



KÜTAHYA İLİ SU KAYNAKLARINDAKİ SİYANÜR MİKTARLARININ BELİRLENMESİ  
VE SİYANÜRÜN SAZAN BALIĞI (*Cyprinus carpio*) TÜRÜNÜN BAZI BİYOKİMYASAL,  
HEMATOLOJİK VE HİSTOPATOLOJİK PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN

ARAŞTIRILMASI

Mustafa KAVASOĞLU

Doktora Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Ocak – 2017

KÜTAHYA İLİ SU KAYNAKLARINDAKİ SİYANÜR MİKTARLARININ BELİRLENMESİ  
VE SİYANÜRÜN SAZAN BALIĞI (*Cyprinus carpio*) TÜRÜNÜN BAZI BİYOKİMYASAL,  
HEMATOLOJİK VE HİSTOPATOLOJİK PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI

Mustafa KAVASOĞLU

Dumlupınar Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliği Uyarınca

Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında

DOKTORA

Tezi Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman: Doç. Dr. Kazim UYSAL

Ocak - 2017

**KABUL VE ONAY SAYFASI**

Mustafa Kavasoglu'nun DOKTORA tezi olarak hazirladigi 'Kutahya İli Su Kaynaklarındaki Siyanür Miktarlarının Belirlenmesi ve Siyanürün Sazan Balığı (*Cyprinus carpio*) Türünün Bazı Biyokimyasal, Hematolojik ve Histopatolojik Parametreleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması' adlı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

26.01.2017

Üye : Prof. Dr. Hayri DAYIOĞLU

Üye : Prof. Dr. Metin BÜLBÜL

Üye : Prof. Dr. Yılmaz EMRE

Üye : Prof. Dr. Ali ALAŞ

Üye : Doç. Dr. Kazim UYSAL (Danışman)

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ...../...../..... gün ve .....sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hasan GÖÇMEZ  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Bu tezin hazırlanmasında Akademik kurallara riayet ettiğimizi, özgün bir çalışma olduğunu ve yapılan tez çalışmasının bilimsel etik ilke ve kurallara uygun olduğunu, çalışma kapsamında teze ait olmayan veriler için kaynak gösterildiğini ve kaynaklar dizininde belirtildiğini, Yüksek Öğretim Kurulu tarafından kullanılmak üzere önerilen ve Dumlupınar Üniversitesi tarafından kullanılan İntihal Programı ile tarandığını ve benzerlik oranının %7 çıktığını beyan ederiz. Aykırı bir durum ortaya çıktığı takdirde tüm hukuki sonuçlara razı olduğumuzu taahhüt ederiz.

Doç. Dr. Kazım UYSAL

Mustafa KAVASOĞLU

**KÜTAHYA İLİ SU KAYNAKLARINDAKİ SİYANÜR MİKTARLARININ  
BELİRLENMESİ VE SİYANÜRÜN SAZAN BALIĞI (*Cyprinus carpio*) TÜRÜNÜN BAZI  
BİYOKİMYASAL, HEMATOLOJİK VE HİSTOPATOLOJİK PARAMETRELERİ  
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Mustafa KAVASOĞLU

Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Kazim UYSAL, 2017

**ÖZET**

Bu çalışmada önemli bir kirletici olan siyanürün Kütahya İli sınırları içindeki bazı su kaynaklarındaki miktarları belirlenmiş ve siyanürün aynalı sazan (*Cyprinus carpio*) balıklarının hemogram düzeyleri, bazı enzim aktiviteleri, lipid peroksidasyonu, histomorfolojik ve immunhistokimyasal parametreleri üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Kütahya İli çevresinde analizi yapılan toplam 158 istasyondan iki istasyon dışında diğer istasyonların içme suları için belirlenen eşik düzeyleri aşmadığı görülmüştür. Siyanürün toksik etkilerini belirlemek amacıyla yapılan deneylerde siyanür kaynağı olarak sodyum siyanür kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan toplam 96 balık 15 gün süre ile alıştırmaya sürecine tabi tutulmuş ve ardından 3 ve 15 gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L siyanür konsantrasyonlarına maruz bırakılmışlardır. On beş gün süre ile 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan sazan balıklarının hemoglobün ve hematokrit değerleri dışında, incelenen kan parametrelerinin önemli derecede etkilenmediği tespit edilmiştir. Siyanüre maruz kalan balıkların katalaz, süperoksit dismutaz ve karbonik anhidraz aktivitelerinin bazı dokularda inhibisyona uğradığı, bazı dokularda ise arttığı tespit edilmiştir. Siyanür maruziyeti ile hücre hasarının önemli belirteçlerinden olan malondialdehit seviyelerinin genelde yükseldiği görülmüştür. Siyanüre maruz kalan balıkların karaciğer dokularında lipid birikimi, lenfosit infiltrasyonu, fibrosis ve rejenerasyon, deri epitelinde ve solungaç filamentlerinde ise hiperplazi, hücre agregatları ve goblet hücreleri tespit edilmiştir. Ayrıca, 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonlarında siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının incelenen tüm dokularında apoptoziste görev alan Bcl-2 ekspresyonlarının azaldığı, kaspaz-3 ekspresyonlarının ise arttığı görülmüştür.

**Anahtar kelimeler:** *Cyprinus carpio*, enzim, histopatoloji, kan, siyanür.

**DETERMINATION OF CYANIDE AMOUNTS IN THE WATER SOURCES OF  
KÜTAHYA CITY AND INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF CYANIDE ON  
SOME BIOCHEMICAL, HEMATOLOGIC AND HISTOPATHOLOGIC  
PARAMETERS OF CARP (*Cyprinus carpio*)**

Mustafa KAVASOĞLU

Department of Biology, Ph. D. Thesis, 2017

Thesis Supervisor: Assoc. Prof. Kazim UYSAL

**SUMMARY**

In this study, the amounts of cyanide, which is an important contaminant, were determined in some water sources within the borders of Kütahya City and the effects of cyanide on the levels of hemogram, some enzymatic activities, lipid peroxidation, histomorphological and immunohistochemical parameters of mirror carp (*Cyprinus carpio*) fishes were investigated. A total of 158 stations analyzed in the vicinity of Kütahya City did not exceed the threshold levels determined for drinking water except two stations. Sodium cyanide was used as a source of cyanide to determine the toxic effects of cyanide in the experiments. A total of 96 fish used in the study were acclimated for 15 days and then exposed to 0,1 mg / L and 0,2 mg / L cyanide concentrations for 3 and 15 days. It was determined that the blood parameters examined were not significantly affected except the hemoglobin and hematocrit values of mirror carp exposed to cyanide at a concentration of 0,2 mg/L for 15 days. Catalase, superoxide dismutase and carbonic anhydrase activities of cyanide exposed fish were found to be inhibited in some tissues and but increased in some other tissues. Malondialdehyde levels, which are important markers of cell damage, were generally elevated with exposure to cyanide. Lipid accumulation, lymphocyte infiltration, fibrosis and regeneration in liver and hyperplasia, cell aggregates and goblet cells in skin epithelium and gill filaments were detected in cyanide exposed fish. In addition, in all the investigated tissues of carp exposed to cyanide at concentrations of 0,1 mg / L and 0,2 mg / L, Bcl-2 expressions functioning in apoptosis were decreased and caspase-3 expressions were increased.

**Keywords:** *Cyprinus carpio*, enzyme, histopathology, blood, cyanide.

## TEŞEKKÜR

Doktora sürecimin her adımında beni sürekli maddi ve manevi anlamda destekleyen, desteğini ve bilgisini hiçbir zaman esirgemeyen, bana ışık tutan ve sabırla beni yönlendiren, akademik altyapımın oluşmasını sağlayan değerli hocam danışmanım Sayın Doç. Dr. Kazım UYSAL'a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Tez yazım sürecinde Tez İzleme Komitesi'nde yer alıp beni yönlendiren hocalarım Sayın Prof. Dr. Hayri DAYIOĞLU ve Sayın Prof. Dr. Metin BÜLBÜL'e,

Histopatoloji analizlerinin gerçekleştirilmesini sağlayan patoloji uzmanı Sayın Yrd. Doç. Dr. Ayşe Nur DEĞER ve eşi Sayın Hakkı DEĞER'e,

Biyokimyasal analizlerin gerçekleştirilmesi için bilgilerinden her zaman yararlandığım Sayın Doç. Dr. Sayit ALTIKAT'a ve Öğr. Gör. Halil İsa KURU'ya,

Çalışmamı maddi açıdan destekleyen Dumlupınar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na,

Eğitim ve öğrenim hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, her koşulda yanımda olan, benim bugünlere gelmemi sağlayan ANNEM, BABAM ve ABLAMA; bana her konuda destek olan ve anlayış gösteren EŞİME en içten teşekkürlerimi sunarım.

Mustafa KAVASOĞLU

Kütahya - 2017

## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

ÖZET .....	v
SUMMARY .....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvi
1. GİRİŞ .....	1
1.1. Siyanür .....	2
1.1.1. Siyanürün genel özellikleri.....	2
1.1.2. Siyanürün tarihçesi.....	3
1.1.3. Siyanürün fiziksel ve kimyasal özellikleri .....	3
1.1.4. Siyanürün kullanım alanları .....	5
1.2. Doğada Siyanür.....	6
1.3. Dünyada Siyanür.....	7
1.4. Türkiye'de ve Kütahya'da Siyanür .....	8
1.5. Siyanür - Çevre - Canlı Etkileşimi .....	8
1.5.1. Siyanürün çevreye olan etkileri.....	9
1.5.1.1. Siyanürün havaya etkileri.....	9
1.5.1.2. Siyanürün toprağa etkileri.....	10
1.5.1.3. Siyanürün suya etkileri .....	10
1.5.2. Siyanürün canlılara etkileri .....	11
1.5.2.1. Siyanürün bitkilere etkileri.....	11
1.5.2.2. Siyanürün hayvanlara etkileri .....	12
1.5.2.3. Siyanürün insanlara etkileri .....	12
1.5.2.4. Siyanürün balıklara etkileri.....	13
1.6. Sazan Balığı ( <i>Cyprinus carpio</i> )'nın Genel Özellikleri .....	15
1.7. Kirlilik Faktörlerinin Belirteçleri Olarak Biyokimyasal, Hematolojik ve Histopatolojik Parametreler .....	16
1.7.1. Çalışmada kullanılan hematolojik parametreler.....	16
1.7.1.1. Lökosit (WBC).....	17
1.7.1.2. Eritrosit (RBC).....	17
1.7.1.3. Hemogloblin (HGB) .....	18
1.7.1.4. Hematokrit (HCT).....	18
1.7.1.5. Ortalama eritrosit hacmi (MCV).....	19
1.7.1.6. Ortalama hemogloblin miktarı (MCH) .....	19
1.7.1.7. Ortalama eritrosit hemogloblin konsantrasyonu (MCHC).....	19
1.7.1.8. Ortalama eritrosit dağılım genişliği (RDW) .....	19



## İÇİNDEKİLER (devam)

### Sayfa

1.7.1.9. Trombosit (PLT) .....	19
1.7.1.10. Ortalama trombosit hacmi (MPV) .....	20
1.7.1.11. Trombosit dağılım genişliği (PDW) .....	20
1.7.1.12. Platokrit (PCT).....	20
1.7.2. Çalışmada kullanılan biyokimyasal parametreler .....	20
1.7.2.1. Katalaz (CAT).....	20
1.7.2.2. Süperoksit dismutaz (SOD) .....	21
1.7.2.3. Karbonik anhidraz (CA).....	21
1.7.2.4. Malondialdehit (MDA) .....	22
1.7.3. Çalışmada kullanılan histopatolojik parametreler .....	23
1.7.3.1. Bcl-2.....	23
1.7.3.2. Kaspaz 3.....	23
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	25
3. MATERYAL METOD .....	35
3.1. Su Örneklerinin Toplanması ve Su Analizi.....	35
3.2. Balık Biyodeneyleleri .....	35
3.2.1. Deney akvaryumlarının hazırlanması.....	35
3.2.2. Balık beslenmesi ve anestezi.....	37
3.2.3. Hematolojik analizler .....	38
3.2.4. Biyokimyasal analizler.....	38
3.2.4.1. Doku hazırlama.....	38
3.2.4.2. Katalaz aktivite tayini .....	39
3.2.4.3. Süperoksit dismutaz aktivite tayini .....	39
3.2.4.4. Karbonik anhidraz aktivite tayini.....	41
3.2.4.5. Malondialdehit tayini .....	42
3.2.4.6. Total protein tayini.....	43
3.2.5. Histopatolojik analizler .....	44
3.2.6. İstatistiksel analizler.....	46
4. BULGULAR.....	47
4.1. Arazi Çalışması .....	47
4.2. Deneyde Kullanılan Balıkların Boy ve Ağırlıkları .....	51
4.3. Hematolojik Analizler.....	52
4.4. Biyokimyasal Analizler.....	64
4.4.1. Katalaz aktiviteleri .....	64
4.4.2. Süperoksit dismutaz aktiviteleri .....	70

## İÇİNDEKİLER (devam)

	<b><u>Sayfa</u></b>
4.4.3. Karbonik anhidraz aktiviteleri.....	76
4.4.4. Malondialdehit düzeyleri.....	82
4.5. Histopatolojik analizler .....	88
4.5.1. Bcl - 2 ekspresyonu .....	88
4.5.2. Kaspaz-3 ekspresyonu.....	94
4.5.3. Histomorfolojik inceleme.....	100
5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....	106
5.1. Su Analizleri .....	106
5.2. Kan Analizleri.....	107
5.3. Biyokimyasal Analizler.....	112
5.3.1. Katalaz aktivitesi .....	112
5.3.2. Süperoksit dismutaz aktivitesi.....	113
5.3.3. Karbonik anhidraz aktivitesi .....	114
5.3.4. Malondialdehit düzeyleri.....	116
5.4. Histopatolojik Analizler .....	116
5.4.1. Bcl-2 ekspresyonu .....	117
5.4.2. Kaspaz 3 ekspresyonu .....	117
5.4.3. Histomorfolojik inceleme.....	118
6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	121
KAYNAKLAR DİZİNİ .....	123
ÖZGEÇMİŞ	

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b><u>Sekil</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
1.1. Sodyum siyanür (NaCN).....	4
1.2. CN anyonunun HCN'ye dönüşümü.....	4
3.1. Deneylerde kullanılan akvaryumlar.....	36
3.2. Deney düzeni.....	36
3.3. MDA standart grafiği.....	43
3.4. Protein standart grafiği.....	44
4.1. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların WBC düzeyleri (Ort±SH).....	52
4.2. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların RBC düzeyleri (Ort±SH).....	53
4.3. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların HGB düzeyleri (Ort±SH).....	54
4.4. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların HCT düzeyleri (Ort±SH).....	55
4.5. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların MCV düzeyleri (Ort±SH).....	56
4.6. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların MCH düzeyleri (Ort±SH).....	57
4.7. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların MCHC düzeyleri (Ort±SH).....	58
4.8. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların RDW düzeyleri (Ort±SH).....	59
4.9. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların PLT düzeyleri (Ort±SH).....	60
4.10. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların MPV düzeyleri (Ort±SH).....	61
4.11. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların PDW düzeyleri (Ort±SH).....	62
4.12. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların PCT düzeyleri (Ort±SH).....	63
4.13. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların kas dokusu CAT aktiviteleri (Ort±SH).....	64

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<b><u>Sekil</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
4.14. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların karaciğer dokusu CAT aktiviteleri (Ort±SH). .....	65
4.15. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların beyin dokusu CAT aktiviteleri (Ort±SH). .....	66
4.16. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların solungaç dokusu CAT aktiviteleri (Ort±SH). .....	67
4.17. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların bağırsak dokusu CAT aktiviteleri (Ort±SH). .....	68
4.18. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların deri dokusu CAT aktiviteleri (Ort±SH). .....	69
4.19. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların kas dokusu SOD aktiviteleri (Ort±SH). .....	70
4.20. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların karaciğer dokusu SOD aktiviteleri (Ort±SH). .....	71
4.21. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların beyin dokusu SOD aktiviteleri (Ort±SH). .....	72
4.22. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların solungaç dokusu SOD aktiviteleri (Ort±SH). .....	73
4.23. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların bağırsak dokusu SOD aktiviteleri (Ort±SH). .....	74
4.24. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların deri dokusu SOD aktiviteleri (Ort±SH). .....	75
4.25. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların kas dokusu CA aktiviteleri (Ort±SH). .....	76
4.26. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların karaciğer dokusu CA aktiviteleri (Ort±SH). .....	77
4.27. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların beyin dokusu CA aktiviteleri (Ort±SH). .....	78
4.28. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların solungaç dokusu CA aktiviteleri (Ort±SH). .....	79
4.29. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların bağırsak dokusu CA aktiviteleri (Ort±SH). .....	80

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<b><u>Sekil</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
4.30. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların deri dokusu CA aktiviteleri (Ort±SH) .....	81
4.31. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların kas dokusu MDA düzeyleri (Ort±SH).....	82
4.32. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların karaciğer dokusu MDA düzeyleri (Ort±SH) .....	83
4.33. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların beyin dokusu MDA düzeyleri (Ort±SH).....	84
4.34. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların solungaç dokusu MDA düzeyleri (Ort±SH).....	85
4.35. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların bağırsak dokusu MDA düzeyleri (Ort±SH).....	86
4.36. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların deri dokusu MDA düzeyleri (Ort±SH).....	87
4.37. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların karaciğer dokusu Bcl-2 oranları (Ort±SH) .....	88
4.38. Karaciğer dokusu Bcl-2 ekspresyonları (x200 büyütme).....	89
4.39. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların solungaç dokusu Bcl-2 yüzdeleri (Ort±SH).....	90
4.40. Solungaç dokusu Bcl-2 ekspresyonları (x200 büyütme).....	91
4.41. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların deri dokusu Bcl-2 yüzdeleri (Ort±SH).....	92
4.42. Deri dokusu Bcl-2 ekspresyonları (x200 büyütme) .....	93
4.43. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların karaciğer dokusu kaspaz-3 yüzdeleri (Ort±SH).....	94
4.44. Karaciğer dokusu kaspaz-3 ekspresyonları (x200 büyütme) .....	95
4.45. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların solungaç dokusu kaspaz-3 yüzdeleri (Ort±SH).....	96
4.46. Solungaç dokusunun kaspaz-3 ekspresyonları (x200 büyütme) .....	97
4.47. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların deri dokusu kaspaz-3 yüzdeleri (Ort±SH).....	98
4.48. Deri dokusu kaspaz-3 ekspresyonları (x200 büyütme) .....	99

**ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)**

<b><u>Sekil</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
4.49. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların karaciğer dokusu H&E skorları (Ort±SH). .....	100
4.50. Karaciğer dokusu histomorfolojik incelemeleri (x200 büyütme). .....	101
4.51. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların solungaç dokusu H&E skorları (Ort±SH). .....	102
4.52. Solungaç dokusu histomorfolojik incelemeleri (x200 büyütme). .....	103
4.53. Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların deri dokusu H&E skorları (Ort±SH). .....	104
4.54. Deri dokusu histomorfolojik incelemeleri (x200 büyütme). .....	105

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Siyanürün metaller ile yaptığı çeşitli bileşikler .....	5
1.2. Bazı siyanür bileşiklerinin endüstride kullanımı .....	6
1.3. Çeşitli endüstri kuruluşlarının atık sularında bulunan siyanür konsantrasyonu .....	7
1.4. Bazı balık türlerinde siyanür letal düzeyleri .....	14
1.5. Bazı memeli canlıların referans hemogram değerleri .....	17
3.1. CAT aktivitesi ölçüm prosedürü .....	39
3.2. SOD aktivitesi ölçüm prosedürü .....	41
3.3. CA aktivitesi ölçüm prosedürü.....	42
3.4. MDA düzeyi ölçüm prosedürü.....	43
3.5. Protein miktarı ölçüm prosedürü.....	44
4.1. Kütahya İlindeki bazı su kaynaklarındaki siyanür miktarları (mg/L) .....	47
4.2. Deneyleerde kullanılan balıkların ortalama boy ve ağırlıkları.....	51

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b><u>Simgeler</u></b>	<b><u>Açıklama</u></b>
CN	Siyanür
NaCN	Sodyum siyanür
CuCN	Bakır siyanür
KCN	Potasyum siyanür
ZnCN	Çinko siyanür
CaCN	Kalsiyum siyanür
HCN	Hidrojen siyanür
H	Hidrojen
°C	Celsius derece
mg	Miligram
kg	Kilogram
cm	Santimetre
L	Litre
%	Yüzde
g	Gram
nm	Nanometre
µl	Mikrolitre
ml	Mililitre
rpm	Devir
ε	Epsilon
s	Saniye
V	Volt
w/v	Ağırlık/Hacim
Hz	Hertz
mm <sup>3</sup>	Milimetreküp
WBC	Lökosit
RBC	Eritrosit
HGB	Hemoglobin
HCT	Hematokrit
MCV	Ortalama eritrosit hacmi



**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)**

<b><u>Simgeler</u></b>	<b><u>Açıklama</u></b>
MCH	Ortalama hemoglobin miktarı
MCHC	Ortalama hemoglobin konsantrasyonu
RDW	Ortalama eritrosit dağılım genişliği
PLT	Trombosit
MPV	Ortalama trombosit hacmi
PDW	Trombosit dağılım genişliği
PCT	Platokrit
CAT	Katalaz
SOD	Süperoksit Dizmutaz
CA	Karbonik anhidraz
MDA	Malondialdehit
DNA	Deoksibonükleik Asit
RNA	Ribonükleik Asit
GSH	Glutasyon
GSH-Px	GlutasyonPeroksidaz
GST	S-transferaz
SDH	Sükkinat dehidrogenaz
LDH	Laktat dehidrogenaz
G6PDH	Glukoz 6 fosfat dehidrogenaz
ALT	Alanin aminotransferaz
AST	Aspartat aminotransferaz
AcP	Asit fosfataz
ALP	Alkalen fosfataz
Ach	Asetilkolin
ATP	Adenozin trifosfat
EDTA	Etilen diamin tetra asetat
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen Peroksit
ANOVA	Varyans Analizi
SPSS	İstatistik programı
TBA	Tiyabarbitürik Asit
TCA	Trikloroasetik Asit

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)**

<b><u>Simgeler</u></b>	<b><u>Açıklama</u></b>
SH	Standart Hata
CO <sub>2</sub>	Karbondioksit
H <sub>2</sub> O	Su
O <sub>2</sub>	Oksijen
Cu <sup>+2</sup>	Bakır iyonu
Zn <sup>+2</sup>	Çinko iyonu
Mn <sup>+2</sup>	Mangan iyonu
Mg <sup>+2</sup>	Magnezyum iyonu
Ag <sup>+</sup>	Gümüş iyonu
Pb <sup>+2</sup>	Kurşun iyonu
Cd <sup>+2</sup>	Kadmiyum iyonu
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Karbonik asit
Na <sup>+</sup>	Sodyum iyonu
Cl <sup>-</sup>	Klor iyonu
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Amonyum
6-OHDA	6 hidroksi dopamin
ATPaz	Adenozin trifosfataz

<b><u>Kısaltmalar</u></b>	<b><u>Açıklama</u></b>
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
EPA	Çevre Koruma Ajansı
AB	Avrupa Birliği
ppm	Per portion million(milyonda bir)
vb	Ve benzeri
vd	Ve diğerleri
A.Ş	Anonim şirketi
Ort	Ortalama
Uv	Ultraviyole
Lint	Enlem
Lng	Boylam
H&E	Hematoksilen Eozin

## 1. GİRİŞ

Dünya üzerinde sucul ekosistemler dünyanın ortalama %71'lik kısmını oluştururlar. Sucul ekosistemlerin içinde ise %97,5'lik kısmını tuzlu sular, %2,5'lik kısmını tatlı sular oluşturur. İnsanlar, tatlı su kaynaklarından içme, sulama, besin kaynağı elde etme gibi oldukça önemli şekillerde yararlanmaktadır. Ancak, son yıllarda doğal kaynakların bilinçsiz kullanımı, yanlış kentleşme politikaları, endüstrinin hızlı gelişimi ve madencilik gibi sebeplerle tatlı su ekosistemleri olumsuz etkilenmektedir. Özellikle, sucul ekosistemler kirlilik faktörlerinin nihai toplanma noktaları olması açısından kirlilikten en yüksek düzeyde etkilenen ortamlar olmuştur.

Kirlilik, bulunduğu ortamda ve ortamdaki canlılarda toksik etkiler meydana getirebilen faktörler olarak tanımlanabilir. Ağır metaller tüm canlıların yaşamsal aktivitelerinde olumsuz etkiler meydana getiren kirlilik faktörlerinin başında gelmektedir ve sucul ortamlarda önemli kirlilik kaynaklarından biridir. Ağır metal olarak değerlendirilmeyen önemli bir kirletici de siyanürdür. Bir karbon ve bir azot atomunun üçlü bağ ile bağlanması sonucu oluşan siyanür, yüksek toksik etkisi ve bağ yapabilme kabiliyeti ile kirlilik faktörleri arasında literatürde yerini almaktadır. Elektronegatifliği oldukça yüksek ve anyon karakterli olan siyanür, özellikle metallere iyi bağlanmaktadır. Bu özelliği nedeni ile de metal madenciliğinde topraktan metali ham şekilde elde etmede sıklıkla kullanılmaktadır. Her ne kadar endüstride böyle büyük bir rol üstlense de bu durum ekolojik anlamda problemleri beraberinde getirmektedir. Çünkü özellikle işletmelerden arta kalan siyanür atık havuzlarda biriktirilmekte ve doğal sulara karışması riski doğmaktadır.

Tatlı su ekosistemlerindeki kirlilik faktörleri, en çok bu ekosistemlerdeki besin zincirinin son halkası olan balıkları etkilemektedir. Bu çalışmada siyanürün tehlikeli özellikleri dikkate alınarak sucul ortamlarda ve sucul canlılarda toksik potansiyelinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaca yönelik olarak madenciliğin oldukça yoğun olduğu Kütahya ili çevresindeki doğal su kaynaklarında siyanür miktarları belirlenmiştir. Belirlenen en yüksek konsantrasyon referans alınarak bir balık biyodenyi planlanmıştır. Deneyde doğada bulunan en yüksek konsantrasyon ve olası artma ihtimaline karşı en yüksek konsantrasyonun iki katı konsantrasyonlarda siyanürlü su içeren akvaryumlar hazırlanmış ve aynalı sazan balığı türü (*Cyprinus carpio*) bu akvaryumlarda siyanüre maruz bırakılmıştır. Sazan balığı tatlı sularda en çok bulunan tür olması, besin olarak tüketilmesi ve çeşitli çevresel streslere toleransının yüksek olması nedeniyle seçilmiştir. Deneylerde kullanılan balıkların deney öncesi ve sonrası ortalama oransal boy ve ağırlık artışları, hemogram düzeyleri, kas, karaciğer, solungaç, beyin, deri ve bağırsak dokularında katalaz ve süperoksit dismutaz ile karbonik anhidraz aktiviteleri ve

malondialdehit düzeyleri, karaciğer, solungaç ve deri dokusunda hematoksilen eozin (H&E) boyama ile histomorfolojik incelemeleri ve Bcl-2 ve kaspaz-3 ekspresyonları araştırılmıştır.

## 1.1. Siyanür

Siyanür, bir karbon atomunun bir azot atomu ile üçlü bağ ( $-C\equiv N$ ) ile bağlanması sonucu oluşan anyonik karakterde kimyasal bir bileşiktir. Siyanür ve bileşikleri endüstride kullanılmak üzere kimyasal yolla üretilebildiği gibi başta badem olmak üzere kayısı, şeftali, kiraz, erik, patates ve mısır gibi bazı bitkiler de doğal olarak siyanür üretebilmektedir. Aynı zamanda siyanürü doğal bir şekilde üretebilen bazı böcek ve bakteri türleri de mevcuttur. Siyanür, ilaç endüstrisi, demir çelik endüstrisi, maden sanayi, akrilik fiber ve plastik üretimi, sentetik kauçuk üretimi gibi çeşitli sanayi kollarında sıklıkla kullanılmaktadır. Özellikle metaller ile kolay ve hızlı bir şekilde bağ yapabilmemesinden dolayı günümüzde altın ve gümüş madenlerinin çıkarımında kullanımı yaygınlaşmıştır (Özçiftçi, 2015).

### 1.1.1. Siyanürün genel özellikleri

Siyanür, tek değerli anyon yapıda metal ametal arası özelliğe sahip bir moleküldür. Keskin bir acıbadem kokusuna sahiptir ve oldukça zehirlidir. Katı, sıvı ve gaz hallerde bulunabilir. Sıvı ve gaz halde renksiz, katı halde ise beyaz renklidir. Maddenin üç halinde de bulunabildiği için solunum, cilt yolu ve oral yolla maruz kalınabilir. Zehirli olmasına rağmen metabolizmada eser düzeyde bulunması gerekmektedir. Fizyolojik rolü henüz net bir şekilde bilinmese de bazı enzimlerin yapısına katılarak katalitik görevler üstlendiği düşünülmektedir. Katyonlarla kolayca bağ yapabilme özelliğine sahiptir. Organik ve inorganik çeşitleri bulunan siyanürün organik bileşikleri çoğunlukla nitril olarak isimlendirilir ve birçoğunun toksik karakteri yoktur. Ancak, potasyum siyanür (KCN), sodyum siyanür (NaCN) ve kalsiyum siyanür (CaCN) gibi alkali metaller ile oluşturduğu inorganik tuzları suda iyi çözünür ve oldukça toksik etkiye sahiptir. Bu tuzlar suda kolaylıkla iyonlarına ayrışır ve hem siyanür hem de metal kirliliği oluştururlar (Greenwood ve Earnshaw, 1984; Skoog vd., 1996; Özçiftçi'den, 2015). Siyanürün bilinen en yaygın formu ise hidrosiyanik asit olarak da bilinen hidrojen siyanür (HCN)'dür. HCN, siyanür tuzlarının iyonlarına ayrışması ve kuvvetli asidik ortamda hidrojen (H) ile tepkimeye girmeleri sonucu oluşur. HCN 26°C'de buharlaşma özelliğine sahip oldukça uçucu ve öldürücü bir maddedir. Siyanürün tüm bileşikleri yüksek dozlarda toksik etkiye sahiptir, ancak en tehlikelileri HCN'dir. İnhalasyon ya da oral yolla kısa süreli maruz kalımlarda siyanür, hızlı nefes alıp verme, titreme ve bazı nörolojik etkilere sebep olurken uzun süreli maruz kalımlar ise ağırlık kaybı, tiroit bezinde bozukluklar, sinir hasarı ve ölüme

sonuçlanabilir. Cilt ile teması halinde ise tahriş ve yaralara sebep olabilir (Cyanide Fact Sheet, 2001; Dash vd., 2009).

### **1.1.2. Siyanürün tarihçesi**

Siyanür ilk kez 1782'de prusya mavisinden izole edilmiştir. Zehirli şöhreti nedeniyle tarih boyunca kimyasal silah yapımında, soykırımlarda ve toplu intihar girişimlerinde kullanılmıştır. Siyanürün, altının madenlerden çıkarılmasında kullanılmaya başlanmasının ilk kaydı ise 1889 yılında Yeni Zelanda'da olmuştur (Dorr, 1936; Johnson'dan 2015). Bu ilk yöntem seyreltilmiş siyanürde altının çözülmesi sonucu gerçekleşmiştir ve cıva ile alaşım oluşturma yöntemi gibi daha önceki yöntemlerden çok daha kolay ve daha fazla altının çıkarılmasını sağlamıştır (Rose, 1898; Johnson'dan 2015; Marsden ve House, 2006). İlk kez Elsner (1846), siyanür içinde altının çözünürlüğünü araştırmıştır (Johnson, 2015).

Bu reaksiyon siyanür liçi yöntemi olarak literatürdeki yerini almış ve yıllar boyunca geliştirilerek günümüze gelinmiştir. 1990ların sonuna doğru gelindiğinde siyanür liçi yöntemi iyice yaygınlaşmış ve dünyadaki toplam çıkarımın %90'ından sorumlu olmuştur (Yarar, 2001). Türkiye'de ise siyanürün madencilikte kullanımı 1987 yılına dayanmaktadır. İlk kez Kütahya'da gümüş madeninin çıkarılmasında siyanür liçi yöntemi kullanılmış ve o tarihten bugüne kullanılagelmiştir (Yüce vd., 2002).

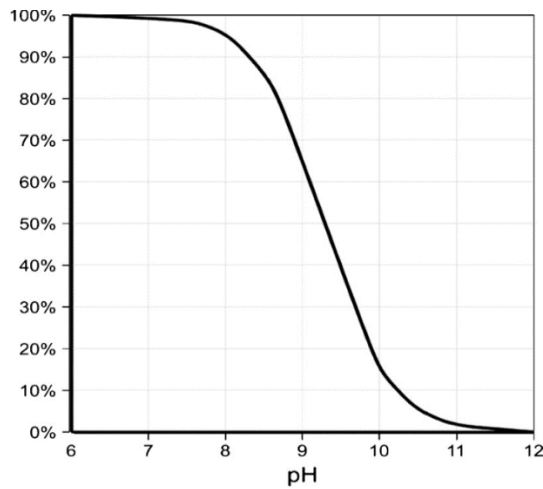
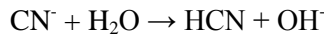
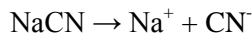
### **1.1.3. Siyanürün fiziksel ve kimyasal özellikleri**

Siyanür, katı, sıvı ve gaz hallerde bulunabilen acıbadem kokusuna sahip zehirli bir kimyasal radikaldir. Sıvı ve gaz halde renksiz, metal katyonlarıyla oluşturduğu katı tuzlarda beyaz renklidir (Şekil 1.1). Siyanür, gaz halde çoğunlukla HCN halinde bulunur. Katı halde ise daha çok NaCN ve KCN tuzları halinde bulunur. Siyanür, kimyasal tanımı gereği +2 oksidasyon basamağında bir karbon atomu ile -3 oksidasyon basamağında bir azot atomunun üçlü bağ ile bağlanması sonucu bir araya gelmiş anyon karakterde bir bileşiktir (<http://technology.infomine.com/reviews/cyanide>).



**Şekil 1.1.** Sodyum siyanür (NaCN)

Siyanür, serbest halde, kompleksler halinde (zayıf, orta kuvvetli ve kuvvetli) ve basit bileşikler halinde bulunabilir. Siyanür bileşiklerinin sucul ortamda çözünmeleri serbest siyanürü meydana getirir. Serbest siyanür ise CN anyonu ve HCN olarak bilinir. Serbest siyanürün oluşması ortamın pH değerine bağlıdır. Bu çalışmada olduğu gibi pH düzeyinin 8 ve üzerinde olduğu durumlarda siyanür anyon halde kalır. Ancak pH düzeyi 8'in altına düştüğü durumlarda HCN oluşur ve HCN buharlaşma sonucu çok çabuk havaya karışır. HCN 26°C gibi nispeten düşük bir sıcaklıkta buharlaşabilir. Düşük pH düzeyinde sodyum siyanürün suda HCN haline gelmesi aşağıdaki reaksiyonlar sonucu gerçekleşir (Şekil 1.2.).



**Şekil 1.2.** CN anyonunun HCN'ye dönüşümü (Mudder vd., 2001).

Siyanür radikali metaller ile çeşitli basit bileşikler ve kompleksler oluşturur. Bu bileşikler aşağıdaki tabloda sunulmuştur:

**Çizelge 1.1.** Siyanürün metaller ile yaptığı çeşitli bileşikler (Staunton, 1991).

Serbest Siyanür	HCN, CN
Basit Bileşikler	NaCN, KCN, Ca(CN) <sub>2</sub> , Hg(CN) <sub>2</sub> , NH <sub>4</sub> CN Zn(CN) <sub>2</sub> , CuCN, Ni(CN) <sub>2</sub> , AgCN, AuCN Fe <sub>2</sub> Fe(CN) <sub>6</sub> , Cu <sub>4</sub> Fe(CN) <sub>6</sub>
Zayıf Bağlı Kompleksler	Zn(CN) <sub>4</sub> <sup>-2</sup> , Cd(CN) <sub>3</sub> <sup>-</sup> , Cd(CN) <sub>4</sub> <sup>-2</sup> , Zn(CN) <sub>2</sub> (OH) <sub>2</sub> <sup>-2</sup>
Orta Kuvvetli Bağlı Kompleksler	Cu(CN) <sub>2</sub> <sup>-</sup> , Cu(CN) <sub>3</sub> <sup>-2</sup> , Cu(CN) <sub>4</sub> <sup>-3</sup> , Ni(CN) <sub>4</sub> <sup>-2</sup> Ag(CN) <sub>2</sub> <sup>-</sup> , Fe(CN) <sub>6</sub> <sup>-3</sup>
Kuvvetli Bağlı Bileşikler	Fe(CN) <sub>6</sub> <sup>-4</sup> , Co(CN) <sub>6</sub> <sup>-4</sup> , Au(CN) <sub>2</sub> <sup>-</sup> , Hg(CN) <sub>4</sub> <sup>-2</sup>

Tabloda yer alan bütün metal - siyanür kompleksleri serbest siyanür kadar zehirli değildir. Ancak, metal - siyanür bileşiklerinin çözünmesi sonucu ortaya hem serbest siyanür çıkar, hem de metal ortama verilir. Dolayısıyla daha az toksik olan metal - siyanür bileşikleri böylece daha zararlı hale gelebilir. Metal - siyanür komplekslerindeki bağın kuvveti ise metalin türüne göre değişiklik gösterir.

#### 1.1.4. Siyanürün kullanım alanları

Siyanür, zehirli olması sebebiyle kötü bir şöhrete sahiptir. Ancak siyanürün sanayi, endüstri ve tıp gibi birçok çalışma alanında kullanımı mevcuttur. Sanılanın aksine siyanür, gerekli denetimler altında kullanıldığında tehlikesi azaltılabilmektedir. Siyanür, altın ve gümüş gibi değerli elementlerin topraktan çıkarılmasında uzun yıllardan beri kullanılmaktadır (Habashi, 1987; Mudder, 2001; Mudder, vd., 2001; Reyes, vd., 2004). İnsanlar arasında belki de en çok bu kullanım amacıyla duyulmaktadır. Liç adı verilen yöntem ile altın ve gümüş madenlerinin gözle görülemeyecek kadar küçük partikülleri dahi çözülerek elde edilebilmektedir (Köymen, 2013). Bu yöntemin neticesinde siyanür içeren atık sular meydana gelmektedir. Bu atık suların çevresel problemlere sebep olabileceği ise bu yöntemi tehlikeli kılan özelliklerden biridir.

Bununla birlikte siyanür petrol rafinasyonunda, kok kömürü ve havagazı üretiminde yıkama suyu olarak kullanılır ve atık su haline gelir. Metal sanayinde metal kaplama ve maden işlemede, fotoğrafçılıkta film banyosu yaparken, boya sanayinde hammadde olarak, plastik ve sentetik kauçuk üretiminde ve tıpta kanser ve hipertansiyon ilaçları üretiminde kullanılmaktadır

(Akçıl, 2002; Akçıl vd., 2003; Özel, 2008; Kuyucak ve Akçıl 2013). Siyanür içeren bileşiklerin endüstride kullanım alanları aşağıda Çizelge 1.2.de sunulmuştur:

**Çizelge 1.2.** Bazı siyanür bileşiklerinin endüstride kullanımı (Dökmeci, 2001: Özel'den 2008).

Siyanür Türevleri	Kullanıldığı Yerler
Hidrojen Siyanür (HCN)	- Koyunların dış parazitlerine karşı ve ev haşerelerinin yuvalarını yok etmede - Fotoğrafçılıkta
Siyanür tuzları (NaCN, KCN)	- Altın ve gümüş madenciliğinde - Elektrolit - Organik sentezler - Metal parlatici - Toprak sterilizasyonu
Organik siyanür bileşikleri (İminodipropionitril, glikonitril, asetonitril, akrilonitril)	Sentetik kauçuk, fumigan gazlar
Siyanamid	Siyanür salgılayan ilaçlar
Siyanojen klorür	Kimyasal analizler
Nitroprussid	Kimyasal sentez, antihipertansif ilaçlar

### 1.2. Doğada Siyanür

Siyanür ve siyanür türevlerinin endüstride birçok kullanım alanı bulunmasının yanında siyanür doğal ortamda da bulunmaktadır. Siyanürün doğadaki bu varlığı atık sular gibi yapay etmenlerle olabildiği gibi doğal halde de olabilir. Bazı bitki, böcek ve bakteri türleri metabolizmalarında doğal olarak siyanür üretmektedir. Türkiye'de bulunmayan, ancak Amerika kıtasında büyük öneme sahip manyok bitkisi doğal olarak siyanür üretmektedir. 100 g manyok bitkisi ortalama 104 mg siyanür ihtiva etmektedir. Benzer şekilde badem (297mg/kg), yabani kiraz (140 - 370 mg/100g), sofr tuzu (20 mg/kg) vb. gıdalar da bünyelerinde siyanür barındırmaktadır (Kuyucak ve Akçıl, 2013). Ayrıca, çekirdekli meyvelerden kayısı, şeftali ve elma gibi gıdaların çekirdeklerinde de bol miktarda siyanür bulunmaktadır. Bir kişi ortalama 15 g kayısı çekirdeği tükettiğinde akut siyanür zehirlenmesi ile karşı karşıya kalmaktadır (ATSDR, 2006; Suchard vd., 1998). Tıpta, özellikle çocuklarda bu tür meyve çekirdeği yeme sonrası zehirlenme vakalarının olgu sunumları bildirilmiştir (Kaya vd., 2012; Koçak vd., 2009). Siyanür, doğal yolların yanı sıra endüstriyel kaynaklarla da çevreye salınmaktadır. Siyanür, endüstride kullanıldıktan sonra ya kimyasal olarak bozundurma işlemine tabi tutulur ya da atık havuzlarda depolanır. Siyanürün atıklar halinde deşarj edilmesi de her geçen gün artmaktadır. Siyanür, genellikle metal bileşikleriyle kullanıldığı için deşarj edildiği sularda ağır metal



kirliliğine de yol açmaktadır. Ayrıca, yüksek bağ yapma özelliğine sahip siyanür, yeniden toksik kompleksler oluşturma eğilimine girerler (Patil ve Paknikar, 2000).

Dünyada 1,4 milyon ton HCN üretilmektedir. Üretilen bu HCN'nin %13'ü NaCN halinde altın ve gümüş madenciliğinde kullanılırken %87'si diğer endüstriyel kollarda kullanılmaktadır (Mudder vd., 2001). Siyanür, yüksek nişasta konsantrasyonuna sahip tarımsal ürünlerin işlenmesinde de meydana gelmektedir (Gijzen vd., 2000). Bu sayede atık sularında yüksek toksik ve letal etki meydana getirebilecek 200mg/L konsantrasyonda siyanür birikimi meydana gelebilir (Siller ve Winter, 1998). Aşağıda bazı endüstri kuruluşlarının atık sularında oluşan siyanür konsantrasyonları verilmiştir (Patterson, 1985: Turan'dan 2006).

**Çizelge 1.3.** Çeşitli endüstri kuruluşlarının atık sularında bulunan siyanür konsantrasyonu (Patterson, 1985).

Endüstri	Siyanür Miktarı (mg/L)
Maden ergitme fırını gaz temizleme suları	0,2 - 48,5
Renkli film yıkama suları	71
HCN üretimi	14 - 42
Altın cevheri ekstraksiyonu	18,2 - 22,3
Patlayıcı üretim	0,0 - 2,6
Petrol rafinasyonu	0,0 - 1,5
Boya ve mürekkep eldesi	0,0 - 2,0
Demir alaşımı eldesi yıkama suları	0,7 - 5,4

Tablo incelendiğinde atık sularındaki siyanür konsantrasyonunun 50 mg/L'yi geçmediği görülmektedir. Buna rağmen, metal kaplama ve galvanizleme işi yapan bazı endüstri kuruluşları yıllar boyu 10.000 ila 30.000 mg/L konsantrasyonda siyanür atık suyuna sahip olabilmektedir (Ganczarzyk vd., 1985; Wild vd., 1994). Bu konsantrasyon kirli olmayan göl ve akarsulardan oldukça yüksek seviyededir.

### 1.3. Dünyada Siyanür

Siyanür doğal sulara genellikle endüstriyel atıklardan karışmaktadır. ABD'de yıllık ortalama 2036 milyar libre HCN, 85 milyon libre NaCN üretilmektedir (SRI, 2005: ATSDR'den 2006). Raybuck (1992) ise yıllık 2 - 3 milyon ton siyanür üretildiğini bildirmiştir (Gijzen vd., 2000'den). 1970li yıllardan itibaren ise yüzey sularına yıllık ortalama 31 milyon libre siyanürlü atık su karıştığı bilinmektedir (ATSDR, 2006). Wild vd. (1994), doğal sularında 0,0001 - 0,05 mg/L konsantrasyon aralığında siyanür olduğunu bildirmiştir.

Sigarada da belli oranda siyanür bulunmaktadır. Her bir sigarada 10 – 400 µg oranında siyanür bulunduğu bilinmektedir (ATSDR, 2006). Bu durum beraberinde sigara fabrikalarının atık sularında da siyanür bulunabileceğini ortaya koymaktadır. Osobamiro (2012), bir sigara fabrikasının atık suyunda 0,719 mg/L oranında siyanür bulunduğunu saptamıştır. Özellikle maden bölgelerine yakın sularda siyanürün doğal sulara karıştığı bilinmektedir. Maden atıklarından meydana gelen konsantrasyonların 0,2 mg/L seviyelerini geçtiği biliniyor olmasına rağmen bu konsantrasyonlar akuatik faunayı çok ciddi etkileyecek 250 mg/L seviyelerine kadar ulaşabildiği bilinmelidir (Patil, 1999; Srikumar, 2014; David ve Kartheek'ten 2016). Endüstriyel atıklardan yıllık 14 milyon kg siyanürün doğal sulara karıştığı düşünülmektedir (Ebbs, 2004).

#### **1.4. Türkiye'de ve Kütahya'da Siyanür**

Türkiye'de madencilikte siyanür kullanımı 1987 yılına dayanmaktadır (Yüce vd., 2002). O tarihten bugüne Türkiye'de siyanür altın ve gümüş madenlerinin çıkarımında kullanılmakta ve bu durum beraberinde birçok tartışmayı da gündeme getirmektedir. Türkiye'de siyanürün doğal ortamda varlığı ile ilgili veriler oldukça azdır. Özdemir ve Sırıken (2006), Afyonkarahisar ili ve çevresinde gerçekleştirdikleri bir çalışmalarında 0,02 ppm düzeyinde siyanür tespit etmişlerdir. 2000 yılının Şubat ayında Romanya'nın Baia kenti altın madeninde meydana gelen kazanın ardından 22 milyon galon KCN çözültüsü Tuna Nehri'ne karışmıştır. Bu felaketin Karadeniz ve Marmara Denizi'nde meydana getirdiği tahribatı öğrenmek için yapılan bir çalışmada Karadeniz'de 3,01 µg/L, İğneada'da 0,34 µg/L ve İstanbul Boğazı'nda 1,79 µg/L konsantrasyonda siyanür tespit edilmiştir (Güven vd., 2001). Bu oranların tamamı deniz suyu için verilen limit değerlerin altında olduğu görülmüştür.

Kütahya'da Eti Maden İşletmeleri Tesisinde gümüş madeni çıkarılmaktadır. Madenin çıkarılmasında dünyanın diğer bölgelerinde olduğu gibi siyanür liçi yöntemi kullanılmaktadır. Oluşan siyanürlü atık sular tesisin bu amaçla oluşturduğu havuzlarda toplanmaktadır. Daha önce çeşitli sebeplerle atık havuzlardan çevreye siyanür salındığı gündeme gelmiş ve bundan sonra da zaman zaman gündeme gelme riski bulunmaktadır.

#### **1.5. Siyanür - Çevre - Canlı Etkileşimi**

Siyanür, kimyasal özelliği gereği çok çabuk bozunma karakteri gösterir ve yüksek bağ yapma kapasitesine sahiptir. Siyanür tuzları suda hemen çözünür, asidik ortamda CN anyonu hızlıca HCN'ye dönüşür, suda çözünen siyanür tuzları farklı kompleksler oluşturma eğilimine girer. Bu özellikleri nedeniyle siyanür çevreye kolaylıkla salınır, canlı vücuduna girdiğinde çok

çabuk metabolize olur ve toksik karakterini ortaya çıkarır. Siyanürün çevre ve canlılarla olan etkileşimini ayrı başlıklar halinde incelemekte yarar vardır.

### **1.5.1. Siyanürün çevreye olan etkileri**

Siyanür, her üç halde çevreye salınabilmektedir. Serbest siyanür halinde düşük sıcaklıkta buharlaştığı için havaya, suda iyi çözündükleri için siyanür tuzları suya ve bileşiklerinin kayaç yapısına katılması sonucu toprağa karışabilmektedir. Doğal yollarla ya da endüstriyel kaynaklar ile çevreye salınan siyanür belli eşik seviyeleri aştığı zaman çevresel problemlere yol açmaktadır. Çeşitli kirleticilerin çevreye salınımı sonucu meydana gelen çevresel felaketlerin tarih boyunca örnekleri görülmüştür.

#### **1.5.1.1. Siyanürün havaya etkileri**

HCN, CN anyonunun düşük pH düzeylerinde ortamda H ile kompleks yapması sonucu oluşan oldukça toksik bir bileşiktir. HCN renksiz, acıbadem kokulu bir bileşiktir. Hava kirleticisi olarak anılmasının nedeni 26°C gibi neredeyse oda sıcaklığı denebilecek bir sıcaklıkta buharlaşma özelliğine sahip olmasıdır. NaCN gibi siyanür tuzları sucul ortama yayıldığında çözünürler. Serbest hale geçen siyanür anyonu H ile birleşir ve bulunduğu sucul ortamdan sıcaklığın etkisi ile buharlaşır. Aynı zamanda 6 - 6,5 pH seviyesinde yağışların olması da sudaki CN radikalini HCN'ye dönüştürür. Dolayısıyla buharlaşan HCN kilometrelerce ötelere yayılabilir (Küçük, 2007). Havaya HCN karışması prosedürü madencilikte kullanılan atık havuz sistemlerinin tehlikesini belli bir çerçevede ortaya koymaktadır.

Havaya siyanür salınmasında en büyük rol (%90) otomobil egzozlarından çıkan gazlardan kaynaklanır. İkinci en büyük etmen ise HCN, akrilonitril gibi bileşiklerin üretilmesinden kaynaklanır (ATSDR, 2006). ABD'de 1.2 milyon libre endüstriyel üretimden kaynaklı HCN'nin doğaya salındığı düşünülmektedir (CEPA, 1997). Bunun yanında, petrol rafinasyonu, metal kaplama ve sigara içimi gibi nedenlerle de HCN havaya salınmaktadır. Ayrıca, metal madenlerinde siyanürleme işleminin sonucunda 20.000 ton HCN'nin doğaya salındığı bilinmektedir (Korte and Coulston, 1995). Her ne kadar oranı bilinmese de HCN havaya, bitki, bakteri, mantar ve bazı böcek türlerinin doğal olarak üretmesi sonucu da yayılabilmektedir (Cicerone ve Zellner 1983; ATSDR, 2006).

Havaya yayılan HCN analitik metodlarla tespit edilebileceği gibi ağır acıbadem kokusu nedeniyle herhangi bir yönteme ihtiyaç duymadan da bilinebilir. 1 - 5 ppm düzeyinde HCN kokusu havada ayırt edilebilir. Bununla birlikte 270 ppm HCN'ye maruz kalındığında direkt ölüm, 135 - 181 ppm maruizyette 10 ila 20 dk içinde ölüm gerçekleşir. 45 - 55 ppm arası

konsantrasyonda 30 - 60 dk tolere edilebilir, daha az konsantrasyonlarda ise hafif belirtiler görülür (Hartung, 1982).

### **1.5.1.2. Siyanürün toprağa etkileri**

Toprakta daha çok ferrosiyanürler halinde bulunan siyanür genellikle antropojenik etmenlerle karışmaktadır. Bunun yanı sıra atık suların karıştığı bölgelerde de toprakta siyanürün arttığı bilinmektedir. Toprakta bulunan siyanür, altının alkali siyanür bileşiği oluşturması esasına dayanarak atomik absorpsiyon spektroskopisi ile ölçülebilir (Razmilic, 1989; Yılmaz'dan 2012). Toprakta yapılan bazı çalışmalarda siyanür konsantrasyonunun 0,4; 0,8 ppm civarlarında ölçüldüğü ve genelde 2 ppm'in altında olduğu bildirilmektedir (WHO, 2004; Shifrin vd., 1996). Serbest siyanürün toprakta mikroorganizmalar ve bitkiler tarafından özümsemiği ve toprakta birikim göstermediği bilinmektedir (Özçiftçi, 2015).

Bir ton altın elde edebilmek için 1 milyon ton toprağın siyanürlenerek sulu çözelti haline getirilmesi gerekmektedir. Yani 1 ton altın üretmek için 1,5 - 2 milyon ton atık meydana gelmektedir (Küçük, 2007). Siyanürle altın ve gümüş çıkarımının her geçen gün arttığı göz önüne alınırsa oluşacak atığın boyutları çok yüksek noktalara ulaşacaktır. Bu duruma örnek olarak Kütahya'da gümüş madeninin çıkarılmasında faaliyet gösteren Eti Gümüş AŞ atık havuzlarını her geçen gün artırmaktadır. Bu amaç için işletme yakınında bulunan bir köyün toprakları istimlak edilmiştir. Aynı zamanda atık havuz, Kütahya için endemik bir tür olan ehrami karaçam (*Pinus nigra sub. pallasiana var. pyramidata*) ormanının oldukça yakınına inşa edilmek istenmektedir. Örnekte verilen bu durum toprağa siyanür karışmasını artırma ihtimali bulunmaktadır.

### **1.5.1.3. Siyanürün suya etkileri**

Siyanür suya kullanım alanlarına bağlı olarak çeşitli kaynaklardan karışabilir. Sucul ortamların kirlilik faktörlerinin nihai toplanma noktaları olmaları da siyanür kirliliğinden maksimum düzeyde etkilenmelerine neden olmaktadır. Herhangi bir kirlilik faktörünün suya karışması zengin bir ekosistem olma özelliğine sahip sucul alanları içlerinde bulunan canlılarla birlikte etkilemektedir. Nitekim tarih boyunca toplu balık ölümleri gibi vahim olaylar çokça görülmüştür.

