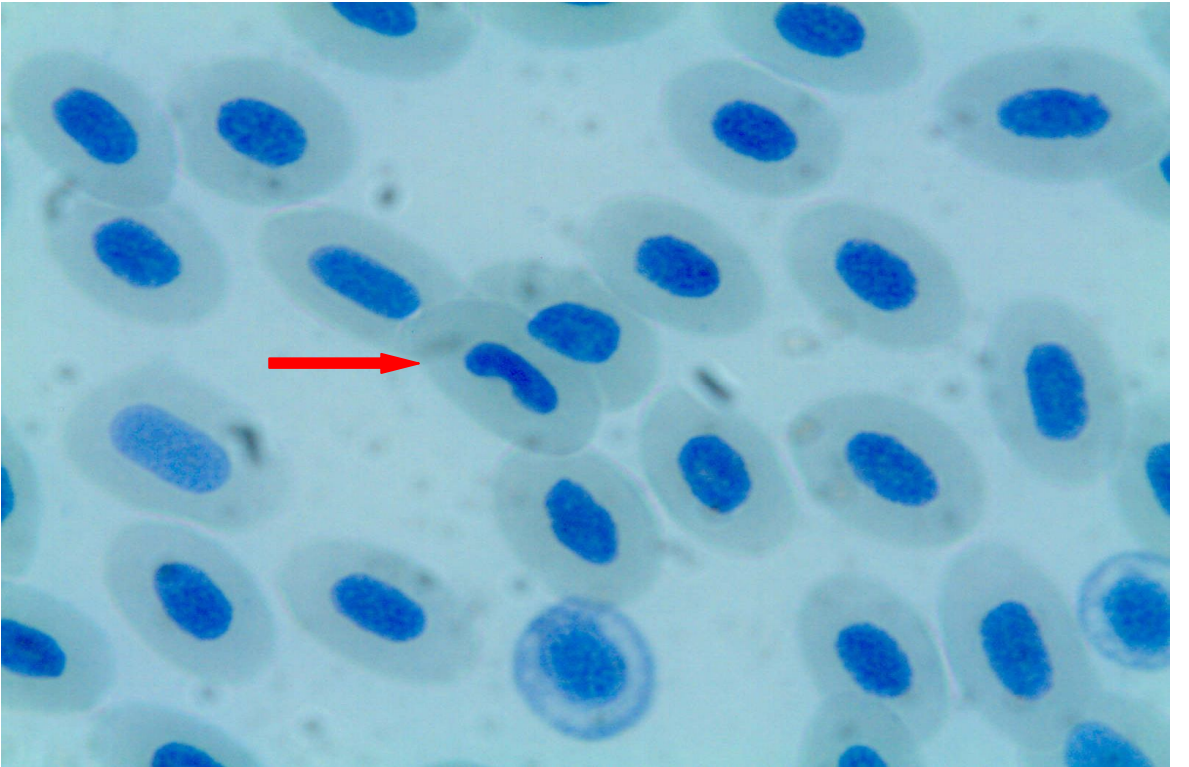
Çizelge 4. Krom (VI)'nin farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılan sazan balığında görülen mikronukleus frekansları (% Ort \pm SD)

| Uygulama Süresi (gün) | Kontrol | 9.36 ppm | 18.72 ppm | 37.44 ppm |
|-----------------------|-----------------|-----------------|---------------|-----------------|
| 7 | 2 \pm 0.82 | 9.5 \pm 2.26 | 14 \pm 1.41 | – |
| 14 | 2.25 \pm 0.96 | 7.33 \pm 1.37 | 10 \pm 5.21 | 17,2 \pm 4,87 |

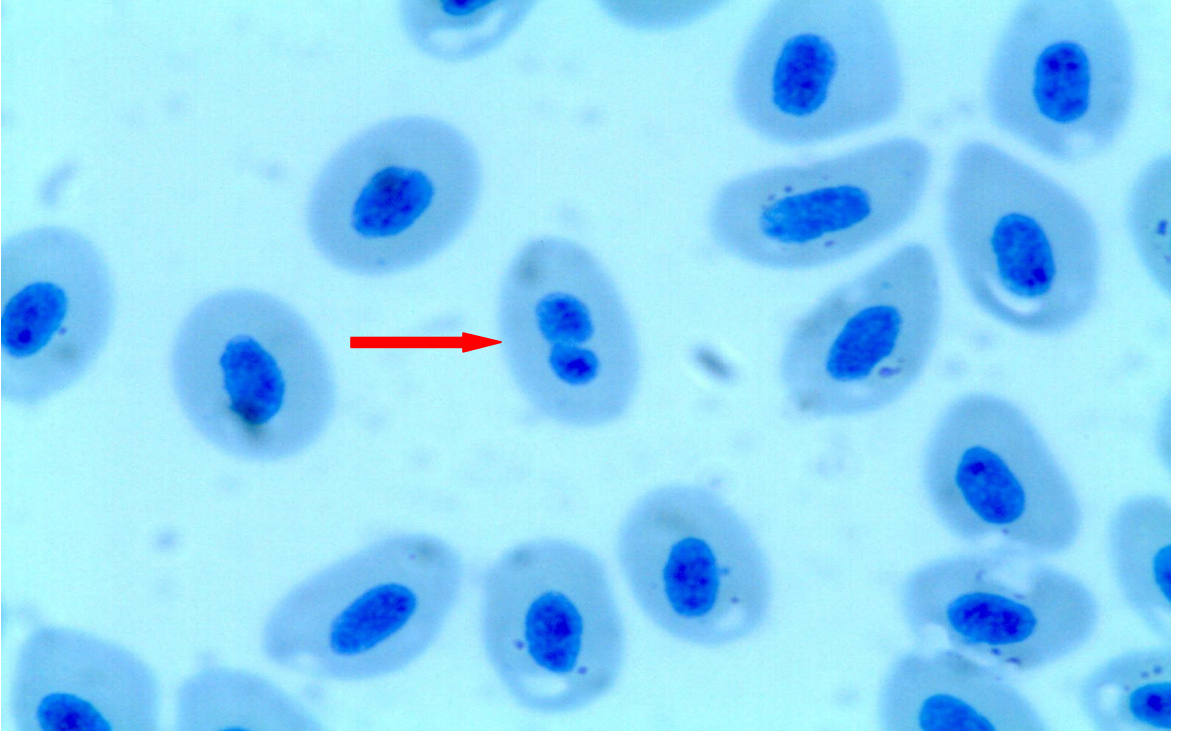
Cyprinus carpio eritrositlerinde belirlenen mikronukleus (Şekil 56) ve çeşitli morfolojik nukleus düzensizlik oluşumları Şekil 57, 58, 59 ve 60'da gösterilmiştir. Çalışma kapsamında özellikle 7 günlük uygulama süresi içerisinde farklı nukleus düzensizlik oluşumları gözlemlenmiş fakat istatistiksel olarak anlam teşkil etmediği için çalışmaya dahil edilememiştir.



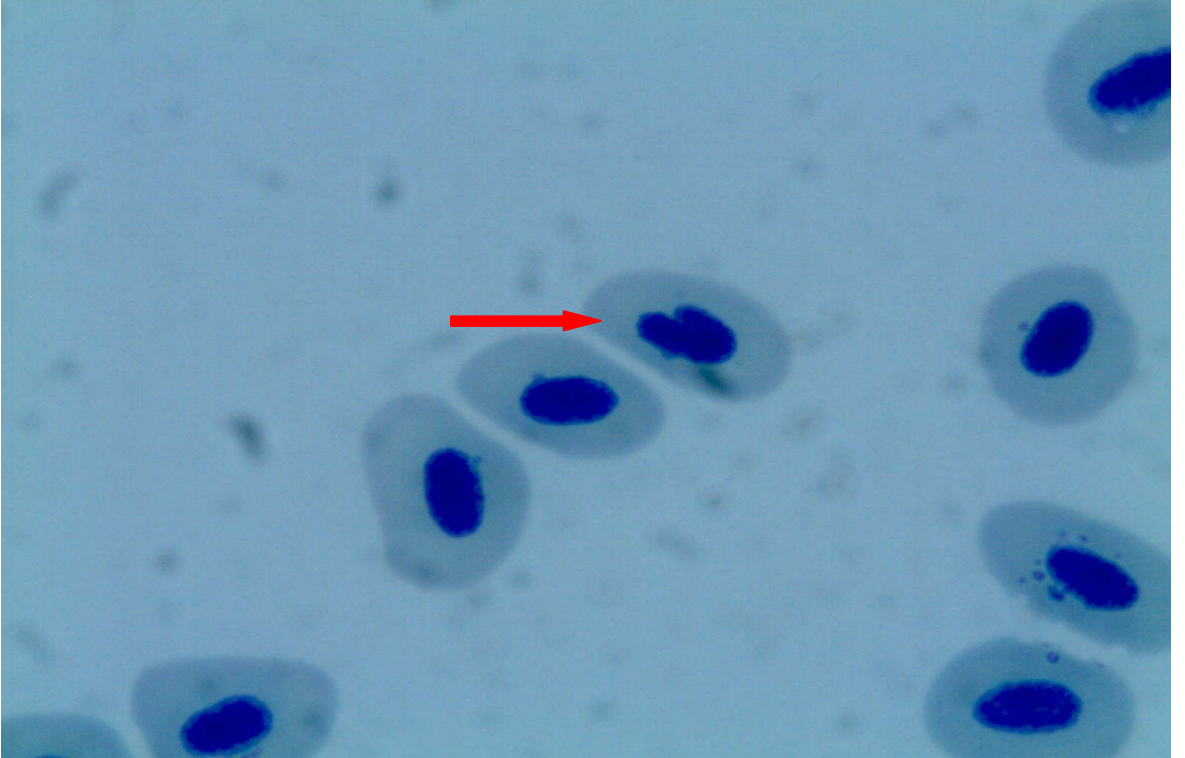
Şekil 56. *Cyprinus carpio*'da mikronukleuslu eritrosit oluşumu (kırmızı ok).