Siyanür yüzey sularına metal kaplama endüstrilerinin, demir çelik fabrikalarının atık sularından, çöplüklere atılan siyanürlü bileşiklerden, madencilikten, pestisitlerden ve yollara atılan ve siyanür içeren tuzlardan kaynaklanmaktadır (Dash vd., 2009). Endüstriyel atıklarda 10 mg/L düzeylerinde siyanür bulunabilir (Ganczarzyk vd., 1985; Wild vd., 1994). Atık sular

çeşitli işlemlerden geçirilerek bu oranlar düşürülmeye çalışılmaktadır. Her ne kadar düşürülse de siyanürün yüksek toksik özelliğinden dolayı düşük konsantrasyonları bile doğal sularda sucul canlılar için tehlike oluşturmaktadır. Sucul canlıların da kirleticilere karşı en duyarlı grubunu balıklar oluşturmaktadır. Dolayısıyla düşük konsantrasyonda balıklar siyanür toksisitesinden olumsuz etkilenmekte, ölüm gerçekleşmese bile kalıcı problemlere yol açmaktadır. Literatürde 0,01 ve 0,1 mg/L konsantrasyonların balıklarda toksik olabileceği bildirilmektedir (Prashant ve Neelagund, 2007). Bununla birlikte Wild vd. (1994), doğal sularda siyanürün 0,0001 - 0,05 mg/L aralığında olduğunu bildirmiştir. EPA da tatlı su ortamları için siyanür sınırını 0,052 mg/L olarak belirlemiştir (EPA, 2002).

### **1.5.2. Siyanürün canlılara etkileri**

Siyanür ve türevlerinin iyi birer metabolik inhibitör olduğu ve organizmada problemlere yol açtığı bilinmektedir (Renklidağ ve Karaman, 2003). Vücuda girdikten sonra kısa sürede dolaşım sistemine katılır ve methemoglobinle kompleks oluşturup siyanomethemoglobini meydana getirir. Bunun sonucunda vücut kandaki oksijeni kullanamaz ve sitotoksik hipoksi ile boğulmaya neden olur (Hosetti vd., 2011). Ayrıca, antioksidan enzim sistemini baskılayarak oksidatif strese sebep olduğu bilinmektedir.

#### **1.5.2.1. Siyanürün bitkilere etkileri**

Bitkilerde siyanür, siyanogenik glukozidler şeklinde bulunur. 2000 kadar bitki türünün 23 çeşit siyanogenik glukozidleri taşıdığı bildirilmiştir (Conn, 1980). Kayısı, şeftali, badem, erik, kiraz gibi meyvelerin çekirdeklerinde 'amigdalın' adı verilen glukozid bulunur ve bu madde HCN'ye hidrolize olur. Bitkilerde siyanür içerikli bileşiklerin bulunması o bitkiyi doğal olarak zehirli yapmaktadır. Bu durum herbivor beslenen canlılarda ve sonrasında insanlarda biyolojik birikim ile daha büyük olumsuz etkiler meydana getirebilir.

Doğada doğal olarak siyanür bulunduran çok sayıda bitki bulunmaktadır. Bunların başında günlük hayatta insanların sıkça tükettiği badem, kayısı, şeftali ve kiraz gelmektedir. Badem 297 mg/kg, yabani kiraz 140 - 370 mg/100g siyanür barındırmaktadır (Kuyucak ve Akçıl, 2013). Türkiye'de bulunmayan, ancak Amerika kıtasında büyük öneme sahip manyok bitkisi de doğal olarak siyanür üretmektedir. 100 g manyok bitkisi ortalama 104 mg siyanür ihtiva etmektedir. Sarı vd. (1999), Türkiye'de yaygın yetişen kanyaş bitkisinde siyanür tespiti gerçekleştirmişler ve çiçeklenme öncesi dönemde 460,8 ppm çiçeklenme sonrasında 44,22 ppm siyanür tespit etmişlerdir. Çalışmalarında aynı türde 10 kat farklı konsantrasyonlar elde etmişlerdir. Aynı türün içerisinde bile gerçekleşebilecek bu farklılıkların bitkinin genotipinden,

ortam sıcaklığı ile topraktaki bileşenlerden meydana gelebileceğini bildirmişlerdir (Sarı vd., 1999).

### **1.5.2.2. Siyanürün hayvanlara etkileri**

Doğal çevrede toprağa, suya ve havaya salınan siyanür hayvanlar aleminin tamamında çeşitli etkiler meydana getirmektedir. Siyanürün omurgalı hayvanlardaki etki metabolizması ile insanlarda olan etki metabolizması benzerdir. Dolayısıyla hayvanlarda siyanürün meydana getirdiği tahribatı ortaya koymak hayvan fizyolojisi açısından önemli olduğu gibi insan sağlığına olan etkilerini belirleme açısından da önemlidir.

Hayvanlarda siyanürün toksik ve letal etkilerini gözlemek amacıyla birçok türde farklı çalışmalar yapılmıştır. Siyanür, metabolizmada letal etkisini oksijen yetersizliği sonucu gerçekleştirmektedir. Tavşanlarda 30 dk. LC<sub>50</sub> değeri 188 ppm, ratlarda 60 dk. LC<sub>50</sub> değeri 143 ppm (Ballantyne, 1983); farelerde 5 dk. LC<sub>50</sub> değeri 323 ppm (DiPasquale ve Davis 1971) olarak bildirilmiştir (ATSDR, 2006). Letal doz uygulandığında hayvanlarda hiperaktivite, asfiksial konvülsiyon gibi belirtiler baş gösterir. Elbette hayvanlarda siyanürün her konsantrasyonu letal etki oluşturmaz. 0,2 ppm genel olarak hayvanlarda toksik etkinin başladığı konsantrasyon olarak bildirilmiştir (Sarı vd., 1999). Ancak, bu konsantrasyon sucul canlılar için letal etki oluşturabilir. Literatürde balıklarda 0,01 ppm konsantrasyonun bile letal etki oluşturduğu çalışmalar görülmektedir (Blaha, 1976).

Siyanürün letal olmayan toksik etkilerine de değinecek olursak, köpeklerde 45 ppm doz 28 ile 96 gün uygulandığında mide - bağırsak sisteminde olumsuz etkiler oluşturduğu görülmüştür (Valade 1952: ATSDR'den 2006). Ratlarda ve maymunlarda 6 ay boyunca 12,5 ppm siyanür hematolojik ve histopatolojik parametrelerinde herhangi bir olumsuz değişikliğe neden olmamıştır (Lewis vd., 1984). 10 ay boyunca günde 20 mg/kg siyanüre maruz bırakılan tavşanlarda kalp histopatolojisinde tedavi ile ilgili herhangi bir anlamlı sonuç gözlenmemiştir. Akut siyanür intoksikasyonu durumunda hayvanlarda huzursuzluk, panik, zayıf koordinasyon ve titreme tarzı bazı davranışlar görülebilir.

### **1.5.2.3. Siyanürün insanlara etkileri**

Siyanürün eser düzeyde insan metabolizmasında bulunması gerekmektedir. Ancak her toksik madde gibi belli bir dozun yukarısı olumsuz etkiler meydana getirmektedir. Siyanürün metabolizmadaki rolü henüz net olarak bilinmemektedir. Bazı enzimlerin yapısına katılarak katalitik etkiler oluşturduğu belirtilmektedir. İnsanlar siyanüre solunum, yutma ve deri ile temas gibi birçok şekilde maruz kalabilir. Yüksek dozda siyanüre maruz kalma akut düzeyde ölüm

meydana getirebilir. Bunun yanında letal olmayan konsantrasyonlarda geçici ya da kalıcı fizyolojik bozukluklara sebep olabilir. Ancak siyanürün bugüne kadar herhangi bir kanser yapıcı etkisi saptanmamıştır. Kısaca siyanür karsinojen bir kirletici değildir (Köymen, 2013).

Siyanür zehirlenmeleri ile ilgili tıpta birçok olgu sunumu yayınlanmıştır. Vakalar genellikle siyanür içerikli meyve çekirdeklerini bir anda çok miktarda yenilmesinden kaynaklanmıştır. Aynı zamanda yangında hayatını kaybedenlerin vücudunda da çok miktarda siyanür tespit edilmektedir. Yangın esnasında yanan plastik maddelerin içerisinde siyanür gazları ortama yayılmaktadır. Siyanür, vücuda hızlı etki eden bir zehirlidir (Kaya vd., 2012; Koçak vd., 2010).

Özellikle gaz formu olan HCN saniyeler içinde ölüm gerçekleştirebilir. Buna karşılık siyanür tuzları oral yolla alındığından etki süresi biraz daha uzun olmakta ve bu da tedaviyi mümkün kılabilenmektedir. Siyanür vücuda girdikten sonra sitokrom oksidaz sistemine katılır ve hipoksiye neden olur. Bu durum vücudun oksijensiz kalarak boğulması sonucunu doğurur. Öldürücü dozu bir anda alan kişide ani bilinç kaybı ile kişi bağıarak yere yıkılır. HCN'nin bu şekilde öldürücü dozu 50 mg'dır. Siyanür tuzlarının ise 200 - 300 mg'dır. Daha hafif zehirlenmelerde zehirlenmenin siyanürden kaynaklandığını anlamak zordur. Çünkü belirtileri baş ağrısı, baş dönmesi, kusma, halsizlik gibi genel belirtilerdir. Orta şiddetli maruziyette ise nabız yüksekliği, hızlı solunum, acıbadem kokusu gibi belirtiler siyanür zehirlenmesinin ayırtıcıları olabilir. Siyanür zehirlenmelerinin tedavisinde amilnitrit, sodyum nitrit ya da hidroksikobalamin antidotları kullanılır. Aynı zamanda hastaya tedavi süresince aktif kömür verilir (Renklidağ ve Karaman, 2003).

#### **1.5.2.4. Siyanürün balıklara etkileri**

Siyanürün etkinliğini gösterdiği en aktif çevre sucul çevredir. Sucul çevrede de siyanür kirliliğinden maksimum düzeyde etkilenen canlı türü ise balıklardır. Balıklar, siyanüre karşı oldukça hassastırlar. Biyolojik zincirin son halkasında bulunmaları onları bu şekilde hassas yapmaktadır.

Siyanürün balıklarda letal düzeyi ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Çizelge 2.3.de çeşitli kaynaklardan taranan farklı balık türlerinde letal konsantrasyon değerleri verilmiştir.

**Çizelge 1.4.** Bazı balık türlerinde siyanür letal düzeyleri.

Balık Türü	Konsantrasyon (mg/L)	Kaynak
<i>Salmo gairdnerii</i>	0.07 (74h)	Jones, 1964
<i>Salvelinus fontinalis</i>	0.05 (120h)	»
<i>Perca fluviatilis</i>	0.13 (17h)	»
<i>Tinca tinca</i>	0.20 (48h)	»
<i>Lepomis macrochirus</i>	0.09 (24h)	»
<i>Micropterus salmoides</i>	0.11 (24h)	»
<i>Pimephales promelas</i>	0.23 (96h)	»
<i>Labeo rohita</i>	0.033 (96h)	Govind, 2013
<i>Dascyllus aruanus</i>	25 ve 50 (120 s)	Hanawa vd., 1998
<i>Cyprinus carpio</i> (fingerlings)	1	David vd., 2008
<i>Labeo rohita</i>	0.33 (LC50 96h)	David vd., 2014
<i>Labeo rohita</i>	0.32 (LC50 96h)	Hosetti ve Dube, 2011
<i>Catla catla</i> (CuCN)	0.76 (LC50 96h)	Hosetti ve Dube, 2011
<i>Cirrhinus mrigala</i>	0.343 (LC50 96h)	Shwetha, 2012
<i>Tilapia mossambica</i>	0.044 (LC50 96h)	Prashant, 2011
<i>Oncorhynchus mykiss</i> (KCN)	0.043 (LC50 96h)	McGeachy ve Leduc, 1988
<i>Salmo salar</i> (KCN)	0.023 (LC50 24h)	Alabaster vd., 1983
<i>Labeo rohita</i>	1,00 (NaCN)	Manjunatha vd., 2014

Çizelge incelendiğinde farklı türlerde letal konsantrasyonların değiştiği görülmektedir. Bu çalışmada kullanılan *Cyprinus carpio* türü balıkların fingerling boylarında 1 mg/L sodyum siyanürün letal olduğu söylenmektedir (David vd., 2008).

Letal etkinin dışında balıklarda siyanür maruziyetinin ardından çeşitli sorunlar ortaya çıkmaktadır. David ve Kartheek (2016), 0,1 mg/L konsantrasyonda 10 ve 20 gün boyunca sodyum siyanür uyguladıkları sazan balıklarında katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon S-transferaz aktivitelerinde kontrol grubuna göre azalmalar tespit etmiştir. Aynı zamanda karaciğer histolojisinde lezyonların oluşmasına sebep olduğunu bildirmişlerdir. Bir başka tatlı su balığı türü *Labeo rohita*'da letal (0,32 mg/L) ve subletal (0,064 mg/L) konsantrasyonda ATPaz enziminin inhibe olduğunu (Dube ve Hosetti, 2011); subletal (0,106 ve 0,064 mg/L) konsantrasyonlarda glikojen ve pirüvat miktarlarının azaldığı (Dube vd., 2013); yine subletal (0,2 mg/L) konsantrasyonda yapısal ve çözülebilir protein seviyelerinin azaldığını bildirmişlerdir (Manjunatha vd., 2014). 0,5 mg/L siyanürün akut toksik etkisini ortaya koymaya çalıştığımız daha önceki bir çalışmada bu konsantrasyonda siyanürün sazan balıklarında hücresel hasara sebep olduğu ve bazı antioksidan enzim aktivitelerinin etkilendiğini gözlemlenmiştir (Kavasoglu vd., 2015). Siyanüre maruz kalan balıkların hareket kabiliyetlerinde ve yem alımlarında da problemler yaşadığı görülmektedir.



### 1.6. Sazan Balığı (*Cyprinus carpio*)'nın Genel Özellikleri

Çalışmada kullanılan sazan balığı (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) Cyprinidae familyasına mensup tüm dünyada geniş yayılım gösteren, besin olarak tüketilen ve hemen hemen her çeşit tatlı su ortamında yaşamını sürdürebilen ekolojik valansı geniş bir balık türüdür. Bu nedenle iyi bir biyomonitör tür olma özelliğini taşır ve dolayısıyla üzerinde en çok araştırma yapılan balık türlerinden biridir (Yılmaz vd., 2012).

Alem:	Animalia (Hayvanlar)
Şube:	Chordata (Kordalılar)
Sınıf:	Osteichthyes (Kemikli balıklar)
Alt sınıf:	Actinopterygii (Işımsal yüzgeçliler)
Takım:	Cypriniformes (Sazansılar)
Familya:	Cyprinidae (Sazangiller)
Cins:	Cyprinus
Tür:	<i>C. carpio</i>

Aynalı sazan balığı, pullu sazan balığının kültür formudur. Pullu sazandan ayrıldığı en önemli özelliği pullarıdır. Pullu sazanda vücudun tamamı iri sikloit pullarla örtülüyken aynalı sazanda gövdenin kenarlarına dizilmiştir. Ayrıca, özellikle büyük bireylerde yan hat boyunca da pul dizilimi görülmektedir. Sazanlar, yüksek sırtlı, tıknaz, hızlı üreyebilen bir türdür. Morfolojik karakterleri D: III – IV, 17 – 23 A: II – III, 5 – 6 LL: 36 – 37 ve farinks dişleri 1.1.3:3.1.1 şeklindedir. Ağızda biri ince ve biri kalın olmak üzere iki çift bıyık bulunur. Göğüs ve karın yüzgeçleri çift, diğer yüzgeçler ise tektir. Boyları 1 m.yi bulabilmekte ve 40 kg ağırlığa kadar çıkabilmektedir. Şimdiye kadar en yaşlı 38 yaşında bireyler tespit edilmiştir (<http://www.fishbase.org>).

Sazan balıkları ılık, derin, yavaş akışlı ve durgun nehirler ya da iyi vejetasyonlu gölleri tercih ederler. Zor şartlara ve düşük oksijen seviyelerine oldukça dayanıklıdır. Omnivor olarak beslenen bu balıklar bentik organizmalar ve bitkilerle beslenirler. Bir seferde milyonları bulabilen yumurta dökme kapasitesine sahiptirler ve bu açıdan üremeleri oldukça hızlıdır. Yumurtalar, ancak uygun koşullar altında hayatta kalabilir. Akvaryum şartlarında beslemeye uygun olmasalar da yine de adaptasyon gösterirler. Türkiye’de 1970 yılında yetiştiriciliği başlamıştır (Çelikkale, 1988) ve yapay balık üretiminde oldukça önemli bir yer tutar (Geldiay ve Balık, 1999). Sazan balıkları için amonyak $\leq$ 0,02 ppm, bulanıklık $\leq$ 25 JTÜ, demir $\leq$ 0,9 ppm, klor $\leq$ 0,02 ppm, nitrit: 0,006 - 0,1 ppm, oksijen: 4 - 9 ppm, pH: 6,5 - 8,5 ve sıcaklık: 16 - 20 °C olmalıdır (Lloyd, 1992).

## **1.7. Kirlilik Faktörlerinin Belirteçleri Olarak Biyokimyasal, Hematolojik ve Histopatolojik Parametreler**

Günümüzde kirleticilerin canlılara olan etkilerini belirleme çalışmaları hız kazanmıştır. Bu konuda en önemli unsurlar uygun biyomonitör türlerin ve biyomarkırların seçimi olmaktadır. Kirleticilerin canlı vücudunda meydana getirdiği etkileri ortaya koymak için biyokimyasal, hematolojik ve histopatolojik parametreler kullanılmaktadır. Literatürde karşılaşılan örnekler, bu tür parametrelerin iyi birer belirteç olduğunu ortaya koymaktadır. Bu çalışmada biyokimyasal parametreler olarak antioksidan enzimlerden CAT ve SOD, solunum enzimi CA, hüresel hasarın göstergelerinden lipid peroksidasyon ürünü MDA, hematolojik parametrelerden hemogram düzeyleri, histopatolojik parametrelerden ise H&E boyama ile histomorfolojik inceleme, Bcl-2 ve kaspaz-3 ekspresyon düzeyleri kullanılmıştır.

### **1.7.1. Çalışmada kullanılan hematolojik parametreler**

Balıklarda kan, kan hücreleri ve plazmadan meydana gelmiştir. Kan hücreleri %45, plazma ise %55 oranında bulunur. Kan hücrelerini eritrositler, lökositler ve trombositler oluşturur. Plazmanın içeriğinde ise su ve diğer bazı organik ve inorganik bileşenler bulunur.

Balık kanı, memeli canlılar ile benzer özellikler gösterdiği gibi memelilerden ayrılan özellikleri de bulunmaktadır. Eritrositler, balıklarda pul şeklinde değil, daha çok oval ve orak şeklindedir. Memeliler eritrositlerini olgunlaştıklarında kaybederken balıklarda eritrosit çekirdekleri kaybolmaz. Balık eritrositlerinin ortalama %29'unu çekirdek oluşturur (Karataş, 2010). Çizelge 1.5. bazı memeli canlılarda hemogram parametrelerinin referans değerlerini göstermektedir.

**Çizelge 1.5.** Bazı memeli canlıların referans hemogram değerleri.

	<b>Sıçan</b>	<b>At</b>	<b>Fare</b>	<b>Maymun</b>
<b>WBC (x10<sup>9</sup>/L)</b>	2,9-15,3	5-11	0,8-6,8	6,1-15,8
<b>RBC (x10<sup>12</sup>/L)</b>	5,60-7,89	5,30-13	6,36-9,42	4,3-6,8
<b>HGB (g/dL)</b>	12,0-15,0	10,8-15	11,0-14,3	10-16
<b>HCT (%)</b>	36,0-46,0	28-46	34,6-44,6	31-48
<b>MCV (fL)</b>	53-68,8	36-55	48,2-58,3	68-82
<b>MCH (pg)</b>	16-23,1	14-19	15,8-19	21,1-28
<b>MCHC (g/dL)</b>	30-34,1	33-42,6	30,2-35,3	30-36
<b>RDW (%)</b>	11-15,5	15-21	13-17	11-16,2
<b>PLT (x10<sup>9</sup>/L)</b>	100-1610	95-660	450-1590	130-480
<b>MPV (fL)</b>	3,8-6,2	5-9	3,8-6	6,3-8,9

### **1.7.1.1. Lökosit (WBC)**

Lökositler, akyuvar ya da beyaz kan hücreleri olarak bilinen, vücutta savunmada görevli, pigmentleri bulunmadığından beyaz renkli görünen hareketli hücrelerdir. Fiziki yapıları oval bazen de elips şeklindedir. Büyüklükleri 10-33  $\mu$ 'dur (Çelikkale, 2003; Demir, 2006; Çevik vd., 2007). Lökositlerin balıklarda sayıları genellikle 1 mm<sup>3</sup> kanda 20.000 ile 150.000 adet arasında değişiklik göstermektedir (Timur, 2011).

Lökositler kırmızı kemik iliğinden üretilirler ve yapıları çekirdek ve sitoplazmadan meydana gelmiş haldedir (Timur, 2011). Lökositler, içerlerinde bulunan çekirdekler yapılarına göre granüler ve agranüler olmak üzere ikiye ayrılır. Agranüler lökositler lenfosit, monosit, trombosit olmak üzere üçe ayrılır. Balıklarda lökositlerin yarısını neredeyse trombositler oluşturur. Kanın pıhtılaşmasına yardımcı olurlar. Granülerler ise içerdikleri granüllerin boyanma yeteneğine göre nötrofil, asidofil (euzinofil) ve bazofil olmak üzere üçe ayrılır. Bazofiller balıklarda nadir görülürken nötrofiller sayıca en çok yere sahiptir. Granüler lökositler özellikleri itibariyle fagositik olup, hastalıklarla savaşmaya yarar ve bakterilerle enfekte hale gelip sayılarında artma meydana gelebilir (Demir, 1996). Lökositler, canlının herhangi bir ajana maruz kaldığında sekonder cevap olarak kullanılabilir (Vosyliene, 1999). Vücut stres ile karşılaştığında da lökositler sayıca artmakta, immun sistem zayıfladığında ise lökositler sayıca azalmaktadır (Zhiteneva vd.,1989; Palm vd., 1992).

### **1.7.1.2. Eritrosit (RBC)**

Balıklarda eritrositler, çekirdekli ve kırmızı renklidir. Kırmızı rengini içerisinde demir atomu bulunan hemoglobinden alır (Çelikkale, 2003). Hemoglobin ise kırmızı rengini globulin isimli proteinden alır. Eritrositler diğer canlılardan farklı olarak balıklarda oval biçimlidir ve

çekirdek içerirler (Demir, 2006; Koz vd., 2010; Timur, 2011). Balıklarda eritrositlerin en önemli görevleri kanın içerdiği hemoglobinin sayesinde solungaçlardan dokulara O<sub>2</sub> ve dokulardan solungaçlara CO<sub>2</sub> taşımalarıdır. Balıklarda memelilerden farklı olarak eritrositler çekirdeklerini kaybetmezler. Büyüklükleri de balıkların türüne göre değişir, genellikle 7-36 µ arasındadır (Çelikkale, 2003). Balıklarda eritrositler hacimce büyük olarak nitelendirilebilir. Beslenme yetersizliği ve anemi gibi durumlarda eritrosit sayısı azalırken dehidrasyon durumunda sayılarında artma gözlemlenebilir (Mayer, 1998). Lökositler gibi eritrositler de kirleticilere karşı metabolizmanın verdiği yanıt olarak kullanılabilir (Vosyliene, 1999).

### **1.7.1.3. Hemoglobin (HGB)**

Hemoglobin, oksijeni dokulara taşıma görevi görür. Aynı zamanda karbondioksiti taşıma ve kan PH'nı sabit tutma işlevine de sahiptir (Berkarda ve Eyüpoğlu, 1983). Kana kırmızı rengi veren hemoglobin, bir bileşimden meydana gelen ve demir içeren bir elementtir. Eritrositlerin sayısı hemoglobinin miktarını belirlerken hemoglobinin miktarı ise kanın oksijen taşıma kapasitesini belirler (Demir, 1996). Aynı zamanda anemi ve absorpsiyonun bozulması durumunda hemoglobinin miktarında azalma görülmektedir (Mayer, 1998).

Canlılar arasında en yüksek seviyede hemoglobin içeren canlı balıklardır. Hemoglobinin miktarı çevresel koşullara, yaşa, cinsiyete ve mevsimsel etkilere göre değişiklik göstermektedir. Özellikle balıklarda stres kaynaklı ve enfeksiyona bağlı olarak hemoglobinin miktarında düşme görülür (Karataş, 2010; Yılmaz, 2015). Hemoglobin solunum organında O<sub>2</sub> ile birleşerek oksihemoglobini oluşturur. Oksihemoglobin oksijeni dokulara ulaştığında ayrılır. Onun yerine CO<sub>2</sub> hemoglobin ile birleşerek karboksihemoglobini oluşturur. Bu da solunum organına taşınarak orada hemoglobinden ayrılır (Demir,2006; Timur, 2011).

### **1.7.1.4. Hematokrit (HCT)**

Eritrositlerin yüzde olarak ifade edilmesidir. Genellikle anemiyi kontrol altında tutmak için kullanılan bir değerdir (Murray vd., 1993; Çelik vd.,'den 2006). Dengesiz ve yetersiz beslenme ve anemi gibi durumlarda HCT oranında azalma görülür. Bununla ters orantı oluşturacak şekilde ise dehidrasyon durumunda değişiklik meydana gelir. Yaygın bir parametre olarak kullanılmaktadır. Stres vücutta HCT oranını arttırırken, HCT oranı kirleticilere ve yüzeysel zarar veren maddelere karşı organizmanın verdiği sekonder cevap niteliğindedir ve türler arası değişim gösterebilir (Vosyliene, 1999).

#### **1.7.1.5. Ortalama eritrosit hacmi (MCV)**

Kırmızı kan hücrelerinin çapını gösteren parametrelerdir. Kalp hareketlerinin ve kan akışının düzenli yol almasını sağlayan MCV, osmoregülasyon durumunu belirlemede kullanılır.  $MCV (\mu m^3) = HCT (\%) \times 10/RBC (10^6/mm^3)$  formülü ile hesaplanmaktadır (Kocabatmaz ve Ekingen, 1984; Atamanalp, 2000).

#### **1.7.1.6. Ortalama hemoglobin miktarı (MCH)**

Solunum fonksiyonun belirlenmesinde kullanılan en önemli belirteçtir. Ortalama hemoglobin miktarının belirlenmesinde şu formül kullanılır:

$MCH (\mu g/hücre) = [HGB (g/100ml) \times 10] / RBC (10^6/mm^3)$  (Kocabatmaz ve Ekingen, 1984).

MCH, balıklar arasındaki bazı farklılıkları ortaya çıkarmak için kullanılır. Su sıcaklığı, mevsimsel değişimler, cinsiyet ve beslenme durumu gibi etkenler MCH değerinin değişmesine yol açabilir (Çelik, 2006).

#### **1.7.1.7. Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC)**

Eritrositlerin içinde ne kadar hemoglobin olduğunu gösteren değerdir.

$MCHC (\%) = Hemoglobin (g / 100 cc) \times 100 / Hematokrit \text{ değeri (Eritrosit hacmi, \% cc)}$  formülüyle hesaplanır (Kocabatmaz ve Ekingen, 1984). MCHC değerinde artma azalma eğilimleri anemi, diyare, demir eksikliği, yetersiz beslenme ve su zehirlenmelerine göre değişebilir (Mayer, 1998). Balık türlerine göre MCHC değeri farklılık gösterebilir.

#### **1.7.1.8. Ortalama eritrosit dağılım genişliği (RDW)**

Eritrositlerin büyüklüğüne göre sayısal miktarını gösteren değerdir. RDW değeri demir eksikliğinin belirlenmesinde referans olarak kullanılmaktadır (Aydoğdu, 2002). RDW değerinin değişkenlik gösterdiği durumlarda bazı vücut fonksiyonlarında bozulma görülür. Değerin artmasıyla B12 eksikliği, folik asit eksikliği, demir eksikliği anemisi ve orak hücre anemisi, düşmesi ile de mikrositik anemi meydana gelmektedir.  $RDW = Eritrosit \text{ hacminin standart sapması} \times 100 / MCV$  denklemine göre hesaplanır (Yıldız, 2001).

#### **1.7.1.9. Trombosit (PLT)**

Kan pıhtılarının oluşumunda görev alan renksiz hücre parçalarına verilen isimdir. Kan pulcukları veya platet diye de adlandırılır. Ortalama çapları 1,5-3,0  $\mu m$  arasında değişiklik

göstermektedir. Kan pulcuklarının ortalama ömrü 9-10 gün arasındadır (Ferhanoğlu, 2005). Trombositlerin yenilenme ömrü ise yaklaşık 4 gündür. Başlıca karaciğer tarafından üretilen trombopoitein hormonu ile kan pulcuklarının yapımını uyarır ve tekrar çoğalmasına yardımcı olur (Ferhanoğlu, 2005). Bu kan pulcukları daha sonra dalak yardımıyla ayrıştırılır.

Kan hücrelerinin en küçük yapı birimi trombositlerdir. Trombosit sayısının artmasına trombositoz azalmasına da tromboponi adı verilir. Azalması durumunda kanama, artması durumunda ise tromboz riski ortaya çıkar. Plazma proteini olan fibrinojen, trombin tarafından fibrine dönüştürülür ve pıhtılaşma olayı gerçekleştirilir.

#### **1.7.1.10. Ortalama trombosit hacmi (MPV)**

MPV, trombositlere ait ortalama büyüklüğü gösteren değer olarak adlandırılır. Trombosit sayısının bazı referans alındığı değerler vardır. Bu değerlere göre MPV nin aldığı isim değişmektedir. Bunlar: Trombosit sayısının 150.000/ml altındaki trombosit sayısı için trombositopeni, 400.000/ml üstünde olan değeri içinse trombositoz adı verilmektedir (Aydoğdu, 2002). Kemik iliğinde megakaryositlerin farklı farklı ayrılması ile trombositler meydana gelmektedir (Kara, 2012).

#### **1.7.1.11. Trombosit dağılım genişliği (PDW)**

Kemik iliğinde üretilen trombositler kanın pıhtılaşmasına yardımcı olurlar. Birim yüzeye düşen trombositlerin dağılım genişliğini gösteren bir değerdir. Düşük trombosit seviyelerinde veya disfonksiyon durumunda trombositlerin büyük olması genç olduklarını gösterirken, küçük olmaları yaşlandıkları anlamına gelir (Kara, 2012).

#### **1.7.1.12. Platokrit (PCT)**

Trombositlerin toplam kan hacminin yüzde kaçına ait olduğunu ifade etmektedir (Kara, 2012). Canlı vücuduna nüfuz etmiş olan bakteriyel enfeksiyonlar PCT değerinin kontrolü ile bilinmektedir.  $PCT = PLT \times MPV$  formülü ile hesaplanır (Kara, 2012).

### **1.7.2. Çalışmada kullanılan biyokimyasal parametreler**

#### **1.7.2.1. Katalaz (CAT)**

Katalaz enzimi (hidrojen peroksit oksidoredüktaz, E.C.1.11.1.6) her molekülünde 4 tane ferriprotoporfirin bulunduran ve sitokrom sistemi içeren bütün aerobik hücrelerde bulunan kompleks bir hemoproteindir. Organizmaların, serbest radikallerin olumsuz etkilerinden kurtulabilmesi için oksidatif hasarı bertaraf eden güçlü bir antioksidan enzimdir (Kuru, 2007).

SOD aktivitesi sonucunda oluşan  $H_2O_2$  molekülünün indirgenerek  $H_2O$  ve  $O_2$  moleküllerine dönüşümlerini katalizler (Atabeyoğlu, 2011). CAT, peroksizomlarda lokalize olmakla birlikte mitokondri, endoplazmik retikulum ve sitozolde de bulunur. Aktivitesi dokudan dokuya değişmekle birlikte karaciğer, böbrek ve çizgili kas hücrelerinde yoğun aktiviteye sahiptir (David vd. 2008; Kuru 2007). CAT, kanser, diyabet, yaşlanma, katarakt, artrit, nörodejeneratif rahatsızlıklar gibi oksidatif hasar meydana getiren birçok durumda primer antioksidan olarak görev alır (Yılmaz ve Ozan, 2003). Bu açıdan, metabolizma için hayati öneme sahiptir. Zira eğer CAT vücutta  $H_2O_2$ 'yi parçalamazsa  $H_2O_2$  çok tehlikeli bir serbest radikal olarak davranır ve vücutta kalıcı hasarlara sebebiyet verir (Seriner, 2010).

### **1.7.2.2. Süperoksit dismutaz (SOD)**

Süperoksit dismutaz (SOD, E. C. 1. 15. 1. 1), ilk olarak 1968 yılında tanımlanan ve toksik etkiye sahip süperoksit anyonunun  $H_2O_2$  ve  $O_2$ 'ye dönüşümünü katalizleyen bir enzimdir (Tekkes, 2006). Bu reaksiyon oksidatif strese karşı ilk savunma sistemi olarak da adlandırılır (Borazan, 2004). Çünkü zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır ve süperoksit anyonunu kontrol altında tutar. Bu reaksiyonun SOD varlığındaki hızı, enzimsiz hızından 4000 kat daha fazladır (Murray vd., 1993; Borazan'dan 2004). SOD'nin bu reaksiyonunun ardından CAT devreye girer ve  $H_2O_2$ 'yi parçalar. Dolayısıyla SOD ve CAT birbirini tamamlayan enzimler denilebilir.

SOD, metabolizmada hemen hemen bütün hücrelerde bulunan bir metaloenzimdir. Sitoplazmada bulunan SOD  $Cu^{+2}$  ve  $Zn^{+2}$  içerirken mitokondride bulunan SOD  $Mn^{+2}$  içerir ve aerobik hücrelerde her tarafa yayılmıştır. Hücrede sitozolik SOD daha fazla bulunmaktadır. Sitozolik SOD ile mitokondriyal SOD arasında katalizlediği reaksiyon dışında herhangi bir ortaklık bulunmaz (Halliwell, 1989). SOD'nin fizyolojik olarak görevi oksijeni kullanan hücreleri süperoksit radikalinin zararlı etkilerine karşı korumaktır. Bu zararlı etkilerden biri de lipid peroksidasyondur. SOD, lipid peroksidasyonu inhibe eder. SOD, oksijen oranı yüksek olan hücrelerde yüksek aktivite gösterir. Dolayısıyla hücresel oksijen basıncı yüksek olan hücrelerde aktivitesi daha fazladır (Sağlam, 2011).

### **1.7.2.3. Karbonik anhidraz (CA)**

Karbonik anhidraz (karbonat hidrolizaz, E. C. 4. 2. 1. 1), aktif bölgesinde  $Zn^{+2}$  barındıran ve  $CO_2$  ve  $H_2O$ 'nun dönüşümlü hidrolizini katalizleyen bir metaloenzimdir. Katalizlediği reaksiyon;  $CO_2 + H_2O \leftrightarrow H^+ + HCO_3^-$  şeklindedir. CA enziminin, fotosentez, solunum, iyon dengesi, asit – baz dengesi, ozmoregülasyon gibi çok çeşitli fizyolojik görevler

aldığı bilinmektedir (Chegwidden ve Carter, 2000). Ayrıca CA, sadece CO<sub>2</sub>'nin hidratasyon reaksiyonunu katalizlemekle kalmaz, siyanatın karbamik aside, ürenin siyanamide hidratasyonlarını da katalizler (Supuran ve Scozzafava, 2000). Ozmoregülasyonda aktif görev alması CA enziminin balıklarda ayrıca bir öneme sahip olduğunun işaretidir. CA, solungaç epitelinde bol miktarda bulunur ve gaz değişimi, asit – baz dengesinin korunumu, ozmoregülasyon ve atık maddelerin uzaklaştırılması gibi görevler alır (Alım vd., 2014). Özellikle tatlı su balıklarında ise CA proton ve bikarbonat iyonları üretip salgılar ve böylelikle Na<sup>+</sup> ve Cl<sup>-</sup>'nin sudan alınmasını sağlarlar (Maetz ve Garcia Romeu, 1964; Testereci'den 1999).

#### **1.7.2.4. Malondialdehit (MDA)**

Çeşitli kimyasallara maruziyet sonucu ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin dokularda kendilerine hedef olarak seçtikleri en önemli yapılardan biri lipidlerdir. Bu serbest oksijen radikallerinin lipitlere verdiği en büyük zarar lipid peroksidasyonudur. Hücre zarında bulunan kolesterol ve çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest oksijen radikalleriyle kolayca bağ yapmaları sonucu oluşur. Kısaca çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu lipid peroksidasyon olarak bilinir ve hücrede oldukça zararlı ve geri dönüşümsüzdür (Akkuş, 1995; Kuru 2007; Sağlam 2011; Yarsan, 1998).

Lipid peroksidasyonu oluşturan reaksiyon, kendi kendini devam ettiren üç aşamadan meydana gelir. Başlama aşamasında membrandaki serbest oksijen radikali çoklu doymamış yağ asitlerinin metilen grubundaki H<sup>+</sup> iyonunu kendine bağlar. Bu durumda H<sup>+</sup> iyonu kopan yağ asidi radikal özellik kazanır ve moleküler O<sub>2</sub> ile tepkimeye girerek lipid peroksit radikalini oluşturur. Yayılma basamağında, peroksit radikalleri komşu yan zincirlerden H atomlarını çıkarabilir ve bu reaksiyonu zincire çevirebilir. Bu durumda, H atomlarının çıkarılması ile lipid hidroperoksitleri ve yeni bir peroksit radikalinin oluşumunu tetikler (Köylü, 2003; Kuru, 2007). Böylelikle, yağ asidi zincirleri lipid hidroperoksitlere dönüşerek reaksiyon kendi kendine katalizlenerek devam etmektedir. Lipid peroksidasyon demir ve bakır iyonları hem, hemoglobin, myoglobini de içeren bazı demir bileşikleri lipid hidroperoksitlerini bozarak peroksidasyonu sonlandırır (Köylü, 2003).

Bu lipid peroksidasyon mekanizması üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitleri ile gerçekleşirse sonucunda malondialdehit (MDA) oluşur. Bundan dolayı lipid peroksidasyon ile MDA oluşumu arasında yüksek bir korelasyon bulunur ve MDA lipid peroksidasyonunun iyi bir indikatörüdür. MDA, nükleik asitler ve proteinlerin amin grupları ile yüksek affinite göstermesi nedeniyle oldukça toksik bir karakterdedir. MDA, membran elemanlarının çarpaz bağlanarak membranın şekil değiştirmesine, iyon geçişi, enzim aktiviteleri gibi bazı özellikleri



değiştirmesine neden olur. Ayrıca, protein sentezini inhibe ettiği ve makrofaj hareketlerini durdurduğu da bilinmektedir. MDA'nın DNA molekülüne difüze olup azotlu organik bazları ile de tepkimeye girerek hücrede genotoksik ve karsinojenik özellikler meydana getirdiği ifade edilmektedir (Akkuş 1995; Kuru 2007).

### **1.7.3. Çalışmada kullanılan histopatolojik parametreler**

#### **1.7.3.1. Bcl-2**

Bcl-2 (B-cell lymphoma – 2) kaspaz bağımlı apoptoz mekanizmasını önleyen ve proapoptotik ve antiapoptotik üyeleri olan mitokondri dış zarında bulunan bir protein ailesidir (Arockiaraj vd., 2015). Bcl-2 proteinleri apoptoziste yanıt olarak yer alırlar. Bu proteinlerden bazıları (Bcl-2 ve Bcl-X<sub>L</sub>) antiapoptotik, bazıları da (Bad ve Bax) proapoptotiktir. Proapoptotik olan üyeler sitokrom c'nin mitokondriden sitoplazmaya çıkmasını sağlarken, antiapoptotik olanlar ise bu çıkışı inhibe ederler. Bcl-2 üyelerinin bu proapoptotik ve antiapoptotik karakterleri yapılarında bulunan hidrofobik cep ve amfipatik  $\alpha$  heliks yapılarına bağlıdır. Hücredeki pro ve antiapoptotik üyelerin dengesi, hücrenin yaşam dengesini oluşturur (Aktan, 2013). Sağlıklı bir hücrede Bcl-2 ailesinin üyeleri dengelidir. Ancak, metabolizma bir kirlilik faktörünün etkisinde kaldığında bu denge bozulur ve hücre apoptoza sürüklenir.

Bcl-2 ailesi içinde bu çalışmada kullanılan Bcl-2, bu protein ailesinin içinde antiapoptotik ve antioksidan özellik gösteren bir üyedir ve hücre içi membranların yapısında bulunur. Antioksidan özelliği ile lipid peroksidasyonun, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynaklı apoptozun önlenmesini sağlar ve hücrenin yaşam kaynağı olur. Bcl-2'nin bu özelliğinin mitokondri zarında bulunması sebebiyle serbest oksijen radikallerini oluşumunu azaltarak yaptığı düşünülmektedir (Steinman, 1995; Jang ve Surh, 2003). Bcl-2 mitokondri zarının yanısıra endoplazmik retikulum ve çekirdek zarında da yer alır. Mitokondrideki etkilerinin yanısıra çekirdek zarında bulunan Bcl-2'nin p53 geninin kontrol edilmesini, endoplazmik retikulumda bulunanın ise hücre içi Ca oranını düzenlediği bilinmektedir. Bcl-2, bazı virüsler, ısı şoku, UV ve serbest oksijen yapımını uyaran ajanlar ile oluşan hücre ölümünü engellemektedir (Aktan, 2013). Bcl-2'nin ekspresyon oranı hücrenin apoptoz olayıyla doğrudan ilgilidir. Ekspresyonun artması apoptozu önleyerek koruma görevi görürken çeşitli etkililerle ekspresyonun azalması hücrenin apoptoza girmesini kolaylaştırır.

#### **1.7.3.2. Kaspaz 3**

Kaspazlar (Caspase: Cysteine Aspartate Specific ProteASEs), hasarlı veya fazla olan hücrelerin çevrelerine zarar vermeden ortadan kaldırılmasını sağlayan programlı hücre ölümü

apoptozisi uyaran sistein proteazlardır. Temel görevleri DNA polimeraz enzimini inhibe ederek hücrenin apoptozise girmesini ve yok olmasını sağlamaktır (Aslan, 2011). Apoptotik olan kaspazlar başlatıcı ve efektör kaspazlar olarak iki gruba ayrılırlar. Başlatıcı kaspazlar, kaspaz 8 ve 9 iken efektör kaspazlar, kaspaz 1, 3, 4, 5, 6, 7 ve 11'dir. Efektör kaspazlar, apoptotik sinyal yolunu başlatan başlatıcı kaspazların uyarılmasıyla aktive olurlar (Miao vd., 2010; Ho ve Hawkins, 2005).

Efektör kaspazların içinde kaspaz-3, apoptotik hücre ölümüne neden olan önemli bir bileşendir. Kaspaz-3 ekspresyon düzeyinin artması, çevresel strese olan duyarlılığın artması ile birlikte hücrenin yoğun bir apoptozis sürecine girmesine neden olur. Literatürde verilen bilgiler ışığında balıklarda kaspaz 3 mekanizması memelilerde olan mekanizmayla oldukça benzerdir (Yabu vd., 2001). Apoptozis sürecince aktifleşen kaspaz-3, kaspazla aktifleşen deoksironükleaz inhibitörü inaktifleştirir ve DNA parçalanması gerçekleşir. Aynı zamanda aktif kaspaz-3 DNA'nın tamir mekanizmasını da inhibe eder. Böylelikle olayın geri dönüşümsüz olması sağlanır. Aktif kaspaz-3 apoptozun son aşamasında kaspaz 2 ve 6'yı aktif hale getirir ve sonuç olarak çekirdek zarı parçalanır, kromatinler sitoplazmaya dağılır ve apoptozis tamamlanmış olur (Demiray, 2015).

Kaspaz-3, birçok kemikli balık türünde tanımlanmış ve karakterize edilmiştir. Sucul ortamlarda birçok kirlenmeye maruz kalan balıklarda immun cevabın anlaşılması açısından bu durum önem taşımaktadır. *Dicentrarchus labrax*, *Danio rerio*, *Pseudosciaena crocea*, *Salmo salar* türlerinde yapılan çalışmalar bu türlerin immun sistem fonksiyonları hakkında bilgi verdiğini açığa çıkarmıştır (Reis vd., 2007; Yabu vd., 2001; Li vd., 2011; Takle vd., 2006).

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Literatürde doğal sularda siyanür miktarı, özellikle siyanür – balık etkileşimi hakkında yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır. Türkiye’de ve Dünya’da yapılan konu ile ilgili bazı çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

Güven vd. 2000 yılında Romanya’nın Baia kentinde altın çıkarmakta kullanılan bir madende meydana gelen problemin ardından 22 milyon galon KCN çözeltisinin Tuna Nehri’ne karıştığını bildirmişler ve bu olayın sonuçlarını araştırmak için bazı su kaynakları ve canlılarda siyanür miktarlarını araştırmışlardır. Siyanür miktarlarını Karadeniz’de 0,13 – 3,01; İğneada’da 0,11 – 0,34; Kilyos ve Rumeli Feneri’nde 0,25 – 1,56 ve İstanbul Boğazı’nda 0,09 – 1,74 µg/L konsantrasyonlarda olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca kalkan balığında Romanya kıyılarında 0,0052 µg/g, İğneada kıyılarında 0,032 µg/g; kefalde 0,0093 µg/g; tekirde 0,017 µg/g, lüferde 0,0072 µg/g olarak tespit edilmiştir (Güven vd., 2001).

Osobamiro (2012), Nijerya’da bir sigara fabrikasının atık sularında siyanür tespiti gerçekleştirmiştir. Atık sular, iyileştirme işlemi gerçekleştirilen ve gerçekleştirilmeyen olarak ayrılmıştır. İlgili çalışmada, herhangi bir iyileştirmeye tabi tutulmayan suda siyanür 0,641 mg/L, iyileştirilmeye tabi tutulan suda 0,443 mg/L, fabrika atıklarının yayıldığı fabrika yakınlarındaki gölde 0,319 mg/L, fabrikanın 1 km yakınındaki bir nehrin kaynağa yakın bölgelerinden alınan suda 0,184 mg/L ve aynı nehrin kaynağa uzak bölgelerinden alınan suda ise 0,403 mg/L konsantrasyonda bulunmuştur. Osobamiro, çalışmasında tespit ettiği siyanür seviyelerinin dünya sağlık örgütünün belirlediği kabul edilebilir seviyelerin üzerinde olduğunu bildirmişlerdir.

Özdemir ve Sırıken (2006), Afyonkarahisar bölgesinde 10 ilçeden 330 kuyu suyunda spektrofotometrik yöntem ile yaptıkları siyanür araştırmasında 259 örnekte siyanüre rastlamamışlardır. 60 örnekte 0,005 – 0,010 ppm ve 11 örnekte ise 0,011 – 0,020 ppm düzeylerinde siyanür bulunduğunu rapor etmişlerdir. Toplam istasyonların %3,33’ü Türk Gıda Kodeksi’nden belirtilen limit değerlerin üzerinde çıktığını bildirmişlerdir (Özdemir ve Sırıken, 2006).

Affonso vd. (2002), *Colossoma macropomum* türünün sülfür ve hipoksiye 12, 24, 48 ve 96 saat maruz kaldığında kan parametrelerindeki değişimi incelemişlerdir. Hipoksiye 12 saat maruz kalmanın HGB ve RBC değerlerini önemli ölçüde artırdığını rapor etmişlerdir. Buna rağmen, 96 saat boyunca sülfür ve hipoksiye maruz kalan balıklar ile kontrol grubu balıkların HGB, HCT ve RBC düzeylerinin daha düşük olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Hipoksemi

nedeniyle methemoglobin yapısının oluştuğunu gözledikleri çalışmalarında, sülfür maruziyetinden kaynaklanan sülfhemoglobin oluşmasını gözlememişlerdir. Sonuç olarak, aerobik organizmaların sülfür ve hipoksi maruziyetini 24 saatin ardından tolere edebileceğini belirtmişlerdir (Affonso vd., 2002).

Han vd. (2014), Japon pisi balığı (*Paralichthys olivaceus*)'nın diyetinde taurin ve glutamin aminoasitlerinin HGB ve HCT düzeylerine etkilerini incelemişler ve bu aminoasit içeren diyetlerin HGB ve HCT değerlerini önemli derecede değiştirmediklerini tespit etmişlerdir.

Kavitha vd. (2010), *Catla catla* türüne letal (43,78 mg/L) ve subletal (4,378 mg/L) düzeyde sodyum arsenat uygulamışlar ve bazı kan parametrelerinin değişimlerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda letal düzeyde sodyum arsenat maruziyeti ile HGB, HCT, RBC ve WBC düzeylerinin azaldığını, MCV, MCH ve MCHC düzeylerinin ise arttığını rapor etmişlerdir. Subletal maruziyet sonucunda HGB, HCT ve RBC düzeylerinin yine azaldığını, MCHC düzeyinin arttığını bildirmişlerdir. WBC, MCV ve MCH değerleri ise subletal deney süresince 20 – 25. günlere kadar arttığı, bu süreden sonra ise azaldığı belirtilmiştir.

Kubrak vd. (2013), *Carassius auratus* türüne 10 – 100 mg/L konsantrasyon aralıklarında 2, 4 diklorofenoksiasetat uygulamışlar ve HGB ile HCT değerlerinin bir miktar yükselse de bu konsantrasyonlarda kimyasaldan çok fazla etkilenmediğini tespit etmişlerdir. Aynı zamanda deney sonrasında iyileştirme sürecinde balıkların HGB ve HCT düzeylerinin kontrol grubu balıklar ile aynı düzeye geldiğini rapor etmişlerdir.

Luis Val vd. (2015), amazonda yaşayan bir balık türü *Prochilodus nigricans* türünün özellikle göç esnasında düşük oksijen konsantrasyonuna maruz kaldığını belirtmiştir. Bu durumun meydana getirdiği tahribatı öğrenebilmek için hipoksi ve tekrar iyileştirme durumlarında RBC, HGB ve HCT değerlerini incelemişlerdir. Deney sonucunda hipoksi durumunda RBC, HGB ve HCT düzeylerinin arttığını ve bu artışın HGB ve HCT düzeylerinde önemli olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Hipoksinin ardından uyguladıkları iyileştirme sürecinde balıkların kan değerlerinin normale dönmeye başladıklarını bildirmişlerdir.

Ngugi vd. (2015), *Labeo victorianus* türünün *Aeromonas hydrophila* ile enfekte durumunu *Urtica dioica* diyeti ile iyileştirmesinin etkilerini hematoloji parametrelerini inceleyerek araştırmışlardır. Çalışmada *U. dioica* diyeti ile RBC, WBC, HCT, MCH ve MCHC düzeylerinin bakteri ile enfekte olan balıklara göre arttığını bildirmişlerdir. Çalışma sonucunda *U. dioica* türünün *L. Victorianus* türünde immun sistemi iyileştirdiği ve *A. Hydrophila* bakterisine karşı daha dirençli olduğunu gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Velmurugan vd. (2016), yedi, on dört ve yirmi bir gün boyunca subletal düzeyde (0,015 – 0,030 – 0,045 mg/L) sipermetrine maruz bıraktıkları *Anabas testudineus* türünün bazı hematolojik parametrelerini incelemişlerdir. Deney sonucunda artan sipermetrin konsantrasyonuna bağlı olarak RBC, HGB, HCT ve PLT düzeylerinin düştüğünü tespit etmişlerdir. WBC sayısının ise yedinci günde arttığı, ancak diğer deney sürelerinde azaldığını rapor etmişlerdir. Çalışma sonunda *A. testudineus* türü için sipermetrin maruziyetinin etkilerini belirlemede hematoloji parametrelerinin iyi bir indikatör olduğunu bildirmişlerdir.

Yılayaz ve Bitmiş (2002), Keban Baraj Gölü'nden yakaladıkları *Barbus rajanorum mystaceus* türünün mevsimsel hematolojik indeksini belirlemeye çalışmışlardır. Çalışılan türde yaş, uzunluk ve ağırlık arttıkça kan parametrelerinde azalmalar görüldüğünü rapor etmişlerdir. Aynı zamanda erkek bireylerin RBC, HGB ve HCT değerlerinin dişilerden daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca RBC ve WBC değerleri en yüksek ilkbahar mevsiminde olduğunu bildirmişlerdir.

Sazan balıklarının akut (bir ve üç gün) siyanür intoksikasyonu durumunda oksidatif stres parametreleri gözlenen önceki çalışmamızda 0,5 mg/L konsantrasyonda CAT aktivitelerinin karaciğer ve beyin dokusunda azaldığı, kas ve solungaç dokusunda ise arttığı tespit edilmiştir (Kavasoglu vd., 2015). Aynı zamanda SOD aktivitesinin kas ve solungaç dokuda aktivitelerini önemli ölçüde artırdığı görülmüştür. MDA düzeylerinin ise kas dokuda azaldığı, ancak diğer dokularda genelde arttığı rapor edilmiştir.

David vd. (2008), sazan balıklarının fingerling boylarında sodyum siyanürün CAT enzimine olan etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada letal (1 mg/L) ve subletal (0,066 mg/L) konsantrasyonda sodyum siyanürün sazan balıklarının solungaç, kas, karaciğer ve beyin dokularında CAT aktivitelerini inhibe ettiğini ortaya koymuşlardır. Ayrıca, CAT aktivitesinin sodyum siyanür toksisitesini belirlemede önemli bir rol oynadığını da rapor etmişlerdir.

David ve Kartheek (2016), 0,1 mg/L konsantrasyonda sodyum siyanürün on ve yirmi günde sazan balıklarının karaciğer dokularında CAT ve SOD enzimlerine olan etkilerini incelemişlerdir. Deney sonucunda enzimlerin aktivitelerinde sodyum siyanür varlığı ile azalmalar olduğu bildirilmiştir. Bu durumu siyanürün oksidatif hasar oluşturması ile açıklamışlardır. Siyanür maruziyetinin ardından on dört günlük iyileştirme periyodunda ise balıkların enzim aktivitelerinde düzelmeler görüldüğü bildirilmiştir.