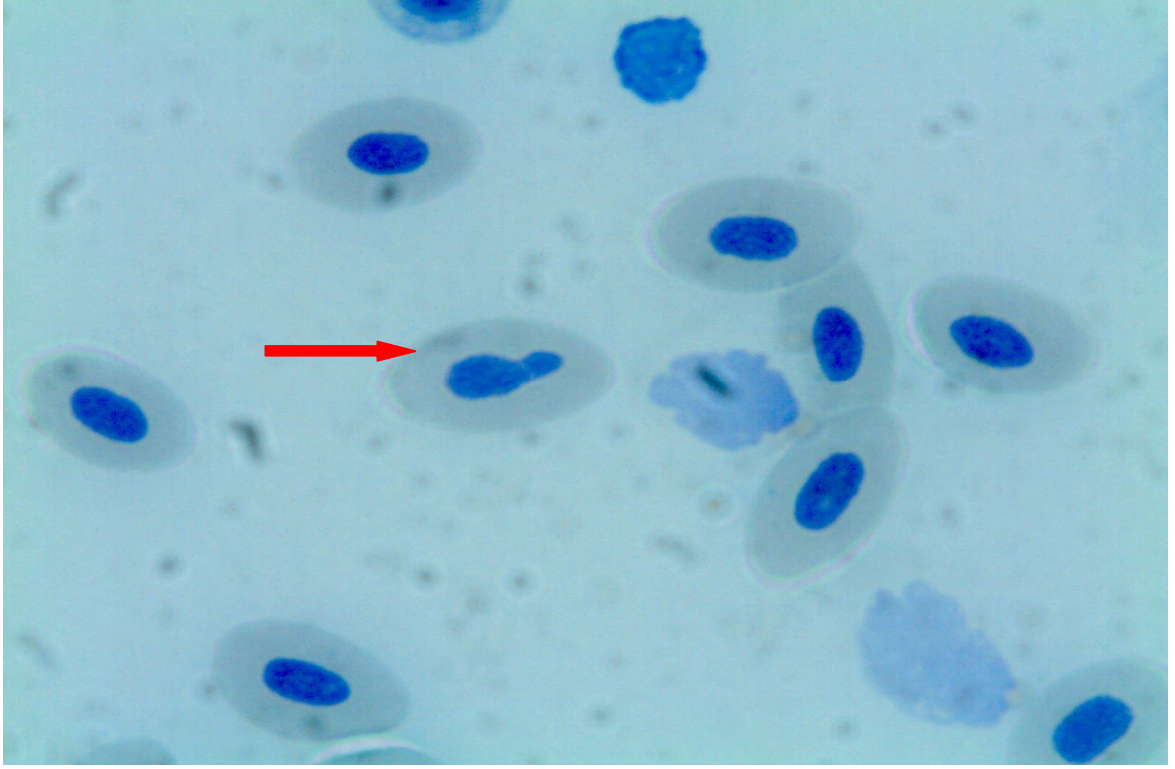
Şekil 57. *Cyprinus carpio*'da çentikli nukleus oluşumu (kırmızı ok).



Şekil 58. *Cyprinus carpio*'da eritrositinde tomurcuk nukleus oluşumu (kırmızı ok).



Şekil 59. *Cyprinus carpio*'da çentikli nukleus oluşumu (kırmızı ok).



Şekil 60. *Cyprinus carpio*'da loblu nukleus oluşumu (kırmızı ok).

4.3. Tartışma

Krom (VI) tuzları endüstride geniş kullanım alanına sahip olmakla beraber sucul ekosistem içerisindeki balık popülasyonu için de tehdit oluşturmaktadır. Balıklarda krom toksisitesi ile ilgili çalışmalar daha çok biyokimyasal, enzimolojik ve immün cevap alanlarında olmuştur (Al-Akel ve Shamsi 1996; Vutukuru, 2003). Krom toksisitesini belirlemede balıklardaki histopatolojik çalışmalar solungaç, böbrek, karaciğer gibi hayati organlardadır. Kromdan kaynaklanan sitotoksik etkiler farklı memelilerin organlarında histopatolojik olarak da incelenmiştir (Murty ve ark., 1991; Travacio ve ark., 2001; Oliveria ve ark., 2006; Subramanian ve ark., 2006). Toksikitenin saptanmasında laboratuvar ortamında kimyasal elementlerin etkilerinin balıkların hedef organlarında histopatolojik olarak incelenmesinin iyi bir belirteç olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır (Ortiz ve ark., 2003; Cengiz, 2006; Velmurugan ve ark., 2007).

Balıklarda Hg, Cd, Pb, Zn, Al ve Cu gibi metallerin etkisi histopatolojik olarak farklı organlarda incelenmiştir (Kendall, 1975; Thophon ve ark., 2003; Figueiredo-Fernandes ve ark., 2007).

Sucul ortamda yüksek konsantrasyonda mevcut olan ağır metaller metabolik, fizyolojik ve yapısal sistemde ciddi bozulmalara neden olmuştur (De Smet ve Blust, 2001; Kuykendall ve ark., 2006). Ağır metallerin arasında krom, balıklar için en zararlı kirleticidir (Al-Akel ve Shamsi, 1996).

Sucul organizmaların dokularında ağır metal eliminasyonunu etkileyen birçok faktör vardır. Etkide kalma süresi, dokunun yapısı, ortam sıcaklığı, organizmanın yaşı, metabolik aktivitesi ve metallerin biyolojik yarılanma süreleri eliminasyonu etkileyen faktörlerin başında gelmektedir (Eisler, 1985; Arpaç, 2002). Ağır metaller genellikle canlıların belirli dokularında daha yüksek düzeyde birikmektedir. Birikimin en yüksek düzeyde olduğu dokular karaciğer, dalak, solungaç ve böbreklerdir (Erdem ve Kargin, 1990, 1992; Kargin ve Çoğun, 1999). Bu dokular metalin absorpsiyon, detoksifikasyon ve eliminasyonunda önemli rol oynamaktadır. Buna ek olarak metallothioneinlerin başlıca sentezlendiği organlardır (Viarengo ve ark., 1985; Canlı, 1995; Cinier ve ark., 1999).

Sazan balığı gerek laboratuvar koşullarında gerekse de ortam koşullarında farklı kontaminantların etkilerinin belirlenmesinde kullanılan model balıklardan biridir (Al-Sabti 1986; Nepomuceno ve ark., 1997; Grisolia ve Starling, 2001; Gustavino ve ark., 2001; Pellacani ve ark., 2006).

Krom maruziyetinin karaciğer ve solungaç dokularının histolojisinde meydana getirdiği dejeneratif değişiklikler birçok çalışmada gösterilmiştir (Karsson-Norggren ve ark

1986; Randi ve ark., 1996, Arellano ve ark., 1999; Ortiz ve ark., 2003; Olojo ve ark., 2005; Figueiredo-Fernandes ve ark., 2007).

Vücut yüzeyi ve solungaçlar ortamda bulunan ağır metallerin canlılara doğrudan giriş yaptıkları dokulardır. Balıklarda ağır metallerin varlığında vücut yüzeyini ve solungaçları kaplayan mukus salgısı solungaçlardan ve vücut yüzeyinden meydana gelen ağır metal girişini azaltabilir (Eisler, 1998; Beek, 2000). Sucul organizmalarda metal alımı, suda çözülmüş olan ağır metal iyonlarının solungaçlarla organizmaya girişi ve besin yoluyla organizmaya girişi olmak üzere iki şekilde olmaktadır (Yang ve Chen, 1996). Balıklarda iyon ve gaz değişiminde rol oynayan solungaç yapısında bulunan mukus, ağır metalleri bağlamakta ve vücuda girişi engellenmektedir. Solungaçlar suyla direk temas halinde olmaları nedeniyle çözülmüş ağır metallerin vücuda girişinde önemli rol oynarlar (Canlı ve Stagg, 1996; Khan ve Nugegoda, 2003). Solungaçlar balıklarda solunum ve ozmoregülasyon fonksiyonları için kritik bir organdır. Kroma maruz kalmadan dolayı solungaç dokusundaki hasar oksijen tüketimini azaltır ve balıklarda ozmoregülatör fonksiyonları bozar (Mishra ve Mohanty, 2008). Birçok araştırmacı solungaç dokusunda diğer dokulara göre daha fazla ağır metal biriktirdiğini belirlemişlerdir (Canlı ve Fluness, 1993a,b; Anderson ve ark., 1997; Anton ve ark., 2000). Balıklarda solungaç dokusundaki metal birikim düzeyi, diğer dokulara oranla daha kısa sürede artış göstermekle birlikte, etkide kalma süresiyle bu dokudaki metal birikim hızı giderek yavaşlamaktadır (Kalay, 1996). Metallerin eliminasyonu ile ilgili sucul canlılarda yapılan çalışmalarda genelde metallerin tümünün solungaçlarda yüksek düzeyde elimine olduğu belirtilmiştir (Viarengo ve ark., 1985; Kargın ve Çoğun, 1999).

Bu çalışmada doz ve süreye bağlı olarak solungaçlardaki mukus hücre sayısındaki ve buna paralel olarak da mukus salgısındaki artış belirgin olarak gözlemlenmiştir, ancak krom (VI)'ya maruz kalan balıkların karaciğerlerinde meydana gelen histopatolojik değişiklikler göz önüne alındığında, deri ve solungaçlardan salgılanan mukusun, krom (VI)'nın karaciğerindeki yapısal bozuklukları engelleyemediğini ortaya koymaktadır. Bunun yanı sıra mukus salgısının artmasının solunum epitelyum ile klorid hücrelerin fonksiyonlarını da olumsuz yönde etkileyebileceğini düşünmekteyiz.

Mishra ve Mohanty (2008), 20 ve 40 mg/L kroma maruz bıraktıkları *Channa punctatus*'ların solungaçlarının epitelyumunda hiperplazi, lamellerde yapışma, nekroz dökülmeler, anevrizma ve aşırı mukus salgısı gözlemlenmiştir. Mishra ve Mohanty (2008), krom (VI) verdikleri *Channa punctatus* balıklarının solungaçlarında konjesyon ve sekonder lamel hücrelerinde hiperplazi ile lamel epitelyum hücreleri ve kapiller yatakları arasında ayrımların olduğunu rapor etmişlerdir (Parvathi ve ark., 2011). Kromun yüksek

konsantrasyonuna maruz kalan balıkların solungaçlarındaki hasarın, toksik maddenin subletal konsantrasyonuna maruz kalan balıklara göre daha şiddetli olduğunu bildirmişlerdir. Letal dozda krom (VI) uygulamasının solungaç sekonder lamellerinin son kısımlarında çomaklaşma, komşu sekonder solungaç lamellerinde birleşme, birincil lamellerde nekroz, epitelyumda kalkma ve sekonder lamellerde kıvrılmalar olduğunu gözlemlemişlerdir. Krom (VI)'ya maruz kalmış balıkların solungaçlarındaki epitelyum lezyonları, vazodilatasyon ile filament bölgesinde ödem Vinodhini ve Narayanan (2009) tarafından da rapor edilmiştir. Mishra ve Mohanty (2008), bulgularımıza benzer şekilde, krom (VI) uygulamasından sonra solungaçta konjesyon ve sekonder lamel hücrelerinde hiperplazi ile lamel epitelyum hücreleri ve kapiller yataklar arasında ayrılmalar gözlemişlerdir. Bu çalışmada, krom (VI)'ya yüksek doz ve uzun süre maruz kalan sazan balıklarında solungaçlarda meydana gelen histopatolojik değişiklikler zaman ve doza bağlı olarak daha şiddetli olmuştur. Yüksek dozda krom (VI) solungaç tarak bazal membranlarında kalınlaşmaya (kollajen artışı ve hiyalinizasyon), filament epitelyumunda ve mukus hücrelerinde hiperplazi, sekonder lamellerde yapışma, düzleşme, ödem, ven ve kapillerlerde konjesyon, vazodilatasyon, anevrizma, nekrotik alanların ortaya çıkması gibi histopatolojik değişikliklere neden olmuştur.

Farklı balık türlerinde karaciğer dokusunun diğer dokulara göre ağır metalleri daha fazla biriktirdiği saptanmıştır (Yang ve Chen, 1996). Hepatopankreas, metallothionein ve metal bağlayıcı proteinleri sentezleyerek metallerin depolanmasında, metallerin detoksifikasyon ve atılmasında önemli işlevi olan bir organdır (Cinier ve ark., 1999). Toksisitenin etkisinden dolayı karaciğerde maruziyet değişiklikleri dejeneratif değişikliklerle ilişkilidir (Arellano ve ark., 1999; Olojo ve ark., 2005; Figueiredo-Fernandes ve ark., 2007). Karaciğerde krom tarafından oluşturulmuş vakuolizasyon, nekroz gibi değişiklikler bakır maruziyeti için de bildirilmiştir (Figueiredo-Fernandes ve ark., 2007).

Krom karaciğerde normal yapı kaybına, karaciğer paranzim hücrelerinde yağ değişikliklerine, vakuolizasyona, eksantrik konumlu çekirdeklere ve Kupffer hücrelerinde hipertrofiye neden olmaktadır (Das ve Mukherjee, 2000). Abbas ve Ali (2007), çalışmalarında balıklarda metabolizma merkezi olan organın karaciğer olduğunu, kromun etkilerinin karaciğerde yapısal hasarlara yol açtığını belirtmişlerdir.

Velma ve Tchounwovu (2010), krom (VI)'nın farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılmış balıkların karaciğer paranzim hücrelerinde vakuolizasyon ile bozulmalar gözlemlemişlerdir. Vakuolizasyonun sitoplazmada aşırı yağ birikiminden kaynaklandığını belirtmişlerdir. Karaciğer paranzim hücrelerinde lipid ve glikojen birikimine bağlı olarak

piknotik yapı tespit etmişlerdir. Yüksek krom (VI) konsantrasyonuna maruz kalan karaciğerlerin ana toplardamarlarında lenfosit ve nötrofil infiltrasyonlarının neden olabileceğini düşündükleri hasarları gözlemlemişlerdir. Bu çalışmada, karaciğer paraneoplazmi hücrelerinde yağlanma, vakuolizasyon, dejenerasyon, piknotik ve eksantrik konumlu çekirdek, nekrotik alanlar, mono nükleer hücre infiltrasyonu, Kupffer hücre sayısında artış, sinüzoidlerde konjesyon ve dilatasyon, periarterial ve pankreas loblarının etrafında ödematöz değişiklikler, pankreas asinüs hücrelerinin çekirdek yapısında bozulmalar tespit edilmiştir.

Türkmen (2011), dil balıklarının kaslarında birçok ağır metalin birikim gösterdiğini belirlemiştir. Bu metallerin içinde krom da önemli yer tutmaktadır. Mishra ve Mohanty (2008), krom (VI) uygulamasından sonra kasta yapılan incelemelerinde, kas hücrelerinde vakuolizasyon ve destrüksiyona rastladıklarını bildirmişlerdir. Bu çalışmada, kas lifleri arasındaki bağdokusu ile kas demetleri arasındaki bağdokusunda bulunan kollajende artış, bağdokuda mono nükleer hücre artışı ve kas liflerindeki atrofinin doza ve süreye bağlı olarak artış gösterdiği tespit edilmiştir. Kaslarda vakuolizasyon ve kas liflerindeki yapısal bozukluklar çalışmamızda da gözlemlenmiştir.

Mishra ve Mohanty (2008), 20 ve 40 mg/L krom tuzu, potasyum dikromata maruz kalan balıklardaki dejeneratif değişikliklerin solungaç dokularında böbrek ve karaciğer dokularına göre daha belirgin olduğunu ve düzensiz yüzme hali, denge kaybı gibi normal olmayan davranışlar sergilediklerini tespit etmişlerdir. Benzer belirtiler krom (VI)'ya uzun süre yüksek dozda maruz bırakılan balıklarda solungaç>karaciğer>kas şeklinde bizim çalışmamızda da bulunmuştur. Balıklardaki anormal davranışlar yüksek doza maruziyette bu çalışmada da tespit edilmiştir. Balıklardaki düzensiz yüzme ve denge kayıplarının kaslardaki atropiye bağlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Zhu ve ark. (2004), yaptıkları çalışmada mikronükleus (MN) oluşumuna metallere krom (VI), kadmiyum ve bakır' ın farklı konsantrasyonlarına ayrı ve birlikte, zamana bağlı olarak sazan (*C. carpio*) balığında bakmışlardır. Krom (VI)'nın üç farklı konsantrasyonuna (0.001, 0.01 ve 0.1 mg/L) maruz bırakılan balıklardan farklı zamanlarda (2, 4, 6, 9, 12, 17, 22, 32 ve 42.günlerde) kan alınarak MN sayımı yapılmıştır. MN frekansı ve konsantrasyon arasındaki ilişkiye bakıldığında, konsantrasyona bağlı artış olduğu gözlenmiştir. MN frekansı ve maruz kalma süresi arasındaki ilişkiye bakıldığında düşük krom (VI) konsantrasyonunda zamana bağlı artış gözlenmiştir. MN frekansı krom (VI) uygulamasından sonraki birkaç gün artmış ve bir müddet sonra maksimum seviyeye ulaşmıştır. Krom (VI)'nın 0.01 mg/L konsantrasyonunda MN frekansı 9. gün maksimum seviyeye çıkmış, daha sonra normal seviyede gözlenmiştir. 0.1 mg/L konsantrasyonuna

maruz bırakılan balıklarda ise MN frekansı 24 saat içerisinde maksimum seviyeye gelmiştir.