Shwetha ve Hosetti (2013), *Cirrhinus mrigala* türünde subletal düzeyde siyanürün SDH, LDH ve G6PDH enzimlerine olan etkilerini araştırmışlardır. Siyanürün karaciğer, beyin

ve solungaç dokularında SDH ve G6PDH aktivitelerini düşürdüğünü, LDH aktivitelerini ise artırdığını tespit etmişlerdir. LDH aktivitesindeki yükselmesinin metabolik bir rahatsızlığa ve enerjinin tükenmesine karşı bir tepki olarak geliştiğini düşünmüşlerdir. Siyanür intoksikasyonunun balık dehidrogenaz aktivitelerinde değişikliklere sebep olduğunu rapor etmişlerdir.

David vd. (2010), 0,5 mg/L konsantrasyonda yedi gün NaCN'ye maruz kalan sazan balıklarının LDH aktivitelerinin arttığı, SDH aktivitelerinin ise azaldığını bildirmişlerdir. Siyanür varlığında enzim aktivitelerindeki değişimin, siyanürün oksidatif metabolizmaya zarar verdiğinden ya da ciddi hücresel hasara sebep olduğundan kaynaklanabileceğini rapor etmişlerdir.

Dube vd. (2014), on beş gün sürede 0,253 ve 0,152 mg/L konsantrasyonlarda metal siyanür komplekslerinden CuCN'nin *Catla catla* türünde SDH, LDH, G6PDH, AST, ALT, AcP ve ALP enzimlerine olan etkilerini incelemişlerdir. Deneyde kullanılan balıkların karaciğer, kas ve solungaç dokularında CuCN varlığı ile LDH, G6PDH, ALT ve AST aktivitesinin arttığı, SDH, AcP ve ALP aktivitelerinin ise azaldığını bildirmişlerdir. Farklı konsantrasyonlarda metal siyanür komplekslerinin enzim aktivitelerinde çeşitli değişimler yapabileceğini rapor etmişlerdir.

Al-Ghanim ve Mahboob (2012), *Clarias gariepinus* türünde 0,75 mg/L konsantrasyonda NaCN'nin LDH ve SDH aktiviteleri, oksidatif metabolizma ile laktik ve pirüvik asit düzeylerine olan etkilerini incelemişlerdir. Çalışma sonunda balıkların solunum düzeylerinin düştüğü, LDH aktivitesinin yükseldiği ve SDH aktivitesinin de düştüğü tespit edilmiştir. Ayrıca, laktik asit seviyesinin arttığı ve pirüvik asit seviyesinin ise azaldığı bildirilmiştir. Bu durumu balık dokularında oksijensiz solunumun yapılmaya başlaması ile açıklamışlardır. Balıklardaki davranış değişikliklerini ise sitotoksik hipoksi durumuna bağlamışlardır.

Manjunatha vd. (2015), 0,1 ve 0,2 mg/L konsantrasyonlarda KCN bileşiğinin *Oreochromis niloticus* türünde toksik etkisinin biyokimyasal faktörlere olan etkilerini iki haftalık süreçte incelemişlerdir. KCN maruziyetinin AST ve LDH enzimleri ile kreatinin düzeylerini önemli ölçüde artırdığını bildirmişlerdir. Aynı zamanda 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıklarda da ALT, ALP ve glukoz seviyelerinin de kontrol grubuna göre artış gösterdiği tespit edilmiştir. GGT, trigliserit, kolesterol, total protein ve albümin seviyelerinin ise siyanür maruziyeti ile önemli ölçüde değişmediği rapor edilmiştir.

Hermenean vd. (2015), Tur Nehri'nin kaynağa yakın ve uzak bölgelerinden aldıkları su örneklerinde ağır metal analizi gerçekleştirmişler ve aynı bölgelerden yakaladıkları *Leuciscus cephalus* türü balıkların karaciğer ve böbrek dokularında ağır metallerin histopatolojik ve biyokimyasal parametrelere olan etkilerini araştırmışlardır. Kaynağa uzak bölgelerden örnekledikleri balıkların karaciğer dokularında Fe, Cu ve Pb metallerini, böbrek dokularında ise Zn ve Cd metallerini en yüksek seviyede tespit etmişlerdir. Metal biyoakümüasyonu ile dokuların histopatolojik harabiyetlerinin arttığını ve böbrek dokunun harabiyetinin karaciğerden daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Her iki dokuda MDA seviyelerinin kaynağa uzak olan bölgelerde yaşayan balıklarda daha yüksek olduğu, GSH aktivitesinin ise daha düşük olduğu bulunmuştur. SOD, CAT ve GST aktivitelerinin kaynağa uzak bölgelerde yaşayan balıkların karaciğerlerinde daha yüksek olduğunu bildirmişler ve bu durumun karaciğerin yüksek metabolik hız ve adaptasyon gücüne bağlamışlardır.

Zikic vd. (2002), *C. carpio* türünde hipoksi durumunun bazı hematolojik ve biyokimyasal parametrelere olan etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada hipoksi durumunda kanda glukoz, pirüvat ve ATP düzeyleri ile GSH-Px aktivitesinin azaldığı, lipid peroksidasyonun ve SOD, CAT, GST aktivitelerinin arttığı bildirilmiştir. Hematolojik ve biyokimyasal parametrelerdeki bu değişim ile hipoksinin oksidatif stres ve RBC deformasyonuna neden olduğunu rapor etmişlerdir.

Chebbi ve David (2011), *C. carpio* türüne 0,75 µg/L konsantrasyonda beş, on ve on beş gün süreler ile kinalfoz uygulamışlardır. Deneylede toksikasyon ve detoksifikasyon mekanizması güçlü olan karaciğer dokusu kullanılmıştır. Beş ve on gün süre ile devam eden deneylede serbest aminoasit, proteaz ve Ach düzeylerinin azaldığını, AchE aktivitesinin ise arttığını tespit etmişlerdir. On beş gün süre ile devam eden deneylede biyokimyasal parametrelerin kontrol grubuna yaklaştığı bildirilmiştir. On günlük sürenin ardından biyokimyasal parametrelerdeki düzelmeleri protein yapısındaki adaptasyon ve onarılma sürecinin başlaması ile gerçekleştiği şeklinde değerlendirmişlerdir.

Dube ve Hosetti (2011), letal (0,32 mg/L) ve subletal (0,064 mg/L) konsantrasyonda NaCN'nin *Labeo rohita* türünün ATPaz enzimine olan inhibisyon etkilerini incelemişlerdir. Letal konsantrasyonun bir, iki, üç ve dördüncü gününde; subletal konsantrasyonun ise beş, on ve on beşinci gününde solungaç, karaciğer ve kas dokularında meydana gelen değişiklikleri izlemişlerdir. NaCN'nin ATPaz enzimini önemli derecede inhibe ettiğini ve bunun sonucunda solungaç dokuda aktif taşıma sisteminin bloke olarak ozmoregülasyon düzeninin bozulduğunu

rapor etmişlerdir. Kimyasal varlığı ile ATPaz enziminin inhibe olması bu enzimin iyi bir biyolojik indikatör olduğunu ortaya koymuşlardır.

Dube vd. (2013), bir başka çalışmalarında 0,106 mg/L ve 0,064 mg/L konsantrasyonlarda NaCN'nin *Labeo rohita* türünün karbonhidrat metabolizmasına olan etkilerini araştırmışlardır. On beş gün süren çalışma sonunda kas, karaciğer ve solungaç dokularında glikojen, pirüvat, SDH, ALP ve AcP aktivite seviyelerinin azaldığını, bununla birlikte laktat, fosforilaz, LDH ve G6PDH aktivite seviyelerinin ise arttığını bulmuşlardır. Ancak karaciğer dokuda aktivite seviyelerinin kas ve solungaça göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Hosetti vd. (2011), 0,253 mg/L ve 0,152 mg/L konsantrasyonlarda CuCN bileşiğinin on beş gün süre ile *Catla catla* türünün çeşitli biyokimyasal parametrelere olan etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada siyanür maruziyeti ile kas, karaciğer ve solungaç dokularında protein, glikojen, amonyum ve pirüvat seviyelerinin azaldığı, serbest aminoasit, üre ve laktat seviyelerinin ise önemli derecede arttığı tespit edilmiştir. Ardından, hiçbir ölümün gözlenmediği deneyde siyanürü giderilmiş suda iyileştirme sürecine tabi tutulan balıklarda yedinci günün sonunda balıkların biyokimyasal parametrelerinin düzeldiği bildirilmiştir.

Prashant ve Neelagund (2007), *Cirrhinus mrigala* türünün nitrojen metabolizması üzerine letal ve subletal düzeyde serbest siyanürün etkilerini inceledikleri çalışmalarında serbest aminoasit düzeyi ve proteaz aktivitesinin arttığını gözlemlemişlerdir.

Hosetti ve Dube (2011), *Catla catla* türünün juvenil boylarında CuCN'nin akut toksisitesini incelemişlerdir. 96hLC<sub>50</sub> değerini 0,76 mg/L olarak bulmuşlardır. Aynı zamanda CuCN maruziyeti ile balıklarda anormal yüzme davranışları, denge kaybı, hızlı solungaç hareketleri ve hiperaktivite görüldüğünü rapor etmişlerdir. Solunum oranının %63 oranında etkilendiğini de bildirmişlerdir.

David vd. (2014), NaCN'nin *Labeo rohita* türünün oksijen tüketimi ve davranış durumları üzerine etkilerini incelemişlerdir. Türde NaCN'nin 96hLC<sub>50</sub> değerini 300 µg/L olarak tespit etmişlerdir. Letal düzeyde NaCN maruziyetinin düzensiz yüzmeye, hiperaktiviteye, denge kaybına, kas koordinasyonunda bozulmalara, titremelere ve dibe batmalara neden olduğunu rapor etmişlerdir. Birinci günün sonunda balıkların toplu hareket etme düzenlerinin tamamen kaybolduğu bildirilmiştir. Subletal konsantrasyonda ise letal konsantrasyona nazaran daha hafif belirtilerin olduğu, yem almada bozukluk, dipte hareket etme gibi stresle karakterize durumların tespit edildiğini bildirmişlerdir.



Dube ve Hosetti (2010), *Labeo rohita* türünün juvenil boylarında NaCN'nin LC<sub>50</sub> değerini 320 µg/L olarak tespit etmişlerdir. Ardından letal konsantrasyonun 1/3 ve 1/5 oranında subletal konsantrasyonlarında bir, beş, on ve on beş günde solunum bozuklukları ve davranış değişimlerini incelemişlerdir. Balıklarda NaCN maruziyeti ile yüzme bozuklukları, aşırı duyarlılık, denge kaybı ve dipte yüzme davranışları görülmüştür. Ayrıca, balıkların oksijen tüketiminin de siyanür ile birlikte azaldığı görülmüştür. Sodyum siyanürün subletal konsantrasyonlarının öldürücü olmasa da balıkta çeşitli problemler oluşturduğu rapor edilmiştir.

Shwetha vd. (2012), 0,114 mg/L ve 0,068 mg/L konsantrasyonlarda ZnCN'nin *Cirrhinus mrigala* türünün kas, karaciğer ve solungaç dokularında beş, on ve on beş gün sürede ATPaz enzimleri üzerine inhibisyon etkilerini incelemişlerdir. ZnCN bileşiğinin ATPaz enzimlerini önemli ölçüde etkilediği ve aktivitelerini düşürdüğünü bulmuşlardır. Siyanür konsantrasyonlarının artmasının inhibisyon etkilerini güçlendirdiğini rapor etmişlerdir.

Dube vd. (2012), 0,253 mg/L ve 0,152 mg/L konsantrasyonlarda CuCN'nin *Catla catla* türünün kas, karaciğer ve solungaç dokularında beş, on ve on beş gün sürede ATPaz enzimleri üzerine inhibisyon etkilerini incelemişlerdir. CuCN bileşiğinin ATPaz enzimlerini önemli ölçüde etkilediği ve aktivitelerini düşürdüğünü bulmuşlardır. Siyanür maruziyetinin ardından iyileştirme periyodunda ise yedinci günden itibaren balıkların enzim seviyelerinin normale döndüğünü vurgulamışlardır. Bu çalışma sonucunda siyanür komplekslerinin ATPaz enzimlerinin membran geçirgenliğini değiştirdiğini ve bu durumun aktif taşıma sisteminin bozulması ile sonuçlandığını rapor etmişlerdir.

Zhang vd. (2012), zebra balığında (*Danio rerio*) yapılan bir çalışmada izosiyanürün toksik etkisi incelenmiştir. Farklı konsantrasyonlarda izosiyanürün zebra balığında zayıf kan dolaşımına, hidrosefaliye, kan oluşumunda ve pigmentasyonda eksikliklere neden olduğunu literatürde zebra balığı için ilk kez bildirmişlerdir.

Manjunatha vd. (2014), 0,2 mg/L konsantrasyonda NaCN'nin on ve yirmi günde *Labeo rohita* türünün bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkilerini araştırmışlar ve deneyden sonra on dört gün boyunca balıkların iyileşme süreçlerini izlemişlerdir. Deney sonunda serbest amino asit düzeylerinin ve proteaz aktivitesinin siyanür maruziyeti ile yükseldiği, protein oranlarının ise düştüğü belirlenmiştir. İyileştirme sürecine alınan balıkların ise protein ve serbest aminoasit seviyelerinin, proteaz aktivitelerinin düzelmeye başladığı rapor edilmiştir.

Shwetha ve Hosetti (2009), *Cirrhinus mrigala* türünün oksijen tüketimi ve davranışları üzerine ZnCN'nin akut (24, 48, 72 ve 96 saat) etkilerini incelemişlerdir. ZnCN kompleksinin

96hLC<sub>50</sub> değerini 343 µg/L olarak tespit etmişlerdir. Çalışmada siyanür maruziyeti ile pasif sürüklenme, düzensiz yüzme davranışı, denge kaybı, aşırı duyarlılık, suda anlık spiral hareketler, dikey hareketler, ağız açık bir şekilde hızlı solungaç hareketleri ve nihayetinde dibe batma durumları görülmüştür.

Shwetha vd. (2012), *Cirrhinus mrigala* türünün kas, karaciğer ve solungaç dokularında bazı protein metabolitleri ve enzim aktiviteleri üzerine ZnCN'nin toksik etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada, protein seviyelerinin düştüğü, ancak serbest amino asit ve proteaz aktivitelerinin ise yükseldiği tespit edilmiştir. Benzer şekilde amonyum seviyesinin düşerken üre ve glutamin seviyelerinin yükseldiğini bildirmişlerdir. Proteaz ve aminotransferaz enzimlerinin aktivitelerinin arttığı da çalışmada bildirilmiştir. Çalışılan balıklarda iyileştirme periyodu uygulandığında kullanılan parametrelerin düzeldiği rapor edilmiştir.

Alım vd. (2014), orkinos balığının solungaçlarından izole ettikleri karbonik anhidraz enzimi üzerine bazı metallerin inhibisyon etkilerini in vitro olarak incelemişlerdir. Çalışmada kullanılan metallerin inhibisyon derecelerini  $Ag^+ > Cu^{2+} > Pb^{2+} > Zn^{2+} > Cd^{2+} > Co^{2+}$  olarak belirlemişlerdir. Dolayısıyla  $Ag^+$  metalinin iyi bir CA inhibitörü olduğu sonucuna ulaşmışlardır.

Ceyhun vd. (2010), *Oncorhynchus mykiss* türünün solungaçlarından izole ettikleri CA enzimi üzerine deltametrin, diazinon, propoksir ve sipermetrin gibi bazı pestisitlerin inhibisyon etkilerini in vitro ve in vivo incelemişlerdir. Dört pestisit in vitro koşullarda CA enzimini doza bağılı olarak inhibe ettiğini tespit etmişlerdir. IC50 değerlerini deltametride 0,137 µM, diazinonda 0,267 µM, propksirde 0,420 µM ve sipermetride 0,460 µM olarak bulmuşlardır. in vitro deneylerde pestisitlerin inhibisyon derecelerini deltametrin > diazinon > propoksir > sipermetrin şeklinde bildirmişlerdir. Yazarlar, deltametrinin in vivo etkilerini de çalışmışlar ve 0,25 µg/L, 1,0 µg/L ve 2,5 µg/L konsantrasyonlarda deltametrinin CA enzimini 24 ve 48 saatte önemli derecede inhibe ettiğini rapor etmişlerdir.

Cao vd. (2013), florürün *Cyprinus carpio* türünün karaciğer dokusu apoptozis düzeyleri, Bcl-2 ve Bax proteini ekspresyonları üzerine etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada florürün oksidatif stres meydana getirdiği ve SOD ve GSH enzimlerini inhibe ettiğini, MDA düzeylerini önemli ölçüde artırdığını tespit etmişlerdir. Karaciğer dokusu mikroskopik incelemelerinde florür maruziyeti ile hepatik kord yapılarında kaybolmalar, bölgesel nekrozlar ve hücrel yapıların bozulduğu görülmüştür. Ayrıca, florür ile apoptozis ve Bax ekspresyonu arasında pozitif, Bcl-2 ekspresyonu arasında negatif korelasyonlar elde edildiğini bildirmişlerdir. *C. carpio* türünün florür tolere edebildiğini, ancak 90 günün ardından toksik etkilerinin ortaya çıktığını rapor etmişlerdir.

Lakomiak vd. (2016), sekiz, yirmi dört ve kırk sekiz saat süre ile bir hepatotoksin ve tümör oluşturucu olan mikrosistin-LR'ye maruz bıraktıkları *Coregonus lavaretus* türünün karaciğer dokusunda miR-34a ve Bcl-2 ekspresyonlarını incelemişlerdir. Çalışma sonunda, miR-34a ekspresyonunun arttığı ve akabinde Bcl-2 ve Bax ekspresyonlarının da istatistiksel olarak önemli ölçüde arttığını tespit etmişlerdir. Ancak, miR-34a ve Bcl-2 ekspresyonları arasında herhangi bir korelasyon bulunmadığını bildirmişlerdir. Dolayısıyla mikrosistin-LR'nin hepatositlerdeki hücresel yanıtının hala araştırılması gerektiğini rapor etmişlerdir.

Morcillo vd. (2016), *Sparus aurata* ve *Dicentrarchus labrax* türünün baş-böbrek (head-kidney) ve kan lökositleri üzerine bazı metallerin in vitro etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada *D. labrax* türünün lökositlerinin metallere karşı *S. aurata* türüne göre daha dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde, böbrek lökositlerinin kan lökositlerine göre daha hassas olduğu da çalışmalarında sunulmuştur. Çalışma sonucunda, oksidatif stres, hücresel koruma ve stres durumundan koruyan genlerin *S. aurata* türünün böbrek lökositlerinde düştüğü, *S. aurata* türünün kan lökositlerinde ve *D. Labrax* türünün böbrek ve kan lökositlerinde yükselme eğiliminde olduğu bildirilmiştir. Bu durumun apoptotik Bcl-2 bağımlı x geni ve kaspaz-3 ekspresyonlarının artmasına neden olduğu da çalışmalarında sunulmuştur.

Vidal vd. (2008), *C. carpio* türünde apoptoz bağımlı anahtar genlerin cDNA'sını karakterize etmiştir. Toksikoloji deneylerinde immun yanıtın daha iyi tespit edilebilmesi adına, bu çalışmada da kullanılan Bcl-2 geninin karakterizasyonunu gerçekleştirmişlerdir.

Yuan vd. (2016), *Ictalurus punctatus* türünün Bcl-2 gen ailesinin bakteriyel enfeksiyon ve hipoksi stres durumunun ardından ekspresyonlarını tespit etmişlerdir. Yazarlar çalışmada *Ictalurus punctatus* genomunda 34 adet Bcl-2 geni tanımlamışlardır. Genel olarak, Bcl-2 genlerinin bakteri enfeksiyonu ve hipoksi durumunda ekspresyon oranlarının azaldığını ve apoptozisi azaltarak stres durumuna karşı koymaya çalıştıklarını belirtmişlerdir.

Elvitigala vd. (2012), *Oplegnathus fasciatus* türünde kaspaz-3'ün genomik karakterizasyonunu ve bakteriyel ve viral enfeksiyonlara karşı transkripsiyon profilini incelemiştir. Çalışmada lipopolisakkaritlere maruz kalan balıkların kaspaz-3 ekspresyonlarının artışı uzamış, *Edwardsiella tarda* bakterisine maruz kalan balıklarda ise hızlanmıştır. Çalışmada kaspaz-3 ekspresyonlarının immün yanıtın belirlenmesinde kullanılabilir iyi bir indikatör olduğunu rapor etmişlerdir.

Jiang vd. (2015), *C. carpio* var. Jian türünü 0,6 mg/L konsantrasyonda Cu'ya maruz bırakarak antioksidan sistem ve kaspaz-3 ekspresyonları üzerine olan etkilerini 96 saat sonunda

incelemişlerdir. Ayrıca, myo-inositol ile iyileştirme periyoduna da tabi tutarak metabolik değişimleri kaydetmişlerdir. Deneyde kullanılan balıkların yenilebilir kısımları olan kas dokuda Cu maruziyeti ile kaspaz-3 ekspresyonlarının önemli ölçüde artış gösterdiğini ve bu durumun apoptozisi de artırdığını bildirmişlerdir. Myo-inositol ile muamele ettikleri balıklarda ise kaspaz-3 ekspresyonlarının kontrol grubuna yakın bir seviyeye geldiğini tespit etmişlerdir. Çalışmada Cu'nun SOD ve GPx enzimlerini de inhibe ettiğini rapor etmişlerdir.

Kumaresan vd. (2016), *Channa striatus* türünde kaspaz ailesini tanımlamış ve bu enzim ailesinin bakteriyel ve fungal tehditlere karşı ekspresyon oranlarını incelemişlerdir. En yüksek kaspaz-3 ekspresyonunu dalakta tespit etmişler ve bakteriyel ve fungal tehdit durumlarında özellikle yirmi dört saatte ekspresyonun yükseldiğini rapor etmişlerdir.

Ren vd. (2014), *Miichthys miiuy* türünün kaspaz 1, 3 ve 9 türlerinin genetik karakterizasyonunu ve *Vibrio anguillarum* bakterisine karşı bu proteinlerin immun yanıtlarını incelemişlerdir. Çalışmada *V. anguillarum* bakterisi ile enfekte olan balıkların kaspaz-3 ekspresyonlarının karaciğer, dalak ve böbrek dokularında 6 ila 72 saatlik zaman aralıklarında zamana bağlı şekilde artış gösterdiğini bildirmişlerdir.

### 3. MATERYAL METOD

#### 3.1. Su Örneklerinin Toplanması ve Su Analizi

Yapılan bu çalışmanın ilk aşamasında Kütahya ili çevresinde 158 istasyondan alınan su örneklerinde siyanür analizleri yapılmıştır. İstasyonlar belirlenirken Kütahya İli Maden Haritasından yararlanılmış ve riskli bölgelere ağırlık verilmiştir (Çizelge 4.1). Su numunesi alınacak kaplar numaralandırılmış; su numuneleri ısı yalıtımlı kaplarda buz kalıpları ile soğutularak laboratuvara getirilmiştir. Su örnekleri "Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği, Numune Alma ve Analiz Metodları Tebliği"ne göre alınmıştır. Siyanür ölçümleri Hach-Lange marka DR890 model spektrofotometre cihazı ile kolorimetrik olarak yapılmıştır. Siyanür ölçüm prosedürü aşağıda verilmiştir.

- Öncelikle iki adet 10 ml'lik cam küvetlerin birine saf su diğerine numune konulmuştur.
- Amonyum salisilat reaktifi her iki hücreye eklenip karıştırılmış ve üç dakika reaksiyon süresi beklenmiştir.
- Ardından amonyum siyanürat reaktifi eklenmiş ve otuz dakika reaksiyon süresi beklenmiştir.
- Reaksiyon süresinin ardından saf su konulan hücre cihaza konulmuş ve sıfırlanmıştır.
- Numune hücresi cihaza konmuş ve ölçümü gerçekleştirilmiştir. Elde edilen verilerle Çizelge 4.1 oluşturulmuştur.

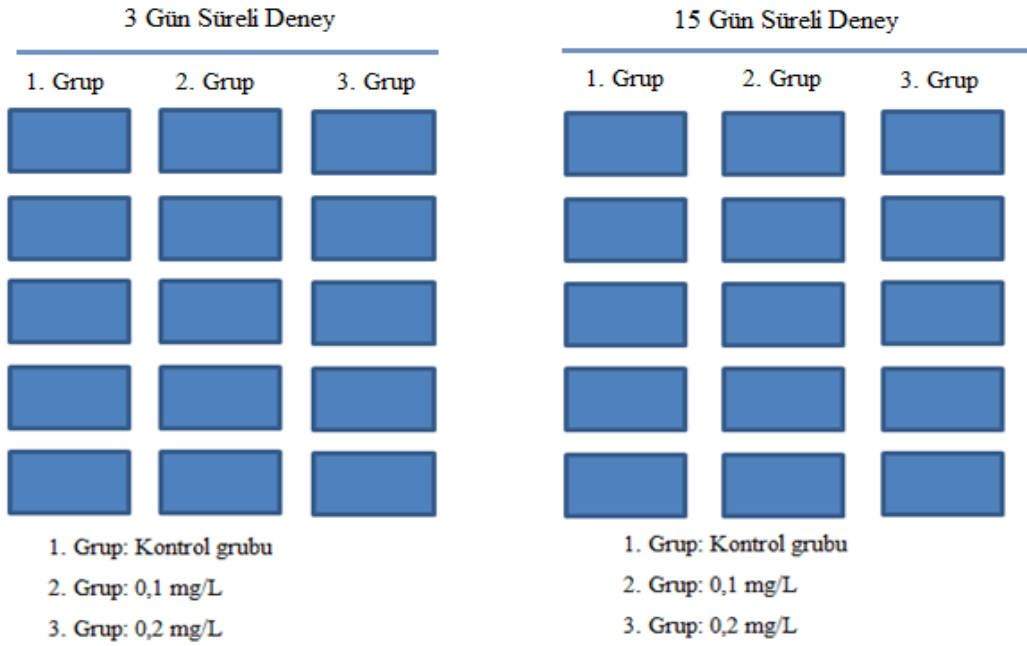
#### 3.2. Balık Biyodeneyleleri

##### 3.2.1. Deney akvaryumlarının hazırlanması

Bu çalışmada 30x40x60 ebatlarında 4 akvaryumdan oluşan sump sistemleri kullanılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Deneylerde kullanılan akvaryumlar.



Şekil 3.2. Deney düzeni.

Sistemin en altında bulunan akvaryum temizleme tankı olarak belirlenmiş ve bu akvaryuma balık konulmamıştır. Alt akvaryumlara Submersible Pump 7200 marka motor kurulmuş ve suyun sistem içerisinde sirkülasyonu sağlanmıştır. Bu sisteme göre en alt akvaryumdan motor suyu en üst kattaki akvaryuma çıkarmakta, buradan sirkülasyon halinde

tüm akvaryumlardan dökülerek tekrar yine en alt akvaryuma gelmektedir. Böylece su kalitesi homojen akvaryumlar elde edilmiştir. Alt akvaryuma yerleştirilen elyaf malzeme ile organik atıklar tutulmuştur. Aynı zamanda sudaki mikroorganizmaların temizlenmesi amacıyla da günlük 2 saat Jebo UV-H11 marka AC220V, 50Hz özelliklere sahip ultraviyole lambası çalıştırılmıştır. Akvaryumlardaki suların sıcaklıkları 22°C'ye ayarlanmıştır. Suyun oksijenlenmesini sağlamak için her akvaryuma hava taşı bağlanmış ve akvaryum sularının oksijen içeriği 6 mg/L nin altına düşürülmemiştir. Akvaryum bakımları düzenli olarak takip edilmiştir. Aynı zamanda akvaryum sisteminin bulunduğu oda 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık tutulmuştur.

### 3.2.2. Balık beslenmesi ve anestezi

Bu çalışmada doğal sularda bol miktarda bulunan ve insanlar tarafından sıklıkla besin olarak da tüketilen sazan balığı (*Cyprinus carpio*) türü kullanılmıştır. Balıklar Dumlupınar Üniversitesi Göleti'nden pinter kullanılarak yakalanmıştır. Yakalanmalarının hemen ardından balıklar Dumlupınar Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Akvaryum Ünitesi'ne yerleştirilmiş ve on beş gün boyunca alıştırma sürecine tabi tutulmuştur.

Alıştırma sürecinin tamamlanmasının ardından balıkların boy ve ağırlık ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Boy ve ağırlıkları ölçülen balıklar her akvaryuma 4 adet olacak şekilde rastgele yerleştirilmiştir. Her bir sistem 4 akvaryumdan oluştuğu için her grupta 16 adet balık kullanılmıştır. Balıklar canlı ağırlığın %1'i oranında ticari yem ile beslenmiştir. Tetra discus marka bu yem %47.5 ham protein ve %6.5 yağ içermektedir. 16 adet balık kontrol grubu olarak belirlenmiş ve bu akvaryumlara herhangi bir kimyasal ilave edilmemiştir. Deney grupları oluşturulurken arazi çalışmasında elde edilen en yüksek siyanür konsantrasyonu (0,1 mg/L) ve doğada olası artma ihtimaline karşı bu konsantrasyonun iki katı (0,2 mg/L) konsantrasyon belirlenmiştir. Siyanür kaynağı olarak sodyum siyanür (NaCN) kullanılmıştır. Deney 3 gün ve 15 gün devam etmiştir. Her bir sistem 4 akvaryum ve 1 temizleme tankı olmak üzere 5 akvaryumdan oluşmuştur. Her sistemde toplamda 328.8 L su bulunmaktadır. 0,1 mg/L siyanür içerecek şekilde olması için mol ağırlığı 49 g olan sodyum siyanürden 0.06 g alınmış ve distile su içerisinde çözdürülmüştür. Ardından akvaryum sistemine azar azar eklenmiştir. 0,2 mg/L konsantrasyon için 0.12 g sodyum siyanür aynı şekilde distile suda çözdürülmüş ve deney akvaryumlarına eklenmiştir. Akvaryumlardaki su kalitesi balık sağlığını olumsuz etkilemeyecek seviyede tutulmuştur (Lloyd, 1992). Su kalitesinin istenen seviyede tutulması su değişimleri ile sağlanmıştır. Akvaryumlardaki balık davranışları sürekli kontrol edilmiştir. Deney boyunca hiç balık ölmemiştir.

Deney sonunda balıklar akvaryumlardan alınmış ve anestezi havuzuna aktarılmıştır. Anestezik madde olarak karanfil yağı kullanılmıştır. Karanfil yağı diğer kimyasal anesteziyelere göre hem daha sağlıklı hem de anestezi etkisi yüksektir (Han vd., 2016). Sazan balıkları için önerilen düzeyde karanfil yağı içeren anestezi suyu hazırlamak için 600 mg/L konsantrasyon belirlenmiştir. Karanfil yağı suda çözünmediğinden 1/1 oranında etil alkol içerisinde çözdürülerek suya eklenmiştir. Anestezi için 10 L'lik tank kullanılmıştır. 6 ml karanfil yağı 6 ml etil alkol içerisinde çözdürülerek 10 L suya eklenmiştir (Otay vd., 2014). Anestezi edilen balıkların boy ve ağırlık ölçümleri yapılmıştır.

15 gün süren deney sonunda akvaryumlardaki balıkların oransal boy ve ağırlık artışları aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır (Ricker, 1975).

$$\text{Oransal Boy Artışı} = ((L2-L1)/L1) \times 100 \quad L1 = \text{İlk boy (cm)}, L2 = \text{Son boy (cm)}$$

$$\text{Oransal Ağırlık Artışı} = ((W2-W1)/W1) \times 100 \quad W1 = \text{İlk ağırlık (g)}, W2 = \text{Son ağırlık (g)}$$

### **3.2.3. Hematolojik analizler**

Anesteziden alınan balıklar diseksiyon tahtası üzerine alınarak kan örnekleri kaudal pedinkülün kesilmesi ile dorsal aortadan alınmıştır. Kan örnekleri 500 µL hacminde EDTA'lı vacutainerlara alınmıştır. EDTA, antikoagülan özelliği gösterip kanın pıhtılaşmasını engellemektedir. Balık kanında eritrositlerin çekirdekli olmaları ve balık kanının hızlı pıhtılaşma özelliği göz önünde bulundurularak her bir balığın kan numunesi örneklemenin hemen ardından ölçülmüştür. Kan örneklerinin ölçümünde Mindray BC2800 vet marka otomatik tam kan sayım cihazı kullanılmıştır.

### **3.2.4. Biyokimyasal analizler**

#### **3.2.4.1. Doku hazırlama**

Karanfil yağı ile anestezi edilen balıklar diseksiyon edilmiş ve kas, karaciğer, beyin, bağırsak, solungaç ve deri dokuları alınmıştır. Dokular fizyolojik su ile yıkanmış ve analizleri yapıncaya kadar -80°C'de bekletilmiştir. Biyokimyasal analizlere başlamadan önce, kas dokusu, 1/5 (ağırlık/hacim), diğer dokular ise 1/7 (ağırlık/hacim) oranında 50 µM, pH = 7,4 soğutulmuş sodyum-fosfat tamponunda Heidolph marka homojenizatör ile 8000 rpm'de 2 dakika homojenize edilmiştir. Diseksiyon işleminde kas doku miktarı diğer dokulardan daha fazla elde edilmiştir. Bu yüzden fosfat tamponu kas dokuda farklı, diğer dokularda farklı oranda homojenize edilmiştir. Analizler sonrasında hesaplamada seyreltme katsayısı ile çarpıldığından dolayı bu fark giderilmektedir. Isınma nedeniyle meydana gelebilecek enzim aktivite kaybını



önlemek için örnekler buz içerisinde homojenizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Homojenatlar +4 °C’de 9500 rpm’de 30 dakika Sigma marka santrifüj cihazı ile santrifüj edilmiş ve elde edilen süpernatant katalaz, süperoksit dismutaz, karbonik anhidraz enzimleri ile malondialdehit düzeyleri ve protein miktarlarının belirlenmesinde kullanılmıştır.

### **3.2.4.2. Katalaz aktivite tayini**

Katalaz (CAT), hidrojen peroksiti su ve moleküler oksijene dönüştüren reaksiyonu gerçekleştirir. Katalaz aktivitesi Aebi (1974)’nin belirlediği yönteme göre yapılmıştır. Bu yönteme göre hidrojen peroksitin 240 nm dalga boyunda gösterdiği absorpsiyon değerinin CAT enzimi varlığında bir dakika süre içerisinde azalma göstermesi ve bu azalmanın spektrofotometrik olarak izlenmesi temeline dayanır.

CAT analizi, Çizelge 3.1.’de belirtilen sıra takip edilerek yapılmıştır.

**Çizelge 3.1.** CAT aktivitesi ölçüm prosedürü.

	Kör	Deney
Fosfat tamponu	0,01 ml	-
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> çözeltisi	3,00ml	3,00ml
Numune	-	0,01 ml

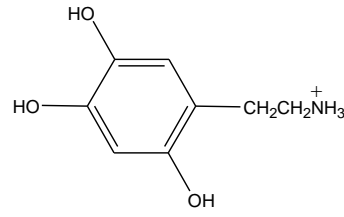
Spesifik katal aktivite hesabı:

$$\text{S.K./ Protein derişimi} = [(\Delta A_D / t \text{ dakika}) \times (1 / (\epsilon \text{ H}_2\text{O}_2)) \times (1 / \epsilon) \times (V_T / V_N) \times (1000 \mu\text{l} / 10 \mu\text{l})] \times$$

$\Delta A_D$ : Absorbans değışimi,  $\epsilon \text{ H}_2\text{O}_2$  ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ’in molar absorpsiyon katsayısı) =  $40,98 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ,  $V_T$ : Total hacim,  $V_N$ : Numune hacmi, S. K. : Seyreltme katsayısı

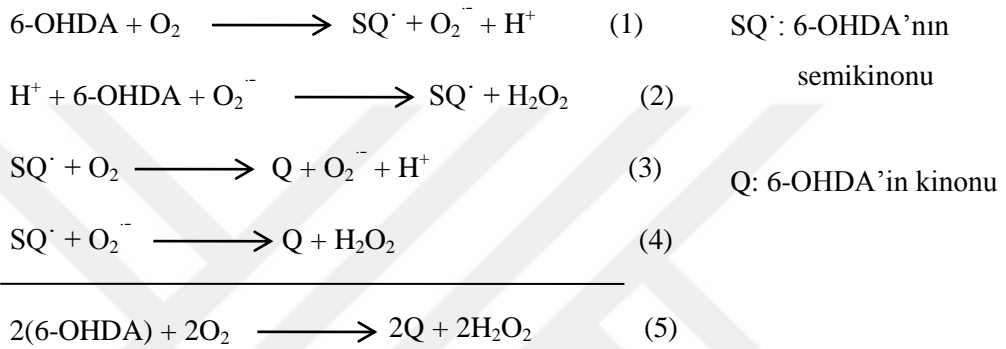
### **3.2.4.3. Süperoksit dismutaz aktivite tayini**

SOD aktivitesinin ölçülmesinde 6-hidroksi dopaminin otooksidasyonuna SOD enziminin etkisinin spektrofotometrik olarak izlenmesi esasına dayanır. (Aydemir ve Tarhan, 2001; Crosti, 1987; Heikkila ve Cabbat, 1976; Tarhan ve Tüzmen, 2000). SOD aktivitesi 490 nm’de oksidasyonunun 60. saniyesine kadar yapılır ve 1 enzim ünitesi, 6-OHDA’nın otooksidasyon başlangıç hızını %50 oranında azaltan enzim miktarı olarak kabul edilir.



6-Hidroksidopamin

6-OHDA'nın otooksidasyon reaksiyonu aşağıdaki şekildedir.



6-OHDA ile oksijen arasında yukarıdaki şekilde bir yükseltgenme-indirgenme (redoks) reaksiyonu olur. Bu reaksiyon sonucunda, 6-OHDA'nın semikinonu, süperoksit anyonu ve proton meydana gelir (Bandy ve Davison, 1987). Bu reaksiyonun ürünlerinden süperoksit anyonu ve proton, 6-OHDA ile reaksiyona girerek semikinon (6-OHDA'nın yükseltgenmesi ile oluşur) ve hidrojen peroksit (süperoksitin indirgenmesi ile oluşur) oluşumuna sebep olurlar (Tchounwou vd., 2003). Daha sonra semikinon da oksijen ile reaksiyona girerek kinona yükseltgenir ve oksijen süperoksit anyonuna indirgenir (Mazumder vd., 1992). Bu esnada oluşan süperoksit, semikinonları kinona yükseltgerken hidrojen peroksite indirgenir. Reaksiyonlardan da görüleceği gibi 6-OHDA'nın oksijen ile yükseltgenmesi sırasında oluşan süperoksit anyonu (1 ve 3) yükseltgenme olayının devamına katkıda bulunmakta (2 ve 4) ve böylece reaksiyonu hızlandırmaktadır. Reaksiyon ortamında SOD mevcut olması durumunda süperoksit anyonu uzaklaştırılacağı için, süperoksitten gelen reaksiyon hızına etki ortadan kalkacak ve reaksiyon hızı azalacaktır. Bu azalma oranının, reaksiyonda oluşan oksidasyon ürünlerinin 490 nm'de absorban vermeleri nedeni ile takip edilebilmekte ve E.Ü. tanımlanabilmektedir.

**Çizelge 3.2.** SOD aktivitesi ölçüm prosedürü.

	Kör	Deney
0,05 M fosfat tamponu (pH 7,4)	740 µl	690 µl
Numune	-	50 µl
0,01 M 6-OHDA çözeltisi ilavesi	10 µl	10 µl

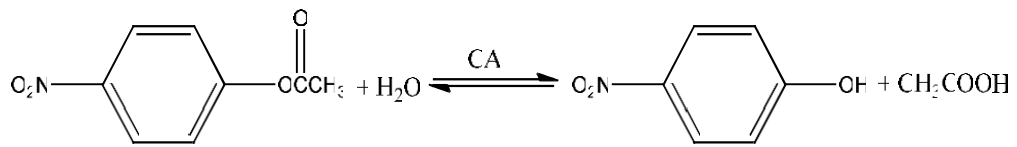
Spesifik SOD aktivitesi hesaplama

$E.Ü./mg \text{ protein} = [(A_K - A_N) / A_K / 2] \times S. K. \times (V_T - V_N) \times (3 \text{ ml} / V_N) / \text{Protein derişimi}$

E.Ü.: Enzim Ünitesi,  $A_K$ : Kör absorbansı,  $A_N$ : Numune absorbansı, S. K. : Seyreltme katsayısı,  $V_T$  : Total hacim,  $V_N$  : Numune hacmi

#### **3.2.4.4. Karbonik anhidraz aktivite tayini**

Bu yöntem, CA enziminin ester bileşenleri hidrolizleme yeteneğine sahip olması prensibine dayanır. CA, p- nitrofenil asetatı, p-nitrofenol veya p-nitrofenolat'a hidroliz etmektedir. Bu ürünler ise spektrofotometrik olarak 348 nm dalga boyunda absorbans göstermektedir.



348 nm'de p-nitrofenol ve p-nitrofenolat'ın her ikisi de aynı absorbansı göstermektedir.

Bu yüzden fenol grubundaki  $\text{H}^+$  iyonunun ayrışıp ayrışmaması ölçümü etkilememektedir (Armstrong vd., 1966; Kandel vd., 1970). CA aktivite tayini aşağıdaki tabloda belirtilen sıra takip edilerek gerçekleştirilmiştir.

**Çizelge 3.3.** CA aktivitesi ölçüm prosedürü.

	Kör	Deney
0,05 M TRIS tamponu (pH 7,4)	1,3 mL	1,3 mL
Numune	-	0,1 mL
Substrat	1 mL	1 mL
Saf su	0,7 mL	0,6 mL

Spesifik CA aktivitesi hesaplama:

$$E.Ü./mg \text{ protein} = (A_{\text{son}} - A_{\text{ilk}} - A_{\text{kör}}) / 5 \times S.K. / \text{Protein Derişimi}$$

$A_{\text{son}}$ : Son absorbands,  $A_{\text{ilk}}$ : İlk absorbands,  $A_{\text{kör}}$ : Kör absorbandsı, S.K.: Seyreltme katsayısı

CA enziminin aktivitesi sonucu oluşan p-nitrofenol ve p-nitrofenolatın molar absorpsiyon katsayısı ( $\epsilon$ ):  $5,4 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , substrat olarak kullanılan p-nitrofenil asetatın molar absorpsiyon katsayısı ise ( $\epsilon$ ):  $0,4 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 'dir. Formülde kullanılan 348 nm dalga boyunda bulunan absorpsiyon farkının 5'e bölümü p-nitrofenol ve p-nitrofenolatın iyon konsantrasyonlarını vermektedir.

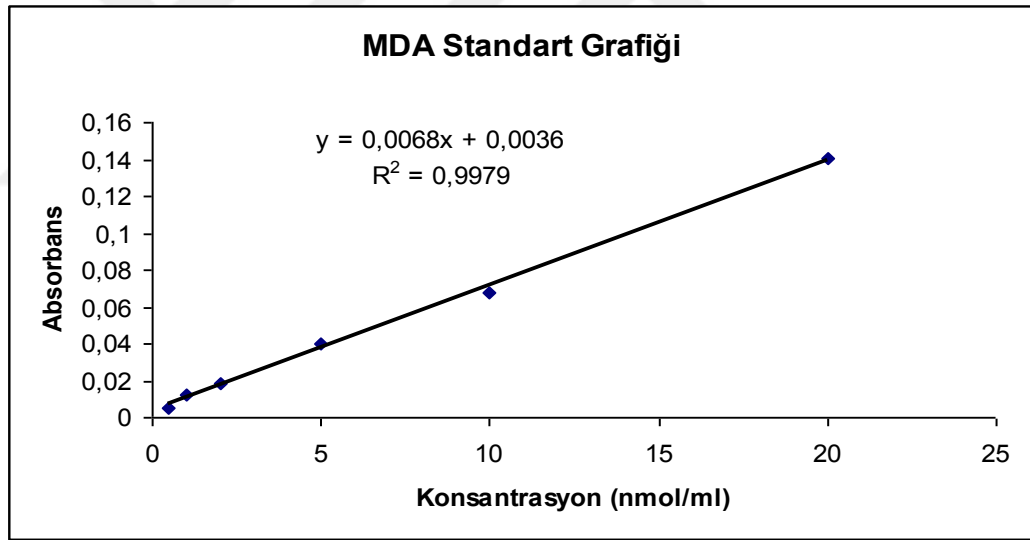
#### **3.2.4.5. Malondialdehit tayini**

Yağ asitlerinin serbest radikaller ile reaksiyonu sonucu lipid peroksidasyonu oluşur. Malondialdehit (MDA), lipid peroksidasyon ürünüdür ve tiyobarbütirik asit (TBA) ile renk içeren bir reaksiyon gösterir. MDA'nın TBA ile olan reaksiyonu spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda okutulur (Draper ve Hadley, 1990). MDA ölçümü aşağıdaki çizelgede verilen sıra takip edilerek gerçekleştirilmiştir.

**Çizelge 3.4.** MDA düzeyi ölçüm prosedürü.

	Kör	Deney
% 10'luk TCA	2.5 ml	2.5 ml
Plazma	-	0.5 ml
Distile su	0.5 ml	-
90°C su banyosunda 15 dakika bekletildi. 15 dakika buz içerisinde bekletildi.		
Süpernatant	2 ml	2 ml
% 0.675'lik TBA	1 ml	1 ml
90°C su banyosunda 15 dakika bekletildi. 15 dakika buz içerisinde bekletildi.		

Elde edilen sonuçlara göre konsantrasyon – absorban grafik elde edildi. Numunelerin konsantrasyon değerleri aşağıdaki grafik göz önünde bulundurularak hesaplandı.

**Şekil 3.3.** MDA standart grafiği.

#### **3.2.4.6. Total protein tayini**

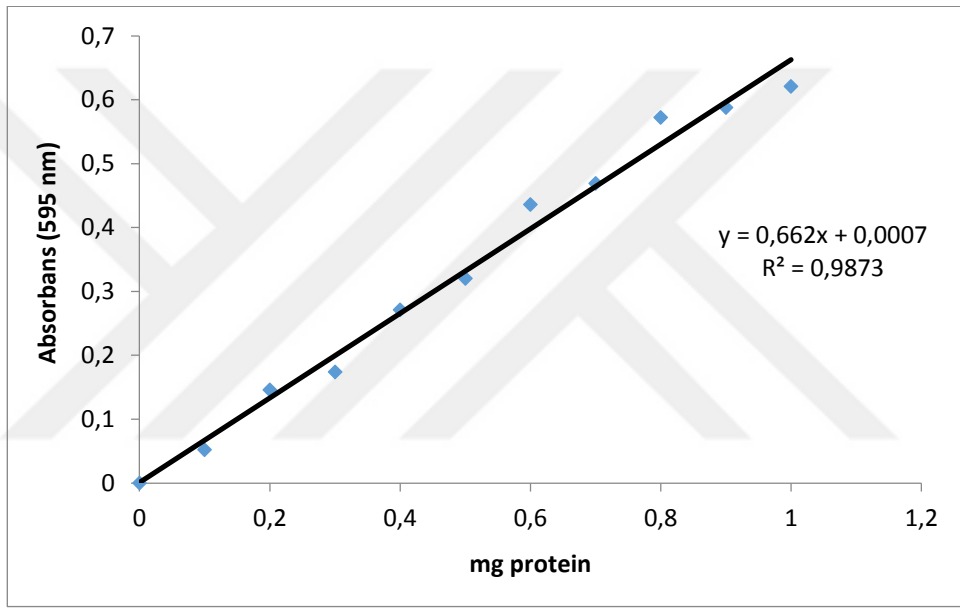
Coomassie brilliant blue G – 250 fosforik asitli ortamda proteinlere bağlanır. Bu kompleksin 595 nm dalga boyunda okunması esasına dayanan Bradford yöntemi ile dokularda protein tayini gerçekleştirilmiştir (Bradford, 1976).

Protein tayininde öncelikle 1 mL'sinde 1 mg protein bulunduran sığır serum albümin kullanılarak standart grafik elde edilmiştir (Şekil 3.3). Hesaplama, standart grafiğinden numunelerin konsantrasyonları belirlenmiştir. Dokuda protein tayini için aşağıdaki tabloda

belirtilen sırada işlemler uygulanmış ve 10 dk'lık bekleme süresinin ardından 595 nm dalga boyunda absorbansları ölçülmüştür.

**Çizelge 3.5.** Protein miktarı ölçüm prosedürü.

	Kör	Deney
Protein boyası	5 mL	5 mL
Numune	-	0,1 mL
Saf su	0,1 mL	-



**Şekil 3.4.** Protein standart grafiği.

### 3.2.5. Histopatolojik analizler

Balıklardan diseke edilen karaciğer, solungaç ve deri dokuları mikroskopik inceleme için ilk olarak %10'luk Neutral Buffer formaldehit solüsyonunda 48 saat boyunca tespit edilmiştir. 48 saatlik bekleme süresinin ardından dokular Dumlupınar Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Laboratuvarı'nda hazırlama ve inceleme işlemine tabi tutulmuştur.

Formaldehit solüsyonundan alınan dokular suyun uzaklaştırılması için artan derecelerde alkolden (%70, %80, %90, %100) geçirilmiştir. Sonrasında şeffaflaştırma amacıyla ksilolden geçirilerek mikrotom cihazında kesilebilecek duruma gelmesi için erimiş parafinde bekletilmiştir. Parafinde blok haline gelen dokular mikrotom cihazı ile 4 mikron kalınlığında kesilmiştir. Hazırlanan örnekler boyama prosedürleri uygulanmıştır.

### Hematoksilen&Eozin Boyama

Mikrotom cihazında kesilerek hazırlanan kesitler Leica DCM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, Leica Q Vin 3 programında değerlendirilip resimleri çekilmiştir. H&E boyama ile yapılan değerlendirmeler sonucunda dejenerasyon kriterleri tablosu oluşturulmuştur. H&E boyamada öncelikle Harris Hematoksilen solüsyonu 1 g hematoksilen, 50 ml alkol, 50 g alüminyum potasyum sülfat, 900 ml distile su ve 2,5 g cıva oksit kullanılarak hazırlanmıştır. Eozin solüsyonu ise 1 g eozin, 100 ml distile su ve 200 ml alkol kullanılarak hazırlanmıştır.

Deney gruplarından alınan kesitler 60°C etüvde 60 dakika bekletildikten sonra, 2x15 dakika ksilole alınarak parafinden arındırılmaları sağlanmıştır. Daha sonra lamlar sırasıyla azalan alkol serilerinden geçirilip (%100, %96, %80, %70, %50) 1 dakika akar suda yıkandıktan sonra, Harris Hematoksilen'de 2 dakika boyanmış ve 2x2 dakika akar suda yıkanmışlardır. Ardından %1 amonyak-su karışımına batırılıp tekrar 1 dakika akar suda yıkanmıştır. Lamlar 3 dakika eozinde bekletilip artan dereceli alkol serilerinden geçirilerek (%50, %70, %80, %96, %100), 2x1 dakika ksilole alınıp entellan ile kapatılmıştır.

H&E, histopatolojide en sık kullanılan boyama yöntemidir. Hemetoksilen hücrede mavi – mor bir renk verirken, eozin pembemsi bir renk vererek doku görüntüsünü oluşturur. Hematoksilen, hücre çekirdeği ve kalsiyum çöküntülerini, eozin ise sitoplazma, protein birikimi, amiloid gibi yapıları boyar. H&E boyamada skorlama aşağıdaki şekilde yapılmıştır:

0: Değişiklik yok

+1: Hafif derecede doku değişikliği

+2: Orta derecede doku değişikliği

+3: Şiddetli derecede doku değişikliği (Murussi vd., 2016; Poleksic ve Mitrovic-Tutundzic, 1994).

### İmmunhistokimyasal (Bcl-2, Kaspaz-3) Boyama

Tüm deney gruplarına ait karaciğer, solungaç ve deri dokuları bloklarından lamlara 4 µm kalınlığında kesitler alınmıştır. Kesitler 60°C etüvde 1 saat bekletildikten sonra, 2x10 dakika ksilole alınarak deparifizasyonları sağlanmıştır. Daha sonra lamlar sırasıyla azalan alkol serilerinden geçirilip rehidrate (%100, %96, %80, %70, %50) edilmişlerdir. Kesitler alkolden arındırılmak amacıyla iki kez 5'er dakika distile sudan geçirilmiştir. Antigen maskesini kaldırmak için 1/10 Dilue Citrat Buffer ( AP-9003-999 Thermo Scientific) mikrodalga ile

uygulanmıştır. Distile su ile yıkama aşamasından sonra 10 dakika %3'lük hidrojen peroksit (TA-125-HP ThermoScientific) ile etkin bırakılan dokularda endojen peroksidaz aktivitesi bloke edilmiştir. PBS ile yıkanan kesitler 5 dakika Protein Bloke (TA-125-PBQ ThermoScientific) edilmiştir. 60 dakika nemli ortamda Primary Antibody inkübe edilmiştir. Bcl-2 için ab-7973 Abcam ve kaspaz-3 için RB-1197-P0 ThermoScientific antikorlar kullanılmıştır.

Dokular, Amplifier Quanto (TL-125-QPB Thermo Scientific) sekonder antikorda 20 dakika bekletilmiştir. Ardından HRP Polymer Quanto (TL-125-QPH ThermoScientific) sekonder antikorda 30 dakika bekletilmiştir. Her aşamada PBS ile dikkatle yıkama yapılmıştır. Kolajen IV, perilipin ve leptin gibi pozitif hücreleri belirleyebilmek için DAB ile boyama yapılmıştır. Zemin boyaması için 1 dakika süreyle hematoksilen uygulanmıştır. Boyanan camlar artan alkol serilerinden geçirilerek suyu alındıktan sonra 5 dakika şeffaflaştırmak için ksilolde bekletilip entellan ile kapatılmıştır. Ekspresyon oranlarını ve apoptotik indeksi tespit etmek amacıyla birbirinden bağımsız 5 ayrı bölgede 20x objektif ile hücre sayımı gerçekleştirilmiştir.