Bazı araştırmacılar MN frekanslarında, maksimum seviyeye ulaşıldıktan sonra seviyenin stabil kaldığını gözlemlemişlerdir. Yüksek konsantrasyondaki kirleticilerin hücre döngüsünü durdurabileceğini, kromozomlarda hasar yaratarak, MN frekansını az ya da çok düşebileceğini, bununda balıklardaki koruyucu mekanizmalar tarafından desteklendiğini bu şekilde MN frekansının belli seviyelerde kalabildiği belirtilmiştir (Nepomuceno ve ark.,1997; Brunetti ve ark., 1998).

Çalışmamızda da MN frekanslarına bakıldığında doz ve zamana bağlı olarak artışa rastlanmıştır. Fakat bu artışlar 7. ve 14. günlerde alınan örnekler arasında istatistik bakımından bir fark yaratmamıştır. Bu sonuçlarda diğer araştırmaların sonuçlarını desteklemektedir (Nepomuceno ve ark.,1997; Brunetti ve ark., 1998). Dozla birlikte MN frekansı artmış fakat zaman içerisinde stabil seviyede kalmıştır.

BÖLÜM 5**SONUÇ VE ÖNERİLER**

Farklı doz ve sürelerde krom (VI) verilen sazan balıklarının;

Kas dokularında, kas lifleri arasındaki kollajenin, mono nükleer hücre infiltrasyonunun ve kas liflerindeki dejenerasyonun, kas liflerinde vakuolizasyon ve destruksiyonun doz ve süreye bağlı olarak artış gösterdiği tespit edildi. Çalışmamızda uzun süre yüksek doza maruz kalan balıkların hareketlerinde yavaşlama olduğu gözlemlendi. Kas liflerindeki dejenerasyonun balıkların hareketlerinde yavaşlamaya neden olarak balıkların canlı besinleri yakalamasını engelleyebileceği, bu nedenle de kondisyonlarında da düşüşe neden olabileceği düşünülmektedir.

Karaciğer dokusunda sinüzoidlerde konjesyon ve dilatasyon, karaciğer paransim hücrelerinde dejenerasyon, vakuolizasyon, hipertrofi, piknotik ve ekzantrik yerleşimli çekirdek yapıları, nekroz, pankreas hücrelerinde dejenerasyonun doz ve süreye bağlı olarak ortaya çıkarak artış gösterdiği tespit edildi. Karaciğerde oluşan histopatolojik değişiklikler, bu organa gelen besin maddelerinin uygun şekilde değerlendirilmesini de etkileyeceği için, krom (VI) maruziyetine kalan balıkların diğer organlarının işlevlerinde de bozukluklar ortaya çıkarabileceği düşünülmektedir. Özellikle 14 gün süre ile yüksek doz verilen balıkların pankreas asinüs hücrelerinde meydana getirdiği hasarlar, bu hücrelerden salgılanan enzimleri de etkileyeceği için, dışarıdan alınan besinlerin sindirilmesinde de problemler olabileceği kaçınılmazdır. Pankreas asinüslerinin ve arterlerin çeperlerinde ödematöz yapılara benzer nitelikte yerleşim gösteren boşlukların doku takibinden mi yoksa ödemden mi kaynaklandığı konusunda ise kesin bir yargıya varılamadı.

Solungaç dokusunda filament epitelyum hücrelerinin artışına bağlı olarak epitelin kalınlaşması (hipertrofi), sekonder lamellerde yapışma, düzleşme, kıvrılma ve ödem, filamentlerde ödematöz değişiklikler, nekroz, mukus salgılayan hücrelerde artış (hipertrofi), venlerde konjesyon, dilatasyon ve anevrizma, solungaç tarak epitelyumu altındaki bazal membranda kalınlaşma gibi bulgularının doz ve süreye bağlı olarak ortaya çıktığı ve artış gösterdiği tespit edildi. Solungaçlarda meydana gelen histopatolojik değişikliklerin balıkların kan ve diğer organlarında da işlevsel bozukluklara neden olabileceği kanısına varıldı.

Farklı doz ve sürelerde kullanılan krom (VI)'nın sazan balıklarının kas, karaciğer ve solungaç dokularında doz ve zaman bağlı olarak ciddi histopatolojik değişikliklere sebep olmasının yanında genotoksik olarakta periferik kanda mikronukleus oluşumuna neden olduğu belirlendi. Özellikle dozla doğru orantılı olarak mikronukleus oluşumları artmıştır.

Geniş bir kullanım alanı olan krom (VI)'ın balık dokularına verdiği hasarlar göz önüne alındığında bu metalin besin zinciri yoluyla insanlarda da birikimi söz konusu olabileceğinden krom (VI) ve diğer ağır metallerin kullanımlarında daha dikkatli olunması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Abbas H.H. ve Ali F.K., 2007. Study the Effect of Hexavalent Chromium on Some Biochemical, Citotoxicological and Histopathological Aspects of the *Oreochromis* spp. Fish. *Pakistan J. of Biol. Sci.*, 10 (22): 3973-3982.
- Al-Akel A.S. ve Shamsı M.J.K., 1996. Hexavalent Chromium: Toxicity and Impact on Carbohydrate Metabolism and Haematological Parameters of Carp (*Cyprinus carpio* L.) from Saudi Arabia. *Aquat. Sci.*, 58 (1): 24-30.
- Ali F.K., El-Shehawi A.M. ve Seehy M.A., 2008. Micronucleus Test in Fish Genome: A Sensitive Monitor for Aquatic Pollution. *Afr.J. of Biotechnol.*, 7 (5): 606-612.
- Al-Sabti K., 1986. Clastogenic Effects of Five Carsinogenic-Mutagenic Chemicals on the Cells of the Common Carp *Cyprinus carpio* L. *Comp. Biochem. Physiol. C.*, 85 (1): 5-9.
- Al-Sabti K. ve Kurelec B., 1985. Induction of Chromosomal Aberrations in the Mussel *Mytilus galloprovincialis* Watch. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 35: 660-665.
- Al-Sabti K. ve Metcalfe C.D., 1995. Fish Micronuclei for Assessing Genotoxicity in Water. *Mutat. Res.*, 343 (2-3): 121-135.
- Anderson M.B., Reddy P., Preaslan J.E., Fingerman M., Bollinger J., Jolibois L., Maheshwarudu G. ve William J.G., 1997. Metal Accumulation in Crayfish, *Procambarus clarkii*, Exposed to a Petroleum-Contaminated Bayou in Louisiana. *Ecotoxicol. and Environ. Safe.*, 37 (3): 267-272.
- Anderson S.L., Hose J.E. ve Knezovich J.P., 1994. Genotoxic and Developmental Effects in Sea Urchins are Sensitive Indicators of Effects of Genotoxic Chemicals. *Environ. Toxicol. Chem.*, 13: 1033-1041.
- Anonim, 2002. *Su Ürünleri Kanunu ve Su Ürünleri Yönetmeliği*. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Ankara. 63-78.
- Anton A., Serrno U.T., Angulo E., Ferrero G. ve Rallo A., 2000. The Use of Two Species of Crayfish as Environmental Quality Sentinels: The Relationship Between Heavy Metal Content, Cell and Tissue Biomarkers and Physico-Chemical Characteristics of The Environment. *Sci. Total Environ.*, 247: 239-251.
- Arellano J.M., Storch V. ve Sarasquete C., 1999. Histological Changes and Copper Accumulation in Liver and Gills of the Senegales Sole, *Solea senegalensis*. *Ecotoxicol. Environ.*, 44: 62-72.
- Arpaç Y., 2002. Kurşun ve Kurşun-EDTA Kompleksinin Etkisine Bırakılan *Oreochromis*