### **3.2.6. İstatistiksel analizler**

Çalışmada elde edilen verilerin yorumlanmasında SPSS 22 paket programı kullanılmıştır. Tablo ve grafikler ortalama ve standart hataları hesaplanarak oluşturulmuştur. Hematolojik, biyokimyasal ve histopatolojik analizlerde gruplar arası istatistiksel farklılığı ortaya koymak için One-Way ANOVA testinde grupların homojen dağıldığı varsayılarak Tukey testi kullanılmıştır. 3 gün ve 15 gün süreli deneyler arasındaki farklılıkların ortaya konmasında Student t-testi kullanılmıştır. Sonuçlar  $p < 0,05$  anlamlılık düzeyinde incelenmiştir.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Arazi Çalışması

Kütahya ili sınırları içerisinde su numunesi alınan istasyonlar, koordinatları ve suların siyanür miktarları (mg/L) Çizelge 4.1'de verilmiştir. İstasyonların belirlenmesinde maden işletmelerince zengin bölgelere daha çok önem verilmiştir.

**Çizelge 4.1.** Kütahya İlindeki bazı su kaynaklarındaki siyanür miktarları (mg/L).

1	Felent Çayı – 1	Lnt: 39° 26' 28.38" Lng: 29° 58' 55.11"	0,003
2	Felent Çayı – 2	Lnt: 39° 26' 34.54" Lng: 30° 0' 29.80"	0,001
3	Yedigöller - 1	Lnt: 39° 26' 32.02" Lng: 29° 58' 49.32"	0,001
4	Yedigöller – 2	Lnt: 39° 26' 33.70" Lng: 29° 58' 47.13"	0,001
5	Yedigöller - 3	Lnt: 39° 26' 35.98" Lng: 29° 58' 48.49"	0,001
6	Porsuk Çayı – 1	Lnt: 39° 27' 44.92" Lng: 30° 01' 34.96"	0,002
7	Porsuk Çayı – 2	Lnt: 39° 28' 59.08" Lng: 30° 02' 13.25"	0,003
8	Porsuk Çayı – 3	Lnt: 39° 32' 05.47" Lng: 30° 03' 8.85"	0,007
9	Porsuk Barajı - 1	Lnt: 39° 36' 23.24" Lng: 30° 09' 0.90"	0,002
10	Porsuk Barajı - 2	Lnt: 39° 37' 13.44" Lng: 30° 09' 40.44"	0,005
11	Hacı Rafet Işılda Çeşmesi	Lnt: 39° 27' 44.78" Lng: 30° 01' 33.97"	0,002
12	Ilıca Köyü Şebeke	Lnt: 39° 35' 31.19" Lng: 30° 03' 28.92"	0,007
13	Sırören Köyü Şebeke	Lnt: 39° 37' 27.62" Lng: 29° 58' 39.52"	0,005
14	Sırören Çıkışı Sulama Çeşmesi	Lnt: 39° 38' 6.16" Lng: 29° 57' 50.65"	0,002
15	Sünnetyenice Köy Çeşmesi	Lnt: 39° 38' 40.67" Lng: 29° 56' 40.75"	0,001
16	Elmacık Köy Çeşmesi	Lnt: 39° 36' 49.84" Lng: 29° 55' 3.18"	0,002
17	Seyitömer Şebeke	Lnt: 39° 36' 47.96" Lng: 29° 53' 24.23"	0,002
18	EyNEGazi Köy Çeşmesi	Lnt: 39° 38' 53.01" Lng: 29° 54' 19.76"	0,005
19	Körpe Köyü Çeşme	Lnt: 39° 40' 47.28" Lng: 29° 54' 56.44"	0,001
20	Körpe Köyü Şebeke	Lnt: 39° 40' 47.28" Lng: 29° 54' 56.44"	0
21	Körpe Köyü Karasu Çeşmesi	Lnt: 39° 40' 53.67" Lng: 29° 56' 12.28"	0,002
22	Körpe Köyü Karasu Deresi	Lnt: 39° 40' 53.67" Lng: 29° 56' 12.28"	0,002
23	Seyitömer Kasaba Suyu	Lnt: 39° 36' 57.27" Lng: 29° 53' 9.78"	0,001
24	Seyitömer Kasaba Çeşmesi	Lnt: 39° 36' 31.71" Lng: 29° 53' 24.36"	0,003
25	Seyitömer Girişi Gölet - 1	Lnt: 39° 35' 57.23" Lng: 29° 53' 27.79"	0,003
26	Seyitömer Girişi Gölet - 2	Lnt: 39° 35' 42.28" Lng: 29° 53' 57.82"	0,001
27	Bozcahüyük Köy Çeşmesi	Lnt: 39° 33' 47.03" Lng: 29° 53' 53.37"	0
28	Bozcahüyük Cami Çeşmesi	Lnt: 39° 33' 46.25" Lng: 29° 53' 49.53"	0,110
29	Bozcahüyük Kınık Deresi	Lnt: 39° 33' 45.04" Lng: 29° 53' 49.10"	0,062
30	Enne Baraj Gölü - 1	Lnt: 39° 28' 10.32" Lng: 29° 51' 23.16"	0,001
31	Enne Baraj Gölü - 2	Lnt: 39° 28' 15.15" Lng: 29° 51' 33.01"	0,001
32	Enne Baraj Gölü - 3	Lnt: 39° 28' 14.90" Lng: 29° 51' 44.73"	0,001
33	Enne Baraj Gölü - 4	Lnt: 39° 28' 30.14" Lng: 29° 51' 47.71"	0,002
34	Enne Köy Çeşmesi	Lnt: 39° 28' 27.01" Lng: 29° 51' 21.89"	0,004
35	Enne Köyü Şebeke	Lnt: 39° 28' 27.01" Lng: 29° 51' 21.89"	0,007
36	Gümüşköy Yolu Çeşmesi	Lnt: 39° 28' 53.58" Lng: 29° 46' 8.44"	0,044
37	Dulkadir Köyü Cami Çeşmesi	Lnt: 39° 27' 49.84" Lng: 29° 42' 32.60"	0,001

**Çizelge 4.1.** Kütahya İlindeki bazı su kaynaklarındaki siyanür miktarları (mg/L) (devamı).

38	Dulkadir Köyü Çeşmesi	Lint: 39° 27' 50.64" Lng: 29° 42' 34.64"	0,017
39	Dulkadir K. A.harman Çeşmesi	Lint: 39° 27' 45.15" Lng: 29° 42' 34.98"	0,006
40	Dulkadir Köyü Bucun Deresi	Lint: 39° 27' 41.70" Lng: 29° 42' 46.24"	0
41	Dulkadir Köyü Yolu Çeşme	Lint: 39° 27' 51.20" Lng: 29° 42' 7.81"	0,006
42	Gümüşköy Deresi	Lint: 39° 28' 48.57" Lng: 29° 45' 19.10"	0
43	Gümüşköy Giriş Köy Çeşmesi	Lint: 39° 28' 27.19" Lng: 29° 45' 34.14"	0,021
44	Gümüşköy Suyu Şebeke	Lint: 39° 28' 27.19" Lng: 29° 45' 34.14"	0
45	Gümüşköy Meydanı Çeşmesi	Lint: 39° 28' 22.59" Lng: 29° 45' 32.43"	0,003
46	Gümüşköy Çeşmesi	Lint: 39° 28' 21.52" Lng: 29° 45' 26.70"	0,002
47	Gümüşköy Cami Yanı Çeşmesi	Lint: 39° 28' 21.24" Lng: 29° 45' 34.55"	0,004
48	Gümüşköy Cami Yanı Çeşmesi	Lint: 39° 28' 21.24" Lng: 29° 45' 34.55"	0,006
49	Gümüşköy Sulama Göleti - 1	Lint: 39° 27' 50.96" Lng: 29° 45' 37.59"	0,001
50	Gümüşköy Sulama Göleti - 2	Lint: 39° 27' 50.96" Lng: 29° 45' 37.59"	0,001
51	Gümüşköy Mezarlık Çeşmesi	Lint: 39° 28' 10.88" Lng: 29° 45' 26.47"	0,005
52	Kızılcakaya Deresi	Lint: 39° 30' 0.73" Lng: 29° 47' 13.54"	0
53	Kızılcakaya Köy Çeşmesi	Lint: 39° 30' 8.81" Lng: 29° 47' 10.72"	0,001
54	Kızılcakaya Köy Çeşmesi	Lint: 39° 30' 11.39" Lng: 29° 47' 09.74"	0,001
55	Kızılcakaya Köy Çeşmesi	Lint: 39° 30' 12.68" Lng: 29° 47' 09.17"	0,001
56	Kızılcakaya Cami Çeşmesi	Lint: 39° 30' 12.68" Lng: 29° 47' 09.17"	0,001
57	Gevrekseydi Köy Çeşmesi	Lint: 39° 31' 59.34" Lng: 29° 51' 38.99"	0,005
58	Gevrekseydi Köyü Şebeke	Lint: 39° 31' 59.34" Lng: 29° 51' 38.99"	0,002
59	Gevrekseydi Sulama Çeşmesi	Lint: 39° 31' 59.34" Lng: 29° 51' 38.36"	0,034
60	Kayı Köyü Dönüşü Çeşme	Lint: 39° 31' 27.77" Lng: 29° 33' 36.04"	0,002
61	Kayı Köyü Dere	Lint: 39° 31' 27.77" Lng: 29° 33' 36.04"	0,002
62	Kayı Köy Çeşmesi	Lint: 39° 31' 20.83" Lng: 29° 33' 22.08"	0
63	Kayı Köyü Şebeke Suyu	Lint: 39° 31' 23.15" Lng: 29° 33' 20.48"	0
64	Kayı Orhaneli Çayı	Lint: 39° 30' 29.44" Lng: 29° 32' 56.85"	0,002
65	Kayı Köyü civarı bir Çeşme	Lint: 39° 29' 48.85" Lng: 29° 33' 3.77"	0,003
66	Kayaboğazı Baraj Sulama Kanalı	Lint: 39° 29' 48.85" Lng: 29° 33' 3.77"	0,002
67	Gölet (Kayaboğazı Baraj Yolu)	Lint: 39° 28' 59.94" Lng: 29° 34' 27.86"	0
68	Dere (Kayaboğazı bağlantılı)	Lint: 39° 26' 43.36" Lng: 29° 36' 58.70"	0
69	Kayaboğazı Barajı	Lint: 39° 25' 7.68" Lng: 29° 36' 43.09"	0,002
70	Gülçeşme (Esatlar Köyü)	Lint: 39° 20' 6.16" Lng: 29° 36' 11.28"	0,001
71	Çerte Beldesi Çeşme	Lint: 39° 17' 7.63" Lng: 29° 29' 27.15"	0,004
72	Yarışköy Çeşme	Lint: 39° 17' 7.03" Lng: 29° 29' 27.53"	0,004
73	Yarışköy Çeşmesi (İçilmez)	Lint: 39° 19' 26.89" Lng: 29° 23' 43.73"	0,016
74	Yarışköy Dere (Gencer Mevkii)	Lint: 39° 21' 22.24" Lng: 29° 21' 7.60"	0,004
75	Emet Bor Tesisleri yakını dere	Lint: 39° 20' 18.70" Lng: 29° 17' 23.80"	0,007
76	Emet (Dağ Suyu)	Lint: 39° 20' 18.70" Lng: 29° 15' 40.41"	0,004
77	Emet Şebeke	Lint: 39° 20' 39.20" Lng: 29° 15' 24.67"	0,015
78	Emet Termal Suyu	Lint: 39° 20' 32.07" Lng: 29° 15' 21.17"	0,002
79	Emet Çayı - 1	Lint: 39° 21' 0.82" Lng: 29° 13' 40.54"	0,002
80	Emet Çayı - 2	Lint: 39° 19' 43.13" Lng: 29° 13' 20.15"	0,004
81	Emet Çayı - 3	Lint: 39° 16' 28.44" Lng: 29° 13' 38.38"	0,007
82	Hisarcık Çeşme	Lint: 39° 15' 7.99" Lng: 29° 13' 47.80"	0,004
83	Hisarcık Şebeke	Lint: 39° 15' 1.83" Lng: 29° 13' 50.97"	0,010
84	Kurtdere Taşdöken Çeşmesi	Lint: 39° 10' 38.56" Lng: 29° 08' 31.88"	0

**Çizelge 4.1.** Kütahya İlindeki bazı su kaynaklarındaki siyanür miktarları (mg/L) (devamı).

85	Gölcük (Mesire Yeri)	Lint: 39° 09' 59.28" Lng: 29° 05' 6.92"	0
86	Simav Eynal Termal Su	Lint: 39° 07' 35.97" Lng: 28° 59' 42.51"	0
87	Simav Eynal Kaplıcaları Şebeke	Lint: 39° 07' 35.97" Lng: 28° 59' 42.51"	0,003
88	Simav Çayı	Lint: 39° 07' 18.08" Lng: 28° 59' 15.48"	0,004
89	Çitgöl Kaplıcaları Girişi Dere	Lint: 39° 07' 50.34" Lng: 28° 58' 5.00"	0,004
90	Simav Savcılar Göleti	Lint: 39° 11' 40.27" Lng: 28° 53' 2.73"	0
91	Kınık Barajı	Lint: 39° 11' 24.69" Lng: 28° 50' 30.18"	0,001
92	Simav Şebeke	Lint: 39° 09' 24.55" Lng: 28° 58' 41.82"	0,001
93	Şaphane Sapağı Dere	Lint: 39° 00' 52.76" Lng: 29° 10' 3.62"	0,015
94	Şaphane Şebeke	Lint: 39° 00' 42.26" Lng: 29° 12' 43.34"	0,007
95	Pazarlar Şebeke	Lint: 38° 59' 41.31" Lng: 29° 07' 23.95"	0,010
96	Düden Sulama Göleti (Pazarlar)	Lint: 38° 59' 37.48" Lng: 29° 04' 58.99"	0,005
97	Düden Deresi (Pazarlar)	Lint: 38° 59' 3.28" Lng: 29° 05' 47.25"	0,013
98	Gediz Ilıca Kaplıcaları Dere	Lint: 38° 56' 26.39" Lng: 29° 15' 17.58"	0,003
99	Gediz Ilıcalar Kaplıca Köyü	Lint: 38° 56' 26.22" Lng: 29° 15' 20.68"	0,003
100	Gediz Nehri - 1 (Abide)	Lint: 38° 55' 37.25" Lng: 29° 18' 11.27"	0
101	Gediz Nehri - 2 (Aksaklar Köyü)	Lint: 38° 56' 40.39" Lng: 29° 20' 14.84"	0,003
102	Muhipler Deresi	Lint: 38° 57' 37.77" Lng: 29° 22' 24.09"	0,002
103	Muratdağı Çayı	Lint: 38° 58' 3.40" Lng: 29° 24' 52.90"	0,002
104	Erdoğmuşlar Sulama Göleti	Lint: 38° 55' 17.97" Lng: 29° 25' 42.64"	0,002
105	Gediz Şebeke	Lint: 38° 59' 20.67" Lng: 29° 23' 50.55"	0,002
106	Gediz Muhipler Göleti	Lint: 38° 59' 39.62" Lng: 29° 22' 13.48"	0,005
107	Çavdarhisar Barajı	Lint: 39° 10' 41.61" Lng: 29° 35' 1.09"	0
108	Çavdarhisar Şebeke	Lint: 39° 11' 48.76" Lng: 29° 37' 5.04"	0,002
109	Kütahya OSB Şebeke	Lint: 39° 23' 28.42" Lng: 30° 07' 10.22"	0,002
110	OSB Sulama Kanalı	Lint: 39° 22' 57.08" Lng: 30° 05' 59.16"	0
111	Büyüksaka Köy Çeşmesi	Lint: 39° 22' 25.62" Lng: 30° 07' 56.92"	0,003
112	Büyüksaka DSİ Yeraltı sulama	Lint: 39° 21' 43.55" Lng: 30° 09' 21.46"	0,001
113	Etî Kırka Bor İşletmeleri Yakını Su Birikintisi	Lint: 39° 16' 36.08" Lng: 30° 28' 30.46"	0,001
114	Kırka Şebeke	Lint: 39° 17' 13.08" Lng: 30° 31' 20.20"	0,001
115	Kunduzlar Barajı	Lint: 39° 19' 47.37" Lng: 30° 31' 54.77"	0,001
116	Çatören Barajı	Lint: 39° 19' 28.71" Lng: 30° 34' 31.44"	0,002
117	İhsaniye Köyü Şebeke	Lint: 39° 12' 39.83" Lng: 30° 18' 12.32"	0,004
118	Altıntaş Şebeke	Lint: 39° 03' 42.14" Lng: 30° 06' 29.55"	0,004
119	Zafertepe Çalköy Şebeke	Lint: 38° 55' 53.35" Lng: 30° 03' 49.29"	0,003
120	Zafertepe Çalköy Sulama Göleti	Lint: 38° 54' 59.56" Lng: 30° 03' 19.72"	0
121	Dumlupınar Şebeke	Lint: 38° 51' 8.69" Lng: 29° 58' 48.85"	0,001
122	Eğmir Yeraltı Sulama Kanalı	Lint: 39° 09' 7.68" Lng: 30° 02' 23.02"	0,005
123	Aslanapa Şebeke	Lint: 39° 12' 45.11" Lng: 29° 52' 24.36"	0,008
124	Porsuk Çayı	Lint: 39° 18' 35.52" Lng: 29° 58' 32.55"	0,006
125	Söğüt Barajı	Lint: 39° 25' 25.26" Lng: 30° 11' 26.53"	0,001
126	Söğüt Köy Çeşmesi	Lint: 39° 26' 57.23" Lng: 30° 09' 52.51"	0
127	Alayunt Köy Çeşmesi	Lint: 39° 24' 1.49" Lng: 30° 06' 26.57"	0
128	Siner Köyü Çeşmesi Şebeke	Lint: 39° 23' 31.54" Lng: 30° 04' 23.24"	0,004
129	Regülatör Dere	Lint: 39° 21' 49.79" Lng: 30° 04' 13.81"	0,007
130	Regülatör Piknik Alanı Çeşme	Lint: 39° 21' 51.86" Lng: 30° 04' 12.24"	0,005

**Çizelge 4.1.** Kütahya İlindeki bazı su kaynaklarındaki siyanür miktarları (mg/L) (devamı).

131	Tavşanlı Şebeke	Lnt: 39° 32' 20.22" Lng: 29° 29' 25.19"	0,002
132	Tavşanlı Üççeşmeler	Lnt: 39° 32' 43.99" Lng: 29° 29' 28.59"	0,001
133	Orhaneli Çayı - 1	Lnt: 39° 35' 8.74" Lng: 29° 27' 43.38"	0,001
134	Orhaneli Çayı - 2	Lnt: 39° 41' 0.43" Lng: 29° 30' 20.86"	0,005
135	Tunçbilek Termik Santrali Yakını Kanal	Lnt: 39° 38' 14.91" Lng: 29° 28' 29.95"	0,016
136	Tunçbilek Şebeke	Lnt: 39° 37' 29.62" Lng: 29° 27' 50.27"	0,002
137	Muhacirler Köy Çeşmesi	Lnt: 39° 41' 0.43" Lng: 29° 30' 20.86"	0
138	Domaniç Şebeke	Lnt: 39° 47' 59.74" Lng: 29° 36' 36.75"	0,001
139	Domaniç Sarıkız Kaynak Suyu	Lnt: 39° 46' 17.71" Lng: 29° 38' 47.94"	0,004
140	Sarıkız Kaynak Suyu Çeşmesi	Lnt: 39° 46' 12.72" Lng: 29° 38' 46.02"	0,005
141	Domaniç Ilıcaksu Köyü Şebeke	Lnt: 39° 46' 27.33" Lng: 29° 38' 48.52"	0
142	Yayladeresi	Lnt: 39° 48' 5.03" Lng: 29° 38' 3.13"	0
143	Berçin Köyü Kuyu Suyu	Lnt: 39° 47' 17.45" Lng: 29° 34' 35.08"	0,002
144	Yoncalı Kaplıca Suyu	Lnt: 39° 29' 35.04" Lng: 29° 50' 29.30"	0,002
145	Yoncalı Şebeke	Lnt: 39° 29' 35.04" Lng: 29° 50' 29.30"	0,002
146	Enne Şebeke - 2	Lnt: 39° 29' 27.05" Lng: 29° 51' 21.36"	0,008
147	Kütahya Çeşme	Lnt: 39° 25' 26.24" Lng: 29° 58' 11.38"	0
148	Kütahya Şebeke (Toki)	Lnt: 39° 27' 22.27" Lng: 29° 58' 50.09"	0,004
149	Kütahya Şebeke	Lnt: 39° 25' 29.06" Lng: 29° 58' 23.98"	0,005
150	Kütahya Şebeke (Üniversite)	Lnt: 39° 28' 43.01" Lng: 29° 54' 0.25"	0,004
151	Kütahya Ulu Cami İç Suyu	Lnt: 39° 24' 59.91" Lng: 29° 58' 34.13"	0,003
152	Ensar İncik Suyu Çeşmesi	Lnt: 39° 25' 42.38" Lng: 29° 59' 33.38"	0
153	Kıranşeyh Şebeke	Lnt: 39° 40' 55.47" Lng: 29° 48' 48.12"	0,001
154	Kıranşeyh Köy Çeşmesi	Lnt: 39° 40' 55.47" Lng: 29° 48' 48.12"	0,009
155	Kıranşeyh Kuyu Suyu	Lnt: 39° 40' 55.47" Lng: 29° 48' 48.12"	0,003
156	Kıranşeyh Cami Çeşmesi	Lnt: 39° 40' 55.47" Lng: 29° 48' 48.12"	0,002
157	DPÜ Aşağı Gölet	Lnt: 39° 28' 24.72" Lng: 29° 54' 16.18"	0,001
158	DPÜ Yukarı Gölet	Lnt: 39° 28' 45.10" Lng: 29° 53' 40.39"	0,001

Veriler incelendiğinde Kütahya Bölgesi su kaynaklarında siyanür miktarlarının iki su kaynağı hariç içme sularında izin verilen limit değerleri aşmadığı görülmüştür. Yalnızca 28 ve 29 numaralı iki istasyonun (Bozcahöyük Köyü Cami Çeşmesi ve Bozcahöyük Köyü Kınık Deresi) Türkiye İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik (2005) ve AB İçme Suyu Direktifi (2014)'ne göre belirlenen değerlerin üzerinde olduğu görülmüştür. Bununla birlikte 13 adet istasyonda siyanür düzeyleri 0,01 mg/L konsantrasyonun üzerinde, 145 adet istasyonun ise 0,01 mg/L konsantrasyonun altında olduğu görülmüştür. Yapılan arazi çalışmasında bulunan en yüksek konsantrasyonun Bozcahöyük Köyü Cami Çeşmesi (0,110 mg/L), Kınık Deresi (0,062 mg/L), Gevrekseydi Köyü sulama çeşmesi (0,034 mg/L) ve gümüş madeni işletmesine yakınlığı ile bilinen Gümüşköy (0,044 mg/L)'de çıkmıştır. Analizi yapılan diğer istasyonlarda siyanür konsantrasyonlarının düşük olduğu görülmektedir. 24 istasyonda ise siyanüre rastlanmamıştır.

#### 4.2. Deneyde Kullanılan Balıkların Boy ve Ağırlıkları

Deneylerde kullanılan balıkların ortalama boy ve ağırlıkları Çizelge 4.2.de verilmiştir.

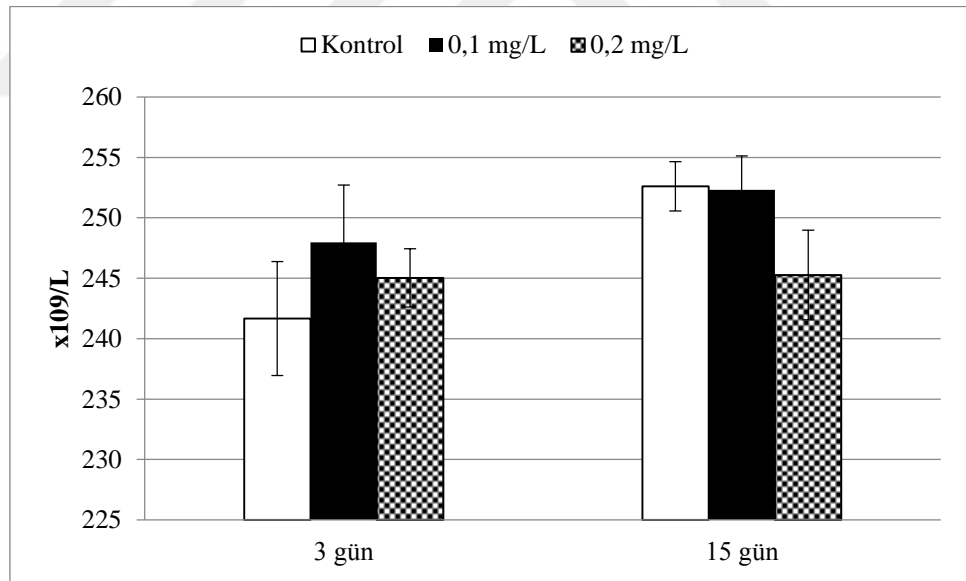
**Çizelge 4.2.** Deneylerde kullanılan balıkların ortalama boy ve ağırlıkları.

	Boy (cm±SH)				Ağırlık (g±SH)			
	Deney öncesi		Deney sonrası		Deney öncesi		Deney sonrası	
	3 gün	15 gün	3 gün	15 gün	3 gün	15 gün	3 gün	15 gün
Kontrol	14,84± 0,41	14,91± 0,51	15,12± 0,36	15,04± 0,48	43,5± 2,86	42,13± 3,81	43,63± 2,96	44,25± 3,91
0,1 mg/L	14,72± 0,35	14,44± 0,44	14,75± 0,33	14,77± 0,42	44,19± 2,7	39,63± 3,45	44,06± 2,66	41,00± 3,36
0,2 mg/L	13,94± 0,38	14,41± 0,44	14,28± 0,37	14,84± 0,44	40,5± 2,92	39,19± 2,98	40,88± 2,98	41,13± 3,04

Deneylerde yaklaşık aynı büyüklükte balıklar kullanılmıştır. On beş gün süre ile devam eden deneyde ortalama oransal boy artışı kontrol grubu balıklarda  $1,32\pm 0,39$ ; 0,1 mg/L siyanür konsantrasyonuna maruz bırakılan balıklarda  $2,29\pm 0,22$  ve 0,2 mg/L siyanür konsantrasyonuna maruz bırakılan balıklarda ise  $3,09\pm 0,98$  olarak bulunmuştur. Gruplar arasında istatistiksel bir fark tespit edilmemiştir ( $p>0,05$ ). On beş gün süre ile devam eden deneyde ortalama oransal ağırlık artışı kontrol grubu balıklarda  $4,99\pm 0,83$ ; 0,1 mg/L siyanür konsantrasyonuna maruz kalan balıklarda  $3,44\pm 0,9$  ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıklarda  $5,01\pm 0,53$  olarak bulunmuştur. Grupların ortalama oransal ağırlık artışlarında da herhangi bir önemli fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

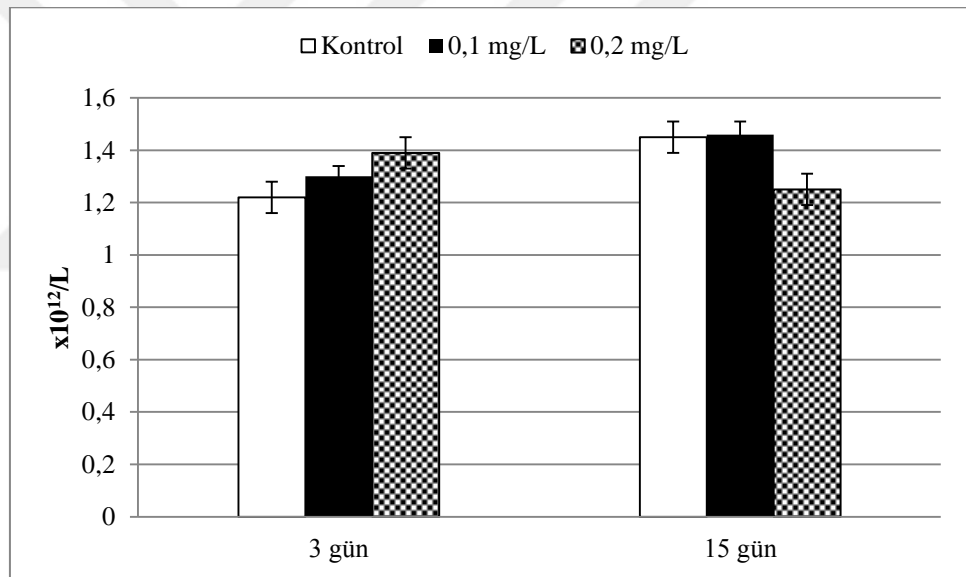
### 4.3. Hematolojik Analizler

Deneyde kullanılan balıkların lökosit sayısı (WBC), eritrosit sayısı (RBC), hemoglobin (HGB), hematokrit (HCT), ortalama eritrosit hacmi (MCV), ortalama eritrosit hemoglobini (MCH), ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC), ortalama eritrosit dağılım genişliği (RDW), trombosit sayısı (PLT), ortalama trombosit hacmi (MPV), trombosit dağılım genişliği (PDW), platokrit (PCT) düzeyleri ölçülmüştür. Farklı konsantrasyonlarda üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının WBC düzeyleri Şekil 4.1’de verilmiştir. Üç gün süre ile 0,1 ve 0,2 mg/L konsantrasyonlarda siyanüre maruz kalan balıkların WBC değerleri kontrol grubuna göre daha yüksek bulunsa da bunun anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ( $p>0,05$ ). On beş gün süre ile 0,1 ve 0,2 mg/L konsantrasyonlarda siyanüre maruz bırakılan balıkların WBC değerleri de kontrol grubu balıkların WBC değerlerine göre daha düşük bulunsa da bunun önemli olmadığı görülmüştür ( $p>0,05$ ). Bu çalışmadan elde edilen ilgili veriler, üç ve on beş gün süre ile 0,1 ve 0,2 mg/L siyanür maruziyetinin sazan balıklarının WBC değerlerini önemli derecede etkilemediğini göstermiştir.



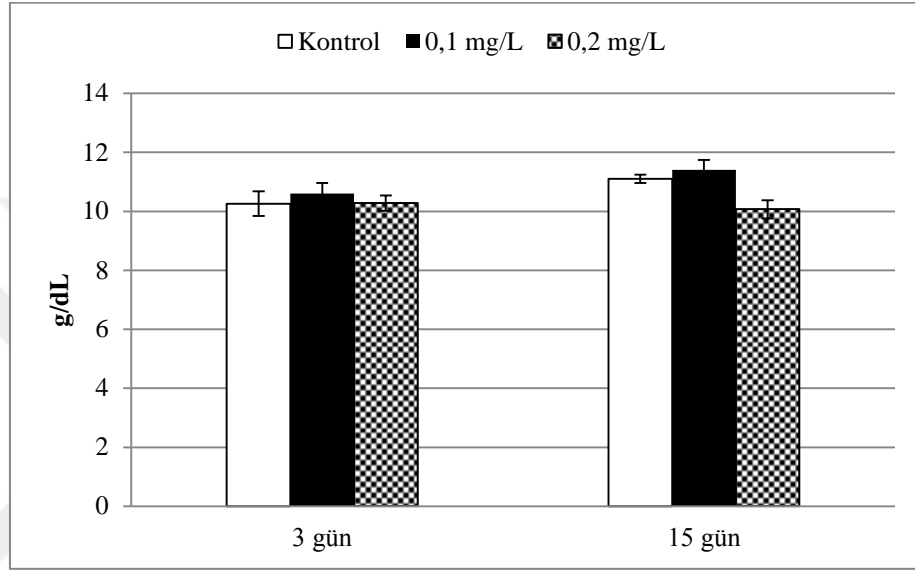
**Şekil 4.1.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların WBC düzeyleri (Ort±SH).

Deneyleerde kullanılan balıklarının RBC düzeyleri Şekil 4.2’de verilmiştir. Üç gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının RBC düzeyleri bir miktar yüksek bulunmuştur ( $p>0,05$ ). On beş gün süre ile 0,2 mg/L siyanüre maruz kalan balıkların RBC değerleri de bir miktar azalmıştır ( $p>0,05$ ). On beş gün sürede 0,1 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların RBC değerleri 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların RBC değerlerinden önemli derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Üç gün süreli deneyleerde kontrol grubu olarak belirlenen balıkların RBC değerleri ile on beş gün süreli deneyleerde kontrol grubu olarak belirlenen balıkların RBC değerleri arasında önemli bir fark yoktur. Ancak üç gün süre ile 0,1 mg/L siyanüre maruz kalan balıkların RBC düzeyleri on beş gün süre ile 0,1 mg/L siyanüre maruz kalan balıkların RBC değerlerinden önemli ölçüde düşüktür ( $p<0,05$ ).



**Şekil 4.2.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların RBC düzeyleri (Ort±SH).

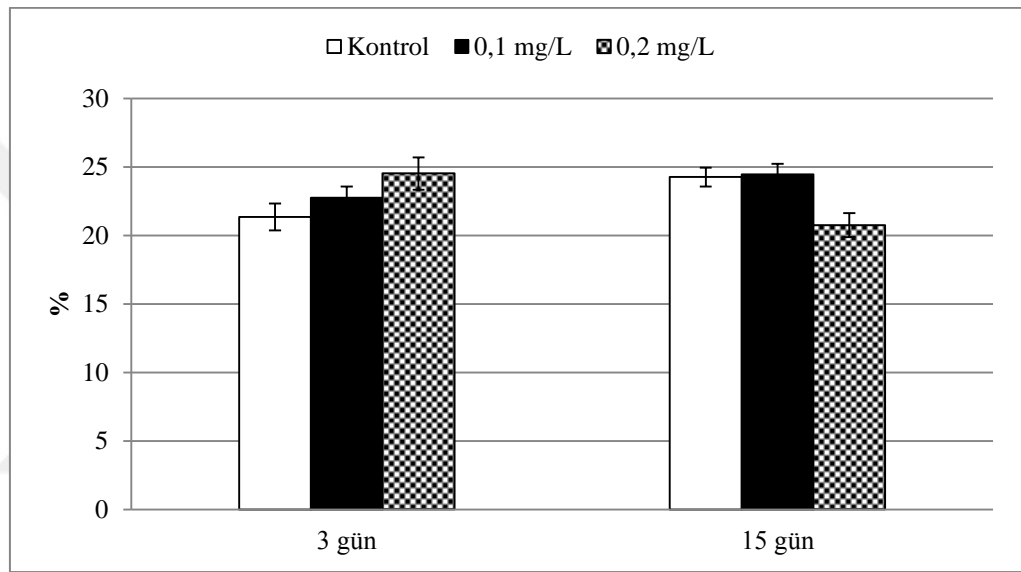
Üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının HGB düzeyleri Şekil 4.3’de verilmiştir. Üç gün süre ile siyanüre maruz kalan sazan balıklarının HGB düzeylerinin anlamlı olmamakla birlikte 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonda hafif bir artış gösterdiği görülmüştür ( $p>0,05$ ). On beş gün süre ile 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan sazan balıklarının HGB düzeyleri önemli ölçüde azalmıştır ( $p<0,05$ ).



**Şekil 4.3.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların HGB düzeyleri (Ort±SH).

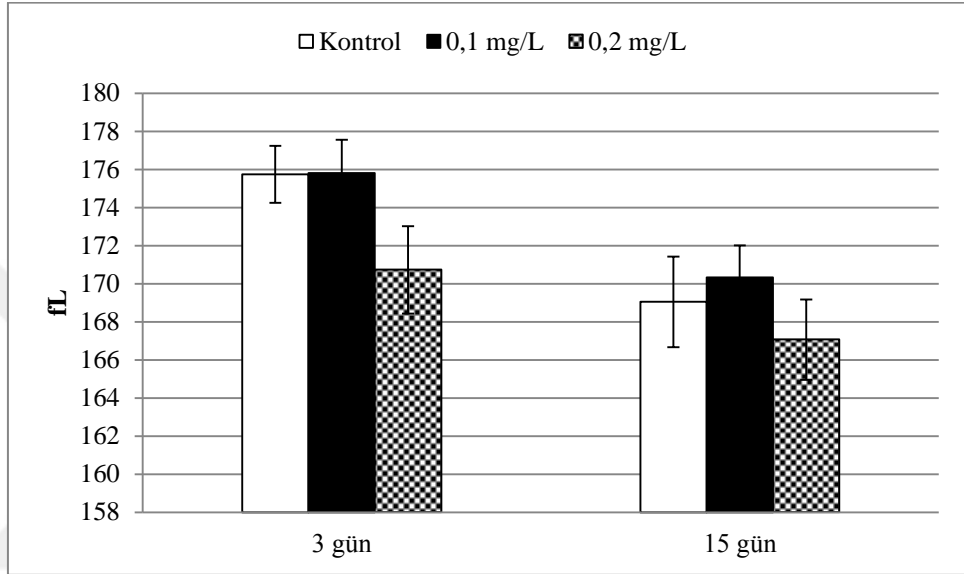


Farklı konsantrasyonlarda siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının HCT düzeyleri Şekil 4. 4’de verilmiştir. Üç ve on beş gün süre ile 0,1 mg/L siyanüre maruz kalmış balıkların HCT yüzdeleri istatistiksel olarak önemsiz olmakla beraber biraz artış göstermiştir ( $p>0,05$ ). On beş gün süre ile 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların HCT yüzdeleri ise anlamlı bir şekilde azalmıştır ( $p<0,05$ ). Ayrıca, on beş gün boyunca 0,2 mg/L siyanüre maruz kalmış balıkların HCT yüzdeleri üç gün süre ile aynı konsantrasyona maruz kalan balıkların HCT yüzdelerine göre anlamlı bir şekilde azalmıştır ( $p<0,05$ ).



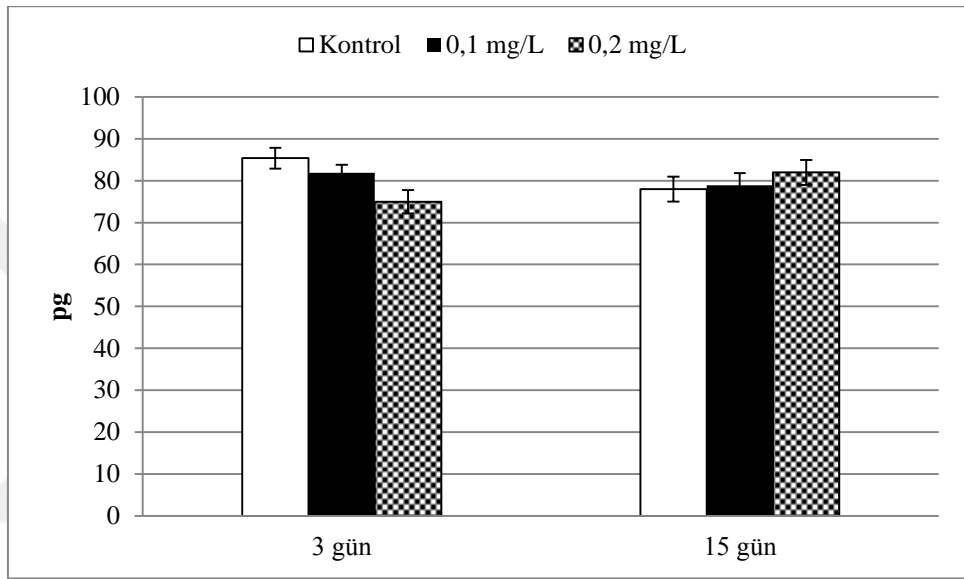
**Şekil 4.4.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların HCT düzeyleri (Ort±SH).

Farklı konsantrasyonlarda üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının MCV düzeyleri Şekil 4.5’de verilmiştir. Üç ve on beş gün süre ile 0,1 mg/L konsantrasyonda siyanür uygulanmış sazan balıklarının MCV değerlerinin istatistiksel olarak önemi olmamakla beraber arttığı, 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanür uygulanmış balıklarda ise yine istatistiksel açıdan önemsiz olmakla birlikte biraz azaldığı tespit edilmiştir ( $p>0,05$ ).



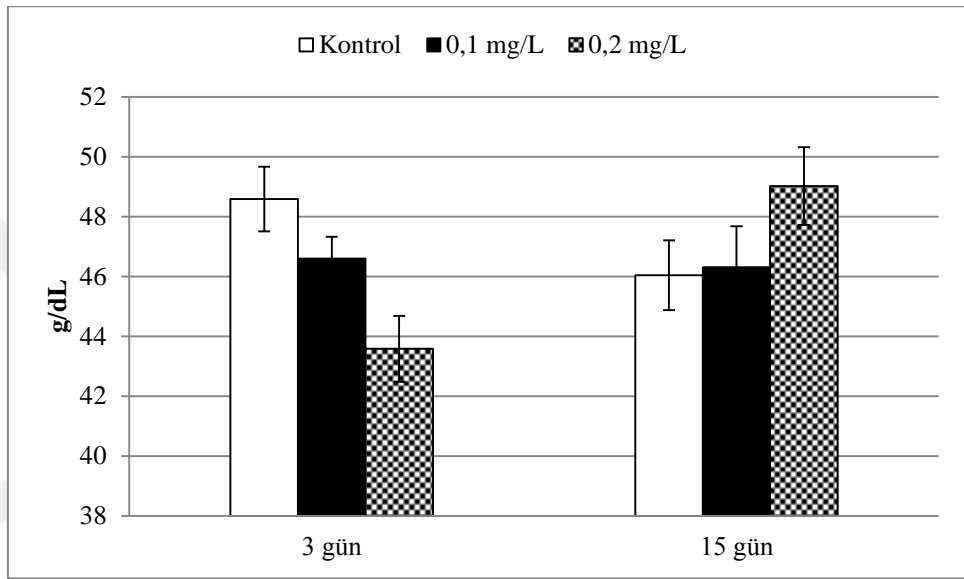
**Şekil 4.5.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların MCV düzeyleri (Ort±SH).

Deneyleerde kullanılan balıkların MCH düzeyleri Şekil 4.6'da verilmiştir. Üç gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L siyanüre maruz kalmış sazan balıklarının MCH miktarları anlamlı olmamakla birlikte azalmış, aynı konsantrasyonda on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan balıkların MCH düzeyleri ise artmıştır ( $p>0,05$ ). Siyanür maruziyetinin farklı sürelerde olması (üç ve on beş gün) sazan balıklarının MCH değerlerinin önemli şekilde değişimine sebep olmamıştır ( $p>0,05$ ).



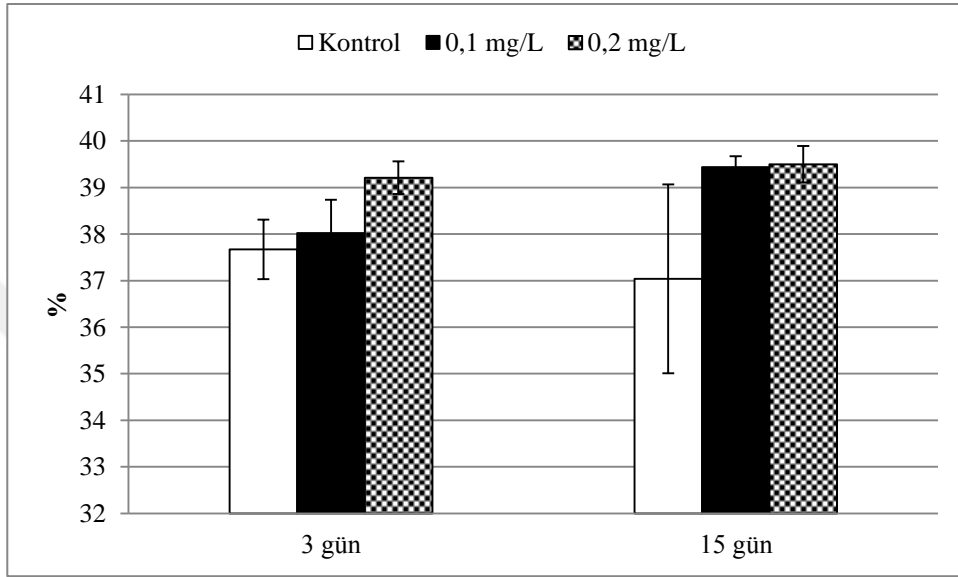
**Şekil 4.6.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların MCH düzeyleri (Ort±SH).

Üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının MCHC düzeyleri Şekil 4.7’de verilmiştir. Üç gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L siyanüre maruz kalmış sazan balıklarının MCHC miktarları istatistiksel açıdan önemi olmamakla beraber azalmış, on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan balıklarda ise artmıştır ( $p>0,05$ ). On beş gün süre ile 0,2 mg/L siyanür konsantrasyonuna tabi tutulan balıkların MCHC değerleri üç gün süre ile aynı konsantrasyonda siyanüre tabi tutulan balıklardan önemli ölçüde yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ).



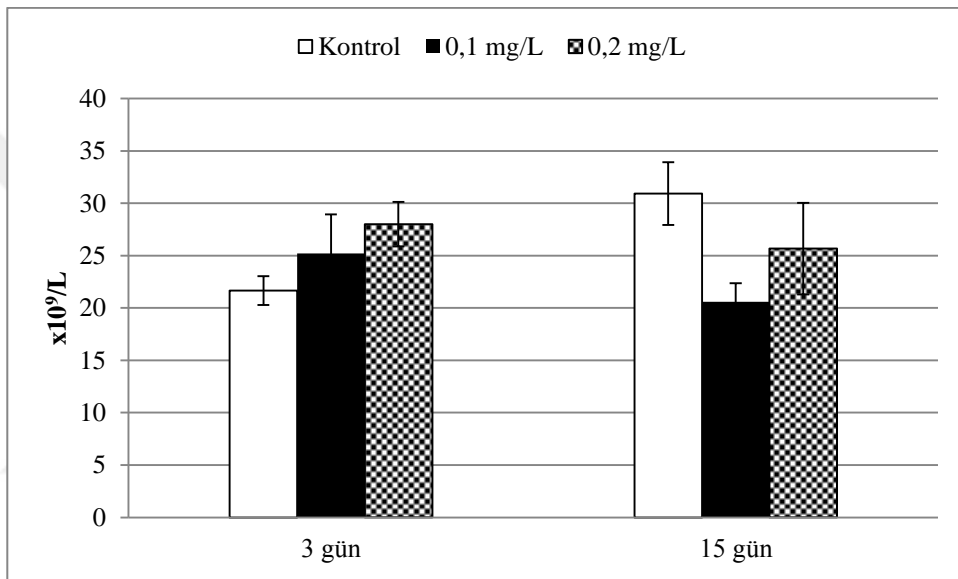
**Şekil 4.7.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların MCHC düzeyleri (Ort±SH).

Farklı konsantrasyonlarda siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının RDW düzeyleri Şekil 4.8'de verilmiştir. Her iki sürede de 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L siyanür konsantrasyonuna maruz kalan sazan balıklarının RDW yüzdeleri artmıştır. Ancak, bu artışın istatistiki olarak önemi olmadığı görülmüştür ( $p>0,05$ ).



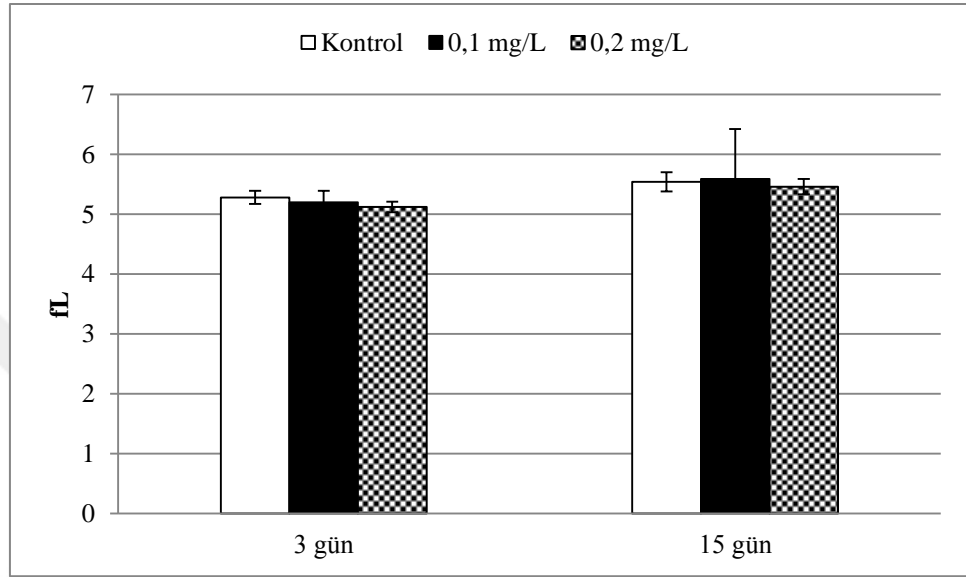
**Şekil 4.8.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların RDW düzeyleri (Ort±SH).

Farklı konsantrasyonlarda üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının PLT düzeyleri Şekil 4.9'da verilmiştir. Üç gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının PLT değerlerinin arttığı görülmüştür. On beş gün süre ile 0,1 mg/L siyanür konsantrasyonuna maruz bırakılan balıkların PLT değeri azalmış, 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların PLT değerleri ise artmıştır. Üç ve on beş gün süre ile devam eden deneylerde gözlenen bu değişimler istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).



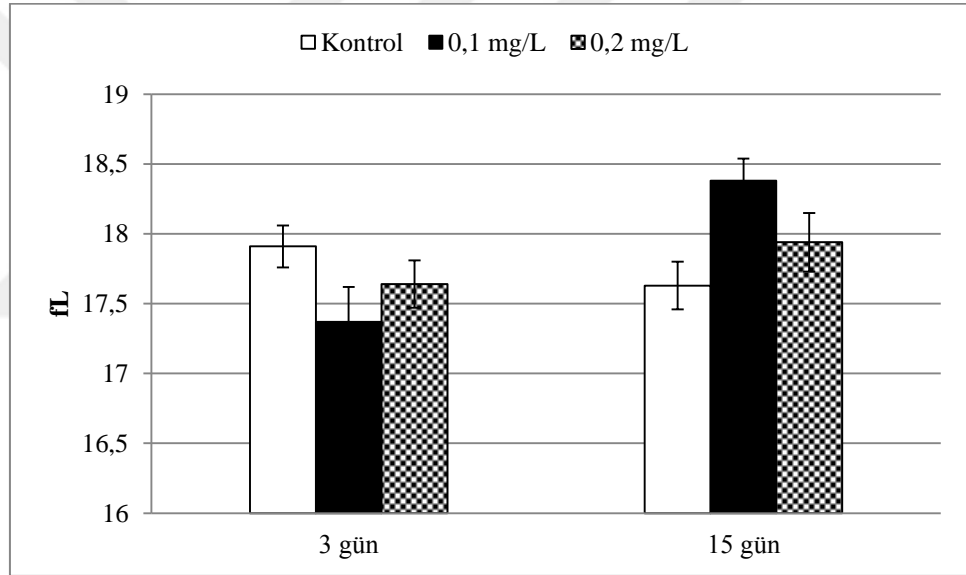
**Şekil 4.9.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların PLT düzeyleri (Ort±SH).

Farklı konsantrasyonlarda üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının MPV düzeyleri Şekil 4.10'da verilmiştir. Üç ve on beş gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan sazan balıklarının MPV düzeyleri önemli derecede değişmemiştir ( $p>0,05$ ).



**Şekil 4.10.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların MPV düzeyleri (Ort±SH).

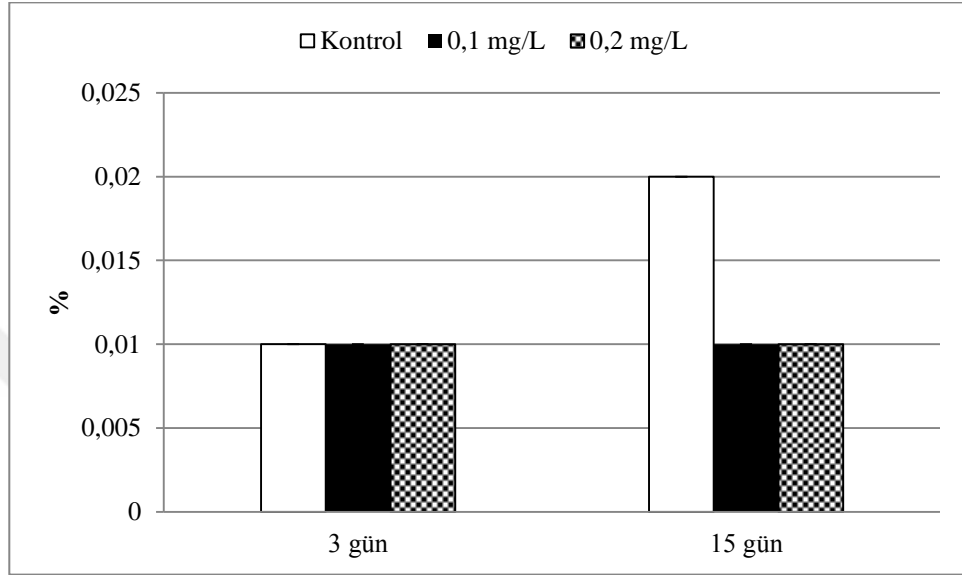
Deneyleerde kullanılan balıkların PDW düzeyleri Şekil 4.11’de verilmiştir. Üç gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların PDW değerleri düşük bulunmuştur. 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanür uygulanan grubun PDW değeri 0,1 mg/L konsantrasyonda siyanür uygulanan gruba göre önemsiz derecede bir miktar artış göstermiştir ( $p>0,05$ ). On beş gün süre ile her iki konsantrasyonda siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının kan dokusu PDW değerleri artış göstermiştir. 0,1 mg/L konsantrasyonda siyanür uygulanan grubun PDW değeri anlamlı derecede yüksektir ( $p<0,05$ ). Üç ve on beş gün süre ile devam eden deneyleerde kontrol grubu olarak belirlenen balıkların PDW düzeyleri arasında herhangi bir istatistiki değişim yokken üç ve on beş gün süre ile 0,1 mg/L siyanür uygulanan gruplar arasındaki değişimler istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ( $p<0,05$ ).