- niloticus*'un Dokularında Kuşun Birikimi ve Eliminasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi, Adana.
- Ayllon F. ve Garcia-Vazquez E., 2000. Induction of Micronuclei and Other Nuclear Abnormalities in European Minnow *Phoxinus phoxinus* and Mollie *Poecilia latipinna*: an Assessment of the Fish Micronucleus Test. *Mutat. Res.*, 467: 177–186.
- Barlas N., 1999. Yukarı Sakarya Havzasında Yaşayan Sazan Balıklarının (*Cyprinus carpio* L., 1758) Solungaç, Karaciğer ve Böbrek Dokularının Histopatolojik Olarak İncelenmesi. *Tr. J. of Vet. and Ani. Sci.*, 23 (2): 277-284.
- Baršienė J., Dedonytė V., Rybakovas A., Andreikėnaitė L. ve Andersen O.K., 2006. Investigation of Micronuclei and Other Nuclear Abnormalities in Peripheral Blood and Kidney of Marine Fish Treated with Crude Oil. *Aquat. Toxicol.*, 78: 99–104.
- Baş L. ve Demet Ö., 1992. Çevresel Toksikoloji Yönünden Bazı Ağır Metaller. *Ekoloji Dergisi*, 5: 42-46.
- Beek B., 2000. *The Handbook of Environmental Chemistry*. Vol.2 Part J, Bioaccumulation, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. 14-206.
- Bolognesi C., Landini E., Roggieri P., Fabbri R. ve Viarengo A., 1999. Genotoxicity Biomarkers in the Assessment of Heavy Metal Effects in Mussels: Experimental Studies. *Environ. Mol. Mutagen.*, 33 (4): 287–292.
- Bolognesi C., Perrone E., Roggieri P., Pampanin D.M. ve Sciutto A., 2006. Assessment of Micronuclei Induction in Peripheral Erythrocytes of Fish Exposed to Xenobiotics Under Controlled Conditions. *Aquat. Toxicol.*, 78: 93–98.
- Bolognesi C., Rabboni R. ve Roggieri P., 1996. Genotoxicity Biomarkers in *Mytilus galloprovincialis* as Indicators of Marine Pollutants. *Comp.Biochem.Physiol.*, 113: 319-323.
- Bombail V., Aw, D., Gordon E. ve Batty J., 2001. Application of the Comet and Micronucleus Assays to Butterfish (*Pholis gunnellus*) Erythrocytes from the Firth of Forth, Scotland. *Chemosphere*, 44: 383-392.
- Brunetti R., Majone F., Gola I. ve Beltrame C., 1998. The Micronucleus Test; Examples of Application to Marine Ecology. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 44: 65-68.
- Bulut M., 2006. Erişkin Fare Karaciğeri Üzerine Bakır Asetatın Histopatolojik Etkisinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Kafkas Üniversitesi, Kars.
- Bulut C., 2010. Bakır Sülfat (CuSO₄.5H₂O) ve Formaldehit (CH₂O)'in Gökkuşığı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) Histopatolojik ve Hematolojik Etkilerinin

- Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta.
- Burgeot T., His E. ve Galgani F., 1995. The Micronucleus Assay in *Crassostrea gigas* for the Detection of Seawater Genotoxicity. *Mutat. Res./Gen. Toxicol.*, 342: 3-4.
- Camargo M.M.P. ve Martinez C.B.R., 2007. Histopathology of Gills, Kidney and Liver of a Neotropical Fish Caged in an Urban Stream. *Neotrop. Ichthyol.*, 5 (3): 327- 336.
- Campana M.A., Panzeri A.M., Moreno V.J. ve Dulour F.N., 2003. Micronuclei Induction of *Rana catesbiana* Tadpoles by the Pyrethroid Insecticide Lambda-Cyhalothrin. *Genet. Mol. Biol.*, 26: 99–103.
- Canlı M. ve Flurness R.W., 1993a. Toxicity of Heavy Metals Dissolved in Sea Water and Influence of Sex and Size on Metal Accumulation and Tissue Distribution in Norway Lobster *Nephrop norvegicus*. *Marina Environ. Res.*, 36: 217-236.
- Canlı M. ve Furness R.W., 1993b. Heavy Metals in Tissues of Norway Lobster *Nephrops norvegicus*: Effects of Sex and Season. *Chem.and Ecol.*, 8: 19-32.
- Canlı M., 1995. Natural Occurrence of Metllothion Like Proteins in Hepatopancreas of Norway Lobster (*Nephrops norvegicus*) and Effect of Cadmium Copper and Zinc Exposures on Levels of The metals Bound on Metallothioneins. *Tr. J. of Zool.*, 19: 313-321.
- Canlı M. ve Stagg R.M., 1996. The Effect of in Vivo Exposure to Cadmium, Copper and Zinc on The Activities of Gill ATPase in The Norway Lobster *Nephrops norvegicus*. *Envirom. Contam. and Toxicol.*, 31: 494-501.
- Cengiz E.I., 2006. Gill and Kidney Histopathology in the Freshwater Fish *Cyprinus carpio* After Acute Exposure to Deltamethrin. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 22: 200–204.
- Cinier C. C., Petit-Ramel M., Faure R., Garin D. ve Bouvet Y., 1999. Kinetics of Cadmium Accumulation and Elimination in Carp *Cyprinus carpio* Tissues. *Comp. Biochem. Physiol. C. Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.*, 122 (3): 345-352.
- Croke S.J. ve McDonald D.G., 2002. The Further Development of Ionoregulatory Measures as Biomarkers of Sensitivity and Effect in Fish Species. *Environ. Toxicol. Chemist.*, 21 (8): 1683-1691.
- Çelik F., 2005. Değişik Oranlarda Yeme Katılan E Vitaminin *Oreochromis niloticus* (L., 1758) Türünün Büyüme Parametreleri ve Bazı Dokularının Histolojisi Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi, Adana.
- Çiftçi N., 2010. Krom (VI)'nın *Oreochromis niloticus*, *Cyprinus carpio*, *Clarias gariepinus* ile *Callinectes sapidus*'un Dokularında Birikimi, Protein ve Glikojen Düzeylerine Etkileri. Doktora Tezi. Mersin Üniversitesi, Mersin.

- 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, Adana.
- Das B.K. ve Mukherjee S.C., 2000. A Histopathological Study of Carp (*Labeo rohita*) Exposed to Hexachlorocyclohexane. *Veterinarski Arhiv.*, 70: 169-180.
- De Smet H. ve Blust R., 2001. Stress Responses and Changes in Protein Metabolism in Carp *Cyprinus carpio* during Cadmium Exposure. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 48: 255-262.
- Deguchi Y., Toyozumi T., Masuda S., Yasuhara A., Mohri S., Yamada M., Inoue Y. ve Kinae N., 2006. Evaluation of Mutagenic Activities of Leachates in Landfill Sites by Micronucleus Test and Comet Assay Using Goldfish. *Genet. Toxicol. and Environ. Mutagen.*, 627: 178-185.
- Demirel S. ve Zamani A.G., 2002. Mikronükleus Tekniği ve Kullanım Alanları. *Genel Tıp Derg.*, 12 (3): 123-127.
- Domingo J.L., 1998. Developmental Toxicity of Metal Chelating Agents. *Reprod. Toxicol.*, 12 (5): 499-510.
- Dündar S.P., 2010. Sazan Balıklarına Arsenik Uygulaması Sonucu Biyokimyasal, Histopatolojik, Mikrobiyolojik ve Hematolojik Parametrelerde Meydana Gelen Değişimler Üzerine Propolisin Etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Niğde Üniversitesi, Niğde.
- Durna S., 2010. *Cyprinus carpio* ve *Chalcalburnus chalcoides* Örneklerinde Kas Dokusu SDS - PAGE Protein Elektrofrezisi. *C.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi, Fen Bilimleri Dergisi*, 31 (1): 55-64.
- Eisler R., 1985. Cadmium Hazards to Fish, Wildlife, and Invertebrates: A Synoptic Review. *Contaminant Hazard Reviews*, Report No. 2.
- Eisler R., 1998. Copper Hazards to Fish, Wildlife, and Invertebrates: A Synoptic Review. *Biological Science Report USGS/BRD/BSR*, 98: 1998-0002.
- Erdem C. ve Kargın F., 1990. Farklı Ortam Değişimlerinde *Tilapia nilotica* (L)'nin Doku ve Organlarında Bakır Birikimi. *Doğa-TR. J. of Zoo.*, 4: 173-178.
- Erdem C. ve Kargın F., 1992. A Comparative Study on the Accumulation of Copper in Liver, Spleen, Stomach, Intestine Gill and Muscle Tissues of *Cyprinus carpio* and *Tilapia nilotica*. *Biyokimya Der.*, 17 (1): 13-27.
- Ergene S., Çavaş T., Çelik A., Köleli N., Kaya F. ve Karahan A., 2007a. Monitoring of Nuclear Abnormalities in Peripheral Erythrocytes of Three Fish Species from the

- Göksu Delta (Turkey): Genotoxic Damage in Relation to Water Pollution. *Ecotoxicol.*, 16: 385–391.
- Ergene S., Çavaş T., Çelik A. ve Köleli Aymak C., 2007b. Evaluation of River Water Genotoxicity Using the Piscine Micronucleus Test. *Environ. Mol. Mutagen.*, 48: 421–429.
- Eroschenko V.P., 2001. *Histoloji Atlası* (9. Baskı). Palme Yayınları No:189, Ankara. 235-357.
- Evans D.H., Piermarini P.M. ve Choe K.P., 2005. The Multifunctional Fish Gills: Dominant Site for Gas Exchange, Osmoregulation, Acid-Base Regulation and Excretion of Nitrogenous Waste. *Physiol. Rev.*, 85: 97-177.
- Farag A.M., May T., Marty G.D., Easton M., Harper D.D., Little E.E. ve Cleveland L., 2006. The Effect of Chronic Chromium Exposure on the Health of Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Aquat. Toxicol.*, 76: 246–257.
- Fenech M. ve Morley A. A., 1985. Measurement of Micronuclei in Lymphocytes. *Mutat. Res. / Environ. Mutagenesis and Related Subjects*, 147 (1-2): 29-36.
- Figueiredo-Fernandes A., Ferreira-Cardoso J.V., Garcia-Santos S., Monteiro S.M., Carrola J., Matos P. ve Fontai-nhas-Fernandes A., 2007. Histopathological Changes in Liver and Gill Epithelium of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, Exposed to Waterborne Copper. *Pesq. Vet. Bras.*, 27: 103-109.
- Gezen A.M, Gezen M.R ve Turan C., 2005. Dikenli Yılan Balığı (*Mastacembelus mastacembelus*, Banks and Solander, 1794) Karaciğer Yapısının Mikroskopik Olarak İncelenmesi. XIII. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, Poster Bildirisi. 1-4 Eylül, Çanakkale, S:115.
- Grisolia C.K., Starling F.L.R.M., 2001. Micronuclei Monitoring of Fishes from Lake Paranoa, Under Influence of Sewage Treatment Plant Discharges. *Mutat. Res.*, 491: 39-44.
- Gustavino B., Scornajenghi K.A., Minissi S. ve Ciccotti E., 2001. Micronuclei Induced in Erythrocytes of *Cyprinus carpio* (Teleostei, Pisces) by X-rays and Colchicine. *Mutat. Res J.*, 494: 151-159.
- Halappa R. ve David M., 2009. Behavioural Responses of the Freshwater Fish, *Cyprinus carpio* (Linnaeus) Following Sublethal Exposure to Chlorpyrifos. *Turkish J. of Fisheries and Aquat. Sci.*, 9: 233-238.
- Hovhannisyan G.G., 2010. Fluorescence In Situ Hybridization in Combination with the Comet Assay and Micronucleus Test in Genetic Toxicology. *Hovhannisyan Molecular Cytogenetics*, 3: 17.

- Junqueira L.C. ve Carneiro J., 2009. *Temel Histoloji*. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., İstanbul. 182-340.
- Kalay M., 1996. *Tilapia nilotica*'da Karaciğer, Dalak, Böbrek, Kas ve Solungaç Dokularındaki Kadmiyum Birikiminin Total Protein Düzeyi ve İyon Dağılımı Üzerine Etkileri. Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi, Adana.
- Karaytuğ S., Erdem C. ve Cicik B., 2007. Accumulation of Cadmium in the Gill, Liver, Kidney, Spleen, Muscle and Brain Tissues of *Cyprinus carpio*. *Ekoloji*, 63: 16-22.
- Kargın F. ve Coğun H.Y., 1999. Metal Interactions During Accumulation and Elimination of Zinc and Cadmium in Tissues of the Freshwater Fish *Tilapia nilotica*. *B. Environ. Contam. Tox.*, 63: 546-552.
- Karlsson-Norggren L., Dickson W., Ljungberg O. ve Runn P., 1986. Acid Water and Aluminium Exposure: Gill Lesions and Aluminium Accumulation in Farmed, Brown Trout, *Salmo trutta* (L.). *J. Fish. Dis.*, 9: 1-9.
- Katalay S., Tuğlu İ. ve Minareci E., 2007. İzmir Körfezinde Yaşayan Kaya Balıklarında (*Gobius niger*) Solungaç Dokusunda Oluşabilecek Toksik Etkinin Işık Mikroskopik İncelenmesi. *Ege Journal of Medicine*, 46 (2): 61-66.
- Katz S.A. ve Salem H., 1993. The Toxicology of Chromium with Respect to Its Chemical Speciation: A Review. *J. Appl. Toxicol.*, 13 (3): 217-224.
- Kendall M.W., 1975. Acute Effect of Methyl Mercury Toxicity in Channel Catfish Kidney. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 13 (5): 570-575.
- Khan S. ve Nugegoda D., 2003. Australian Freshwater Crayfish *Cherax destructor* Accumulates and Depurates Nickel. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 70: 308-314.
- Kierszenbaum A.L., 2006. *Histoloji ve Hücre Biyolojisi*. Palme Yayınları No:398, Ankara. 618 s.
- Kimbrough D.E., Cohen Y., Winer A.M., Creelman L. ve Mabuni C.A., 1999. Critical Assessment of Chromium in the Environment. *Crit. Rev. Env. Sci. Thecnol.*, 29 (1): 1-46.
- Koca S., Koca Y.B., Yıldız Ş. ve Gürcü B., 2008. Genotoxic and Histopathological Effects of Water Pollution on Two Fish Species, *Barbus capito pectoralis* and *Chondrostoma nasus* in the Büyük Menderes River, Turkey. *Biol. Trace Elem. Res.*, 112: 276-291.
- Kolbaşı Tekkan B., 2008. Sodyum Perkloratın *Poecilia sphenops* (Moli Balığı) Karaciğer ve Tiroid Histolojisi Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Ege Üniversitesi, İzmir.

- Könen S., 2007. Trifluralin ve Askorbik Asit Kombinasyonlarının *Oreochromis niloticus* Üzerindeki Genotoksik ve Antigenotoksik Etkilerinin Mikronükleus Testi Kullanılarak Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Mersin Üniversitesi, Mersin.
- Korwin-Kossakowski M., ve Ostaszewska T., 2003. Histopathological Changes in Juvenile Carp (*Cyprinus carpio L.*) Continuously Exposed to High Nitrite Levels from Hatching. *Archives of Polish Fisheries.*, 11 (1): 57-67.
- Kuykendall J.R., Miller K.L., Mellinger K.N. ve Cain A.V., 2006. Waterborne and Dietary Hexavalent Chromium Exposure Causes DNA-Protein Crosslink (DPX) Formation in Erythrocytes of Largemouth Bass (*Micropterus salmoides*). *Aquat., Toxicol.*, 78: 27-31.
- Leonard A. ve Lauwerys R.R., 1980. Carcinogenicity and Mutagenicity of Chromium. *Mutat. Res.*, 76: 227-239.
- Lloyd R., 1992. *Pollution and Freshwater Fish*. Fishing New Books. 77-85.
- Luna L.G., 1968. *Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology* (3th Ed.). McGraw-Hill Book Company, New York.
- Mishra A.K. ve Mohanty B., 2008. Acute Toxicity Impacts of Hexavalent Chromium on Behavior and Histopathology of Gill, Kidney and Liver of the Freshwater Fish, *Channa punctatus* (Bloch). *Environ. Toxicol. and Pharmacol.*, 26: 136–141.
- Murthy R.C., Saxena D.K., Gupta S.K. ve Chandra S.V., 1991. Ultrastructural Observations in Testicular Tissue of Chromium-Treated Rats. *Reprod. Toxicol.*, 5: 443-447.
- Nepomuceno J.C., Ferrari, I., Spano M.A. ve Centeno A.J., 1997. Detection of Micronuclei in Peripheral Erythrocytes of *Cyprinus carpio* Exposed to Metallic Mercury. *Environ. Mol. Mutagen.*, 30: 293-297.
- Noyan A., 2006. *Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji* (16. Baskı). Meteksan Anonim Şirketi, İstanbul. 1130-1157.
- Oliveira H., Santos T.M., Ramalho-Santos J. ve Pereira M.L., 2006. Histopathological Effects of Hexavalent Chromium in Mouse Kidney. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 76: 977–983.
- Olojoi E.A.A., Olurin K.B., Mbaka G. ve Olwemimo A.D., 2005. Histopathology of the Gill and Liver Tissues of the African Catfish *Clarias gariepinus* Exposed to Lead. *Afr. J. Biotechnol.*, 4: 117-122.
- Olsvik P.A., Gundersen P., Andersen R.A. ve Zachariassen K.E., 2000. Metal Accumulation and Metallothionein in Two Populations of Brown Trout, *Salmo Trutta*, Exposed to Different Natural Water Environments During a Run-Off