**Şekil 4.11.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların PDW düzeyleri (Ort±SH).



Üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının PCT düzeyleri Şekil 4.12’de verilmiştir. Üç ve on beş gün sürede kontrol, 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L gruplarının PCT değerleri arasında önemli bir değişim tespit edilmemiştir ( $p>0,05$ ).



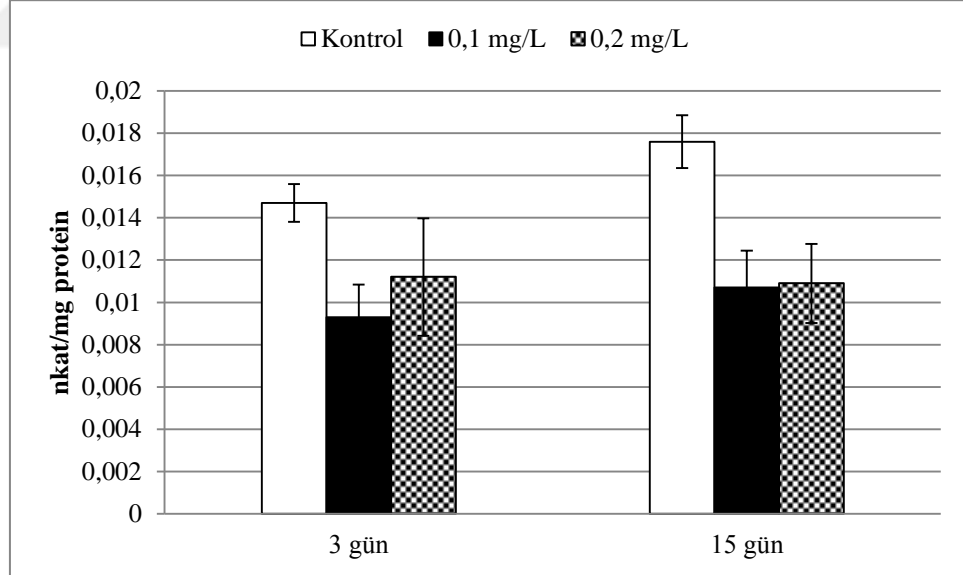
**Şekil 4.12.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların PCT düzeyleri (Ort±SH).

#### 4.4. Biyokimyasal Analizler

Deneylerde kullanılan balıkların kas, karaciğer, beyin, solungaç, bağırsak ve deri dokularında katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD), karbonik anhidraz (CA) aktiviteleri ve lipid peroksidasyon ürünü malondialdehit (MDA) seviyeleri tespit edilmiştir.

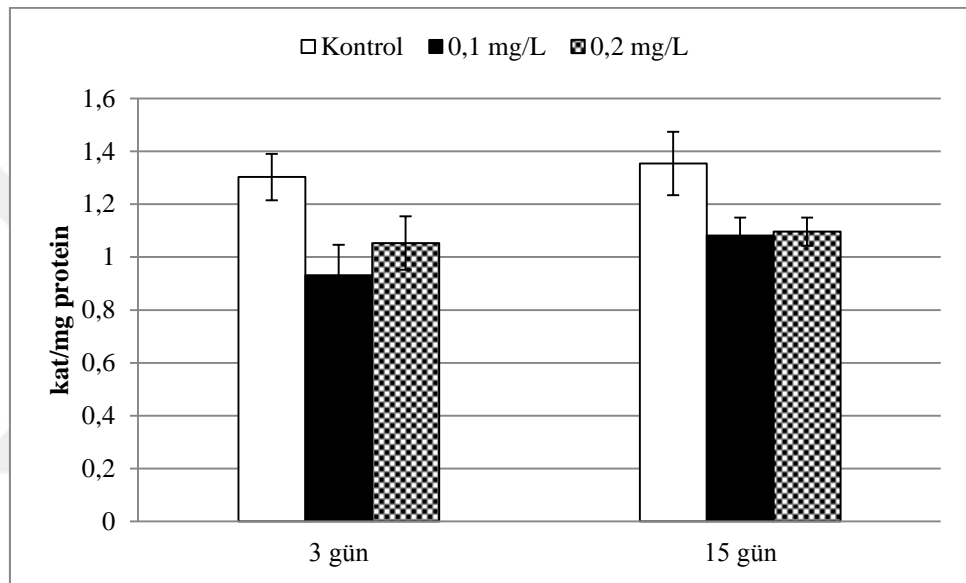
##### 4.4.1. Katalaz aktiviteleri

Üç ve on beş gün süre ile farklı konsantrasyonlarda siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının kas dokularındaki CAT aktiviteleri Şekil 4.13’de verilmiştir. Üç gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının kas dokusu CAT aktivitelerinde istatistiksel önemi olmayan bir düşüş tespit edilmiştir ( $p>0,05$ ). On beş gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının kas dokusu CAT aktiviteleri ise anlamlı şekilde düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ). 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonlarda siyanüre üç gün süre ile maruz kalan balıkların kas dokusu CAT aktiviteleri ile aynı konsantrasyonlarda on beş gün süre ile maruz kalan balıkların CAT aktiviteleri önemli bir değişim göstermemiştir ( $p>0,05$ ).



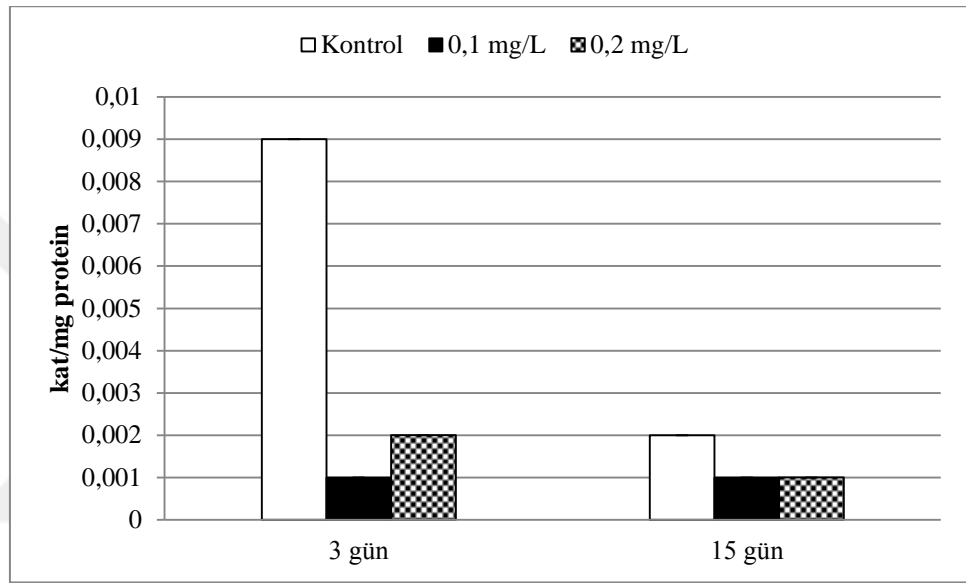
**Şekil 4.13.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların kas dokusu CAT aktiviteleri (Ort±SH).

Deneylerde kullanılan balıkların karaciğer dokularındaki CAT aktiviteleri Şekil 4.14’de verilmiştir. Üç ve on beş gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonlarda siyanüre maruz kalan sazan balıklarının karaciğer dokularında CAT aktiviteleri önemsiz derecede düşük bulunmuştur ( $p>0,05$ ). Üç gün süre ile 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz bırakılan balıkların CAT aktiviteleri 0,1 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz bırakılan balıklara göre bir miktar artış göstermiştir. Üç ve on beş gün sürede kontrol grupları ve siyanür uygulanan grupların kendi içerisinde anlamlı bir değişim göstermediği tespit edilmiştir ( $p>0,05$ ).



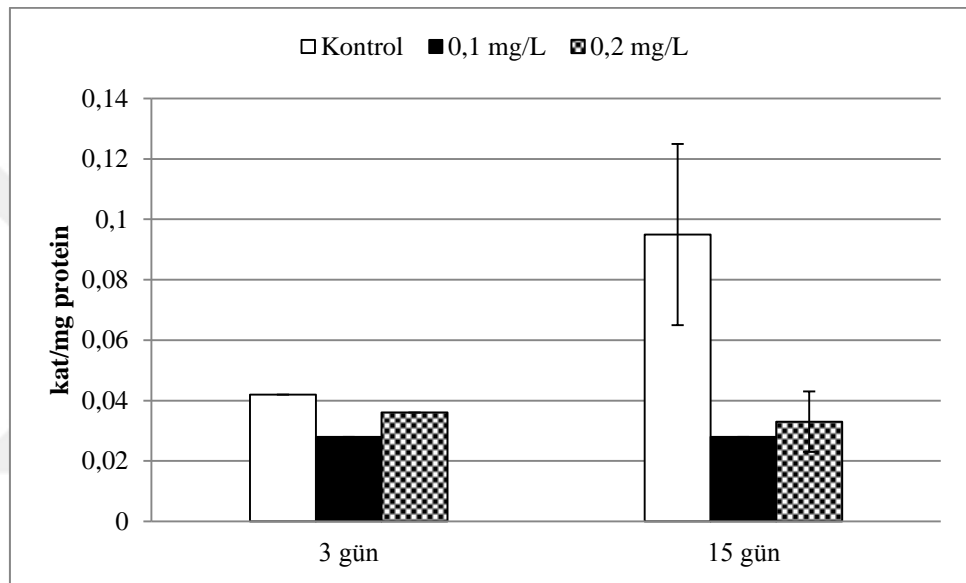
**Şekil 4.14.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların karaciğer dokusu CAT aktiviteleri (Ort±SH).

Üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının beyin dokularındaki CAT aktiviteleri Şekil 4.15’de verilmiştir. Her iki deney süresi boyunca siyanür uygulanan gruplardaki sazan balıklarının beyin dokularındaki CAT aktiviteleri istatistiksel olarak önemsiz şekilde düşük bulunmuştur ( $p>0,05$ ). Kontrol grupları ve siyanür uygulanan grupların beyin dokusu CAT aktivitelerinde üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan gruplar arasında istatistiki bir fark görülmemiştir ( $p>0,05$ ).



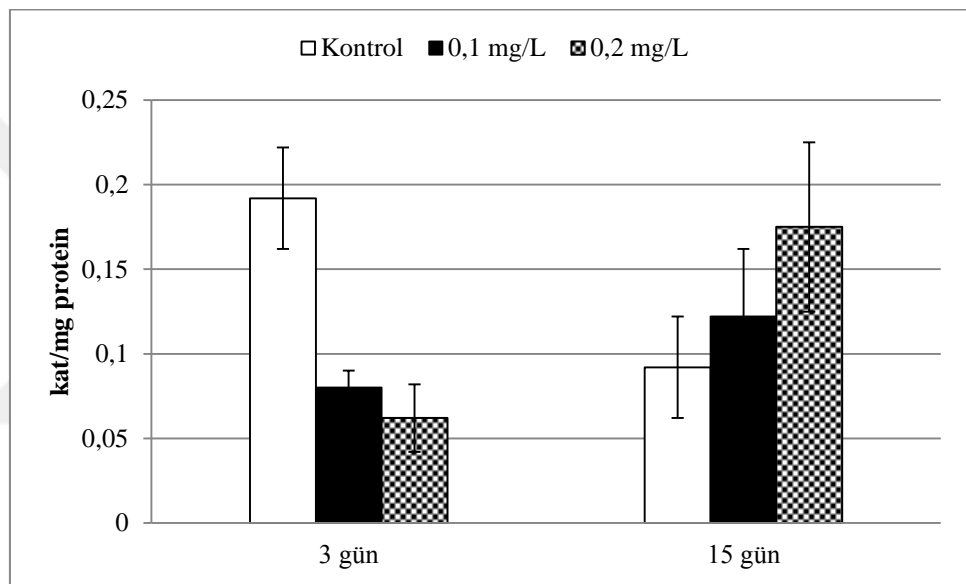
**Şekil 4.15.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların beyin dokusu CAT aktiviteleri (Ort±SH).

Farklı konsantrasyonlarda siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının solungaç dokularındaki CAT aktiviteleri Şekil 4.16’da verilmiştir. Her iki deney süresi boyunca siyanür uygulanan gruplardaki sazan balıklarının solungaç dokularındaki CAT aktiviteleri kontrol grubuna göre biraz düşük bulunmuştur ( $p>0,05$ ). 0,2 mg/L siyanüre maruz kalan sazan balıklarının CAT aktivitelerinin 0,1 mg/L uygulanan gruba göre yükseldiği görülmüştür. Aynı zamanda farklı sürelerde aynı doz siyanür uygulanan gruplar arasında da fark olmadığı tespit edilmiştir.



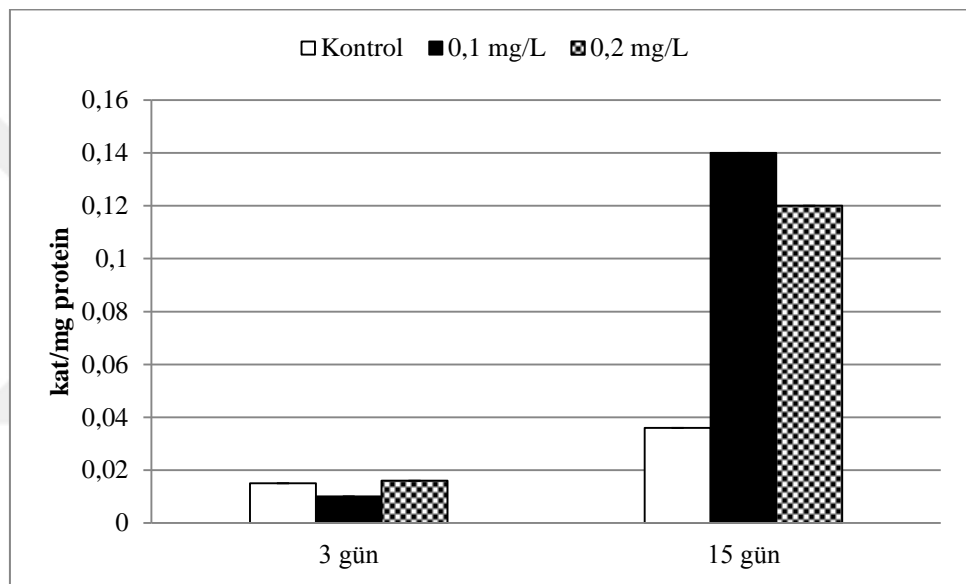
**Şekil 4.16.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların solungaç dokusu CAT aktiviteleri (Ort±SH).

Üç ve on beş gün süre ile farklı dozlarda siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının bağırsak dokularındaki CAT aktiviteleri Şekil 4.17’de verilmiştir. Üç gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının bağırsak dokularındaki CAT aktiviteleri kontrol grubuna göre biraz düşük bulunmuştur ( $p>0,05$ ). On beş gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının bağırsak dokularındaki CAT aktiviteleri ise kontrol grubuna göre biraz yüksek bulunmuştur ( $p>0,05$ ). On beş gün süre ile siyanüre maruz kalan balıkların bağırsak dokuları CAT aktiviteleri uygulanan konsantrasyonla doğru orantılı olarak artmıştır.



**Şekil 4.17.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların bağırsak dokusu CAT aktiviteleri (Ort±SH).

Üç ve on beş gün süre ile farklı dozlarda siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının deri dokularındaki CAT aktiviteleri Şekil 4.18’de verilmiştir. Üç gün süre ile 0,1 mg/L siyanüre maruz kalan sazan balıklarının deri dokularındaki CAT aktiviteleri kontrol grubuna göre azalmış, 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların ise artmıştır. On beş gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının deri dokularındaki CAT aktiviteleri biraz düşük bulunmuştur ( $p>0,05$ ). Üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan grupların deri dokusu CAT aktiviteleri arasında önemli bir fark tespit edilmemiştir ( $p>0,05$ ).

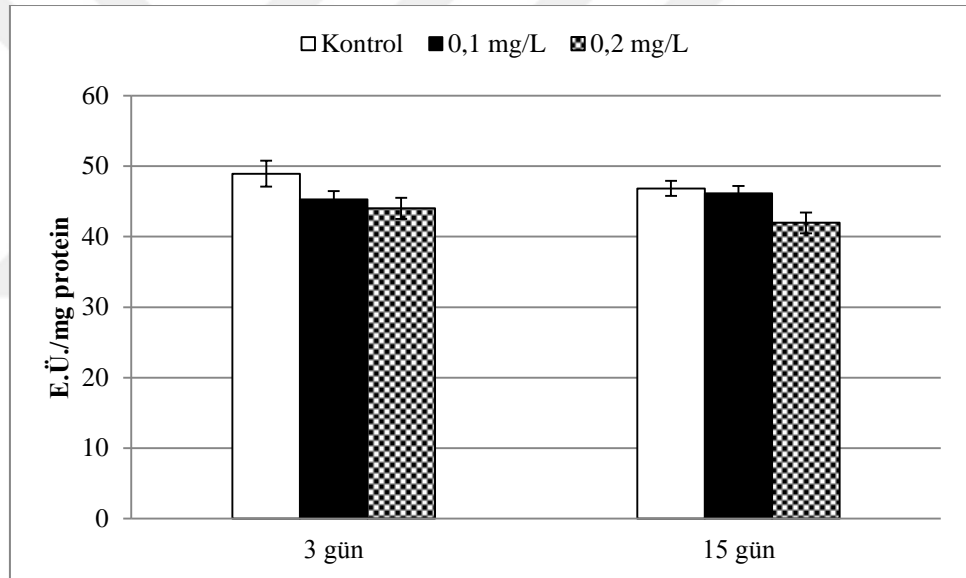


**Şekil 4.18.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların deri dokusu CAT aktiviteleri (Ort±SH).

CAT aktivitesi en yüksek olan dokunun karaciğer olduğu tespit edilmiştir. Üç ve on beş gün süre ile devam eden tüm deney boyunca siyanüre maruz kalan sazan balıklarının tüm dokuları (On beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan balıkların bağırsak dokuları hariç) inhibisyona uğramıştır.

#### 4.4.2. Süperoksit dismutaz aktiviteleri

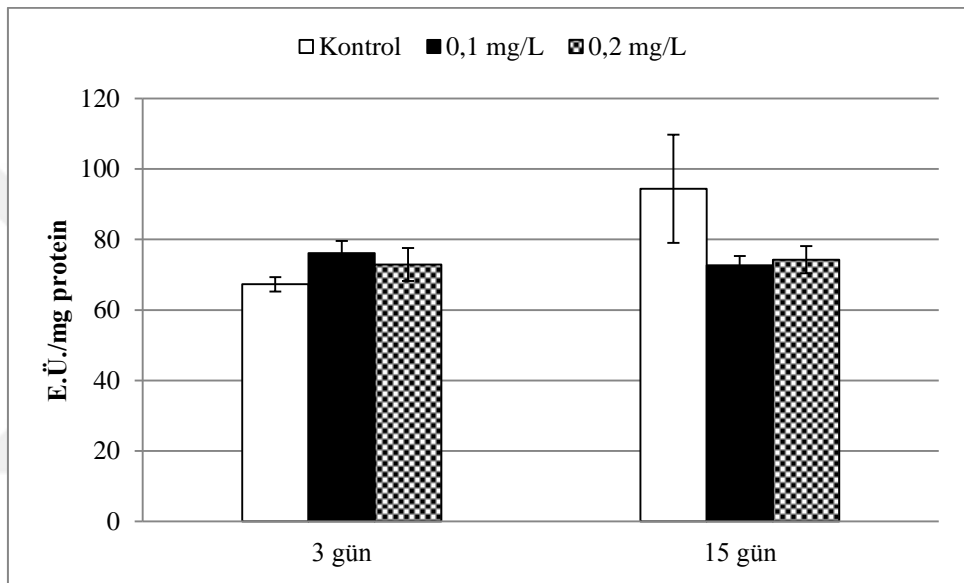
Üç ve on beş gün süre ile farklı konsantrasyonlarda siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının kas dokularındaki SOD aktiviteleri Şekil 4.19’da verilmiştir. Üç gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonlarda siyanüre maruz kalan balıkların kas dokularında SOD aktiviteleri istatistiksel olarak önemli olmamakla birlikte düşük bulunmuştur ( $p>0,05$ ). On beş gün süre ile 0,1 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan sazan balıklarının SOD aktivitelerindeki düşüş önemsiz iken, 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz bırakılan balıkların SOD aktivitelerindeki düşüş önemli bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Aynı konsantrasyonda üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan balıkların SOD aktiviteleri arasında önemli bir değişim tespit edilmemiştir.



**Şekil 4.19.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların kas dokusu SOD aktiviteleri (Ort±SH).

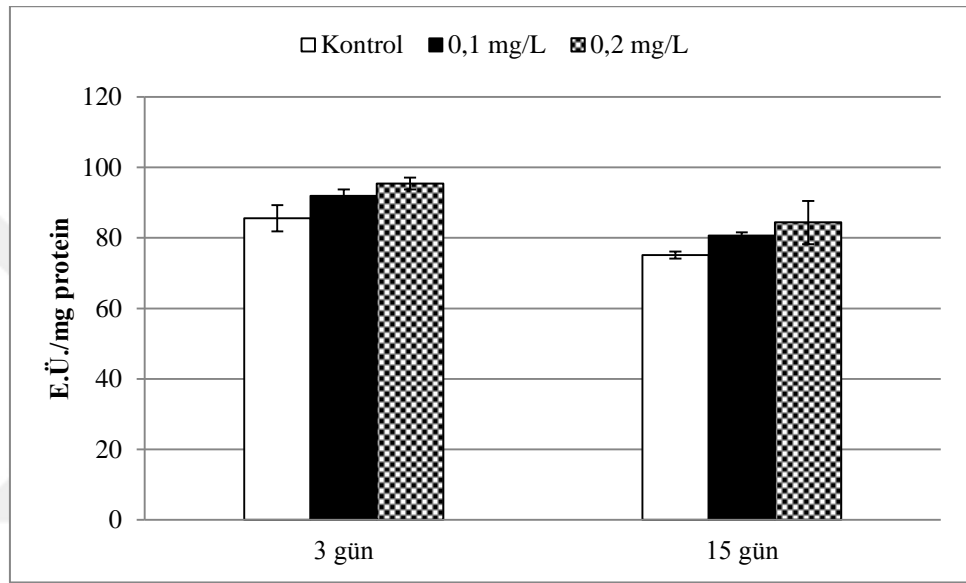


Üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının karaciğer dokularındaki SOD aktiviteleri Şekil 4.20’de verilmiştir. Üç gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan sazan balıklarının karaciğer dokularındaki SOD aktiviteleri biraz yüksek bulunmuştur ( $p>0,05$ ). On beş gün boyunca 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların SOD aktiviteleri bir miktar inhibe olmuştur ( $p>0,05$ ). Aynı konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların SOD aktiviteleri maruz bırakma süresinden önemli ölçüde etkilenmemiştir.



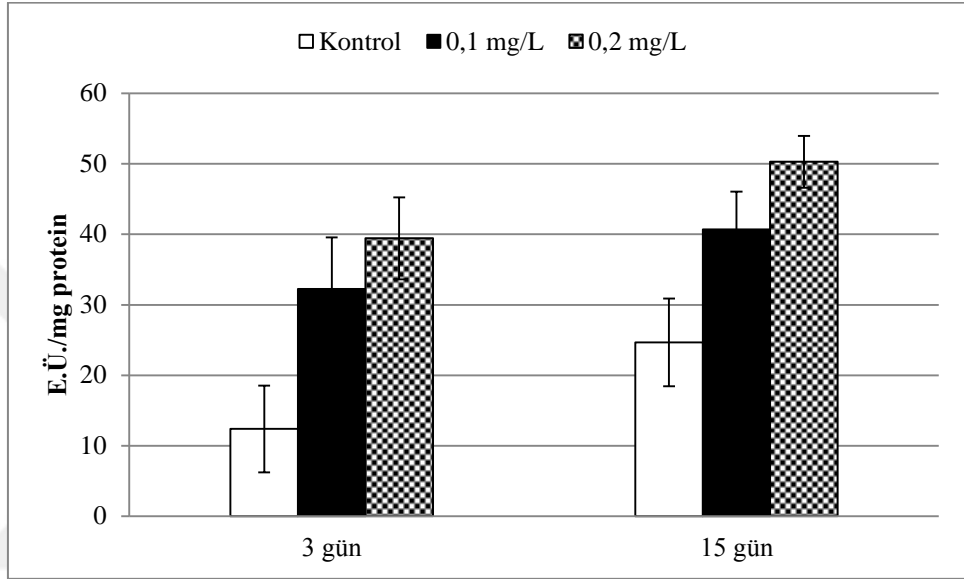
**Şekil 4.20.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların karaciğer dokusu SOD aktiviteleri (Ort±SH).

Farklı konsantrasyonlarda siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının beyin dokularındaki SOD aktiviteleri Şekil 4.21’de verilmiştir. Üç ve on beş gün süre ile farklı konsantrasyonlarda siyanür uygulanan sazan balıklarının sinir sisteminin en önemli organlarından beyin dokusunda SOD aktiviteleri istatistiksel olarak önemli olmasa da yüksek bulunmuştur ( $p>0,05$ ). Aynı konsantrasyonda üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan balıkların beyin dokuları SOD aktiviteleri arasında önemli bir değişim tespit edilmemiştir.



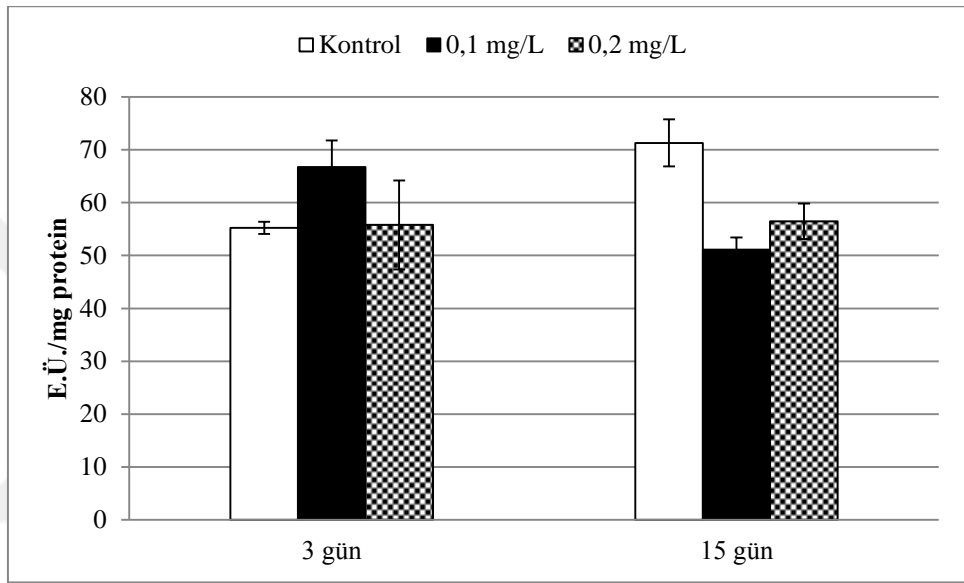
**Şekil 4.21.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların beyin dokusu SOD aktiviteleri (Ort±SH).

Farklı konsantrasyonlarda siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının solungaç dokularındaki SOD aktiviteleri Şekil 4.22’de verilmiştir. Üç gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan sazan balıklarının solungaç dokularında SOD aktiviteleri hafif derecede artmıştır. On beş gün süre ile 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanür uygulanan balıkların solungaç dokusu SOD aktiviteleri anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ).



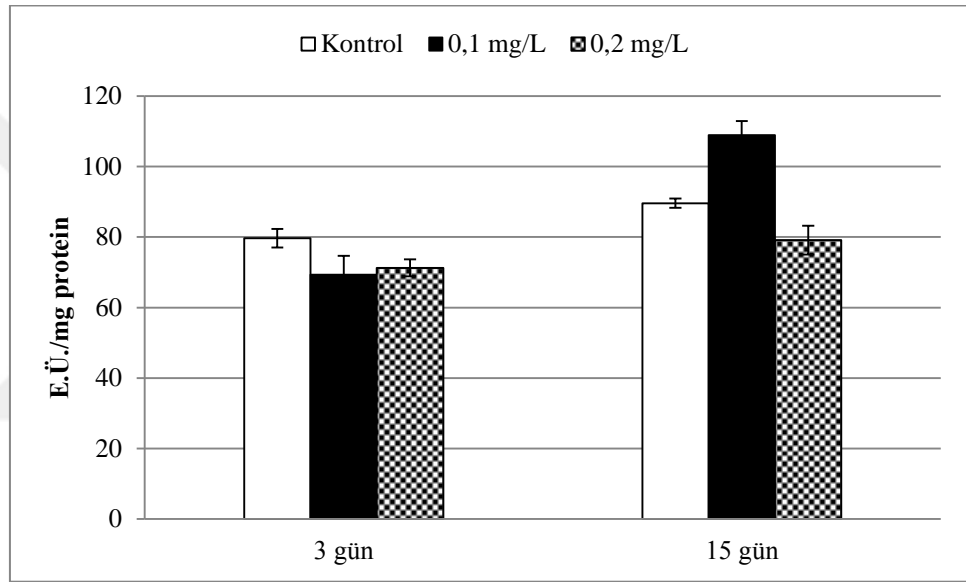
**Şekil 4.22.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların solungaç dokusu SOD aktiviteleri (Ort±SH).

Farklı konsantrasyonlarda üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının bağırsak dokularındaki SOD aktiviteleri Şekil 4.23’de verilmiştir. Üç gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan grupların bağırsak dokuları SOD aktiviteleri biraz yüksek bulunmuştur ( $p>0,05$ ). Üç günlük deneyin aksine on beş gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan sazan balıklarının bağırsak dokusunda SOD aktiviteleri önemli derecede düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ).



**Şekil 4.23.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların bağırsak dokusu SOD aktiviteleri (Ort±SH).

Deneyde kullanılan balıkların deri dokularındaki SOD aktiviteleri Şekil 4.24’de verilmiştir. Üç gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan sazan balıklarının deri dokularında SOD aktiviteleri biraz düşük bulunmuştur ( $p>0,05$ ). On beş gün süre ile 0,1 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan sazan balıklarının deri dokularında SOD aktiviteleri kontrol grubu ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanür uygulanan gruptan önemli ölçüde yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). On beş gün süre ile 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan sazan balıklarının deri dokusu SOD aktivitelerindeki değişim ise önemsiz bulunmuştur ( $p>0,05$ ).

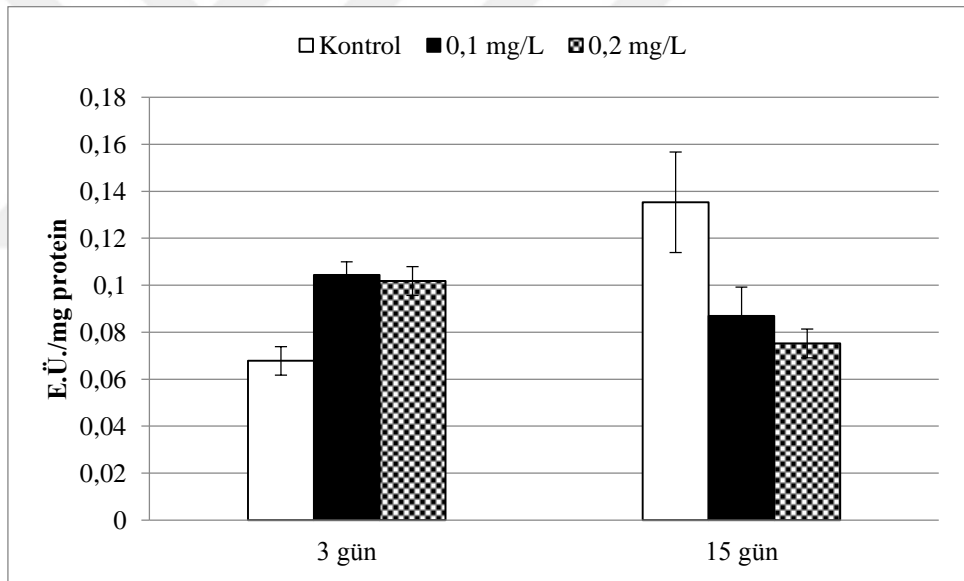


**Şekil 4.24.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların deri dokusu SOD aktiviteleri (Ort±SH).

Deneylerde kullanılan balıkların tüm dokuların SOD aktivitelerinin birbirine yakın seviyelerde olduğu görülmüştür. On beş gün siyanüre maruz bırakılan balıkların kas ve solungaç dokuları SOD aktiviteleri önemli şekilde inhibe olmuştur.

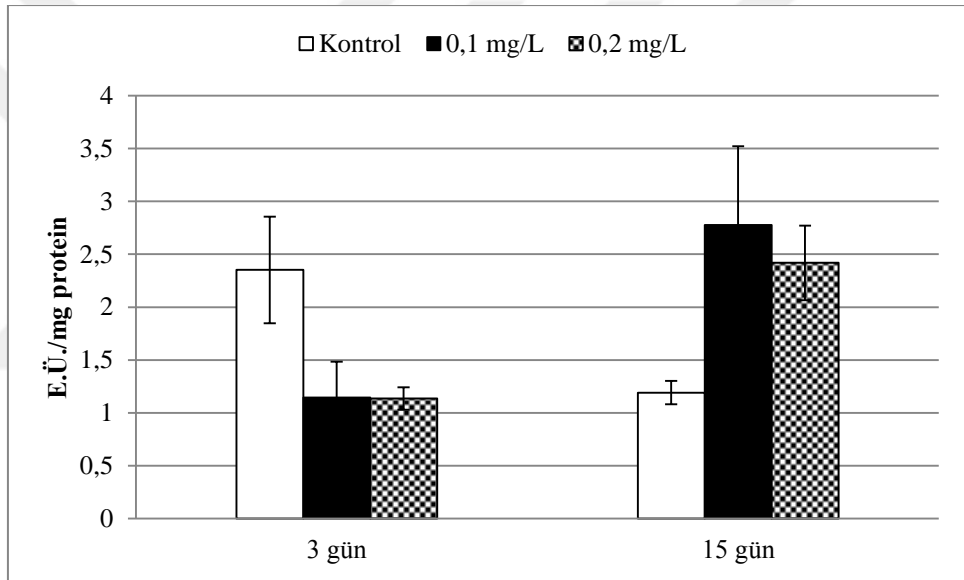
#### 4.4.3. Karbonik anhidraz aktiviteleri

Farklı konsantrasyonlarda üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının kas dokularındaki CA aktiviteleri Şekil 4.25’de verilmiştir. Üç gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan sazan balıklarının kas dokularında CA aktiviteleri istatistiksel açıdan önemi olmamakla birlikte biraz yüksek bulunmuştur ( $p>0,05$ ). On beş gün süre ile siyanüre maruz kalan balıkların CA aktivitelerindeki düşüş 0,1 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıklarda önemsiz ( $p>0,05$ ), 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıklarda ise önemli bulunmuştur ( $p<0,05$ ). On beş gün süre ile 0,2 mg/L siyanüre maruz bırakılan balıkların kas dokusu CA aktiviteleri, üç gün süre ile aynı konsantrasyonda maruz bırakılan balıkların CA aktivitelerinden önemli derecede düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ).



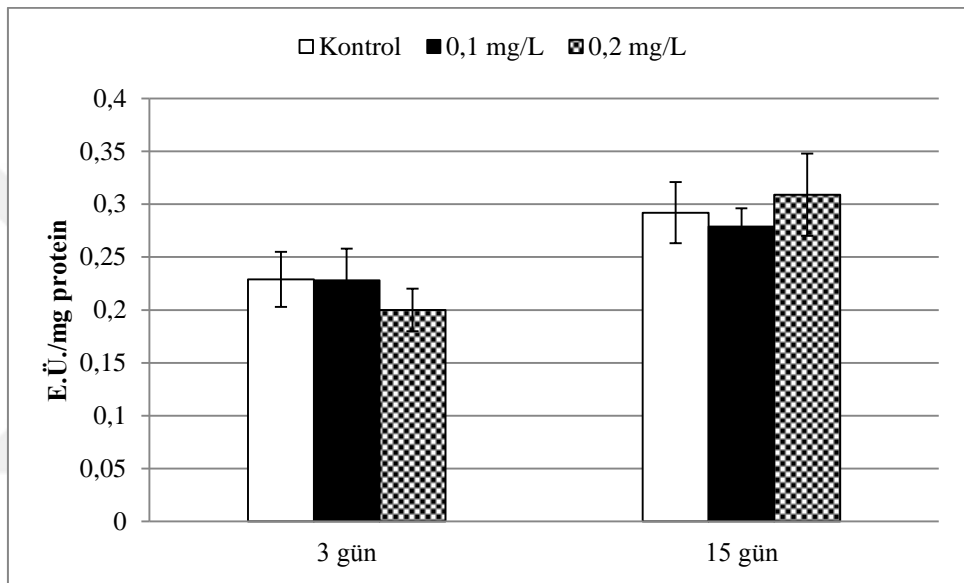
**Şekil 4.25.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların kas dokusu CA aktiviteleri (Ort±SH).

Deneylerde kullanılan balıkların karaciğer dokularındaki CA aktiviteleri Şekil 4.26'da verilmiştir. Üç gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan sazan balıklarının karaciğer dokusundaki CA aktiviteleri bir miktar düşüş göstermiştir ( $p>0,05$ ). On beş gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan sazan balıklarının karaciğer dokularında CA aktiviteleri ise biraz artmıştır ( $p>0,05$ ). On beş gün süre ile 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların CA aktivitelerinin üç gün süre ile aynı konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıklara göre önemli ölçüde yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). Ayrıca karaciğer dokusu CA aktiviteleri çalışılan diğer dokulardan daha yüksek bulunmuştur.



**Şekil 4.26.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların karaciğer dokusu CA aktiviteleri (Ort±SH).

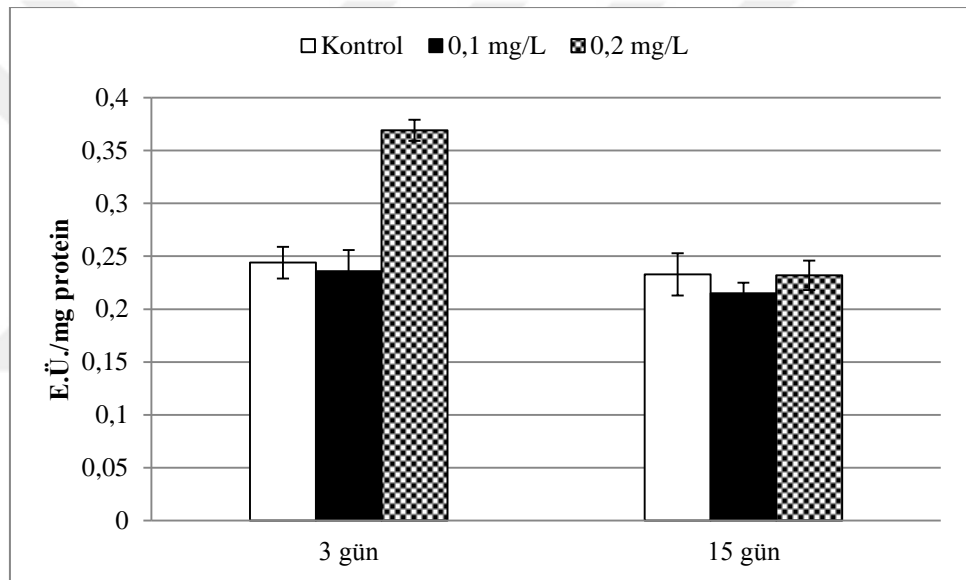
Üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının beyin dokularındaki CA aktiviteleri Şekil 4.27’de verilmiştir. Üç gün süre ile 0,1 mg/L, 0,2 mg/L ve on beş gün süre ile 0,1 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan sazan balıklarının beyin dokusu CA aktiviteleri biraz düşmüştür ( $p>0,05$ ). On beş gün süre ile 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların beyin dokusu CA aktivitelerinin üç gün süre ile aynı konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıklara göre önemli ölçüde yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ).



**Şekil 4.27.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların beyin dokusu CA aktiviteleri (Ort±SH).

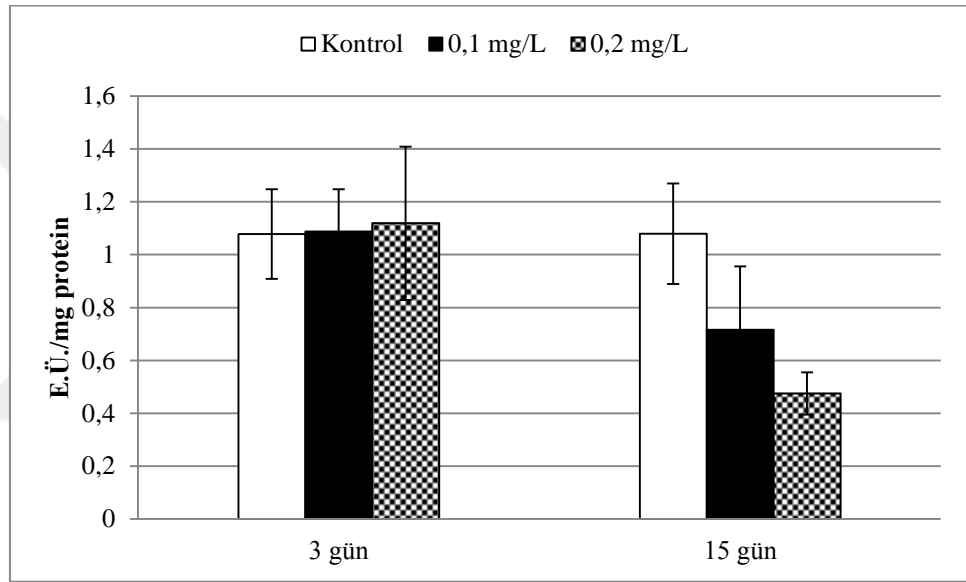


Farklı konsantrasyonlarda siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının solungaç dokularındaki CA aktiviteleri Şekil 4.28'de verilmiştir. Üç gün süre ile 0,1 mg/L konsantrasyon ve on beş gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalmış sazan balıklarının solungaç dokularındaki CA aktiviteleri bir miktar düşmüştür ( $p>0,05$ ). Üç gün süre ile 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların solungaç dokusu CA aktiviteleri ise önemli derecede yüksek bulunmuştur ( $p>0,05$ ). Üç gün süre ile siyanüre maruz kalan balıkların solungaç dokusu CA aktiviteleri ile on beş gün süre ile maruz kalan balıkların solungaç dokusu CA aktiviteleri arasında önemli bir değişimin olmadığı tespit edilmiştir ( $p>0,05$ ).



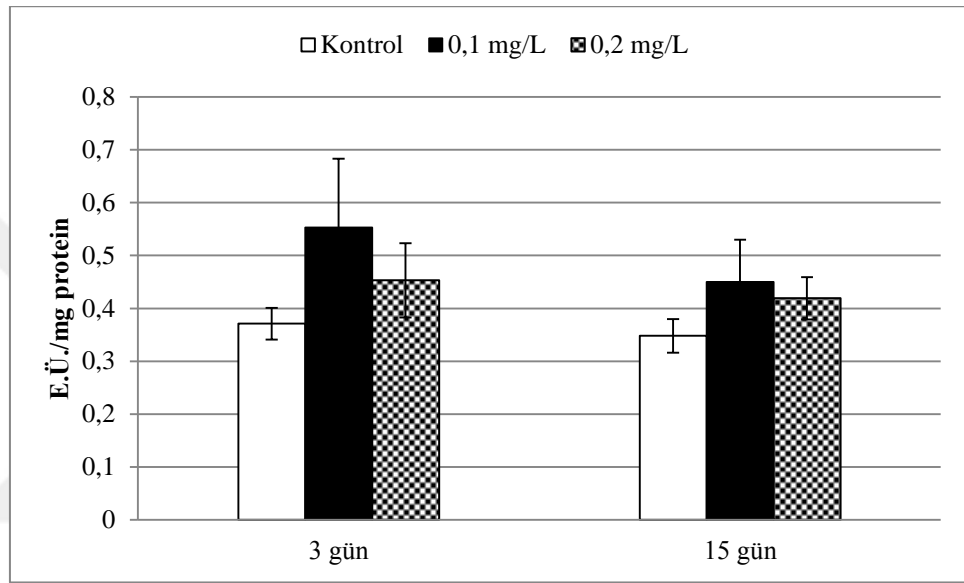
**Şekil 4.28.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların solungaç dokusu CA aktiviteleri (Ort±SH).

Farklı konsantrasyonlarda üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının bağırsak dokularındaki CA aktiviteleri Şekil 4.29’da verilmiştir. Üç gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların bağırsak dokusu CA aktiviteleri artmış, on beş gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonda maruz kalan balıklarda ise azalmıştır. On beş gün süre ile 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların CA aktivitelerindeki düşüş istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Farklı sürelerde aynı konsantrasyonda siyanüre maruz bırakılan balıkların bağırsak dokuları CA aktiviteleri önemli bir değişim göstermemiştir.



**Şekil 4.29.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların bağırsak dokusu CA aktiviteleri (Ort±SH).

Üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının deri dokularındaki CA aktiviteleri Şekil 4.30'da verilmiştir. Üç ve on beş gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan sazan balıklarının deri dokularındaki CA aktiviteleri bir miktar yüksek bulunmuştur ( $p>0,05$ ). Üç ve on beş gün süre ile 0,1 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların CA aktiviteleri 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların CA aktivitelerinden yüksek olduğu görülmüştür.

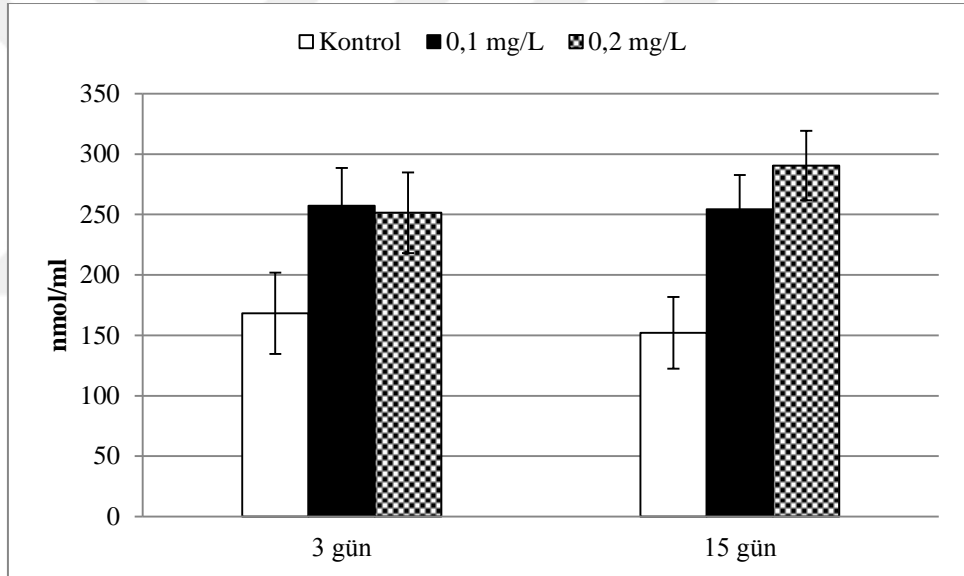


**Şekil 4.30.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların deri dokusu CA aktiviteleri (Ort±SH).

Karaciğer dokusu CA aktivitelerinin incelenen tüm dokulardan daha yüksek olduğu görülmüştür. CA enzimi solunum ve ozmoregülasyon gibi fizyolojik olaylarda görev almasına rağmen, solungaç dokunun CA aktiviteleri siyanür maruziyeti ile önemli derecede değişmemiştir. Üç gün süre ile siyanüre maruz kalan balıkların karaciğer CA aktiviteleri azalırken, on beş gün siyanüre maruz kalan balıkların karaciğer CA aktiviteleri ise artmıştır.

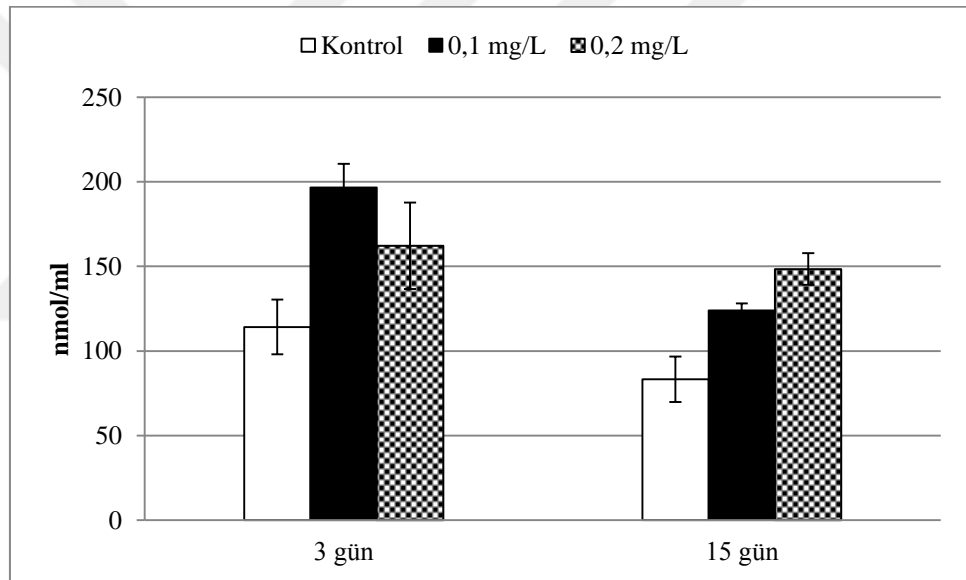
#### 4.4.4. Malondialdehit düzeyleri

Farklı konsantrasyonlarda üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının kas dokularındaki MDA düzeyleri Şekil 4.31’de verilmiştir. Üç gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan sazan balıklarının kas dokularında hücre hasarının en önemli göstergelerinden olan lipid peroksidasyon ürünü MDA seviyelerinin bir miktar artış gösterdiği tespit edilmiştir ( $p>0,05$ ). On beş gün süre ile her iki konsantrasyonda siyanüre maruz kalan sazan balıklarının kas dokuları MDA düzeyleri ise önemli derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). On beş gün süre ile siyanüre maruz kalan balıkların kas dokusu MDA düzeyleri ile üç gün süre ile maruz kalan balıkların kas dokusu MDA düzeyleri arasında önemli bir değişim gözlenmemiştir ( $p>0,05$ ).



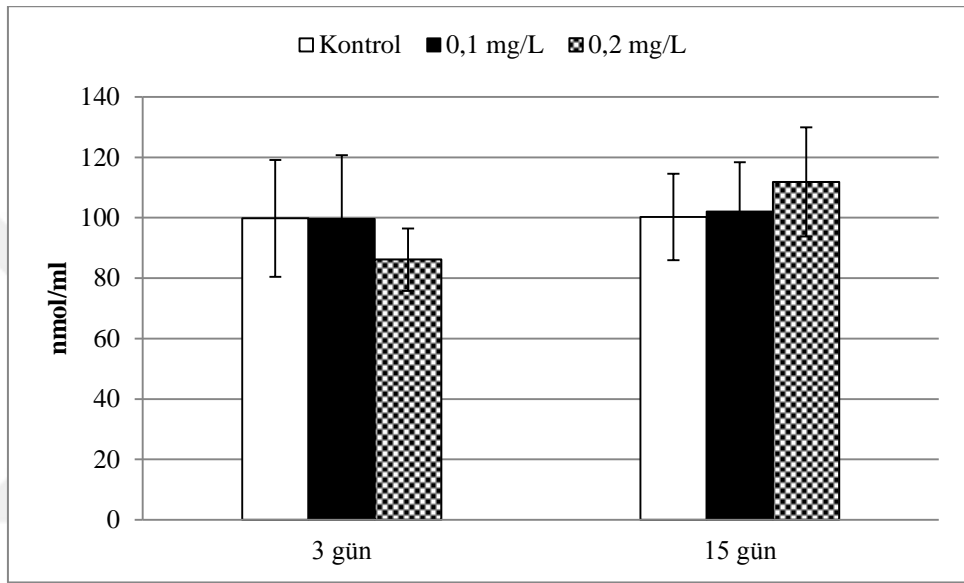
**Şekil 4.31.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların kas dokusu MDA düzeyleri (Ort±SH).

Deneylerde kullanılan balıkların karaciğer dokusu MDA düzeyleri Şekil 4.32’de verilmiştir. Üç gün süre ile 0,1 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan sazan balıklarının karaciğer dokularındaki MDA düzeyleri önemli ölçüde yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Üç gün süre ile 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanür uygulanan bakıların karaciğer MDA düzeyleri de kontrol grubuna göre yüksek bulunsa da istatistiki açıdan önemli olmadığı tespit edilmiştir ( $p>0,05$ ). On beş gün süre ile her iki konsantrasyonda siyanüre maruz kalan sazan balıklarının karaciğer dokuları MDA düzeyleri önemli derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). On beş gün süre ile 0,1 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların karaciğer dokusu MDA düzeyleri üç gün süre ile aynı konsantrasyona maruz kalan balıkların MDA düzeylerinden önemli ölçüde düşük çıkmıştır ( $p<0,05$ ).



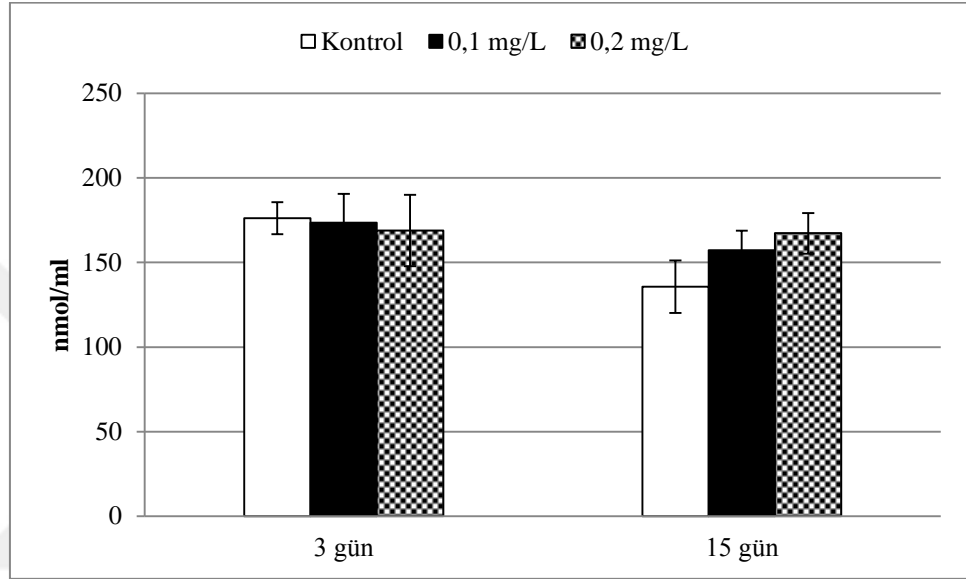
**Şekil 4.32.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların karaciğer dokusu MDA düzeyleri (Ort±SH).

Üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının beyin dokularındaki MDA düzeyleri Şekil 4.33’de verilmiştir. Üç gün süre ile siyanüre maruz kalan balıkların beyin dokuları MDA düzeyleri kontrol grubu ile hemen hemen aynı bulunmuştur. 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların beyin dokuları MDA düzeyleri ise bir miktar düşüş göstermiştir ( $p>0,05$ ). On beş gün süre ile her iki konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların da MDA düzeyleri kontrol grubuna göre biraz yüksek bulunmuştur ( $p>0,05$ ).



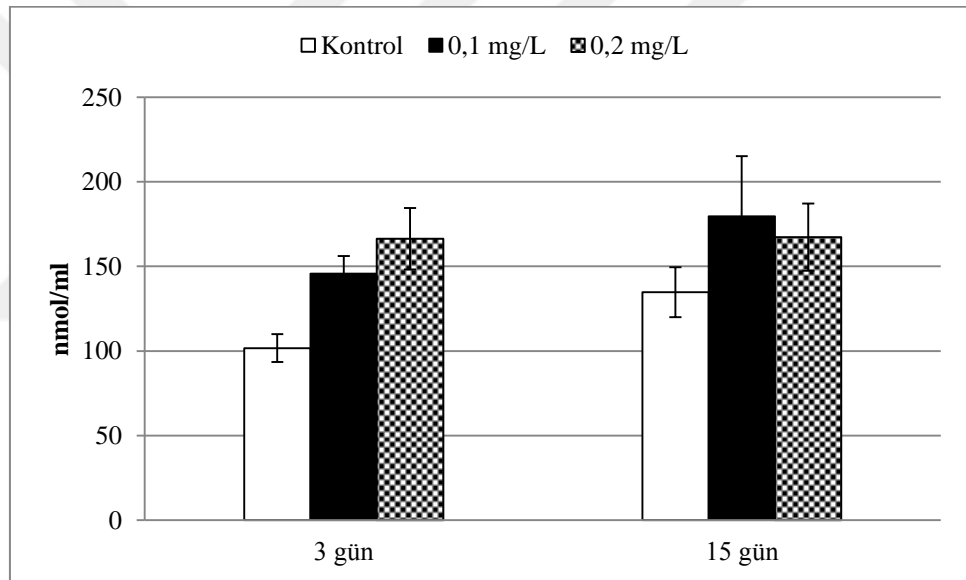
**Şekil 4.33.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların beyin dokusu MDA düzeyleri (Ort±SH).

Farklı konsantrasyonlarda siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının solungaç dokularındaki MDA düzeyleri Şekil 4.34'de verilmiştir. Üç gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan sazan balıklarının solungaç dokuları MDA düzeyleri bir miktar azalmıştır ( $p>0,05$ ). On beş gün süre ile her iki konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların solungaç dokusu MDA düzeyleri ise biraz artış göstermiştir ( $p>0,05$ ).



**Şekil 4.34.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların solungaç dokusu MDA düzeyleri (Ort±SH).

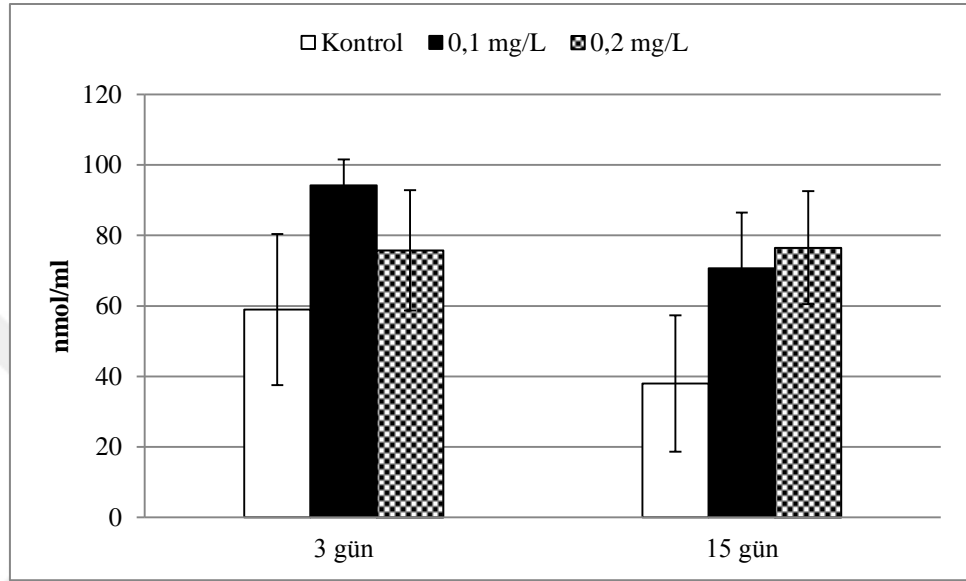
Farklı konsantrasyonlarda üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının bağırsak dokularındaki MDA düzeyleri Şekil 4.35’de verilmiştir. Üç gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan sazan balıklarının bağırsak dokuları MDA düzeylerindeki artış anlamsız, 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların bağırsak dokuları MDA düzeylerindeki artış ise anlamlıdır ( $p < 0,05$ ). On beş gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların bağırsak dokuları MDA düzeylerindeki artış önemsiz bulunmuştur ( $p > 0,05$ ). Üç gün süre ile farklı konsantrasyonlarda siyanüre maruz kalan balıkların bağırsak dokusu MDA düzeyleri ile on beş gün süre ile maruz kalan balıkların bağırsak dokusu MDA düzeyleri önemli bir değişim göstermemiştir ( $p > 0,05$ ).



**Şekil 4.35.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların bağırsak dokusu MDA düzeyleri (Ort±SH).



Deneyleerde kullanılan balıkların deri dokularındaki MDA düzeyleri Şekil 4.36'da verilmiştir. Üç ve on beş gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonlarda siyanüre maruz kalan sazan balıklarının deri dokularında MDA düzeylerindeki artış önemsiz bulunmuştur ( $p>0,05$ ).



**Şekil 4.36.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların deri dokusu MDA düzeyleri (Ort±SH).

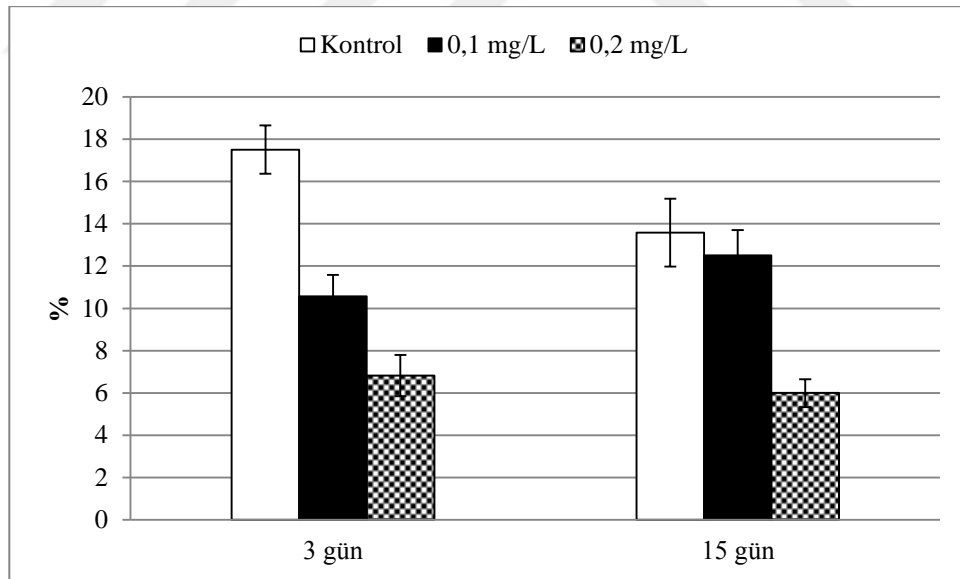
Siyanüre maruz kalan balıkların incelenen dokularındaki MDA düzeyleri, kontrol grubu balıkların aynı dokularının MDA düzeylerinden genelde daha yüksek olduğu görülmüştür. Üç gün süre ile siyanüre maruz bırakılan balıkların bağırsak ve on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan balıkların kas ve karaciğer dokuları MDA düzeylerinin kontrol grubu balıklarinkinden önemli ölçüde yüksek olduğu tespit edilmiştir.

#### 4.5. Histopatolojik analizler

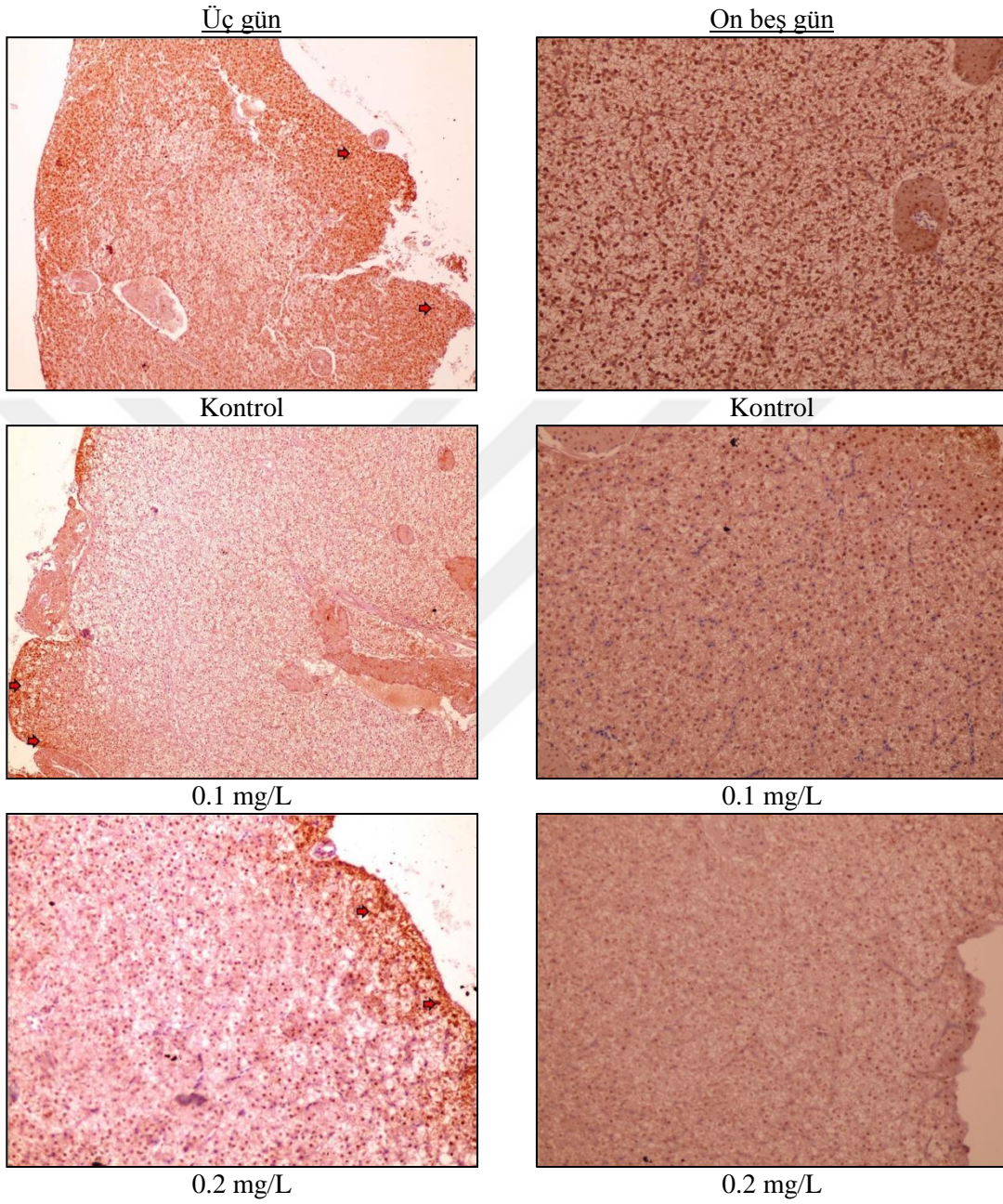
Deneyleerde kullanılan balıkların karaciğer, solungaç ve deri dokularında Bcl-2 ve Kaspaz-3 ekspresyon oranları tespit edilmiş ve dokular Hematoksilen&Eozin boyama ile histomorfolojik olarak incelenmiştir.

##### 4.5.1. Bcl - 2 ekspresyonu

Farklı konsantrasyonlarda üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının karaciğer dokularındaki Bcl-2 ekspresyon oranları Şekil 4.37 ve örnek resimler ise şekil 4.38'de verilmiştir. Üç gün süre ile 0,1 ve 0,2 mg/L siyanür konsantrasyonuna maruz bırakılan sazan balıklarının karaciğer dokularında Bcl-2 oranları önemli derecede düşük bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). On beş gün süre ile 0,1 ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların karaciğer dokularında Bcl-2 oranları da düşüş göstermiştir. Ancak, yalnızca 0,2 mg/L siyanür konsantrasyonuna maruz kalan balıkların karaciğer Bcl-2 oranlarındaki düşüş anlamlıdır ( $p < 0,05$ ). Karaciğer dokusunun Bcl-2 oranları üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan balıklar arasında önemli bir fark göstermemiştir ( $p > 0,05$ ).



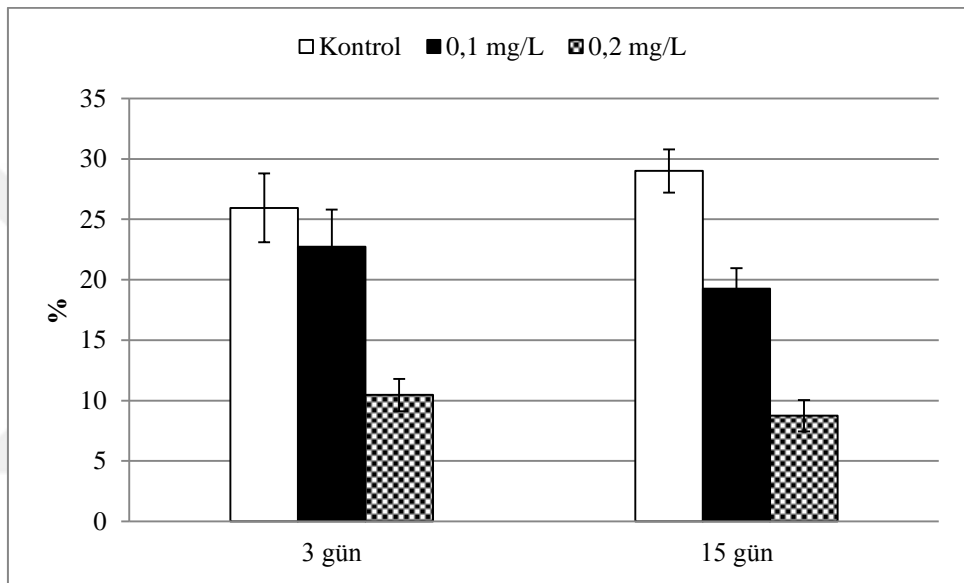
**Şekil 4.37.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların karaciğer dokusu Bcl-2 oranları (Ort±SH).



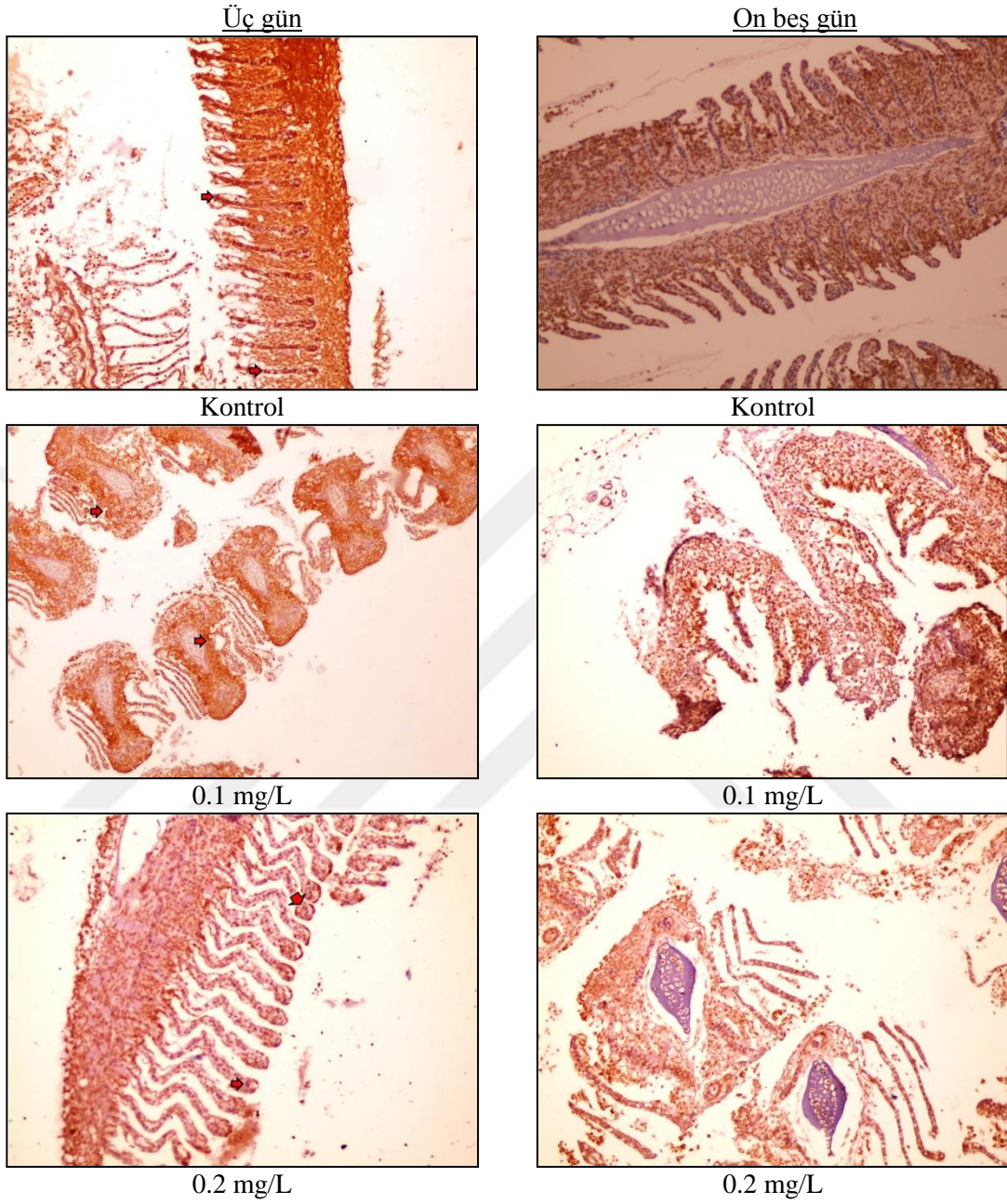
**Şekil 4.38.** Karaciğer dokusu Bcl-2 ekspresyonları (x200 büyütme).

Şekillerde koyu kahverengi ile gösterilen kısımlar Bcl-2 ekspresyon oranının yüksek olduğu hücreleri göstermektedir. Artan siyanür konsantrasyonu ile Bcl-2 ekspresyonlarının azaldığı görülmektedir.

Deneyleerde kullanılan balıkların solungaç dokularındaki Bcl-2 oranları Şekil 4.39'da ve örnek resimler ise şekil 4.40'da verilmiştir. Üç gün süre ile 0,2 mg/L, on beş gün süre ile hem 0,1 mg/L ve hem de 0,2 mg/L konsantrasyonlarda siyanüre maruz kalan balıkların solungaç dokuları Bcl-2 oranları önemli derecede düşük bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Farklı konsantrasyonlarda siyanüre on beş gün süre ile maruz kalan balıkların solungaç dokusu Bcl-2 oranları ile, üç gün süre ile maruz kalan balıkların solungaç dokusu Bcl-2 oranları arasında önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir ( $p > 0,05$ ).



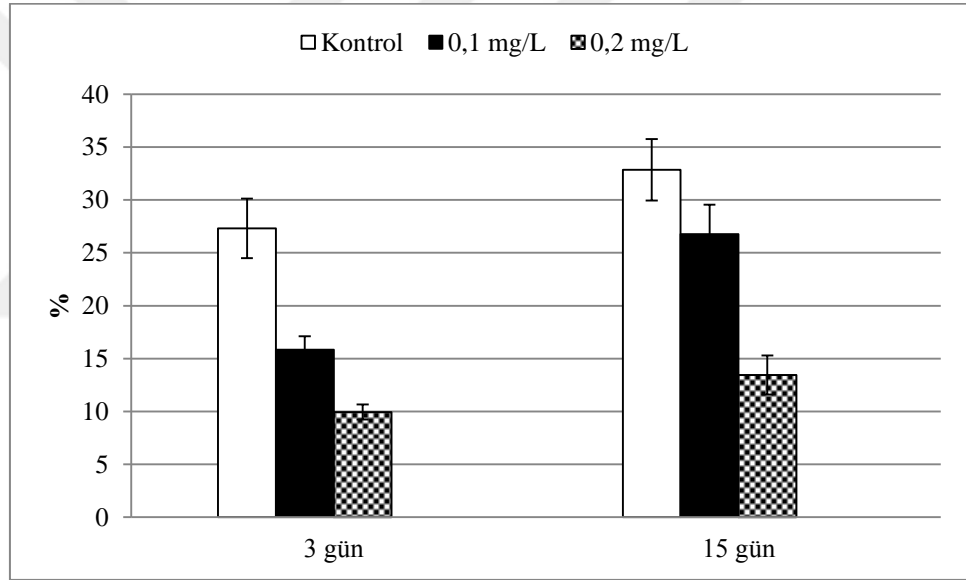
**Şekil 4.39.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların solungaç dokusu Bcl-2 yüzdeleri (Ort±SH).



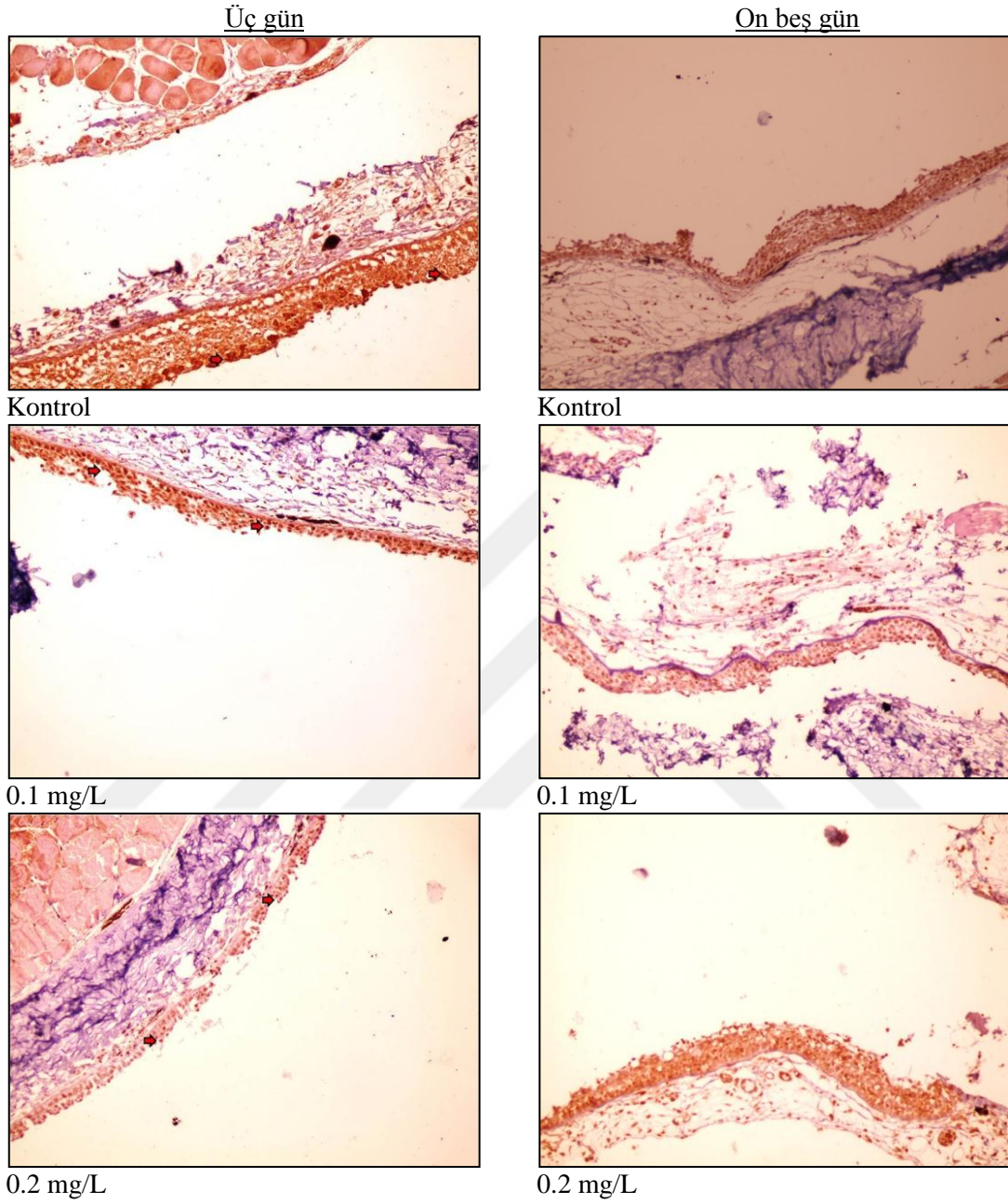
**Şekil 4.40.** Solungaç dokusu Bcl-2 ekspresyonları (x200 büyütme).

Şekildeki resimler incelendiğinde 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonlarda siyanüre maruz kalan balıkların Bcl-2 ekspresyonlarının azaldığı görülmektedir. 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyon için verilen resimlerde koyu kahverengi hücrelerin azaldığı görülmektedir.

Üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının deri dokularındaki Bcl-2 oranları Şekil 4.41’de ve örnek resimler ise şekil 4.42’de verilmiştir. Üç gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların deri dokularında Bcl-2 oranlarının önemli ölçüde düşük olduğu görülmüştür ( $p<0,05$ ). On beş gün süre ile her iki konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların deri dokularında Bcl-2 oranlarının azaldığı, ancak sadece 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların deri dokusu Bcl-2 oranlarındaki düşüşün önemli olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). Ayrıca on beş gün süre ile 0,1 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların deri dokusu Bcl-2 oranları, üç gün süre ile aynı konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların deri dokusu Bcl-2 oranlarına göre önemli derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ).



**Şekil 4.41.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların deri dokusu Bcl-2 yüzdeleri (Ort±SH).

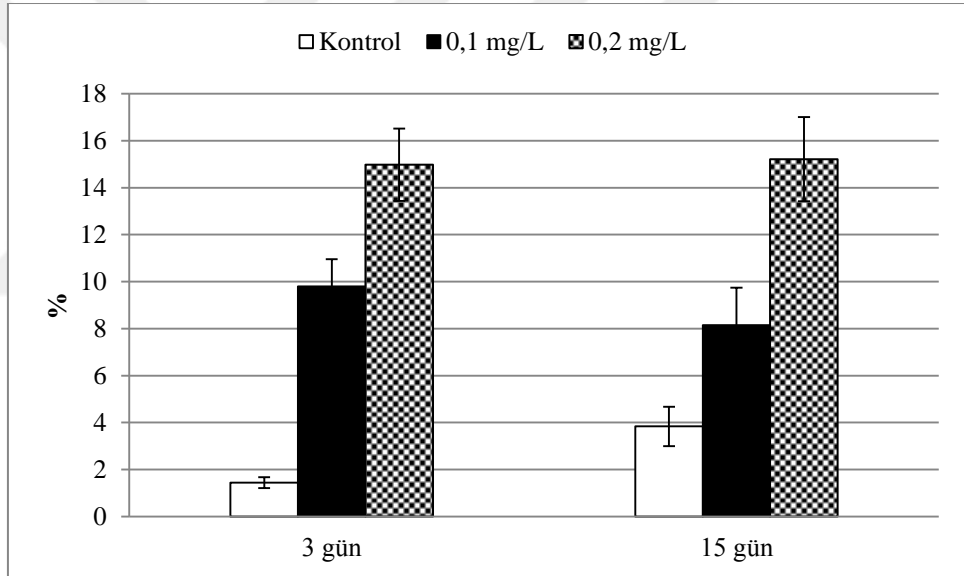


**Şekil 4.42.** Deri dokusu Bcl-2 ekspresyonları (x200 büyütme).

Üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz kalan balıklarda koyu kahverengi hücrelerin azaldığı görülmektedir. Bu durum siyanür maruziyeti ile Bcl-2 ekspresyonlarının azaldığına işaret etmektedir.

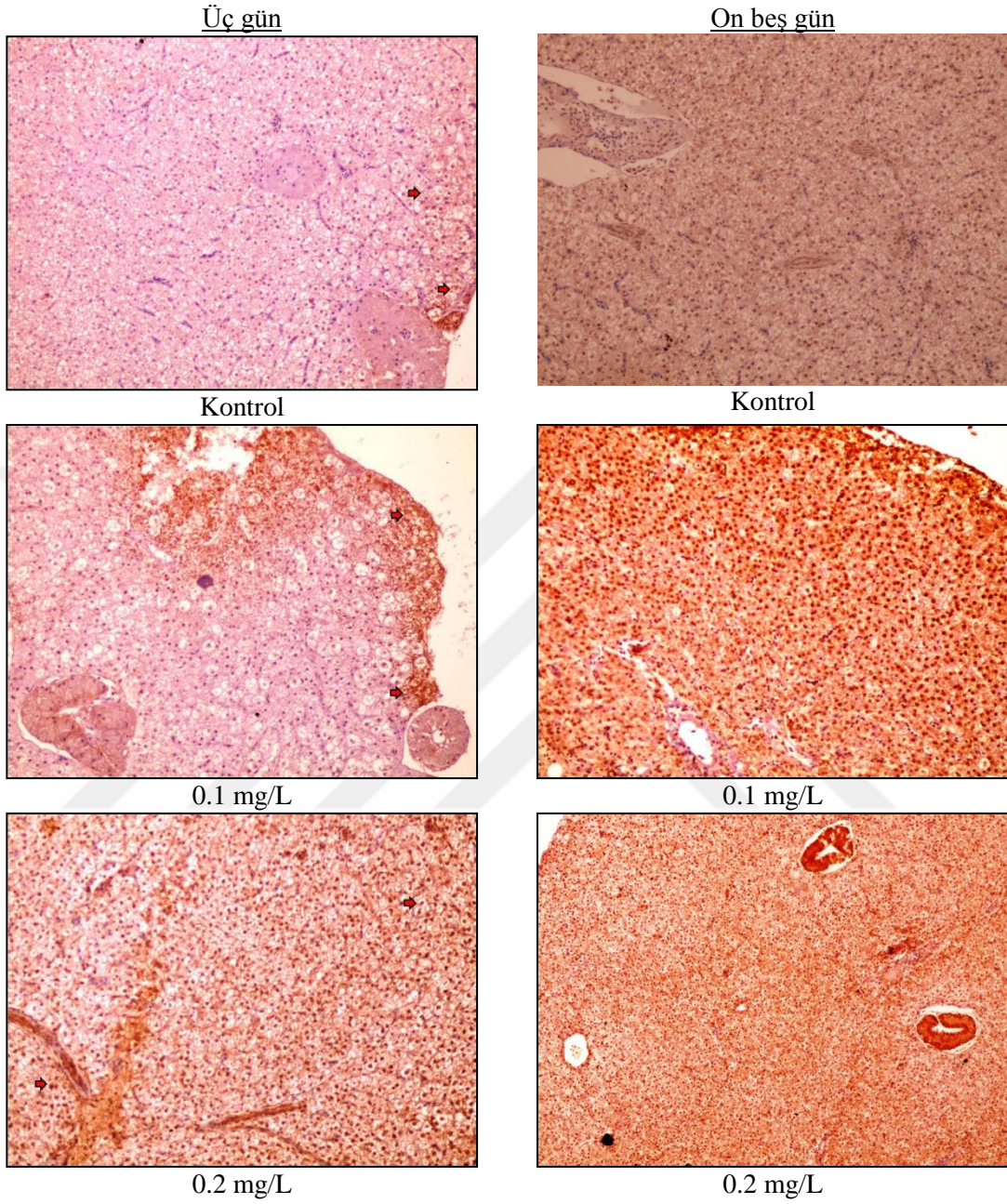
#### 4.5.2. Kaspaz-3 ekspresyonu

Farklı konsantrasyonlarda siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının karaciğer dokularındaki kaspaz-3 oranları Şekil 4.43’de ve örnek resimler ise şekil 4.44’de verilmiştir. Üç gün süre ile farklı konsantrasyonlarda siyanüre maruz kalan sazan balıklarının karaciğer dokularındaki kaspaz-3 oranları önemli ölçüde yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). On beş gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların karaciğer dokularındaki kaspaz-3 oranları da artış göstermiş, ancak sadece 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların karaciğer dokularındaki kaspaz-3 oranlarındaki artış anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan balıkların karaciğer dokusu kaspaz-3 ekspresyon oranları arasında önemli bir fark tespit edilmemiştir ( $p>0,05$ ).



**Şekil 4.43.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların karaciğer dokusu kaspaz-3 yüzdeleri (Ort±SH).

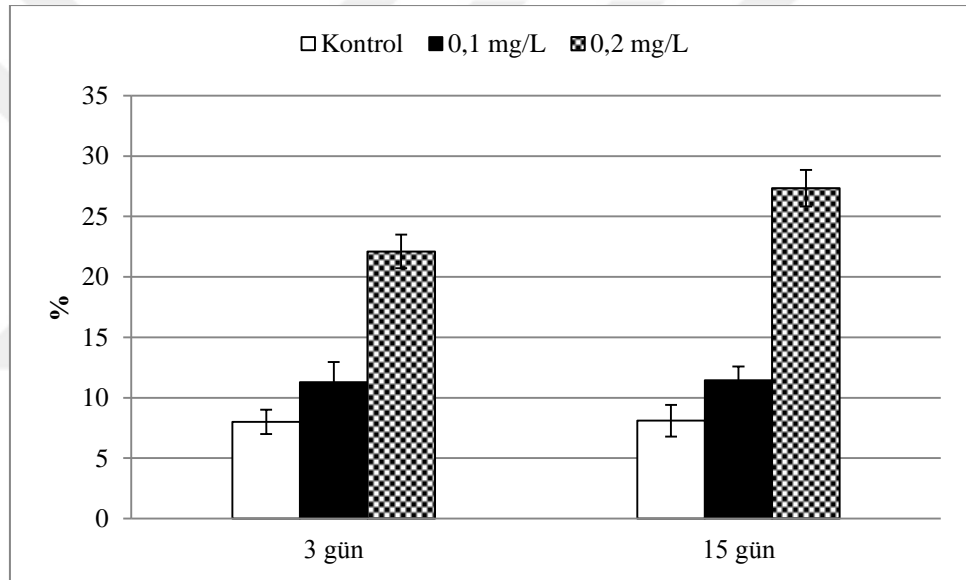




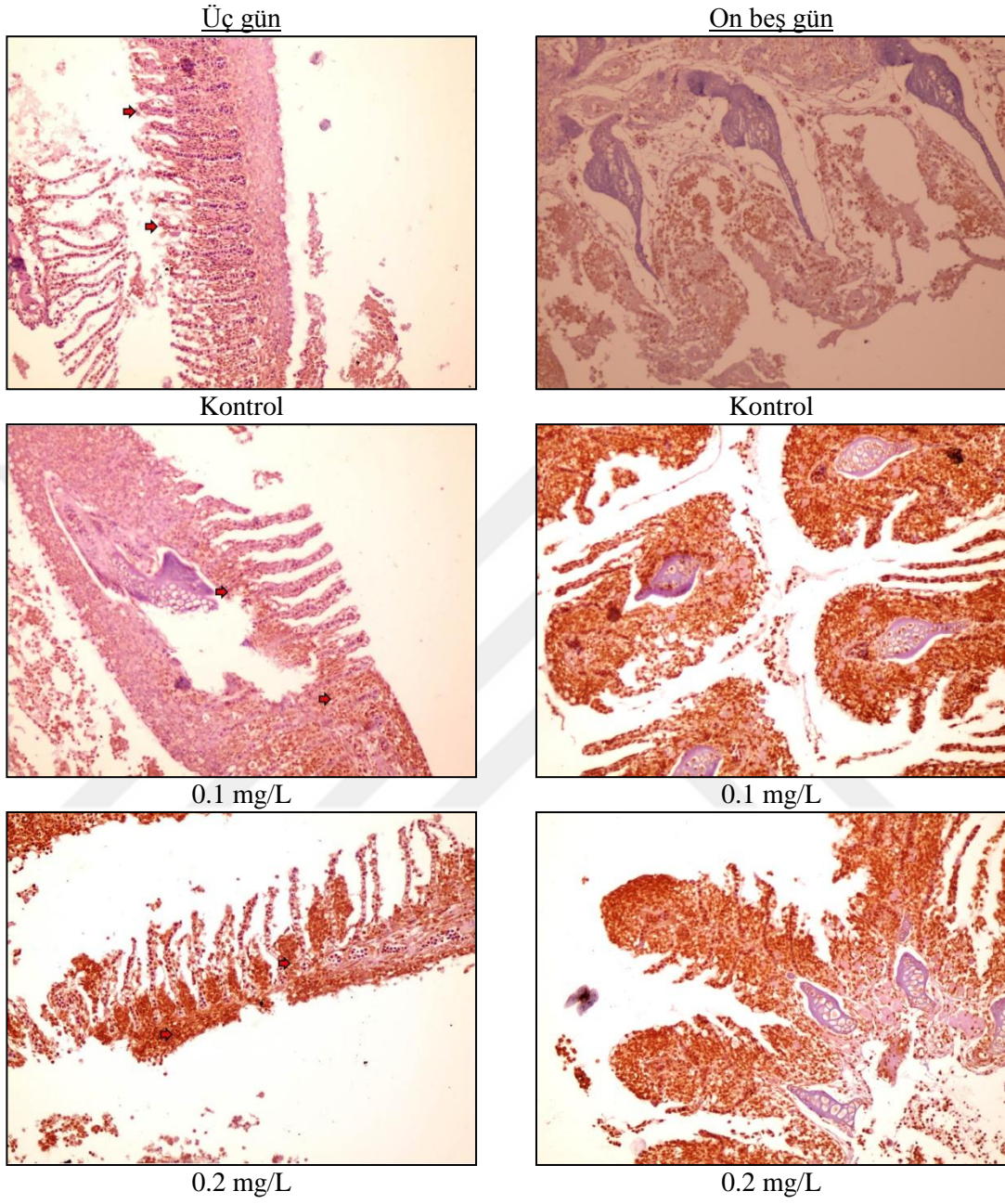
**Şekil 4.44.** Karaciğer dokusu kaspaz-3 ekspresyonları (x200 büyütme).

Resimlerde koyu kahverengi ile görülen hücreler kaspaz-3 ekspresyonlarının yüksek olduğu hücreleri göstermektedir. Karaciğer dokusunda siyanür maruziyeti ile kaspaz-3 ekspresyonlarının arttığı görülmektedir.

Farklı konsantrasyonlarda üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının solungaç dokularındaki kaspaz-3 oranları Şekil 4.45’de ve örnek resimler Şekil 4.46’da verilmiştir. Üç ve on beş gün süre ile farklı konsantrasyonlarda siyanür maruziyeti solungaç dokusu kaspaz-3 oranını artırmıştır. Ancak üç ve on beş gün süre ile sadece 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların solungaç dokularında kaspaz-3 oranları önemli derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Aynı zamanda on beş gün boyunca 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların solungaç dokuları kaspaz-3 oranının, üç gün süre ile aynı konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların solungaç dokuları kaspaz-3 oranına göre de önemli derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ).



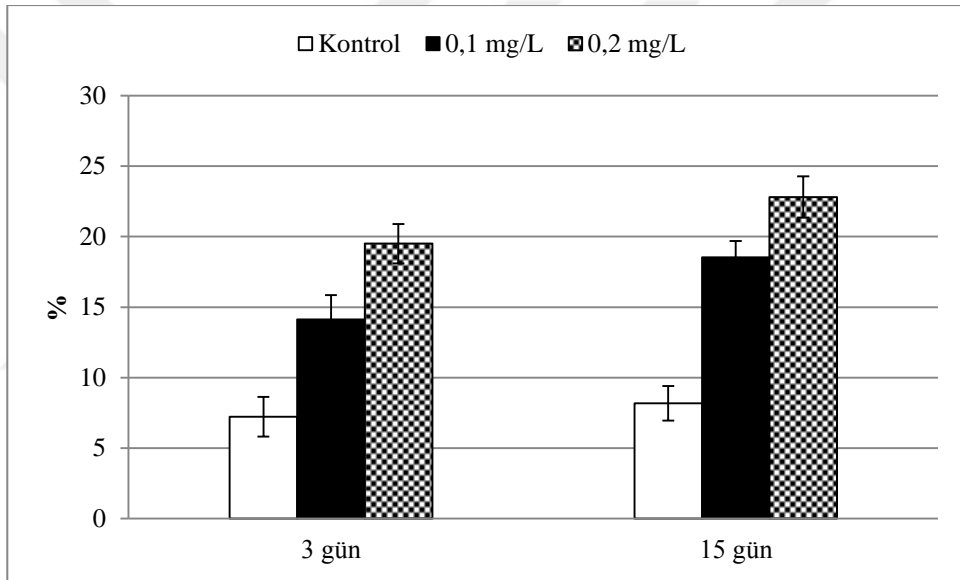
**Şekil 4.45.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların solungaç dokusu kaspaz-3 yüzdeleri (Ort±SH).



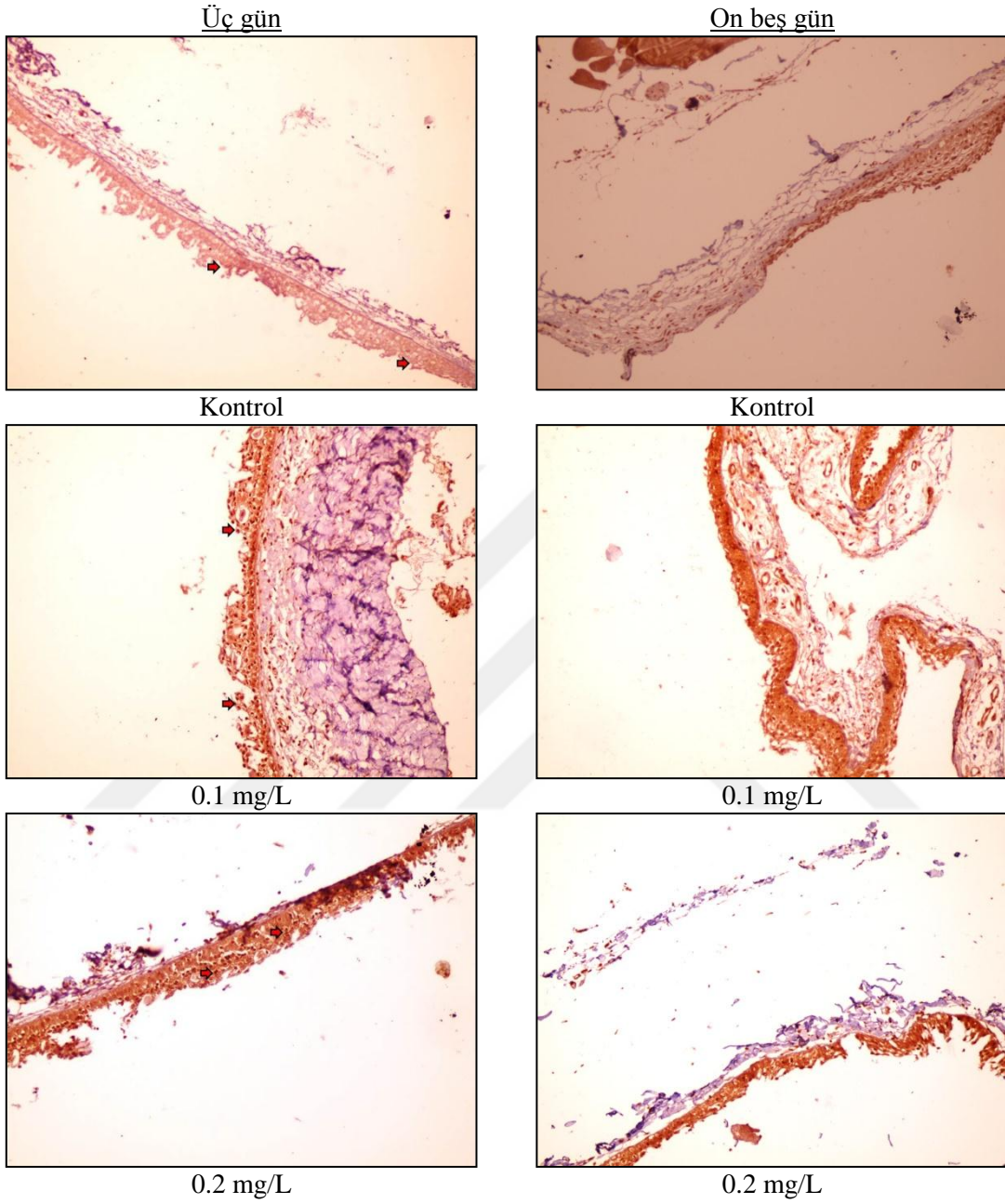
**Şekil 4.46.** Solungaç dokusunun kaspaz-3 ekspresyonları (x200 büyütme).

Deneylerde kullanılan balıkların solungaç dokularında siyanür maruziyeti ile koyu kahverengi ile gösterilen hücrelerde artış görülmüştür.

Deneylerde kullanılan balıkların deri dokularındaki kaspaz-3 oranları Şekil 4.47’de ve örnek resimleri Şekil 4.48’de verilmiştir. Üç ve on beş gün süre ile farklı konsantrasyonlarda siyanüre maruz kalmış balıkların deri dokularında kaspaz-3 oranları önemli ölçüde yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Üç gün süre ile 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların deri dokuları kaspaz-3 oranlarının, 0,1 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların deri dokuları kaspaz-3 oranlarına göre de önemli derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). On beş gün boyunca 0,1 mg/L siyanüre maruz kalan balıkların deri dokuları kaspaz-3 oranları, üç gün süre ile aynı konsantrasyonda siyanüre maruz kalmış balıkların deri dokuları kaspaz-3 oranlarından önemli ölçüde yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ).



**Şekil 4.47.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların deri dokusu kaspaz-3 yüzdeleri (Ort±SH).

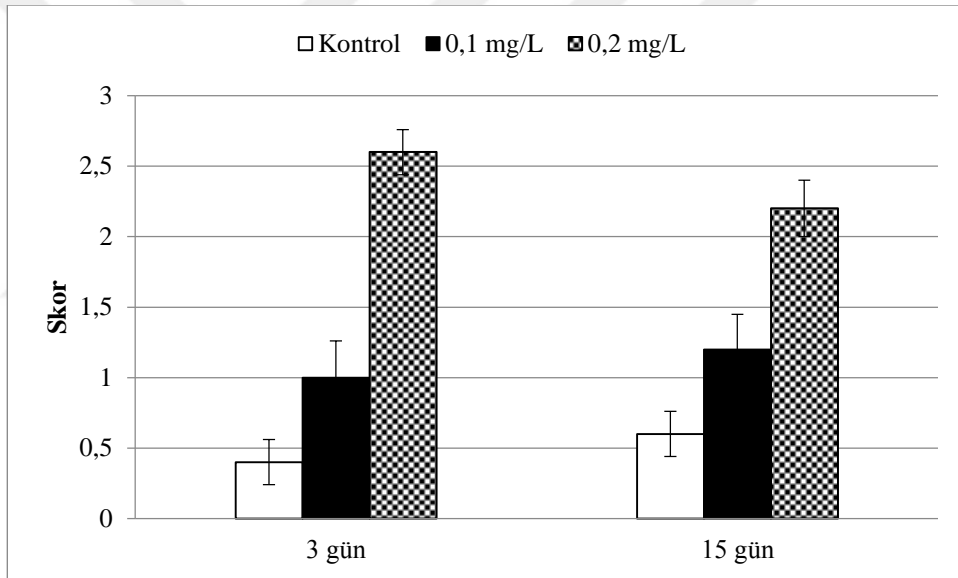


**Şekil 4.48.** Deri dokusu kaspaz-3 ekspresyonları (x200 büyütme).

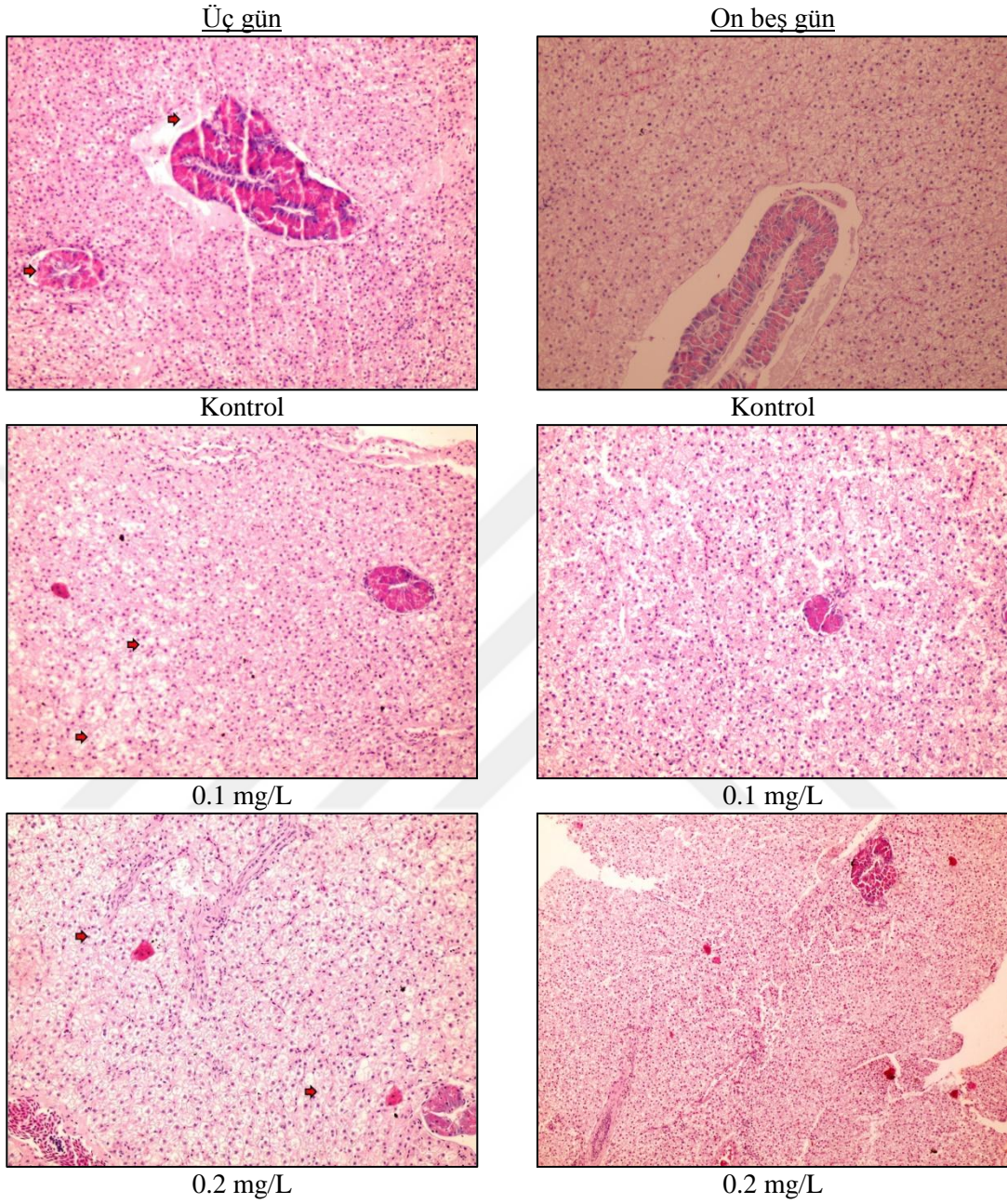
Resimler incelendiğinde kontrol gruplarında açık renkli hücreler hakimken, siyanüre maruz kalan balıklardan alınan örneklerde koyu kahverengi hücrelerin ağırlıkta olduğu görülmektedir. Bu durum, deri dokuda kaspaz-3 ekspresyonlarının siyanür maruziyeti ile arttığı anlamına gelmektedir.

#### 4.5.3. Histomorfolojik inceleme

Hematoksilen Eozin, doku hasarını tespit etmede oldukça yaygın bir şekilde kullanılan bir boyama şeklidir. H&E incelemelerinde doku hasarı için 0'dan 3'e kadar skorlama yöntemi uygulanmıştır. Üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının karaciğer dokularındaki H&E skorları Şekil 4.49 ve örnek resimleri Şekil 4.50'de verilmiştir. Üç ve on beş gün boyunca farklı konsantrasyonlarda siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının karaciğerlerinde doku harabiyeti yüksek bulunmuştur. Üç ve on beş gün sürede sazan balıklarına uygulanan her iki siyanür konsantrasyonunda da karaciğerin H&E skorları yüksek bulunmasına rağmen, yalnızca 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanür uygulanan balıkların karaciğer H&E skorlarının istatistiki olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ).