- Episode. *Comparative Biochemistry and Physiology, Toxicology and Pharmacology*, 128 (2): 189-201.
- Ortiz J.B., De Canales M.L.G. ve Sarasquete C., 2003. Histopathological Changes Induced by Lindane (-HCH) in Various Organs of Fishes. *Sci. Mar.*, 67: 53-61.
- Öber A. ve İzzetoğlu G.T., 2006. *Histoloji*. Fen ve Biyoloji Yayınları Dizisi: 28, Ankara. 137-139.
- Özmen H., 1997. Yemlere Verilen Selenyum'un Sazan (*Cyprinus carpio L.*) Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. Doktora Tezi. Fırat Üniversitesi, Elazığ.
- Öztekin T.B., 2009. Deri Sanayi Atık Sularından Krom (VI) İyonunun Adsorpsiyonu. Yüksek Lisans Tezi. Celal Bayar Üniversitesi, Manisa.
- Parvathi K., Sivakumar P. ve Sarasu C., 2011. Effects of Chromium on Histological Alterations of Gill, Liver and Kidney of Fresh Water Teleost, *Cyprinus carpio (L.)*. *Journal of Fisheries International*, 6 (1): 1-5.
- Pelgrom S.M., Lamers L.P., Lock R.A., Balm P.H. ve Bonga S.E., 1995. Interactions Between Copper and Cadmium Modify Metal Organ Distribution in Mature Tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Environ.Pollut.*, 90: 415-423.
- Pellacani C., Buschini A., Furlini M., Poli P. ve Rossi C., 2006. A Battery of In Vivo and In Vitro Tests Useful for Genotoxic Pollutant Detection in Surface Waters. *Aquat. Toxicol.*, 77: 1-10.
- Randi A.S., Monserrat J.M., Rodriguez E.M. ve Romano L.A., 1996. Histopathological Effects of Cadmium on The Gills of the Freshwater Fish, *Macropsobrycon uruguayanae* Eigenmann (Pisces, Atherinidae). *J. Fish. Dis.*, 19: 311-322.
- Robles-Camacho J. ve Armienta M.A., 2000. Natural Chromium Contamination of Groundwater at Leon Valley, Mexico. *J. Geochem. Explor.*, 68 (3): 167-181.
- Rodriguez-Arnaiz R. ve Molina Marinez R.F., 1986. Genetic Effects of Potassium Dichromate and Chromium Trioxide in *Drosophila melanogaster*. *Cytologia*, 51: 421-425.
- Russo C., Rocco L., Morescalchi M.A. ve Stingo V., 2004. Assessment of Environmental Stress by the Micronucleus Test and the Comet Assay on the Genome of Teleost Populations from Two Natural Environments. *Ecotox. Environ. Safe.*, 57: 168-174.
- Saotome K., Sofuni T. ve Hayashi M., 1999. A Micronucleus Assay in Sea Urchin Embryos. *Mutat. Res.*, 446: 121-127.
- Sarıhan E. ve Cengizler İ., 2006. *Temel Balık Anatomisi ve Fizyolojisi*. Nobel Yayınları, Adana. 88-113.
- Sevinç B., 2008. Hematolojik Malign Hastalıklarda Genomik İnstabilitenin Farklı

- Sitogenetik Yöntemlerle (Kromozom Aberasyonu, Kardeş Kromatid Değişimi, Mikronukleus) Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniversitesi, İstanbul.
- Singh J., Bridgewater L.C. ve Patierno S.R., 1998. Differential Sensitivity of Chromium-Mediated DNA Interstrand Crosslinks and DNA-Protein Crosslinks to Disruption by Alkali and EDTA. *Toxicol. Sci.*, 45: 72-76.
- Spry D.J. ve Wiener J.G., 1991. Metal Bioavailability and Toxicity to Fish in Low Alkalinity Lakes a Critical Review. *Environ. Poll.*, 71: 243- 304.
- Stella M., Montaldi A., Rossi A., Rossi G. ve Levis A.G., 1982. Clastogenic Effects of Chromium on Human Lymphocytes In Vitro and In Vivo. *Mutat. Res.*, 101: 151-164.
- Subramanian S., Rajendiran G., Sekhar P., Chandrahasan G., Govindarajulu P. ve Aruldhas M.M., 2006. Reproductive Toxicity of Chromium in Adult Bonnetmonkeys (*Macaca radiata* Geoffrey). Reversible Oxidative Stress in the Semen. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 215 (3): 237-249.
- Summak Ş., 2009. Bursa Nilüfer Çayı Suyunun Genotoksik Etkilerinin Balık Mikronukleus Testi ile Değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi. Uludağ Üniversitesi, Bursa.
- Taylan Z.S. ve Özkoç H.B., 2007. Potansiyel Ağır Metal Kirliliğinin Belirlenmesinde Akuatik Organizmaların Biokullanılabilirliği. *BAÜ FBE Der.*, 2: 17-33.
- Thophon S., Kruatrachue M., Upatham E.S., Pokethitiyook P., Sahaphong S. ve Jaritkhuan S., 2003. Histopathological Alterations of White Seabass, *Lates calcarifer*, in Acute and Subchronic Cadmium Exposure. *Environ. Pollut.*, 121: 307-320.
- Timur M., 2006. *Balık Fizyolojisi*. NobelYayımları, Fen ve Biyoloji Yayınları Dizisi, Ankara. 34-192.
- Timur G., 2008. *Balık Anatomisi*. NobelYayımları, Fen ve Biyoloji Yayınları Dizisi, Ankara. 47-88.
- Travacio M., Polo J.M. ve Llesuy S., 2001. Cr (VI) Induces Oxidative Stress in the Mouse Brain. *Toxicol.*, 162: 139-148.
- Türkmen A., 2011. Türkiye Denizleri'nde Yakalanan Dil Balığı (*Solea solea* L., 1758) Türünün Kas ve Karaciğer Dokularında Ağır Metal Düzeylerinin Belirlenmesi. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 1: 139-151.
- Uçar A. ve Atamanalp M., 2008. Balıklarda Toksikopatolojik Lezyonlar I. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 2: 255-261.
- Velma V. ve Tchounwou P.B., 2010. Chromium Induced Biochemical, Genotoxic and Histopathologic Effects in Liver and Kidney of Goldfish, *Carassius auratus*.

- Mutat. Res.*, 698: 43–51.
- Velmurugan B., Selvanayagam M., Cengiz E.I. ve Unlu E., 2007. The Effects of Fenvalerate on Different Tissues of Freshwater Fish *Cirrhinus mrigala*. *J. Environ. Sci. Health B*, 42 (2): 157–163.
- Venier P., Maron S. ve Canova S., 1997. Detection of Micronuclei in Gill Cells and Haemocytes of Mussels Exposed to Benzo[a]pyrene. *Mutat. Res.*, 390: 33–44.
- Viarengo A., Palmero S., Zanicchi G., Capelli R., Vaissiere R. ve Orunesu M., 1985. Role of Metallothionesins in Cu and Cd Accumulation and Elimination in Gill and Digestive Galnd Cells of *Mytilus galloprovincialis*. *Lam. Mar. Environ. Res.*, 16: 23-36.
- Vinodhini R. ve Narayanan M., 2008. Bioaccumulation of Heavy Metals in Organs of Fresh Water Fish *Cyprinus carpio* (Common carp). *Int. J. Environ. Sci. Tech.*, 5 (2): 179-182.
- Vinodhini R. ve Narayanan M., 2009. Heavy Metal Induced Histopathological Alterations in Selected Organs of the *Cyprinus carpio* L. *Int. J. Environ. Res.*, 3: 95-100.
- Vutukuru S.S., 2003. Chromium Induced Alterations in Some Biochemical Profile of the Indian Major Carp *Labeo rohita* (Hamilton). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 70: 118–123.
- Vutukuru S.S., 2005. Acute Effects of Hexavalent Chromium on Survival, Oxygen Consumption, Hematological Parameters and Some Biochemical Profiles of the Indian Major Carp, *Labeo rohita*. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2 (3): 456-462.
- Walsh A.R., O’Halloran J. ve Gower A.M., 1994. Some Effects of Elevated Chromium (III) in Sediments to Mullet *Chelon labrosus* (R). *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 27: 168-176.
- Walsh A.R. ve O’Halloran J., 1997. The Accumulation of Chromium by Mussels *Mytilus edulis* (L) as a Funtion of Valency. Solubility and Ligation. *Mar. Environ. Res.*, 43: 41-53.
- Welsch U., 1999. *Sobotta Histoloji*. Beta Basım Yayın No:477, İstanbul. 155 s.
- Wong C.K.C. ve Wong M.H., 2000. Morphological and Biochemical Changes in the Gills of Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) to Ambient Cadmium Exposure. *Aqua. Toxicol.*, 48: 517–527.
- Yalvaç M., 2005. Göksu Deltası Sucul Ekosisteminde Endosülfan ve Methamidophos Pestisitlerinin Kalıntı Düzeylerinin Araştırılması. Doktora Tezi. Mersin Üniversitesi, Mersin.

- Yang H.N. ve Chen H.C., 1996. Uptake and Elimination of Cadmium by Japanese Eel, *Anguilla japonica*, at Various Temperatures. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 56: 670-676.
- Yıldırım M., Genç E. ve Yıldırım Y.B., 2009. Balık Cerrahisi ve Anestezi Uygulamaları. *XV. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu*, 01-04 Temmuz 2009, Rize. S : 295-305.
- Yırtıcı Ü., 2007. Tartrazinin *Cyprinus carpio*' daki Genotoksik Etkisinin Mikronukleus Yöntemi ile Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Erciyes Üniversitesi, Kayseri.
- Zhu Y., Wang J., Bai Y. ve Zhang R., 2004. Cadmium, Chromium and Copper Induce Polychromatocyte Micronuclei in Carp (*Cyprinus carpio* L). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 72: 78-86.
- http://www.tekkim.com.tr/lib_g_sertifika/59.PDF
- <http://mycozynook.com/102RGCh20OH.html>

ÇİZELGELER

| | Sayfa No |
|--|-----------------|
| Çizelge 1. Sucul ortamda ağır metallerin kabul edilebilir değerleri | 3 |
| Çizelge 2. İnsan vücuduna alınan bazı metaller ve oranları | 4 |
| Çizelge 3. Krom (VI)'nın fiziksel ve kimyasal özellikleri | 5 |
| Çizelge 4. Krom (VI)'nın farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılan sazan balığında görülen mikronukleus frekansları..... | 66 |

ŞEKİLLER

Sayfa No

| | |
|--|----|
| Şekil 1. Yapay organik bileşiklerin canlı bünyesinde izledikleri yol..... | 6 |
| Şekil 2. <i>Cyprinus carpio</i> türünün morfolojik görünümü | 7 |
| Şekil 3. Balık solungaç fizyolojisi | 9 |
| Şekil 4. Mikronukleus oluşum aşamaları | 15 |
| Şekil 5. Deney akvaryumları düzeneği..... | 22 |
| Şekil 6. İskelet kas dokusu kontrol grubu..... | 26 |
| Şekil 7. İskelet kas dokusu kontrol grubu..... | 26 |
| Şekil 8. Yedi (7) gün süre ile düşük doz krom (VI) verilen iskelet kası dokusu. | 27 |
| Şekil 9. Yedi (7) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen iskelet kası dokusu | 28 |
| Şekil 10. Yedi (7) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen iskelet kası dokusu | 29 |
| Şekil 11. Ondört (14) gün süre ile düşük doz krom (VI) verilen kas dokusu..... | 30 |
| Şekil 12. Ondört (14) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen iskelet kası dokusu | 31 |
| Şekil 13. Ondört (14) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen iskelet kas dokusu. | 32 |
| Şekil 14. Ondört (14) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen iskelet kas dokusu..... | 33 |
| Şekil 15. Kontrol grubu. Hepatopankreas. Karaciğer paranzimi | 34 |
| Şekil 16. Kontrol grubu karaciğer dokusu..... | 35 |
| Şekil 17. Kontrol grubu karaciğer dokusu..... | 35 |
| Şekil 18. Yedi (7) gün süre ile düşük doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu..... | 36 |
| Şekil 19. Yedi (7) gün süre ile düşük doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu..... | 37 |
| Şekil 20. Yedi (7) gün süre ile düşük doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu..... | 38 |
| Şekil 21. Yedi (7) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu | 39 |
| Şekil 22. Yedi (7) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu. | 40 |
| Şekil 23. Yedi (7) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu. | 41 |
| Şekil 24. Yedi (7) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu. | 42 |
| Şekil 25. Yedi (7) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu. | 42 |
| Şekil 26. Yedi (7) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu. | 43 |
| Şekil 27. Ondört (14) gün süre ile düşük doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu..... | 44 |
| Şekil 28. Ondört (14) gün süre ile düşük doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu..... | 45 |
| Şekil 29. Ondört (14) gün süre ile düşük doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu..... | 45 |
| Şekil 30. Ondört (14) gün süre ile düşük doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu..... | 46 |
| Şekil 31. Ondört (14) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu..... | 47 |
| Şekil 32. Ondört (14) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu..... | 48 |
| Şekil 33. Ondört (14) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu..... | 48 |

| | |
|---|----|
| Şekil 34. Ondört (14) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu..... | 49 |
| Şekil 35. Ondört (14) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu..... | 49 |
| Şekil 36. Ondört (14) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu..... | 50 |
| Şekil 37. Ondört (14) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu..... | 51 |
| Şekil 38. Ondört (14) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen karaciğer dokusu..... | 51 |
| Şekil 39. Kontrol solungaç dokusu..... | 52 |
| Şekil 40. Kontrol solungaç dokusu. Solungaç tarağındaki epitelyum..... | 53 |
| Şekil 41. Kontrol solungaç filamentini..... | 53 |
| Şekil 42. Kontrol solungaç dokusu..... | 54 |
| Şekil 43. Kontrol solungaç dokusu..... | 54 |
| Şekil 44. Yedi (7) gün süre ile düşük doz krom (VI) verilen solungaç dokusu..... | 55 |
| Şekil 45. Yedi (7) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen solungaç dokusu..... | 56 |
| Şekil 46. Yedi (7) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen solungaç dokusu..... | 57 |
| Şekil 47. Yedi (7) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen solungaç dokusu..... | 58 |
| Şekil 48. Yedi (7) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen solungaç dokusu..... | 59 |
| Şekil 49. Yedi (7) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen solungaç dokusu..... | 59 |
| Şekil 50. Ondört (14) gün süre ile düşük doz krom (VI) verilen solungaç dokusu..... | 60 |
| Şekil 51. Ondört (14) gün süre ile düşük doz krom (VI) verilen solungaç dokusu..... | 61 |
| Şekil 52. Ondört (14) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen solungaç dokusu..... | 62 |
| Şekil 53. Ondört (14) gün süre ile orta doz krom (VI) verilen solungaç dokusu..... | 63 |
| Şekil 54. Ondört (14) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen solungaç dokusu..... | 64 |
| Şekil 55. Ondört (14) gün süre ile yüksek doz krom (VI) verilen solungaç dokusu..... | 65 |
| Şekil 56. <i>Cyprinus carpio</i> 'da mikronukleuslu eritrosit oluşumu..... | 67 |
| Şekil 57. <i>Cyprinus carpio</i> 'da çentikli nukleus oluşumu..... | 67 |
| Şekil 58. <i>Cyprinus carpio</i> 'da eritrositinde tomurcuk nukleus oluşumu..... | 68 |
| Şekil 59. <i>Cyprinus carpio</i> 'da çentikli nukleus oluşumu..... | 68 |
| Şekil 60. <i>Cyprinus carpio</i> 'da loblu nukleus oluşumu..... | 69 |

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER:

Adı Soyadı : Müge ÇETİN
Doğum Yeri : Edremit
Doğum Tarihi : 05.04.1987

EĞİTİM DURUMU:

Lisans Öğrenimi : Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi
Biyoloji Bölümü
Yüksek Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri
Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ:

a) Bildiriler -Uluslararası -Ulusal:

Polat E., Akıncı N., **Çetin M.**, Akı C., (2010). *Lycopersicon esculentum* Mill. ve *Capsicum Annuum* L. Türlerinde Hüyük Asitin Total Protein ve Peroksidaz Aktivitesi Üzerine Etkileri. 20. Ulusal Biyoloji Kongresi (21-25 Haziran), Denizli (Poster).

Akıncı N., Polat E., **Çetin M.**, Akı C., (2010). *Lycopersicon esculentum* Mill. ve *Capsicum annuum* L. Türlerinde Aminoquelant-Ca Uygulamasının Total Protein ve Peroksidaz Aktivitesi Üzerine Etkileri. 20. Ulusal Biyoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı). 20. Ulusal Biyoloji Kongresi (21-25 Haziran), Denizli (Poster).

Gezen M. R., Demir N., **Çetin M.**, Ballı M., (2011). Çanakkale Boğazı'nda Deniz Kestanesi (*Paracentrolus lividus*)'nin Ağır metal Düzeyleri Üzerine Bir Araştırma. Ekoloji Sempozyumu (5-7 Mayıs), Düzce (Poster).

Gezen M. R., Demir N., **Çetin M.**, (2011). Çanakkale Boğazı'nın Umurbey Kıyısındaki Deniz Suyu ve Bazı Yumuşakçalarda (*Bivalvia* ve *Gastropoda*) Ağır Metal Düzeylerinin Araştırılması. Ekoloji Sempozyumu (5-7 Mayıs), Düzce (Poster).

Demir N., Ballı M., **Çetin M.**, Kaya H., (2011). Çanakkale Boğazı'ndaki Midyelerde (*Mytilus galloprovincialis*) Mikronukleus Testi ile Genotoksik Etkisinin Araştırılması. Çevre ve Ekoloji Kongresi (4-7 Ekim), Çanakkale (Poster).

b) Katıldığı Projeler :

Sazan (*Cyprinus carpio* L.) Balığına Krom VI'nın Histopatolojik ve Mikronukleus Testi ile Genotoksik Etkisinin Araştırılması. ÇOMÜ-BAP.

Umurbey Çayı (Çanakkale) Su ve Sediment Kirliliğinin Ames/Salmonella/Mikrozom Mutajenite Testi İle Araştırılması. ÇOMÜ-BAP.

İLETİŞİM: E-posta Adresi: muge_ctn@hotmail.com