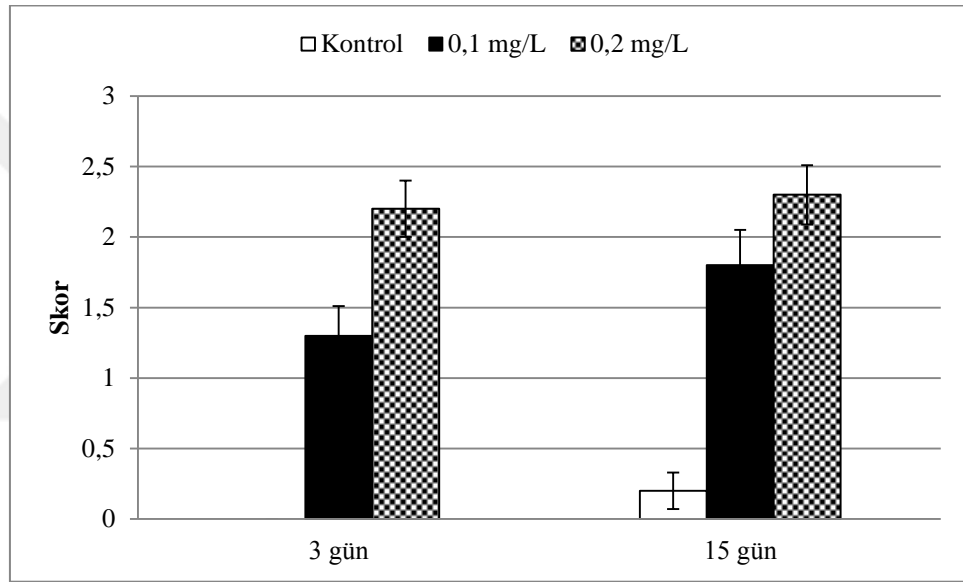
**Şekil 4.49.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların karaciğer dokusu H&E skorları (Ort±SH).



**Şekil 4.50.** Karaciğer dokusu histomorfolojik incelemeleri (x200 büyütme).

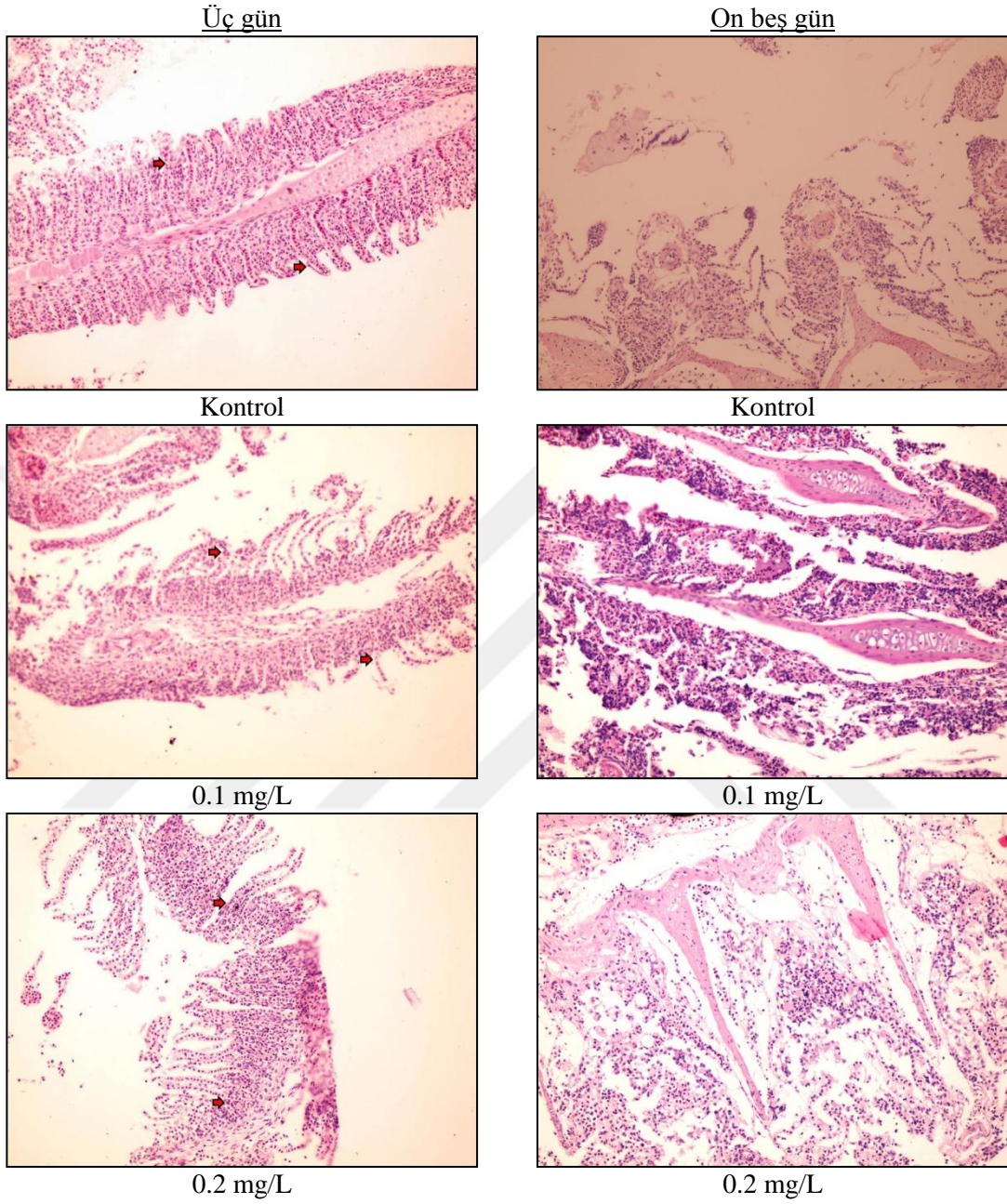
Kontrol grubu resimlerinde düzenli hepatopankreatik yapılar görülmektedir. Karaciğer dokusu herhangi bir bozulmaya uğramamış ve hiçbir patolojik değişiklik gözlenmemiştir. Siyanüre maruz kalan balıkların karaciğer dokularında yoğun lipid birikimi, lenfosit infiltrasyonu, fibrosis, rejenerasyon ve stromada iltihabi infiltrasyonlar görülmüştür. Siyanüre maruz kalan balıklarda hepatopankreatik yapıların korunmaya devam ettiği söylenebilir.

Farklı konsantrasyonlarda siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının solungaç dokularındaki H&E skorları Şekil 4.51’de ve örnek resimleri Şekil 4.52’de verilmiştir. Üç gün süreli deneyde kullanılan kontrol grubu balıkların solungaç dokusu H&E skor ortalaması "0" bulunmuştur. Bu durum dokuda hiçbir patolojik lezyon görülmediği anlamına gelmektedir. Üç ve on beş gün süre ile farklı dozlarda siyanüre maruz kalan balıkların solungaç dokuları H&E skorları ise önemli derecede yüksek bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Hem kontrol grupları hem de siyanür uygulanan grupların solungaç dokuları H&E ortalamalarına sürenin önemli derecede etkili olmadığı tespit edilmiştir ( $p > 0,05$ ).



**Şekil 4.51.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların solungaç dokusu H&E skorları (Ort±SH).

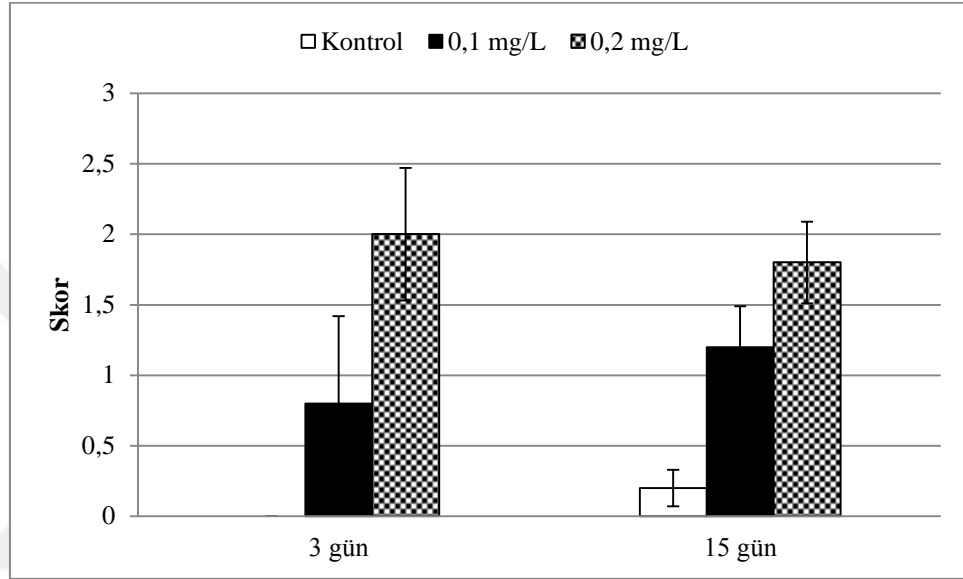




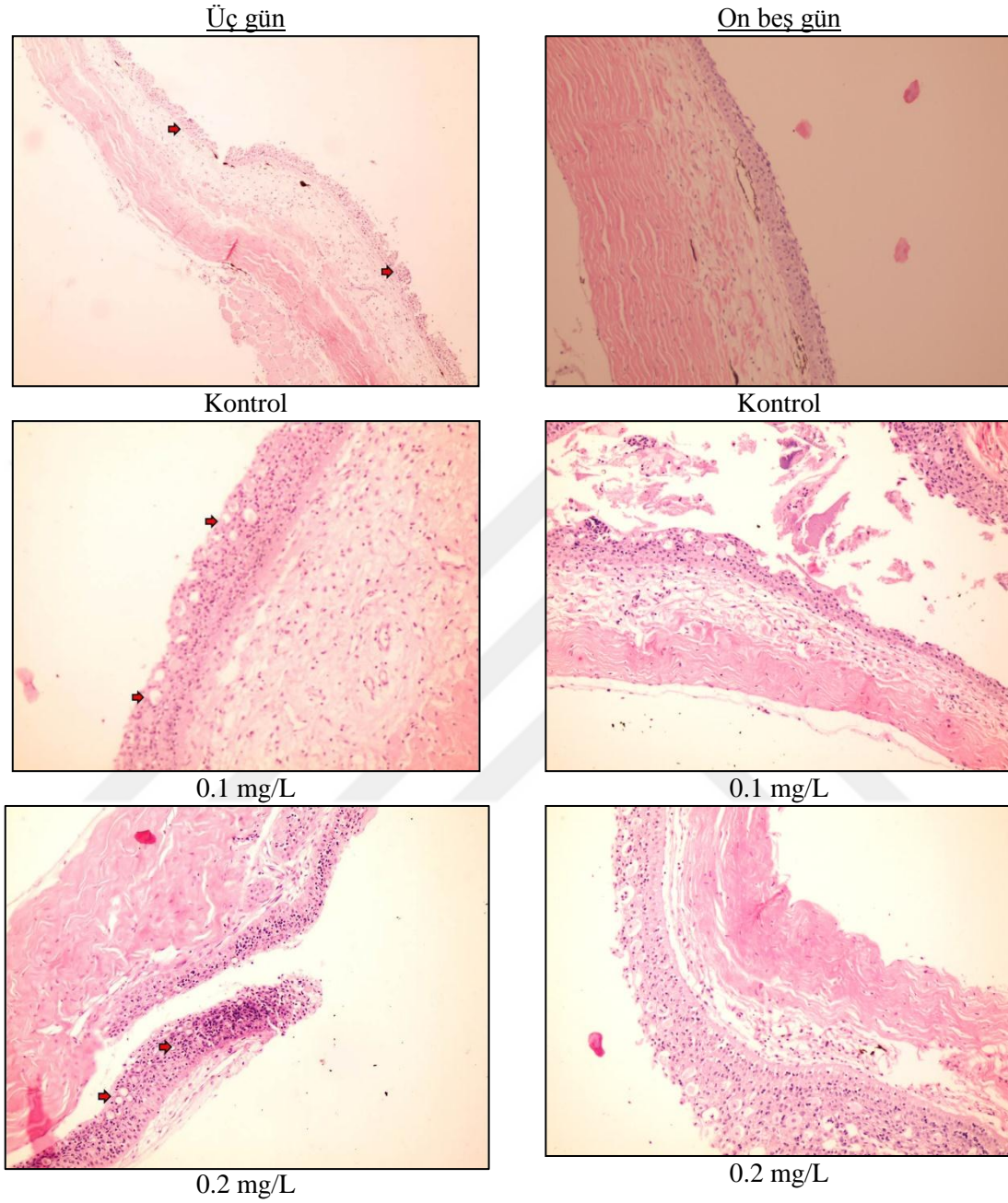
**Şekil 4.52.** Solungaç dokusu histomorfolojik incelemeleri (x200 büyütme).

Kontrol grubu balıkların solungaç dokularında filamentler düzenlidir ve herhangi bir bozukluk görülmemektedir. 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıklarda ise hipertrofik ve hiperplastik filamentler görülmektedir. Filamentlerde hiperplazi mevcuttur. Ayrıca, hücre agregatları oluşmuştur.

Farklı konsantrasyonlarda üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz bırakılan sazan balıklarının deri dokularındaki H&E skorları Şekil 4.53'de ve örnek resimleri Şekil 4. 54'de verilmiştir. Üç gün süreli deneyin kontrol grubu balıkların deri dokularındaki H&E skorları ortalaması "0" bulunmuştur. Üç ve on beş gün süre ile farklı konsantrasyonlarda siyanüre maruz kalan balıkların deri dokularında H&E skorları önemli derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ).



**Şekil 4.53.** Farklı konsantrasyon ve sürede siyanüre maruz bırakılan balıkların deri dokusu H&E skorları (Ort±SH).



**Şekil 4.54.** Deri dokusu histomorfolojik incelemeleri (x200 büyütme).

Kontrol grubu balıkların deri dokularında epitel hücreleri düzenlidir. Siyanüre maruz kalan balıkların deri dokularında epitelde hiperplazi, yaygın goblet hücre değişikliği, hiperplastik epitel hücreleri görülmüştür.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

### 5.1. Su Analizleri

Kütahya, madence en zengin illerimizden biridir. Bor madeni dünyada en çok Türkiye'de, Türkiye'de ise en çok Kütahya'da bulunmaktadır. Altın ve gümüş madeni rezervinin en yoğun bulunduğu yerler yine Kütahya bölgesidir. Madencilğin bu denli yoğun olması ülke adına ümit vaat eden bir durum olsa da, maden çıkarımında veya işleminde çeşitli kimyasalların kullanılması çevre problemlerini beraberinde getirmektedir. Maden elde etmede kullanılan başta siyanür gibi tehlikeli kimyasallar doğal yollarla ya da yapılan ihmaller ile çevreye karışmaktadır. Sanayinin ve madencilğin hızlı gelişimi bu tür kirleticilerin doğaya karışması riskini artırmaktadır. Altın ve gümüş elde etmede kullanılan siyanürün de çeşitli yollarla doğaya karışması ihtimali bulunmaktadır.

Bu çalışmadan elde edilen veriler incelendiğinde Kütahya Bölgesi su kaynaklarında siyanür miktarlarının iki su kaynağı hariç içme sularında verilen limit değerleri aşımadığı görülmüştür. İçme suyunda bulunabilecek en yüksek siyanür miktarları Türkiye İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik (2005) ve AB İçme Suyu Direktifi (2014)'ne göre 50 µg/L, Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre 100 µg/L ve Kanada'da yayınlanan içme suyu rehberi (2014)'ne göre ise 200 µg/L olarak belirlenmiştir. Türkiye insani tüketim amaçlı sular hakkında yönetmelik ve AB içme suyu direktifine göre yalnızca iki istasyonun (28 - Bozcahöyük Köyü Cami Çeşmesi ve 29 - Bozcahöyük Köyü Kınık Deresi) belirlenen değerlerin üzerinde olduğu görülmüştür. WHO (www.fao.org) içme suyu kriterlerine göre Bozcahöyük cami çeşmesi 0,1 mg/L seviyesinin üzerine çıkmıştır. Kanada'da Ekim 2014'de yayınlanan içme suyu kalite rehberine göre ise hiçbir istasyonun belirlenen değeri aşımadığı görülmüştür. En yüksek siyanür konsantrasyonunu tespit ettiğimiz Bozcahöyük cami çeşmesi ve Kınık Deresi istasyonlarında farklı zamanlarda tekrar siyanür analizleri gerçekleştirilmiş ve bu iki istasyon sularının siyanür miktarlarının Çizelge 4.1'de verilen değerlerin üzerine çıkmadığı görülmüştür. Buradan hareketle Kütahya Bölgesindeki suların içme suyu açısından önemli bir problem oluşturmadığı, ancak zaman zaman takip edilmesi gerektiği söylenebilir.

Siyanür canlı metabolizmada akümüle olmamakta ve düşük konsantrasyonları detoksifiye edilmektedir. Dolayısıyla kurşun, kadmiyum, cıva gibi ağır metaller kadar kabul edilebilir eşik seviyesi düşük değildir. Özellikle Kanada içme suyu kalite kriterlerine göre siyanürün içme sularında kabul edilebilir seviyesinin 200 µg/L gibi nispeten yüksek bir orana sahip olduğu görülmektedir. Ancak siyanürün doğada daha yüksek konsantrasyonlarda bulunması da mümkün olmaktadır. Endüstride yıllık 2 – 3 milyon ton siyanür doğaya

salınmakta ve dolayısıyla bazı bölgelerde doğal sulara karışması ile derişimi 0,01 – 10 mg/L konsantrasyonlara ulaşabilmektedir (Raybuck, 1992; Gijzen vd., 2000). Gomes vd. (1998), Portekiz'de bir fabrikanın atık sularında yaptıkları analizlerinde 0,931 - 853 ppm konsantrasyonlarında siyanür tespit etmişlerdir. Osobamiro (2012), Nijerya'da sigara fabrikasının atık sularında yaptığı çalışmasında 0,004 - 0,641 ppm aralığında siyanür tespit etmiştir. Görüldüğü gibi endüstriyel kaynaklı siyanür kirliliklerinin oldukça yüksek olduğu yerler vardır. Doğal sularda yapılan çalışmalarda ise siyanür konsantrasyonlarının daha düşük olduğu görülmektedir. Saleh vd. (2001), Mısır'da bazı bölgelerdeki suları analiz ettikleri çalışmalarında hiç siyanür tespit etmemişlerdir. Özdemir ve Sırıken (2006), Afyonkarahisar bölgesi kuyu sularında yaptıkları çalışmalarında inceledikleri toplam 330 örneğin %78'inde hiç siyanür tespit edememişler, yalnızca %3,33'lük bir kısımda 0,011 - 0,020 ppm aralığında siyanür bulmuşlardır. En yüksek buldukları değer tüm içme suyu kalite kriterlerine göre eşik seviyenin altındadır. Pirinçci ve Tanyıldızı (1993), Elazığ yöresinde 70 adet istasyonda yaptıkları çalışmalarında en yüksek siyanür seviyesini 0,05 ppm düzeyinde bulmuşlardır. Yukarıda verilen çalışmalardan elde edilen verilerin bu çalışmadan elde edilen veriler ile örtüştüğü görülmektedir.

Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği, kıta içi su kaynakları kalite kriteri esaslarına göre I. sınıf kalite sularda 10 µg/L, II. sınıf kalite sularda 50 µg/L, III. sınıf kalite sularda 100 µg/L ve IV. sınıf kalite sularda >100 µg/L siyanür bulunabilir (Resmi Gazete, 2004). Siyanür, metal işleme, boya sanayi, petrol rafinasyonu gibi çok çeşitli sektörlerde kullanılmaktadır. Su kirliliği kontrolü yönetmeliğinde doğal sulara verilebilecek fabrika atık sularının maksimum siyanür miktarları belirtilmiştir. Farklı sektörler için farklı eşik değerler belirlenmesi ile birlikte 0,5 - 2 mg/L düzeylerinde olması gerektiği bildirilmiştir. Su kirliliği kontrol yönetmeliği dikkate alındığında bu çalışmada siyanür tespiti yapılan istasyonlardan 145 tanesinin I. kalite ve yalnızca bir tanesinin IV. kalite su olduğu görülmektedir. Ayrıca tüm istasyonların siyanür miktarlarının deşarj sularında bulunabilecek maksimum değerleri aşmadığı tespit edilmiştir.

## 5.2. Kan Analizleri

Hematolojik parametreler balıkların fizyolojik özelliklerini iyi yansıtmaları açısından oldukça önemlidir. Günümüzde kirleticilerden kaynaklanan stres ve hastalık durumlarının tespitinde hematolojik parametreler sıklıkla kullanılmaktadır (Velmurugan vd., 2016). Bu çalışmada, farklı süre ve konsantrasyonlarda siyanüre maruz kalan aynalı sazan balıklarının (*Cyprinus carpio*) lökosit sayısı (WBC), eritrosit sayısı (RBC), hemoglobin (HGB), hematokrit

(HCT), ortalama eritrosit hacmi (MCV), ortalama eritrosit hemoglobini (MCH), ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC), ortalama eritrosit dağılım genişliği (RDW), trombosit sayısı (PLT), ortalama trombosit hacmi (MPV), trombosit dağılım genişliği (PDW), platokrit (PCT) değerleri incelenmiştir. Balık alyuvar hücrelerinin çekirdekli olması balık kanında hemogram analizini güçleştirmektedir. Bu bakımdan balıklarda elde edilen hemogram değerleri, sıkça kullanılan bazı memeli deney canlılarından oldukça farklı olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 1.5).

Sazan balıklarında vücut savunmasında görevli olan WBC değerleri ortalama  $245 \times 10^9/L$  düzeylerinde bulunmuştur. Tabloda verilen memeli canlı türleri ile karşılaştırıldığında balıklardaki bu değerler oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum sucul ortamların kirletici faktörlerin nihai toplanma noktası olması ve balıkların bu ortamda her türlü kirleticiye açık olmaları ile açıklanabilir.

Lökositler vücut savunmasında görev alırlar ve hareketli kan hücreleridir. Metabolizmaya zarar verecek bir etken girdiğinde sayıları artar ve o zararlıyı bertaraf etmeye çalışırlar. Dolayısıyla lökositler immün sistemin en önemli parçalarıdır. Kandaki miktarının belirlenmesi balık sağlığı ve immün sisteminin göstergesi olarak iyi bir indikatördür (Cole vd., 2001). Üç gün süre ile siyanüre maruz kalan sazan balıklarının WBC değerlerinin kontrol grubuna göre düştüğü, on beş gün süre ile maruz kalan balıkların ise kontrol grubuna göre yükseldiği görülmüştür. Ancak bu değişimler istatistiksel bir anlam taşımamaktadır. Bu durum, 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonlarda üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz kalmanın kandaki lökosit seviyesini olumlu ya da olumsuz etkilemediğini göstermektedir. Ngugi vd. (2015), bakteri ile enfekte edilmiş *Labeo victorianus* türüne *Urtica dioica* ile yaptıkları terapi sonucu sağlıklı ve enfekte balıkların WBC değerlerinin *Urtica dioica* terapisi ile yükseldiğini belirtmişlerdir. Yılayaz ve Bitmiş (2002), *Barbus rajanorum mystaceus* türünün uzunluk, eşey ve mevsim gibi değişkenlere göre kan parametrelerini inceledikleri çalışmalarında WBC değerlerini ortalama  $4 \times 10^4/mm^3$  dolaylarında bulmuşlardır. Velmurugan vd. (2016), subletal düzeyde sipermetrine maruz kalmış *Anabas testudineus* türünün WBC değerlerini incelemişlerdir. Çalışmalarında kontrol grubu WBC değerlerini ortalama  $195 \times 10^3/\mu L$  olarak bulmuşlar, artan süre ve konsantrasyona bağlı olarak WBC değerlerinin önemli derecede düştüğünü tespit etmişlerdir (Velmurugan ve ark. 2016). Kubrak vd., (2013) de 100 mg/L 2,4 diklorofenoksiasetata maruz bıraktıkları *Carassius auratus* türü balıkların lenfopeniye bağlı olarak lökosit seviyelerinin akut düzeyde düştüğünü bildirmişlerdir. Bu çalışmada, WBC değerlerinin üç gün siyanüre maruz bırakılan grupta azaldığı, ancak on beş gün süre siyanüre maruz bırakılan grupta ise arttığı bulunmuştur. WBC düzeyinin artış göstermesi balığın

kirleticiye daha uzun süre maruz kalması ile açıklanabilir. Bunun yanında, yukarıda geçen çalışmalarda bulunan WBC sayıları bu çalışmada bulunan veriler ile genelde örtüşmektedir.

Balık kanını memelilerden ayıran bir diğer önemli parametre ise RBC sayıdır. Balıklarda RBC düzeylerinin memeli canlılara göre daha düşük olduğu görülmüştür. Ancak balıklar ve memeli canlıların alyuvar içerisinde oksijen taşımakla görevli molekül olan HGB düzeyleri arasında önemli bir fark görülmemektedir. Hava ve suyun oksijen gazı içeriklerinde oldukça büyük bir fark olmasına rağmen HGB seviyelerinin çok yakın olması ilgi çekici bir sonuçtur.

Kırmızı kan hücreleri, diğer adıyla eritrositler kana kırmızı rengini veren en önemli kan hücreleridir. Eritrositlerin en önemli görevi yapılarında bulunan hemoglobin molekülleri ile gaz taşımalarıdır. Daha çok gaz taşımaları yapabilmek için eritrositler memeli canlılarda olgunlaştıklarında çekirdeklerini kaybederler. Ancak, balıklarda böyle bir durum söz konusu değildir. Balık eritrositleri çekirdeklidir. Hatta Elahee ve Bhagwant (2007), balık kanında eritrosit ve hemoglobin gibi parametrelerin çalışılmasının memelilerde olduğu gibi düzgün sonuç vermeyeceği kanaatinde olduklarını belirtmişlerdir. Bununla birlikte son yıllarda kirleticilerin biyolojik etkilerini belirlemede hemogram değerlerinin sıklıkla kullanıldığı da belirtilmektedir (Saravanan vd., 2011). Bu çalışmada RBC değerleri ile ilgili veriler incelendiğinde üç gün süre ile siyanür uygulanan grupların RBC değerlerinin yükseldiği, on beş gün süre ile 0,2 mg/L konsantrasyonda uygulananların ise düştüğü gözlenmiştir. Ahmad vd. (2011), 20 °C'de sazan balıklarında RBC değerlerinin  $1,32 \times 10^6 / \text{mm}^3$  olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada ortalama 20 °C'de akvaryum şartlarında beslenen balıklardan elde edilen RBC değerleri  $1,22 - 1,46 \times 10^{12} / \text{L}$  aralığındadır. Aynı sıcaklık ve koşullar altında beslenen sazan balıklarının RBC değerlerinde benzerlik görülmektedir. Affonso vd. (2012), kısaca oksijen yetersizliği olarak tanımlanabilecek hipoksi durumunda *Colossoma macropomum* türünün RBC değerinin kontrol grubundan yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bu durum hipoksi durumunda balığın dokulara daha fazla oksijen götürebilmek için RBC düzeyini artırmasından kaynaklanabilir. Ancak, 96 saatlik deneyin ardından her iki grupta da RBC değerlerinin zamanla azaldığını bulmuşlardır. Benzer durum on beş gün süre ile 0,2 mg/L siyanüre maruz kalan grupta da görülmektedir. Bu grubun RBC düzeylerinin kontrol grubuna göre önemli derecede azaldığı tespit edilmiştir. İki farklı deniz balığı türünün kirli ve temiz iki ortamdan alınan örnekleri ile yapılan çalışmada ise *Scarus ghobban* türünün RBC değerlerinin kirli ortamdan alınan örneklerinde temiz ortama göre düşük olduğu, *Epinephelus mera* türünde ise yüksek olduğu bildirilmiştir (Elahee ve Bhagwant, 2007). Bu durum, aynı ortamda yaşayan farklı türlerin hematolojik indekslerinin farklı olduğunu göstermektedir. *Scarus ghobban* türünün kirli

ortamda RBC düzeyinin düşük bulunması bu çalışmada kullanılan sazan balıklarıyla benzerlik gösterdiği söylenebilir. On beş gün süre ile 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların RBC düzeyinin düşmesi siyanürün eritrositleri parçalamasından dolayı olabilir.

Eritrositlerin çeşitli kirleticiler nedeniyle olan değişimi MCV (ortalama eritrosit hacmi) gibi ikincil hematolojik indeksleri de etkilemektedir. Örneğin iki deniz balığının RBC değerlerinin kirli ve temiz ortamlarda farklı olduğunu tespit eden Elahee ve Bhagwant (2007), MCV değerlerinin RBC düzeylerine zıt artıp azaldığını bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada üç gün sürede RBC değerlerinin artan konsantrasyonla doğru orantılı olarak artarken MCV değerlerinin 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanür uygulanan grupta azaldığı bulunmuştur. Yapılan bu çalışmada kanda eritrosit miktarlarının siyanürün artan konsantrasyonu ile azalabileceği ve bu tablonun daha uzun süreli ya da daha yüksek konsantrasyonlarda balığı hipoksiye götürebileceği sonucu çıkarılabilir. Siyanürün canlı bünyede hipoksiye neden olduğu bilinen bir gerçektir.

Hemoglobin, kanda oksijen taşımakla görevli bir moleküldür. Kanda oksijenin taşınma kapasitesi hemoglobin miktarına, hemoglobin miktarı da eritrosit sayısına bağlıdır. Hematokrit ise kandaki eritrosit miktarının yüzde olarak değeridir. Dolayısıyla RBC, HGB ve HCT parametreleri birbirleri ile ilişkilidir ve beraber değerlendirilmelerinde fayda vardır. Bu çalışmada HGB ve HCT düzeylerinin RBC değerlerindeki değişim ile doğru orantılı olarak değiştiği gözlemlenmiştir. 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonda üç gün süre ile siyanüre maruziyette HGB ve HCT düzeylerinde önemli bir değişiklik izlenmezken on beş gün süre ile 0,1 mg/L konsantrasyonda maruziyette HGB ve HCT düzeylerinin arttığı, 0,2 mg/L konsantrasyonda ise önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. Bu değişimler RBC değerlerinde görülen değişimler ile aynıdır. Van vuren vd. (1994), 48 saatte bakırın *Clarias gariepinus* türünün RBC ve HGB düzeylerinde bir azalma gösterdiğini, ancak 48 saatin ardından hafif bir artış meydana getirdiğini bildirmişlerdir. Akut düzeyde bakıra maruz kalan *Cyprinus carpio* türü balıkların RBC, HGB ve HCT parametrelerinde bir artış izlenmiştir. Yine benzer bir çalışmada subletal konsantrasyonda çinkoya maruz kalan *Cyprinus carpio*'da da 24 saatlik sürede RBC ve HGB değerlerinin arttığı bildirilmiştir (Tishinova ve Ilieva 1994; Svobodova vd., 1994; Çelik'ten 2006). Luis val vd. (2015) ise akut hipoksi durumunda HGB ve HCT değerlerinin kontrol grubuna göre arttığını bildirmişlerdir. İlgili veriler incelendiğinde üç gün sürede RBC, HGB ve HCT değerlerinin artışı ile benzerlik gösterdiği görülmektedir. Kısa süreli deneylerde balıklar herhangi bir kirlilik faktörüne maruz kaldıklarında o durumu tolere edebilmek ve oksijen taşınımını artırmak için eritrosit sayılarını ve ilgili parametreleri artırdıkları söylenebilir. Ancak bu durumu uzun süreler için söylemek pek mümkün olmayabilir.



Çalışmada siyanürün on beş gün sürede özellikle 0,2 mg/L konsantrasyonda RBC, HGB ve HCT değerlerini önemli derecede düşürdüğü görülmüştür. Siyanür, metabolizmaya girdikten sonra hızlıca dolaşım sistemine katılır ve methemoglobin ile bağ yaparak siyanomethemoglobin molekülünü oluştururlar. Bu durumun, uzun sürede HGB düzeyinin azalmasına neden olduğu söylenebilir.

Çalışmada eritrosit sayıları ve hemoglobin miktarları ile ilgili bir diğer önemli bulgu ise MCH ve MCHC değerleridir. MCH, ortalama hemoglobin miktarı; MCHC ise ortalama hemoglobin konsantrasyonudur. Yapılan çalışmada üç gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanür maruziyeti ile MCH ve MCHC değerlerinin azaldığı, on beş gün süre ile aynı konsantrasyonlarda siyanür maruziyeti ile ise arttığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan balıkların MCH ve MCHC değerlerinin RBC, HGB ve HCT değerleri ile zıt olarak artıp azaldığı tespit edilmiştir. Örneğin, on beş gün süre siyanüre maruz bırakılan balıkların RBC, HGB ve HCT düzeyleri azalırken, MCH ve MCHC düzeyleri artmıştır. Balıklarda MCH düzeylerinin enfeksiyon durumlarında artabileceği bilinmektedir. Luis val vd. (2015), hipoksi durumunda MCH'nin HGB ve HCT ile birlikte doğru orantılı olarak arttığı, MCHC'nin ise azaldığını bildirmişlerdir. Literatürde farklı kimyasallar ve balıklar kullanılarak yapılan deneylerden elde edilen MCHC değerlerinin bu çalışmada bulunan değişim ile benzerlik gösterdiği görülmektedir. Balıklarda, kan homeostasisi bozulduğunda kan parametrelerini düzeltmek için çeşitli mekanizmalar vardır. Bu çalışmada kullanılan balıkların MCH ve MCHC düzeylerindeki değişiklikler balığın siyanür maruziyeti sonucu oluşan değişimi gidermek amacıyla olabilir.

PLT, trombosit, platelet ya da kan pulcukları olarak bilinen ve kanda pıhtılaşmada görevli kan hücreleridir. PLT sayısının düşük olması kanın durmasını zorlaştırırken, yüksek olması da kanın damar içinde pıhtılaşması riskini doğurur. Yapılan bu çalışmada sazan balıklarının kontrol gruplarında PLT düzeylerinin ortalama  $26,30 \times 10^9/L$  olduğu görülmektedir. Çizelge 5.1 ile kıyaslandığında trombosit miktarlarının balıklarda memeli canlılara nazaran oldukça düşük olduğu görülmektedir. Ancak, ortalama trombosit hacmi anlamına gelen MPV değerlerinin ise çok farklı olmadığı söylenebilir. Bu çalışmada üç gün süre ile siyanüre maruz kalan sazan balıklarının PLT sayıları kontrol grubuna göre azalmış, on beş gün süre siyanüre maruz bırakılan balıklarda ise artmıştır. *Anabas testudineus* türünün kan parametrelerine sipermetrinin etkilerinin incelendiği bir çalışmada, trombosit sayısının sipermetrin maruziyeti ile azaldığı bildirilmiştir (Velmurugan vd., 2016). Siyanür varlığında trombositlerin düşmesi dalağın trombositleri ayrıştırması, trombosit üretiminin durması ya da trombositlerin zarar görmesi sonucu olabilir (Velmurugan vd., 2016).

Platokrit (PCT), kanın yüzde kaçının trombositlerden meydana geldiğini belirten bir kan parametresidir. Tek başına çok fazla klinik bir anlamı yoktur. Yapılan çalışmada PCT yüzdelerinin üç gün siyanüre maruz bırakılan balıklar arasında değişmediği, on beş gün siyanüre maruz bırakılan balıklarda ise kontrol grubuna göre hafif bir düşüş gösterdiği tespit edilmiştir ( $p>0,05$ ).

Bu çalışmada kullanılan tüm kan parametreleri incelendiğinde; 0,1 mg/L ev 0,2 mg/L konsantrasyonlarında üç ve on beş gün süre ile siyanüre maruz kalan sazan balığının hemogram değerlerinin bazı istisnalar hariç çok değişmediği söylenebilir. Bu durum; kısa süreli maruziyet, düşük konsantrasyon gibi faktörlerden kaynaklanmış olabilir. Muhtemelen daha uzun süre ve konsantrasyonlarda siyanürün balık kan parametrelerinde meydana getirebileceği değişimler daha belirgin olacaktır.

### **5.3. Biyokimyasal Analizler**

Enzim aktiviteleri ve MDA düzeyleri balıklarda kirleticilerin etkilerini belirlemeye yönelik kullanılan parametrelerdendir. Siyanür ve bileşiklerinin metabolik inhibitör oldukları bilinmektedir (Solomonson ve Spehar 1981). Metabolizmaya girdikten sonra oksidatif stres oranını artırır, antioksidan enzim sistemini olumsuz etkiler (Ardelt vd., 1989; Hariharakrishnan vd., 2009), hücre içi reaktif oksijen türlerinin oluşumunu stimüle eder (Douglas vd., 2003) ve lipid peroksidasyonunu artırır (Hariharakrishnan vd., 2009). Aynı zamanda dolaşım sistemine katıldığı için ozmoregülasyon dengesini bozar.

Antioksidan sistemin en önemli enzimleri katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD)'dır ve serbest radikallerin metabolizmadan uzak tutulmasında önemli görevleri vardır (Altıkat vd., 2006; Halliwell ve Gutteridge, 1989). Karbonik anhidraz (CA) ise iyi bir solunum belirteci enzimdir. Lipid peroksidasyon ürünü malondialdehit (MDA) hücre hasarı tespit etmede kullanılan yaygın bir belirteçtir.

#### **5.3.1. Katalaz aktivitesi**

Siyanür, hücre içi reaktif oksijen türlerini oluşturan ve hidrojen peroksit ve süperoksit anyonu birikimine yol açan bir moleküldür (Douglas vd., 2003; Daya vd., 2000). Katalaz, oksidatif strese karşı hücrenin savunmasını sağlayan önemli bir enzimdir. Hücrede fagositoz, mitokondriyal elektron taşınımı gibi metabolik olaylarda ortaya çıkan hidrojen peroksit molekülünü su ve oksijen gazına dönüştürür. Metabolizmada çeşitli kirleticilerin etkisiyle meydana gelen fonksiyon kayıplarını gidermeye çalışır. Bu tür durumlarda CAT aktivitesi inhibisyona uğrayabilir. Nitekim yapılan bu çalışmada üç ve on beş gün süre ile 0,1 ve 0,2 mg/L

konsantrasyonlarda siyanüre maruz kalan sazan balıklarının CAT aktivitelerinin kontrol grubuna göre düştüğü görülmektedir. Yalnızca on beş gün süre ile 0,1 ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan balıkların bağırsak dokularında CAT aktiviteleri kontrol grubuna göre yükselmiştir. Literatür incelendiğinde CAT aktivitelerinin uygulanan kimyasala bağlı olarak azaldığına dair örnekler görülmektedir. David vd. (2008), sazan balıklarının fingerling boyları ile yaptıkları çalışmalarında sodyum siyanürün balıkların çeşitli dokularında CAT aktivitelerini azalttığını bildirmişlerdir. Letal ve subletal siyanür maruziyetinde en bariz düşüşün karaciğer ve takiben solungaç, kas ve beyin dokuda olduğunu rapor etmişlerdir (David vd., 2008). Başka bir çalışmada on ve yirmi gün süre ile 0,1 mg/L siyanür konsantrasyonuna maruziyetin sazan balıklarının karaciğer dokularında CAT aktivitelerinin kontrol grubuna göre azaldığı bildirilmiştir (David ve Kartheek, 2016). Literatürde verilen ilgili sonuçlar incelendiğinde, bu çalışmadan elde edilen bulgularla örtüştüğü görülmektedir.

Üner vd. (2001), on gün süre ile 3 µg/L sipermetrine maruziyetin *Cyprinus carpio* ve *Oreochromis niloticus* türünün karaciğer dokusunda ve *Cyprinus carpio* türünün böbrek dokusunda CAT aktivitelerini artırdığını bulmuşlardır. Türler arasındaki bu tür farklılıkları türün oksidatif strese karşı koyma kapasitelerinin farklı olmasına bağlamışlardır (Üner vd., 2001). *C. carpio* türünün sipermetrin ve siyanür maruziyetine karşı gösterdiği farklı antioksidan tavır, kimyasalın metabolizmada meydana getirdiği farklılıktan kaynaklanmış olabilir. Siyanür canlı vücuda girdiğinde sitokrom c oksidaz enzimi ile kompleks oluşturur ve antioksidan enzim sistemini bloke ederek CAT gibi enzimlerin çalışmasını önler. Eğer bu durum akut düzeyde yüksek konsantrasyonda meydana gelirse hızlı bir ölüme neden olduğu da bildirilmiştir (Eisler 1991; David vd., 2008).

### 5.3.2. Süperoksit dismutaz aktivitesi

Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ile kolektif çalışan bir diğer antioksidan enzimdir. SOD, hücrede oluşan serbest oksijen radikalini oksijen gazı ve hidrojen peroksite katalizler. Bu çalışmada üç gün süre ile siyanüre maruz kalan sazan balıklarının kas ve deri dokularında SOD enzimi inhibe olurken karaciğer, beyin, solungaç ve bağırsak dokularında SOD aktivitesi artmıştır. On beş gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz bırakılan balıkların kas, karaciğer ve bağırsak dokularının SOD aktiviteleri azalmış, beyin ve solungaç dokuları SOD aktiviteleri ise artmıştır. SOD kirleticilerin bünyeye katılmaları ile genellikle inhibe olur. Çalışmada elde edilen bulgular incelendiğinde üç günlük siyanür maruziyetinde SOD enzimi yalnızca iki dokuda, on beş günlük siyanür maruziyetinde ise daha fazla dokuda SOD aktivitesinin inhibisyona uğradığı görülmüştür. Buna göre siyanüre maruz kalma süresinin

artması, sazan balıkları dokularının SOD aktivitelerini genelde inhibe ettiği söylenebilir. Ancak siyanür maruziyeti ile sazan balıklarının bazı dokularının SOD aktivitelerinin attığı da tespit edilmiştir. Aktivitelerini artıran dokuların siyanür maruziyetine karşı tepkisel olarak aktivitelerini artırdıkları söylenebilir. David ve Kartheek (2016), 0,1 mg/L siyanür konsantrasyonuna tabi tuttıkları sazan balıklarının karaciğer dokularında SOD aktivitelerinin inhibe olduğunu bildirmişlerdir. Bu durumu siyanürün metabolizmaya girdikten sonra reaktif oksijen türlerinin dokularda meydana getirdiği deformasyona bağlamışlardır. Daha önce yaptığımız bir çalışmada üç gün süre ile 0,5 mg/L konsantrasyonda siyanürün karaciğer dokusunda inhibe olduğu, beyin, kas ve solungaç dokusunda ise aktivitesini artırdığı sonucu elde edilmiştir (Kavasoğlu vd., 2015). Bu çalışma ile karşılaştırıldığında beyin ve solungaç dokuları ile ilgili verilerde tutarlılık, kas ve karaciğer dokuları ile ilgili elde edilen verilerde ise tezat olduğu görülmüştür. Canlıların kirleticilere verdiği tepkiler maruz kalma süresine, sıcaklığa, pH'a ve canlının metabolik durumu gibi birçok parametreye göre değişmektedir.

Murussi vd. (2016), *Cyprinus carpio* türüne bir insektisit olan azadiraktin uygulamışlar ve solungaç dokularında SOD aktivitelerinin 20 ve 40 µL/L konsantrasyonda inhibe olduğunu, 60 µL/L konsantrasyonda ise arttığını tespit etmişlerdir. Bu durumu kimyasal varlığında artan hidrojen peroksit seviyesini azaltmak için CAT aktivitesinin artmasına bağlı olarak SOD seviyesinin de artabileceği şeklinde yorumlamışlardır (Murussi vd. 2016). Toksikoloji çalışmalarında sıklıkla kullanılan *Labeo rohita* türüne fenvalerat uygulanan bir çalışmada karaciğer ve solungaç dokularında SOD aktivitelerinin önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir (Prusty vd. 2011). Dimitrova vd. (1994), SOD'nin inhibisyonunu O<sup>2</sup> radikalının kendisinin ya da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye dönüşmesi ile hücrede büyük bir oksidatif stres meydana getireceği ve bunun sonucunda SOD aktivitesini düşüreceğini söyleyerek açıklamışlardır. Bu çalışmada elde edilen bulgular incelendiğinde bazı dokularda SOD aktivitesinin arttığı bazı dokularda ise azaldığı görülmektedir. Dokuların siyanüre olan tepkileri aynı olmayabilir. Ancak on beş günlük siyanüre maruz bırakılan balıklardan elde edilen ilgili sonuçlara bakıldığında SOD enziminin daha çok dokuda inhibisyona uğradığı görülmektedir. Bu durum bize daha yüksek konsantrasyonlar ve daha uzun sürelerde SOD inhibisyonunun artabileceğini göstermektedir.

### 5.3.3. Karbonik anhidraz aktivitesi

Karbonik anhidraz (CA) aktif bölgesinde çinko barındıran, oldukça yavaş gerçekleşen karbondioksit ve suyun hidrolizini katalizleyen bir metaloenzimdir. CA, solungaç solunumu yapan balıklarda ayrıca bir öneme sahiptir. CA, balık solungaçlarında amonyağın atılmasından, iyon düzenlenmesinde, ozmoregülasyonda ve asit-baz dengesini sağlamada görevlidir (Lionetto

vd., 2000). Ayrıca, CA enziminin canlılarda serbest oksijen radikallerini yok etme ve oksidatif stresi önleme görevlerinin olduğu da bilinmektedir (Raisanen vd., 1999). Bu çalışmada üç gün süre ile siyanüre maruz kalan sazan balıklarının kas, bağırsak ve deri dokularında CA aktivitesinin arttığı, karaciğer ve beyin dokusunda ise azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca 0,1 mg/L siyanür konsantrasyonuna maruz kalan balıkların solungaç dokusu CA aktivitesinin azaldığı, 0,2 mg/L siyanür konsantrasyonuna maruz kalan balıkların solungaç dokusu CA aktivitesinin ise arttığı belirlenmiştir. On beş gün süre ile siyanüre maruz kalan balıkların kas, karaciğer ve bağırsak dokularında üç gün süre süre ile siyanüre maruz kalan balıklardan elde edilen sonuçların tersi durumlar bulunmuştur. On beş gün süre ile 0,2 mg/L siyanür konsantrasyonuna maruz kalan balıkların kas ve bağırsak dokularındaki CA aktivitelerindeki inhibisyon istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Alım vd. (2014), orkinos balığının (*Thunnus thynnus*) solungaçlarında CA enzimi saflaştırmışlar ve çeşitli metallerin CA enzime olan inhibisyon etkilerini in vitro incelemişlerdir. Çalışma sonucunda metallerin inhibisyon etkilerinin  $Ag^+ > Cu^{2+} > Pb^{2+} > Zn^{2+} > Cd^{2+} > Co^{2+}$  şeklinde olduğunu ve  $Ag^+$  metalinin güçlü bir CA inhibitörü olduğunu tespit etmişlerdir. CA aktivitesinin iyi bir toksikoloji biyomarkırı olabileceğini de belirtmişlerdir. Ceyhun vd. (2010), bir pestisit olan deltametrinin 0,25, 1,0 ve 2,5  $\mu g/L$  konsantrasyonlarının gökkuşuğu alabalığının solungaç dokusunda CA aktivitesine olan etkilerini incelemişler ve 24 ile 48 saat sürede CA aktivitesini önemli derecede inhibe ettiğini rapor etmişlerdir. Deltametrin, lambda cyhalotrin ve sipermetrin gibi pestisitler bulundukları Br ve Cl gibi ametaller sayesinde CA enziminin aktif bölgesinde bulunan  $Zn^{+2}$  ile tepkime verirler ve böylece CA enzimini inhibe ederler (Doğan, 2006; Ceyhun vd., 2010). *Dicentrarchus labrax* türü karaciğerinde sıklıkla kullanılan 6 pestisit (cyhalotrin, sipermetrin, diklorvolar, metamidofos, klorpirifos ve metilparation) CA enzimi üzerine inhibisyon etkilerinin olduğu ve özellikle metilparationun CA enzimini yüksek düzeyde inhibe ettiği rapor edilmiştir (Demirdağ vd., 2012). Bu tür kimyasalların asit baz dengesini bozarak CA enzimini ciddi anlamda etkilediği ve bu durumun canlının ölümüne sebep olabileceği bildirilmiştir.

Tatlı su balıkları difüzyon ile  $H^+$ ,  $NH_4^+$  ve  $HCO_3^-$  gibi iyonları salgılamak, tuzu oluşturan  $Na^+$  ve  $Cl^-$  iyonlarını absorbe etmektedir. Osmoregülasyon olarak bilinen bu olayın düzenli bir şekilde gerçekleşebilmesi için CA aktivitesi önemlidir. Literatür bulguları ve bu çalışmadan elde edilen veriler çeşitli kimyasalların metabolizmada CA aktivitesini inhibe ettiğini göstermektedir. Bu durum, canlının ölümü ile bile sonlanabilir. Ancak, bu çalışmada elde edilen bulgularda CA enziminin siyanür varlığı ile bazı dokularda aktivitesini artırdığı durumlar da görülmüştür. CA enziminin farklı dokulardaki artışlarının siyanürden kaynaklanan stres durumunu tolere edebilmek için olduğu söylenebilir.

### 5.3.4. Malondialdehit düzeyleri

Lipid peroksidasyonu, kısaca yağların yükseltgenmesi sonucu bozunması olarak tanımlanabilir. Bu olay hücre zarı fosfolipidlerinin doymamış yağ asitlerinde meydana gelir. Metabolizmada oluşan toksik aldehytlerin hücre zarında protein yapıda olmayan yani yağ molekülleri ile tepkimeye girerek hücre zarında olumsuz etkiler bırakmasıdır (Yarsan, 1998). Dolayısıyla lipid peroksidasyonu hücre hasarının en önemli göstergelerinden biridir. Malondialdehit bu süreçte açığa çıkan, lipid peroksidasyonunun belirteçlerinden biridir ve oksidatif hasarın iyi bir biyomarkırı olarak günümüzde sıklıkla kullanılmaktadır (Hodgson, 2004; Paskerova vd., 2012). Siyanürün metabolizmada meydana getirdiği oksidatif stres, hücrede lipid peroksidasyonunun oluşumundan birinci derecede sorumludur. Bu çalışmada sazan balıkları 0,1 ve 0,2 mg/L siyanür konsantrasyonuna maruz bırakılmıştır. Bulgular incelendiğinde üç gün süre siyanür maruziyetinde beyin ve solungaç dokuları hariç diğer tüm dokularda MDA düzeylerinin arttığı görülmüştür. Özellikle metabolik hızı yüksek bir organ olan karaciğerde MDA düzeyleri istatistiksel anlamda önemli ölçüde artış göstermiştir. Hermenean vd. (2015), Romanya'da Tur Nehri'nin kaynağa yakın ve uzak bölgelerinde demir, çinko, bakır, kadmiyum ve kurşun gibi metallerin birikim analizini yapmışlar ve kaynağa uzak olan bölgelerde metal birikiminin daha yoğun olduğunu tespit etmişlerdir. Nehrin iki ayrı bölgesinden avladıkları *Leuciscus cephalus* türü balıkların karaciğer ve böbrek dokularında MDA miktarlarını incelemişler ve kaynağa uzak olan bölgelerde yaşayan balıkların MDA düzeylerinin daha yüksek olduğunu saptamışlardır (Hermenean vd. 2015). David ve Kartheek (2016), 0,1 mg/L konsantrasyonda sodyum siyanürün sazan balıklarında lipid peroksidasyon miktarını önemli ölçüde artırdığını bildirmiştir. Balıklar hücre zarına bağlı fonksiyonların sürdürülmesinde oldukça önemli bir role sahip çoklu doymamış yağ asitlerini içerirler. Çalışmada elde edilen yüksek MDA oranı ve artan lipid peroksidasyonu, balıkların çoklu doymamış yağ asitlerini yüksek oranda içermelerinden kaynaklanabilir. Benzer sonuçlar, literatürde çeşitli kimyasalların etkisinde kalan balıklarda da görülmektedir (Sharma ve Ansari, 2013; Parthasarathy ve Joseph 2011).

### 5.4. Histopatolojik Analizler

Histopatolojik yöntemler, canlı dokunun ayrıntılı bir şekilde incelenip herhangi bir lezyona sahip olup olmadığını belirlemek için doğru sonuçlar veren yöntemlerdir. Çeşitli biyomarkırlar yardımıyla herhangi bir kirleticinin metabolizmada meydana getirdiği hasarlar tespit edilebilir. Ancak, bu tespitler dolaylı olmaktadır. Histopatolojik doku izleme ve

immunohistokimyasal boyamalar canlı dokular ile ilgili net sonuçlar vermektedir. Zira dokuda meydana gelen yıkım mikroskop altında direkt görülebilmektedir.

#### 5.4.1. Bcl-2 ekspresyonu

Bcl-2, apoptozisi baskılayan, kaspaz bağımlı apoptozis yolunu ve oksidanlar ve hipoksi nedeniyle oluşan nekrozu inhibe eden ve mitokondri dış zarında bulunan bir proteindir (Green ve John, 1998; Arockiaraj vd. 2015). Siyanürün canlıda oksidatif hasar ve hipoksiye neden olduğu bilinmektedir. Bu yüzden siyanür varlığında Bcl-2 proteininin ekspresyonunu bilmek önemlidir. Vidal vd. (2008), *C. carpio* türünde apoptozis bağımlı genlerin karakterizasyonunu yapmış ve Bcl-2 proteininin ilk kez karakterizasyonunu çıkarmıştır. Yapılan bu çalışmada histopatolojik analizleri yapılan her üç dokuda Bcl-2 ekspresyonu siyanür varlığı ile önemli derecede düşüş göstermiştir. Özellikle 0,2 mg/L konsantrasyonda siyanüre maruz kalan sazan balıklarının çalışılan tüm dokularında istatistiksel anlamda önemli derecede düşüş görülmüştür. Cao vd. (2013), *C. carpio* türünü doksan gün boyunca florüre maruz bırakmışlar ve karaciğerde programlı hücre ölümü apoptozis oranını ve Bcl-2 ekspresyonunu gözlemişlerdir. Florür maruziyeti ile apoptozis oranının artışında pozitif, Bcl-2 ekspresyonu arasında negatif bir korelasyon tespit edildiği bildirilmiştir (Cao vd., 2013). Yuan vd. (2016), *Ictalurus punctatus* türünde Bcl-2 geninin ilk kez tanımlanmasını ve açıklanmasını gerçekleştirmişler ve bu türde bakteriyel enfeksiyon ve hipoksi durumlarında Bcl-2 ekspresyonlarının azaldığını bildirmişlerdir. Yapılan çalışmalar, herhangi bir kimyasal ya da biyolojik etkiye maruz kalındığında balık metabolizmasında Bcl-2 ekspresyon oranlarının düştüğünü göstermektedir. Bu durum beraberinde dokuda apoptozis olayının hızlanmasına neden olur ve hızlanmış apoptozis patolojik bir durumdur. Lakomiak vd. (2016) ise sekiz, yirmi dört ve kırk sekiz saat süre ile bir hepatotoksin ve tümör oluşturucu olan mikrosistin-LR'ye maruz bıraktıkları *Coregonus lavaretus* türünün karaciğer dokusunda Bcl-2 ekspresyonunun kontrol grubuna göre artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Görüldüğü gibi tümör oluşturan bir kimyasala maruz kalan balıkta, Bcl-2 proteininin aktivasyonu artarak bu durum giderilmeye çalışılmaktadır. Literatür incelendiğinde, balık dokularında siyanür maruziyeti ve Bcl-2 ekspresyonu arası ilişki ile ilgili bir çalışmanın olmadığı ve bu çalışmanın ilk olduğu söylenebilir.

#### 5.4.2. Kaspaz 3 ekspresyonu

Kaspaz-3, önemli bir apoptotik proteazdır ve hücrenin programlı bir şekilde ölmesini sağlar. Aktif haldeki kaspaz-3 deosiribonükleaz enzimini inhibe ederek inaktifleştirir ve DNA'nın parçalanmasını sağlar. Aynı zamanda DNA tamir mekanizmasını da inhibe ederek apoptozisin geri dönüşümsüz bir şekilde gerçekleşmesini sağlar (Elvitigala vd., 2012). Bu

çalışmada kullanılan balıkların karaciğer, solungaç ve deri dokularında kaspaz-3 ekspresyonları siyanür maruziyeti ile önemli ölçüde arttığı görülmüştür. Aynı zamanda artan siyanür konsantrasyonu ile kaspaz-3 ekspresyonları arasında doğru orantı bulunmaktadır. Jiang vd. (2015), *C. carpio* var. Jian türünü bakıra maruz bırakmışlar ve kas dokuda kaspaz-3 ekspresyonunun önemli ölçüde artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu durumun apoptozisi artırdığını da rapor etmişlerdir. Aynı çalışmada balıkları bakır maruziyetinin ardından myo-inositol ile muamele etmişler ve myo-inositolün kaspaz-3 aktivitesini kontrol grubu balıklar ile aynı seviyeye getirdiğini belirtmişlerdir. Ren vd. (2014), *Miichthys miiuy* türünün üç adet kaspaz proteininin genetik yapısını belirlemişler ve *Vibrio anguillarum* bakterisine karşı kaspaz proteinlerinin immun yanıtını incelemişlerdir. Çalışmada *V. anguillarum* bakterisi ile enfekte olan balıkların kaspaz-3 ekspresyonlarının karaciğer, dalak ve böbrek dokularında 6 ila 72 saatlik zaman aralıklarında zamana bağlı şekilde artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Morcillo vd. (2016), *Sparus aurata* ve *Dicentrarchus labrax* türünün çeşitli metaller ile muamelesi sonucu böbrek ve kan lökositlerinde kaspaz-3 ekspresyon oranlarını incelemişlerdir. Çalışma sonucunda EC<sub>0</sub> ve EC<sub>50</sub> oranlarında kadmiyum, cıva ve arsenik konsantrasyonlarına maruz kalan balıkların kaspaz-3 oranlarının önemli ölçüde yükseldiği tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada kurşunun da kaspaz-3 ekspresyonunu artırdığı, ancak bu durumun istatistiksel açıdan önemli olmadığı görülmüştür. Çalışmada kaspaz-3 ekspresyonlarının artışının apoptozisin artmasına neden olduğu rapor edilmiştir. Kumaresan vd. (2016), *Channa striatus* türünün tüm dokularında kaspaz ailesinin tanımlarını yapmış ve kaspaz ailesinin bakteriyel ve fungal tehditlere karşı ekspresyon oranlarını incelemişlerdir. Çalışılan türde en yüksek kaspaz-3 ekspresyonunu bir lenfoid organ olan dalakta tespit etmişlerdir. Bakteriyel ve fungal tehdit durumlarında ise özellikle yirmi dört saatte kaspaz-3 ekspresyonlarının kontrol gruplarına göre oldukça önemli ölçüde arttığını rapor etmişlerdir. Literatürde bildirilen ve bu çalışmadan elde edilen sonuçlar incelendiğinde balığın kimyasal ya da biyolojik bir ajana maruz kaldığında kaspaz-3 ekspresyonlarının arttığı ve bu durumun hücrelerde apoptozisi artırabileceği sonucuna ulaşılmaktadır.

#### **5.4.3. Histomorfolojik inceleme**

Çalışmada elde edilen bulgular incelendiğinde üç ve on beş gün siyanüre maruz bırakılan balıkların karaciğer, solungaç ve deri dokularında patolojik skor seviyesinin önemli derecede arttığı görülmektedir. Karaciğerde siyanür maruziyeti ile hepatositlerde lipid birikimi, lenfosit infiltrasyonu, fibrosis, rejenerasyon ve hepatik kord yapılarında kayıplar görülmüştür. Siyanürden etkilenen balıkların solungaç dokularında hipertrofik ve hiperplastik filamentler oluşmuş, filamentlerde hiperplazi görülmüş ve hücre agregatları birikmiştir. Siyanüre maruz



kalan sazan balıklarının deri dokularında ise goblet hücrelerinde artma, epitelde hiperplazi ve hiperplastik epitel oluşumu gözlenmiştir. Hipertrofi, bir organ ya da dokunun aşırı büyümesi, hiperplazi ise dokunun hücre sayısını artırarak aşırı gelişmesi olarak tanımlanır. David ve Kartheek (2016), 0,1 mg/L konsantrasyonda sodyum siyanüre maruz bıraktıkları sazan balıklarının karaciğer dokularında hiperplazi, lenfosit infiltrasyonu gibi bu çalışmadan elde edilen sonuçlara benzer patolojik bulgular saptamıştır. Al-Ghanbusi vd. (2012), farklı konsantrasyonlarda deltametrine maruz bıraktıkları *Aphanius dispar* türü balıkların solungaç dokularında hipertrofi ve hiperplazi tespit etmişlerdir. Aynı zamanda solungaçlarda bazı birbirine yakın sekonder lamellerin deltametrin maruziyeti ile birbirine kaynaştığını saptamışlardır. *Cyprinus carpio* türüne simazin maruziyeti ile yapılan bir deneyde solungaç dokularında hiperplazi saptanmıştır (Oropesa-Jimenez vd., 2005). Yine *Cyprinus carpio* türüne farklı konsantrasyonlarda azadiraktin uygulanması ile solungaç dokularında sekonder lamellerin epitel hücrelerinde artış ve hipertrofi görülmüştür (Murussi vd. 2016). Ayrıca mukus ve klorür hücrelerinde de hiperplazi ve hipertrofi ile lamellerde anevrizma saptanmıştır. Çeşitli kimyasallara maruz kalmış balıkların solungaç dokularında meydana gelen patolojik değişimler, bu çalışmada siyanürün sazan balıklarının solungaç dokularında meydana getirdiği değişimler ile benzerlik göstermektedir. Aynı zamanda çeşitli kimyasalların balık solunum organı olan solungacı oldukça olumsuz etkilediğini de göstermektedir. Hipertrofi ve hiperplazi gibi bu tür patolojik durumlar dokunun aşırı büyüerek, kan ile dış ortam arasında bir boşluk meydana getirerek kimyasalın metabolizmaya girişini engellemeye çalışması şeklinde açıklanabilir (Cengiz, 2006; Poleksiz ve Mitrovic-Tutundzic 1994). Solungaç dokudaki bu olumsuz değişimler, balığın daha sık solunum yapmasını ve bu fizyolojik olayda daha çok enerji harcamasına sebep olacaktır.

Maceda-Veiga vd. (2013), kanalizasyon atıklarının karıştığı sularda metal akümülyasyonunun fazla olduğunu ve bu durumun *Squalius laietanus* türünün karaciğer histopatolojisine olumsuz etkilerinin bulunduğunu rapor etmişlerdir. Maceda-Veiga vd. (2013)'ne göre temiz bir bölgeden alınan aynı türde balıkların karaciğer dokularında herhangi bir lezyona rastlanmazken, atık suların karıştığı bölgeden alınan bireylerde karaciğerde lenfosit infiltrasyonu ve yağ birikimi gibi olumsuzluklar bildirilmiştir. Ben Ameer vd. (2012), Akdeniz ve Akdeniz'e bağlı Bizerte Lagünü'nden yakaladıkları *Mugil cephalus* ve *Dicentrarchus labrax* türlerinin karaciğer dokularının histopatolojik durumunu incelemişlerdir. Akdeniz'den yakalanan türlerin karaciğer dokularında normal parenkimal düzen olduğu bildirilmiştir. Buna karşılık Bizerte Lagünü'nden yakaladıkları bireylerde ise yoğun vakuolizasyon, hepatositlerde lipid birikimi ve dokunun bazı bölgelerinde nekroz tespit edildiğini rapor etmişlerdir (Ben

Ameur vd., 2012). Bukhari vd. (2012), gama ışınlarına maruz bıraktığı *Oreochromis mossambicus* türünün karaciğer dokularında nekrotik hücreler, hücresel şişme, yapısal bozukluklar ve damarlarda hafif tıkanıklıklar gibi normal olmayan durumlar tespit etmişlerdir. Bu çalışmada sazan balıklarının kontrol grubu ve siyanüre maruz kalmış balıkların karaciğer dokularında elde edilen sonuçlar ile literatürde bildirilen ilgili sonuçlar örtüşmektedir. Ancak, literatürde siyanürün balık dokularına olan etkileri ile ilgili çalışmaların oldukça yetersiz olduğu görülmektedir.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar incelendiğinde siyanür maruziyetinin sazan balıklarının karaciğer, solungaç ve deri dokularını olumsuz şekilde etkilediği görülmektedir. Bu durum, siyanürün metabolizmada yüksek birikim özelliği göstermemesine rağmen, girdiği canlıda doku harabiyetleri meydana getirdiğini göstermektedir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kütahya İli sınırları içerisinde bulunan çeşitli su kaynaklarında siyanür analizleri yapılmış, 158 istasyondan sadece 2 istasyonda Türkiye insani tüketim amaçlı sular hakkında yönetmelik ve AB içme suyu direktifine göre eşik değerlerin üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Ancak, bu durum sadece bir ölçüm için geçerlidir. Daha sonra bu iki su kaynağında yapılan siyanür analizlerinde insan sağlığı bakımından risk oluşturmayacak daha düşük değerler elde edilmiştir. Bu bakımdan, Kütahya İli su kaynaklarının siyanür miktarlarının insan sağlığı açısından risk oluşturmayacağı söylenebilse de zaman zaman analizlerin tekrarlanması fayda olacağı düşünülmektedir.

Üç ve on beş gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonlarda siyanür maruziyetinin *Cyprinus carpio* türü balıkların kan parametrelerini belli oranda etkilese de hemoglobin ve hematokrit değerleri dışında, incelenen diğer kan parametrelerinin önemli derecede etkilenmediği tespit edilmiştir. Bu durumun, balıklarda kan parametrelerinin oldukça değişken olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Üç ve on beş gün süre ile 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonlarda siyanüre maruz kalan sazan balıklarının katalaz, süperoksit dismutaz ve karbonik anhidraz aktivitelerinin bazı dokularda inhibisyona uğradığı, bazı dokularda ise arttığı tespit edilmiştir. Bu durumun, siyanürün farklı dokularda biyokimyasal etkilerinin farklı olmasından kaynaklandığı söylenebilir.

Siyanür maruziyeti ile hücre hasarının önemli belirteçlerinden olan malondialdehit seviyelerinin dokularda genelde yükseldiği görülmüştür. Bu da 0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonlarda siyanüre maruziyetin sazan balıklarında lipid peroksidasyonunu artırdığı ve hücrel hasara yol açtığı sonucunu doğurmaktadır.

0,1 mg/L ve 0,2 mg/L konsantrasyonlarda siyanür maruziyetinin sazan balıklarının karaciğer, solungaç ve deri dokularında çeşitli histomorfolojik değişimlere sebep olduğu görülmüştür. Ayrıca, bu konsantrasyonlarda siyanür maruziyetinin sazan balığı dokularındaki Bcl-2 ekspresyon miktarlarını azalttığı, kaspaz-3 ekspresyonlarını ise artırdığı tespit edilmiştir. Siyanürün meydana getirdiği hasarın daha detaylı incelenebilmesi için elektron mikroskobu ile hücrel düzeyde incelemeler de yapılmalıdır.

Literatürde hematolojik, biyokimyasal ve histopatolojik parametrelerin kirleticilerin balıklara olan toksik etkilerini belirlemede uygun indikatörler olduğu bildirilmiştir. Bu

Çalışmada özellikle histopatolojik analizlerin, diğer biyokimyasal ve hematolojik parametrelere göre daha anlamlı sonuçlar verdiği görülmüştür.

Bu çalışmada bütün tatlı su ekosistemlerinde yaşayabilmesi ve kirleticilere karşı dayanıklı olması nedeniyle sazan balıkları kullanılmıştır. Kirleticilere karşı verilen tepkinin canlı türleri arasında farklılaşabileceği ve daha hassas türlerde daha düşük konsantrasyonların olumsuz etkiler meydana getirebileceği dikkate alınarak farklı türlerde de siyanürün toksik etkilerini belirlemeye yönelik araştırmalar yapılmalıdır. Ayrıca, siyanürün farklı bileşenlerinin, farklı sürelerde etkilerinin de çalışılmasına ihtiyaç vardır.



## KAYNAKLAR DİZİNİ

Aebi, H., (1974), Catalase Methods of Enzymatic analysis, B. HU. New York and London, Academic, Press Inc, s. 673-677.

Affonso, E.G., Polez, V.L.P., Correa, C.F., Mazon, A.F., Araujo, M.R.R., Moraes, G., Rantin, F.T., (2002), Blood parameters and metabolites in the teleost fish *Colossoma macropomum* exposed to sulfide or hypoxia, *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* (133), s.375-382.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), (2006), Toxicological Profile for Cyanide, US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta, GA, s. 298.

Ahmad, S.M., Shah, F.A., Bhat, F.A., Bhat, J.I.A., Balkhi, M.H., (2011), Thermal adaptability and disease association in common carp (*Cyprinus carpio communis*) acclimated to different (four) temperatures, *Journal of Thermal Biology* 36(8), s.492-497.

Akanji, A.O., Famuyiwa, O.O., (1993), The effects of chronic cassava consumption, cyanide intoxication and protein malnutrition on glucose tolerance in growing rats., *Br J Nutr* 69, s.269-276.

Akçil, A., (2002), First application of cyanidation process in Turkish gold mining and its environmental impacts, *Minerals Engineering* 15, s.695-699.

Akçil, A., Karahan, A.G., Ciftci, H., Sagdic, O., (2003), Biological treatment of cyanide by natural isolated bacteria (*Pseudomonas* sp.), *Minerals Engineering* 16(7), s.643-649.

Akkuş, İ., (1995), Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, 1. Baskı, Mimoza Yayınları, Konya.

Aktan, A. K., (2013), Yaşlı Sıçanlarda Hipokampusta Oksidatif Stres ve BCL-2 İlişkisi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Alabaster, J. S., Shurben, D. G., Mallett, M. J., (1983), The acute lethal toxicity of mixtures of cyanide and ammonia to smolts of salmon, *Salmo salar* L. at low concentrations of dissolved oxygen. *J. Fish Biol.* 22, s.215-222.

Al-Ghanbusi, R., Ba-Omar, T., Victor, R., (2012), Effect of deltamethrin on the gills of *Aphanius dispar*: A microscopic study, *Tissue and Cell* 44, s.7-14.

Al-Ghanim, K.A., Mahboob, S., (2012), Effect of sodium cyanide on the activities of some oxidative enzymes and metabolites in *Clarias gariepinus*, *African Journal of Biotechnology* 11(41), s.9849-9854.

Alım, Z., Çamur, B., Beydemir, Ş., Küfrevioğlu, Ö.İ., (2014), The correlation between some metal concentrations and carbonic anhydrase activity in Tuna (*Thunnus Thynnus* Linnaeus, 1758) Gill, *Hacettepe J. Biol. & Chem.* 42(2), s.219-224.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Altıkat, S., Coban, A., Cıftıcı, M., Özdemir, H., (2006), In vitro effects of some drugs on catalase purified from human skin, *J. Enzym. Inhibit. Med. Chem.* 21, s. 231-234.
- Ardelt, B.K., Borowitz, J.L., Isom, G.E., (1989), Brain lipid peroxidation and antioxidant defence mechanisms following acute cyanide intoxication. *Toxicol.* 56, s.147-154.
- Armstrong, J., Mc, D., Myers, D.V., Verpoorte, J.A., Edsall, J.T., (1966), Purification and properties of human erythrocyte carbonic anhydrase, *J. Biol. Chem.* 214, s. 5137.
- Arockiaraj, J., Palanisamy, R., Arasu, A., Sathyamoorthi, A., Kumaresan, V., Bhatt, P., Chaurasia, M. K., Pasupuleti, M., Gnanam, A. J., (2015), An anti-apoptotic B-cell lymphoma-2 (BCL-2) from *Channa striatus*: Sequence analysis and delayed and advanced gene expression in response to fungal, bacterial and poly I:C induction, *Molecular Immunology* 63, s.586-594.
- Aslan, A., (2011), Ratlarda Azoksümetan Uygulanarak Oluşturulan Kolorektal Kanserde Likopenin Siklooksijenaz-2 (cox-2), Kaspaz-3, Kaspaz 9, Bax, Bcl-2, p53 Proteinlerinin Ekspresyonu ve DNA Hasarı Üzerine Etkisi, Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- Atabeyoğlu, K., (2011), Bazı Ağır Metallerin Subletal Dozlarının Gökkuşluğu Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) Katalaz, Süperoksit dismutaz, Glutatyon peroksidaz Enzim Aktiviteleri ve mRNA Ekspresyonları Üzerine Etkileri, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Atamanalp, M., (2000), Bir Sentetik Piretroit İnsektisitinin (Cypermethrin) Subletal Dozlarının Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'na Makroskobik, Histopatolojik, Hematolojik ve Biyokimyasal Etkileri, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Aydemir, T., Tarhan, L., (2001), Purification and partial characterization of superoxide dismutase from chicken erythrocytes, *Turkish Journal of Chemistry* 24, s.451-459.
- Aydoğdu, İ., (2002), Kan Sayım Sonuçlarını Nasıl Yorumlamalıyız?, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı, Malatya.
- Ballantyne, B., (1983), The influence of exposure route and species on the acute lethal toxicity and tissue concentrations of cyanide, In: Hayes AW, Schnell RC, Miya TS, eds., *Developments in the science and practice of toxicology*, New York, NY: Elsevier Science Publishers, s.583-586.
- Bandy, B., Davison, A.J., (1987), Interactions between metals, ligands, and oxygen in the autoxidation of 6-hydroxydopamine: mechanisms by which metal chelation enhances inhibition by superoxide dismutase, *Arch Biochem Biophys.* 259(2), s.305-315.
- Ben Ameer, W., Lapuente, J., El Megdiche, Y., Barhoumi, B., Trabelsi, S., Camps, L., Serret, J., Ramos-Lopez, D., Gonzalez-Linares, J., Driss, M.R., Borrás, M., (2012), Oxidative stress, genotoxicity and histopathology biomarker responses in mullet (*Mugil cephalus*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) liver from Bizerte Lagoon (Tunisia), *Marine Pollution Bulletin* 64, s.241-251.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Berkarda, B. ve Eyüboğlu, H. (1983). Hematoloji Laboratuvar Yöntemleri. Ar Basım Yayım., İstanbul, s.347.

Blaha, J., (1976), Mathematical analysis of the chemical system cyanide heavy metals in water determination of components and toxicity of the system-I, The theoretical solution, Water Res. 10, s.815-819.

Borazan, G.Ö., (2004), Marmara ve Karadeniz Bölgesi Yüzeysel Balıkları Karaciğerinde Vitamin A ile Süperoksit Dismutaz, Katalaz ve Glutatyon Peroksidaz Enzim Düzeyleri, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Bradford, M.M., (1976), A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, Anal. Biochem. 72, s. 248.

Bukhari, A.S., Mohamed, H.E.S., Broos, K.V., Stalin, A., Singhal, R.K., Venubabu, P., (2012), Histological variations in liver of freshwater fish *Oreochromis mossambicus* exposed to <sup>60</sup>Co gamma irradiation, Journal of Environmental Radioactivity 113, s.57-62.

Cao, J., Chen, J., Wang, J., Jia, R., Xue, W., Luo, Y., Gan, X., (2013), Effects of fluoride on liver apoptosis and Bcl-2, Bax protein expression in freshwater teleost, *Cyprinus carpio*, Chemosphere 91, s.1203-1212.

Cengiz, E.I., (2006), Gill and kidney histopathology in the freshwater fish *Cyprinus carpio* after acute exposure to deltamethrin, Environ. Toxicol. Pharmacol 22, s.200-204.

CEPA, (1997), Public health goal for cyanide in drinking water, California Environmental Protection Agency.

Ceyhun, S.B., Şentürk, M., Erdoğan, O., Küfrevioğlu, Ö.İ., (2010), In vitro and in vivo effects of some pesticides on carbonic anhydrase enzyme from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) gills, Pesticide Biochemistry and Physiology 97, s.177-181.

Chebbi, S.G., David, M., (2011), Modulation in the Protein Metabolism under Sublethal Concentration of Quinalphos Intoxication in the Freshwater Common Carp, *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758), International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives 2(4), s.1183-1189.

Chegwidden, W.R., Carter, N.D., (2000), Introduction to the carbonic anhydrases 90, s.13-28.

Cicerone, R.J., Zellner, R., (1983), The atmospheric chemistry of hydrogen cyanide (HCN), J. Geophys Res 88, s.10689-10696.

Cole, M.B., Arnold, D.E., Watten, B.J., Krise, W.F., (2001), Haematological and physiological responses of brook charr, to untreated and limestone-neutralized acid mine drainage, J. Fish Biol. 59, s.79-91.

Conn, E.E., (1980), Cyanogenic compound, An. Rev. Plant. Physiol 31, s.433-451.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Crosti, N., Servidei, T., Bajer, J., Serra, A., (1987), Modification of 6- hydroxydopamine technique for the correct determination of superoxide dismutase, J.Clin. Chem. Clin. Biochem. 25, s.265-266.

Cyanide Fact Sheet, (2001), Department of Interior U.S., Bureau of Reclamation, Technical Service Center, Water Treatment Engineering and Research Group, August, s.1-4.

Çelik, E.Ş., (2006), Balıkların Kan Parametreleri Üzerine Ağır Metallerin Etkisi, E.Ü. Su Ürünleri Dergisi 23(1), s.49-55.

Çelik, E.Ş., Akbulut, M., Odabaşı, S.S., Odabaşı, D.A., (2006), Farklı Tür Balıklarda Hematolojik İndekslerin Referans Değerleri Anadolu Üniversitesi Bilim Ve Teknoloji Dergisi 7 (2), s.277-293.

Çelikkale, M.S., (1988), İçsu Balıkları ve Yetiştiriciliği, Karadeniz Teknik Üniversitesi Basımevi, Trabzon.

Çelikkale, M.S., (2003), Balık Biyolojisi Cilt 2, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi Genel Yayın 101, Fakülte Yayın 1, III. Baskı, Trabzon.

Çevik, E., Göçmen, B., Mermer, A., (2007), Hayvan Fizyolojisi (Cilt I: Sindirim, Solunum, Dolaşım ve Boşaltım), Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi 169, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir, s. 127.

Dash, R.R., Gaur, A., Balomajumder, C., (2009), Cyanide in industrial wastewaters and its removal: A review on biotreatment, Journal of Hazardous Materials 163, s.1-11.

David, M., Kartheek, R.M., (2016), In vivo studies on hepato-renal impairments in freshwater fish *Cyprinus carpio* following exposure to sublethal concentrations of sodium cyanide, Environ Sci Pollut Res, 23, s.722-733.

David, M., Munaswamy, V., Halappa, R., Marigoudar, S.R., (2008), Impact of sodium cyanide on catalase activity in the freshwater exotic carp, *Cyprinus carpio* (Linnaeus), Pesticide Biochemistry and Physiology 92, s.15-18.

David, M., Ramesh, H., Patil, V.K., Marigoudar, S.R., Chebbi, S.G., (2010), Sodium cyanide-induced modulations in the activities of some oxidative enzymes and metabolites in the fingerlings of *Cyprinus carpio* (Linnaeus), Toxicological & Environmental Chemistry 92 (10), s.1841-1849.

David, M., Sangeetha, J., Harish, E.R., (2014), Sodium cyanide induced alteration in the whole animal oxygen consumption and behavioural pattern of freshwater fish *Labeo rohita*, Journal of Environmental Biology 36, s.405-408.

Daya, S.S., Walker, R.B., Anoopkumar-Dukie, S.S., (2000), Cyanide-induced free radical production and lipid peroxidation in rat brain homogenate is reduced by aspirin, Metab. Brain Dis. 15, s.203-210.



### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Demir, N., (1996), İhtiyoloji, İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Basımevi, Cilt No. 2, İstanbul, s. 365.

Demir, N., (2006), İhtiyoloji, Nobel Yayın Dağıtım, Yayın no 924, Fen ve Biyoloji Yayınları Dizisi 31, Ankara, s. 423.

Demiray, A., (2015), Akciğer Kanseri Tanılı Hastalarda EGFR Mutasyonlarının Kemoteropatik İlaçlar ile Yanıt İlişkilerinin ve Bu Mutasyonların Tümör Hücrelerindeki P53, PTEN, Trail Reseptör, FAS Reseptör, Survivin, Bax ve Bcl-2 İfadelerine Etkilerinin Araştırılması, Doktora Tezi, Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Denizli.

Demirdağ, R., Yerlikaya, E., Aksakal, E., Küfrevioğlu, Ö. İ., Ekinci, D., (2012), Influence of pesticides on the pH regulatory enzyme, carbonic anhydrase, from European Seabass liver and bovine erythrocytes, *environmental toxicology and pharmacology* 34, s.218–222.

Dimitrova, M., Tishinova, V., Velcheva, V., (1994), Combined effect of zinc and lead on the hepatic superoxide dismutase–catalase system in carp (*Cyprinus carpio*), *Comp. Biochem. Physiol.* 108, s.43-46.

DiPasquale, L.C., Davis H.V., (1971), The acute toxicity of brief exposures to hydrogen fluoride, hydrogen chloride, nitrogen dioxide, and hydrogen cyanide singly and in combination with carbon monoxide, s.279-289 in Proceedings of the Second Annual Conference on Environmental Toxicity, AMRL-TR-71-120, Aerospace Medical Research Laboratory, Wright-Patterson Air Force Base, Dayton, Ohio.

Doğan, S., (2006), The in vitro effects of some pesticides on carbonic anhydrase activity of *Oncorhynchus mykiss* and *Cyprinus carpio* fish, *J. Hazard. Mater.* 132, s 171-176.

Dokmeci, İ., (2001), Toksikoloji-Zehirlenmelerde Tanı ve Tedavi, Baskı Nobel Tıp Kitabevleri, s. 749.

Dorr, J.V.N., (1936), Cyanidation and Concentration of Gold and Silver Ores, McGraw-Hill, New York.

Douglas, C.J., Krishnan, P., Li, L., Palur, G.G., Yan, S., Joseph, L.B., Gary, E.I., (2003), Cyanide enhancement of dopamine-induced apoptosis in mesencephalic cells involves mitochondrial dysfunction and oxidative stress, *Neurotoxicology* 24, s.333-342.

Dökmeçi, İ., (2001), Toksikoloji, Zehirlenmelerde Tanı ve Tedavi, Nobel Tıp Kitabevleri.

Draper, H.H., Hadley, M., (1990), Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation, *Method Enzymol* 180, s.421-431.

Dube, P. N., Shwetha, A., Hosetti, B.B., (2012), In vivo changes in the activity of (gill, liver and muscle) ATPases from *Catla catla* as a response of copper cyanide intoxication, *European Journal of Experimental Biology* 2(4), s.1320-1325.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Dube, P.N., Hosetti, B.B., (2010), Respiratory distress and behavioural anomalies of Indian Major Carp, *Labeo rohita* (Hamilton) exposed to sodium cyanide, *Recent Research in Science and Technology* 2(2), s.42-48.

Dube, P.N., Hosetti, B.B., (2011), Inhibition of ATPase activity in the freshwater fish *Labeo rohita* (Hamilton) exposed to sodium cyanide, *Toxicology Mechanisms and Methods* 21(8), s.591-595.

Dube, P.N., Shwetha, A., Hosetti, B.B., (2013), Effect of exposure to sublethal concentrations of sodium cyanide on the carbohydrate metabolism of the Indian Major Carp *Labeo rohita* (Hamilton, 1822), *Pesq. Vet. Bras.* 33(7), s.914-919

Dube, P.N., Shwetha, A., Hosetti, B.B., (2014), Impact of copper cyanide on the key metabolic enzymes of freshwater fish *Catla catla* (Hamilton), *Biotechnology in Animal Husbandry* 30(3), s.499-508.

Ebbs, S., (2004). Biological degradation of cyanide compounds, *Curr Opin Biotechnol* 15, s.231-236.

Eisler, R., (1991), Cyanide Hazards to Fish, Wildlife, and Invertebrates: A Synoptic Review, *Contaminant Hazard Reviews*, Report 23.

Elahee, K.B., Bhagwant, S., (2007), Hematological and gill histopathological parameters of three tropical fish species from a polluted lagoon on the west coast of Mauritius, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 68, s.361-371.

Elsner, L., (1846), Observations on the behavior of pure metals in an aqueous solution of cyanide (in German), *J. Prakt. Chem.* 37, s.441-446.

Elvitigala, D.A.S., Whang, I., Premachandra, H.K.A., Umasuthan, N., Oh, M.J., Jung, S.J., Yeo, S.Y., Lim, B.S., Lee, J.H., Park, H.C., Lee, J., (2012), Caspase 3 from rock bream (*Oplegnathus fasciatus*): Genomic characterization and transcriptional profiling upon bacterial and viral inductions, *Fish & Shellfish Immunology* 33, s.99-110.

Erdem, S., (2009), Farklı Isı Derecelerinin Kan Hücrelerinin Morfolojisi ve Yaşam Süresine Olan Etkisinin Değerlendirilmesi, *Histoloji-Embriyoloji Yüksek Lisans Tezi*, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyon.

Ferhanoğlu, B., (2005), PDQ Hematoloji, İstanbul Medikal Yayıncılık.

Ganczarzyk, J.J., Takoaka, P.T., Ohashi, D.A., (1985), Application of polysulfide for pretreatment of spent cyanide liquors, *J. Water Pollut. Control Fed.* 57, s.1089-1093.

Geldiy, R., Balık, S., (1999), Türkiye Tatlısu Balıkları, Ege Üniversitesi Yayinevi, Bornova, İzmir.

Gijzen, H.J., Bernal, E., Ferre, H., (2000), Cyanide Toxicity and Cyanide Degradation in Anaerobic Waste Water Treatment, *Water Research* 34, No: 9, s.2247-2454.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Gomes, M.T.S.R., Silva, A.A.F., Duarte, A.C., Oliveira, J.A.B.P., (1998), Determination of cyanide in waste waters using a quartz crystal microbalance, *Sens Actuators B Chem.* 48, s.383-386.

Govind, P., (2013), Toxicity of Cyanide in Fishes: an Overview, *Universal Journal of Pharmacy* 2(2), s.23-26.

Green, D.R., John, C.R., (1998), Mitochondria and apoptosis. *Science* 281, 28 (review).

Greenwood, N.N., Earnshaw A., (1984), Chemistry of Elements, Butterworth, Heinemann.

Guidelines for Canadian Drinking Water Quality Summary Table, (2014), Federal-Provincial-Territorial Committee on Health and the Environment, Kanada.

Gurbuz, F., Ciftci, H., Akcil, A., Karahan, A.G., (2004), Microbial detoxification of cyanide solutions: a new biotechnological approach using algae, *Hydrometallurgy* 72, s.167-176.

Güven, K.C., Gezgin, T., Ünlü, S., Okuş, E., Uysal, A., Doğan, E., (2001), Cyanide determination in the Black Sea and İstanbul Strait seawater, fish and mussel, *Turkish J of Marine Sciences* 7, s.19-30.

Habashi, F., (1987), One hundred years of cyanidation, *CIM Bulletin* 80(905), s.108-114.

Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., (1989), Free radicals in biology and medicine, Ed 2. Clarendon Press, Oxford.

Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., (1990), The antioxidants of human extracellular fluids. *Archives of biochemistry and biophysics* 280(1), s.1-8.

Han, M. C., Sağlıyan, A., Polat, E., (2016), Akvaryum balıklarında karanfil yağının anestezi etkilerinin araştırılması, *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 5 (1), s.12 – 17.

Han, Y., Koshio, S., Jiang, Z., Ren, T., Ishikawa, M., Yokoyama, S., Gao, J., (2014), Interactive effects of dietary taurine and glutamine on growth performance, blood parameters and oxidative status of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*, *Aquaculture* 434, s.348-354.

Hanawa, M., Harris, L., Graham, M., Farrel, A.P., Bendell-Young, L.I., (1998), Effects of cyanide exposure on *Dascyllus aruanus*, a tropical marine fish species: lethality, anaesthesia and physiological effects, *Aquarium Sciences and Conservation* 2 (1), s.21-34.

Hariharakrishnan, J., Satpute, R.M., Prasad, G.B.K.S., Bhattacharya, R., (2009), Oxidative stress mediated cytotoxicity of cyanide in LLC-MK2 cells and its attenuation by alphetoglutamate and N-acetyl cysteine, *Toxicol. Lett.* 185, s.132-141.

Hartung, R., (1982), Cyanides and nitriles In: Clayton, G.D., Clayton, F.E., eds. *Patty's industrial hygiene and toxicology* Vol. IIC, 3rd ed., New York, NY: John Wiley and Sons, s.4845-4900.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Health Canada, (2014), Guidelines for Canadian Drinking Water Quality—Summary Table, Water and Air Quality Bureau, Healthy Environments and Consumer Safety Branch, Health Canada, Ottawa, Ontario.

Heikkila, R.E., Cabbat, F., (1976), A sensitive assay for superoxide dismutase based on the autoxidation of 6-hydroxydopamine, *Analytical Biochemistry* 75, s.356-362.

Hermenean, A., Damache, G., Albu, P., Ardelean, A., Ardelean, G., Ardelean, D.P., Horge, M., Nagy, T., Braun, M., Zsuga, M., Keki, S., Costache, M., Dinischiotu, A., (2015), Histopathological alterations and oxidative stress in liver and kidney of *Leuciscus cephalus* following exposure to heavy metals in the Tur River, North Western Romania, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 119, s.198-205.

Ho, P.K., Hawkins, C.J., (2005), Mammalian initiator apoptotic caspases, *FEBS J.* 272, s.5436-5453.

Hodgson, E., (2004), A textbook of modern toxicology, Wiley, Hoboken.

Hosetti, B., Dube, P., (2011), Evaluation of acute toxicity of copper cyanide to freshwater fish, *Catla catla* (Hamilton), *Journal of Central European Agriculture* 12(1), s.135-144.

Hosetti, B.B., Dube, P.N., Shwetha, A., (2011), Metabolic Changes In The Freshwater Fish *Catla catla*, Under Copper Cyanide Intoxication, *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives* 2(3), s.874-879.

<http://www.fao.org/docrep/x5624e/x5624e05.htm>

<http://www.fishbase.org/summary/Cyprinus-carpio.html>

<http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2004/12/Su%20Kirlili%C4%9Fi%20ekleri.htm>

<http://technology.infomine.com/reviews/cyanide>>.

İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik, (2005).

Jackman, R.M., (2014), AB İçme Suyu Direktifi.

Jang, J.H., Surh, Y.J., (2003), Potentiation of cellular antioxidant capacity by Bcl-2: implications for its antiapoptotic function. *Biochem Pharmacol* 66, s.1371-1379.

Jiang, W.D., Liu, Y., Jiang, J., Wu, P., Feng, L., Zhou, X.Q., (2015), Copper exposure induces toxicity to the antioxidant system via the destruction of Nrf2/ARE signaling and caspase-3-regulated DNA damage in fish muscle: Amelioration by myo-inositol, *Aquatic Toxicology* 159, s.245–255.

Johnson, C.A., (2015), The fate of cyanide in leach wastes at gold mines: An environmental perspective, *Applied Geochemistry* 57, s.194-205.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Jones, J.R., (1964), Fish and river pollution, London, Butterworth and Co. (Publishers) Ltd.
- Kara, T.T., (2012), Astımlı Çocuklarda Trombosit Aktivasyonunun Belirlenmesi, Uzmanlık Tezi, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara.
- Karataş, M., (2010), Balık Biyolojisi Araştırma Yöntemleri, Öncü Yayınevi.
- Kandel, M., Gonall, A.G., Wong, S., Kondel, S.I., (1970), Some characteristics of human, bovine and horse carbonic anhydrase as revealed by inactivation studies, J. Biol.Chem. 245, s. 2444.
- Kavasoğlu, M., Sarıoğlu, Y., Uysal, K., Dönmez, M., Altıkat, S., Yetek, İ., Kuru, H. İ., (2015), Effect of Sodium Cyanide on Antioxidant Enzyme Activities and Lipid Peroxidation in Some Tissues of Mirror Carp (*Cyprinus carpio*), Pakistan J. Zool. 47(6), s.1777-1782.
- Kavitha, C., Malarvizhi, A., Kumaran, S. S., Ramesh, M., (2010), Toxicological effects of arsenate exposure on hematological, biochemical and liver transaminases activity in an Indian major carp, *Catla catla*, Food and Chemical Toxicology 48, s.2848-2854.
- Kaya, A., Okur, M., Üstyol, L., Temel, H., Çaksen, H., (2012), Kayısı çekirdeği yeme sonrası akut siyanür zehirlenme olgusu, Türk Pediatri Arşivi Dergisi 47, s.141-142.
- Kocabatmaz, M. ve Ekingen, G., (1984), Değişik tür balıklarda kan örneği alınması ve hematolojik metotların standardizasyonu, Doğa Bilim Der. 8(2), s.149-159.
- Koçak, D., Dündar, Z.D., Demirci, Ş., Cander, B., Doğan, H., (2010), Siyanür Zehirlenmesi: Olgu Sunumu, Akademik Acil Tıp Olgu Sunumları Dergisi 1(1), s.11-14.
- Korte, F., Coulston, F., (1995), From single-substance evaluation to ecological process concept: The dilemma of processing gold with cyanide, Ecotoxicol Environ 32, s.96-101.
- Koz, M., Gelir, E. ve Ersöz, G., 2010. Fizyoloji Ders Kitabı. Nobel Yayın No:566 Eğitim Bilimleri No:145. Ankara, 196 s.
- Köylü, A. A., (2003), Çeşitli Kanser Türlerinde Lipid Peroksidasyonu, Antioksidan Enzimler ve Bunların Tümör Belirteçleri ile Olan İlişkileri, Uzmanlık Tezi, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Şanlıurfa.
- Köymen, G., (2013), Eti Gümüş A.Ş.'de siyanürle gümüş üretimi ve gümüş veriminin artırılması, Yüksek Lisans Tezi, Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kütahya.
- Kubrak, O., Atamaniuk, T.M., Storey, K.B., Lushchak, V.I., (2013), Goldfish can recover after short-term exposure to 2,4-dichlorophenoxyacetate: Use of blood parameters as vital biomarkers, Comparative Biochemistry and Physiology, Part C 157, s.259-265.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Kumaresan, V., Rav, Chandran, G., Nizam, F., Dhayanithi, N.B., Arasu, M.V., Al-Dhabi, N.A., Harikrishnan, R., Arockiaraj, J., (2016), Multifunctional murrel caspase 1, 2, 3, 8 and 9: Conservation, uniqueness and their pathogen-induced expression pattern, *Fish & Shellfish Immunology* 49, s.493-504.

Kuru, H.İ., (2007), Arseniğin İnsan ve Bazı Canlılarda Oksidatif Enzimler Üzerine Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kütahya.

Kuyucak, N., Akçıl, A., (2013), Cyanide and removal options from effluents in gold mining and metallurgical processes, *Minerals Engineering* 50-51, s.13-29.

Küçük, C., (2007), Siyanürle Liç Yöntemiyle Cevherden Altın Kazanımı, Çevresel Sorunlar ve Türkiye Örnekleri (Türkiye Açısından Altın Üretimi), Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Lakomiak, A., Brzuzan, P., Jakimiuk, E., Florczyk, M., Wozny, M., (2016), miR-34a and bcl-2 expression in whitefish (*Coregonus lavaretus*) after microcystin-LR exposure, *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* 193, s.47-56.

Lewis, T.R., Anger, W.K., Te Vault, R.K., (1984), Toxicity evaluation of sub-chronic exposures to cyanogen in monkeys and rats., *J. Environ Pathol Toxicol Oncol* 5, s.151-163.

Li, M., Ding, Y., Mu, Y., Ao, J., Chen, X., (2011), Molecular cloning and characterization of caspase-3 in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*), *Fish Shellfish Immunol* 30, s.910-916.

Lionetto, M.G., Giordano, M.E., Vilella, S., Schettino, T., (2000), Inhibition of eel enzymatic activities by cadmium, *Aquat. Toxicol.* 48, s.561-571.

Lloyd, R., (1992), Pollution and Freshwater Fish, Fishing News Book, UK.

Luis Val, A., Gomes, K.R.M., Almeida Val, V.M.F., (2015), Rapid regulation of blood parameters under acute hypoxia in the Amazonian fish *Prochilodus nigricans*, *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 184, s.125-131.

Lusková, V., 1997, Annual Cycles and Normal Values of Hematological Parameters in Fishes, *Acta Sc. Nat. Brno* 31(5), s.70.

Maceda-Veiga, A., Monroy, M., Navarro, E., Viscor, G., Sostoa, A., (2013), Metal concentrations and pathological responses of wild native fish exposed to sewage discharge in a Mediterranean river, *Science of the Total Environment*, 449, s.9-19.

Maetz, J., Garcia Romeu, F., (1964), The mechanism of sodium and chloride uptake by the gills of fresh-water fish, *Carassius auratus*, *J. Gen. Physiol* 47, s.1209-1227.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Manjunatha, B., Mohiddin, G.J., Ortiz, J., Selvanayagam, M., (2014), Effect of exposure to sublethal concentrations of sodium cyanide on the biochemical aspects in liver of the fresh water fish, *Labeo rohita*, International Journal of Pharmacology and Pharmaceutical Sciences 2(1), s.7-15.
- Manjunatha, B., Tirado, J.O., Selvanayagam, M., (2015), Sub-lethal toxicity of potassium cyanide on Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*), biochemical response, International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 7(3), s.379-382.
- Marsden, J.O., House, C.I., (2006), The Chemistry of Gold Extraction, second ed., Society for Mining, Metallurgy, and Exploration, Inc., Littleton, Colorado.
- Martínez-Álvarez, R.M., Morales, A.E., Sanz, A., (2005), Antioxidant defenses in fish: biotic and abiotic factors. Rev Fish Biol Fish 15, s.75-88.
- Mayer, S., (1998), A review of the scientific justifications for Maintaining cetaceans in captivity. (edit. By Frances Clarke), A report for the whale and dolphin conservation society (WDCS).
- Mazumder, D.N., Das Gupta J., Chakraborty, A.K., Chatterjee, A., Das D., Chakraborty, D., (1992), Environmental pollution and chronic arsenicosis in South Calcutta, Bulletin of the World Health Organization 70(4), s.481-485.
- McGeachy, S. M., Leduc, G., (1988), The influence of season and exercise on the lethal toxicity of cyanide of rainbow trout (*Salmo gairdneri*), Arch. Environ. Contam. Toxicol. 17, s.313-318.
- Miao, E.A., Leaf, I.A., Treuting, P.M., Mao, D.P., Dors, M., Sarkar, A., (2010), Caspase-1-induced pyroptosis is an innate immune effector mechanism against intracellular bacteria, Nat Immunol 11, s.1136-1142.
- Morcillo, P., Meseguer, J., Esteban, M.A., Cuesta, A., (2016), In vitro effects of metals on isolated head-kidney and blood leucocytes of the teleost fish *Sparus aurata* L. and *Dicentrarchus labrax* L., Fish & Shellfish Immunology 54, s.77-85.
- Mudder, T., (2001), The cyanide guide, a special issue of mining environmental management published, The Mining Journal, London, UK.
- Mudder, T.I., Botz, M.M., (2008), Cyanide and Society: A Critical Review, (çev: Akçıl, A.) Madencilik 47(3), s.27-42.
- Mudder, T.I., Botz, M.M., Smith, A., (2001), Chemistry and treatment of cyanidation wastes, second ed., Mining Journal Books, London, UK.
- Murray, K.R., Mayes, P.A., Granner, P.K., Rodwel, V.W., (1993), Harper's Biochemistry 24.ed., Prentice-Hall International Inc.

### KAYNAKLAR DİZİNİ(devam)

Murussi, C.R., Costa, M.D., Leitemperger, J.W., Flores-Lopes, F., Menezes, C.C., Loebens, L., Avila, L.A., Rizzetti, T.M., Adaime, M.B., Zanella, R., Loro, V.L., (2016), Acute exposure to the biopesticide azadirachtin affects parameters in the gills of common carp (*Cyprinus carpio*), Comparative Biochemistry and Physiology, Part C 180, s. 49-55.

Ngugi, C.C., Oyoo-Okoth, E., Mugo-Bundi, J., Orina, P.S., Chemoiwa, E.J., Aloo, P.A., (2015), Effects of dietary administration of stinging nettle (*Urtica dioica*) on the growth performance, biochemical, hematological and immunological parameters in juvenile and adult Victoria Labeo (*Labeo victorianus*) challenged with *Aeromonas hydrophila*, Fish & Shellfish Immunology 44, s.533-541.

Oropesa-Jiménez, A.L., García-Camero, J.P., Gómez-Gordo, L., Roncero-Cordero, V., Soler Rodríguez, F., (2005), Gill modifications in the freshwater fish *Cyprinus carpio* after subchronic exposure to simazine, Environ. Contam. Toxicol 74, s.785-792.

Osobamiro, M.T., (2012), Determination of the Concentration of Total Cyanide in Waste Water of a Tobacco Company in Southwestern Nigeria, J. Appl. Sci. Environ. Manage 16(1), s.61-63.

Otay, T., Küçükgül, A., Pala, A., Şeker, E., (2014), Sazan balıklarının anesteziinde karanfilin kullanımı, Bilim ve Gençlik Dergisi, 2, s.43 – 50.

Özçiftçi, S., (2015), Siyanür İçeren Kuyumculuk Sektöründen Kaynaklanan Atık Suların Ozon Esaslı Fotokimyasal Oksidasyon Prosesleri İle Arıtımının Araştırılması, Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.

Özdemir, M., Sırıken, B., (2006), Afyonkarahisar bölgesi kuyu sularında siyanür düzeylerinin belirlenmesi, Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi 53, s.37-40.

Özel, Y. K., (2008), Çeşitli makrofungus izolatlarının siyanür biyodegradasyon yeteneği açısından değerlendirilmesi ve optimum koşulların belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.

Palm, A., Tuvikene, A., Krause, T., (1992), Changes in haematological characteristics of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walb.) reared in the mixture of natural and oil-shale mine drainage water. Proc. Estonian Acad. Sci.Biol. 41(4), s.183-188.

Parthasarathy, R., Joseph, P., (2011), Study on the changes in the levels of membrane-bound ATPases activity and some mineral status in lambda-cyhalothrin induced hepatotoxicity in freshwater tilapia (*Oreochromis mossambicus*), Afr J Environ Sci Technol 5, s.98-103.

Paskerova, H., Hilscherova, K., Blaha, L., (2012), Oxidative stress and detoxification biomarker responses in aquatic freshwater vertebrates exposed to microcystins and cyanobacterial biomass, Environ Sci Pollut Res 19, s.2024-2037.

Patil, Y.B., (1999), Studies on biological detoxification of metal-cyanides containing industrial effluents, Dissertation, University of Pune.



### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Patil, Y.B., Paknikar, K.M., (2000), Biodetoxification of Silver-Cyanide From Electro-plating Industry Wastewater, Letters in Applied Microbiology 30, s.33-37.
- Patterson, J.W., (1985), Industrial wastewater treatment technology, Second ed., Butterworth Publishers, Boston, s. 454.
- Petersen, J.M., (2002), Tropical pancreatitis, J Clin Gastroenterol 35, s.61-66.
- Pirinçi, İ., Tanyıldızı, S., (1993), Elazığ ve yöresinde kullanılan sularda siyanür düzeylerinin belirlenmesi, VanYüzüncüyıl Üniversitesi Vet. Fak. Dergisi 4,s. 65-72.
- Poleksic, V., Mitrovic-Tutundzic, V., (1994), Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. In: Müller, R., Lloyd, R. (Eds.), Sublethal and Chronic Effects of Pollutants on Freshwater Fish, Cambridge Univ. Press, Cambridge, UK, s.339-352.
- Prashant, M.S., Neelagund, S.E., (2007), Free Cyanide-Induced Biochemical Changes In Nitrogen Metabolism of the Indian Major Carp *Cirrhinus mrigala*, Journal of Basic & Clinical Physiology & Pharmacology 18(4), s.277-287.
- Prashant, M. S., (2011), Acute toxicity, behavioral and nitrogen metabolism changes of sodium cyanide affected on tissues of *Tilapia mossambica* (Peters), Drug Chem Toxicol. 35(2), s.178-183.
- Prusty, A.K., Kohli, M.P.S., Pal, A.K., Saharan, N., Mohapatra, S., Gupta, S.K., (2011), Effect of short term exposure of fenvalerate on biochemical and haematological responses in *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings, Pesticide Biochemistry and Physiology 100, s.124-129.
- Raisanen, S.R., Lehenkari, P., Tasanen, M., Rahkila, P., Harkonen, P.L., Vaananen, H.K., (1999), Carbonic anhydrase III protects cells from hydrogen peroxide-induced apoptosis. FASEB J. 13, s.513-522.
- Raybuck, S.A., (1992), Microbes and microbial enzymes for cyanide degradation, Biodegradation 3, s.3-18.
- Razmilic, B., (1989), Indirect determination of free cyanide by atomic absorption spectroscopy, Atomic Spectroscopy 10, s.74-76.
- Reis, M.I., Nascimento, D.S., Do Vale, A., Silva, M.T., (2007), Dos Santos NM, Molecular cloning and characterisation of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) caspase-3 gene., Mol Immunol 44, s.774-783.
- Ren, L., Wang, R., Xu, T., (2014), Three representative subtypes of caspase in miiuy croaker: Genomic organization, evolution and immune responses to bacterial challenge, Fish & Shellfish Immunology 40, s.61-68.
- Renklidağ, T., Karaman, A.G., (2002), Siyanür Zehirlenmesi, Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi 12(9), s.350-353.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Reyes-Cruz, V., Gonzalez, I., Oropeza, M.T., (2004), Electro-recovery of gold and silver from a cyanide leaching solution using a three-dimensional reactor, *Electrochimica Acta* 49, s.4417-4423.

Ricker, W.E., (1975), Computation and Interpretation of Biological Statistics of Fish Populations, *Bulletin of Fisheries Research Board of Canada*, s.191- 383.

Rose, T.K., (1898), *The Metallurgy of Gold*, third ed. Charles Griffen and Company, London.

Sağlam, D., (2011), Ultrasound Homojenizasyonun Karaciğer Süperoksit Dismutaz, Glutasyon Peroksidaz, Katalaz Enzim Aktivitelerine ve Lipit Peroksit Düzeylerine Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.

Saleh, M.A., Ewane, E., Jones, J., Wilson, B.L., (2001), Chemical evaluation of commercial bottled drinking water from Egypt, *J.Food Compost Anal.* 14, s.124-152.

Saravanan, M., Karthika, S., Malarvizhi, A., Ramesh, M., (2011), Ecotoxicological impacts of clofibric acid and diclofenac in common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings: hematological, biochemical, ionoregulatory and enzymological responses. *J. Hazard. Mater.* 195, 188–194.

Sarı, M., Akar, F., Karakaş, F., (1999), Aydın Yöresinde Yetişen Kanyaş Bitkisinde (*Sorghum halepense* L.) Vejetasyon Dönemlerine Göre Siyanür Düzeylerinin Belirlenmesi, *Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences* 2, s.381-384.

Seriner, R., (2010), Katalaz Enziminin Hıyardan (*Cucumis sativus*) Saflaştırılması, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.

Sharma, D.K., Ansari, B.A., (2013), Effects of deltamethrin on CAT, LPO and GSH in tissues of zebrafish, *Danio rerio*. *Res J. Environ Toxicol* 7, s.38-46.

Shifrin, N.S., Beck, B.D., Gauthier, T.D., Chapnick, S. D., Goodman, G., (1996), Chemistry, toxicology, and human health risk of cyanide compounds in soils at former manufactured gas plant sites, *Regul Toxicol Pharmacol* 23, s.106-116.

Shwetha, A., Dube, P.N., Hosetti, B.B., (2012), Effect of Exposure to Sublethal Concentrations of Zinc Cyanide on Tissue Atpase Activity in The fresh water fish, *Cirrhinus mrigala* (HAM), *Arch. Biol. Sci.* 64 (1), s.257-263.

Shwetha, A., Hosetti, B.B., (2009), Acute Effects of Zinc Cyanide on the Behaviour and Oxygen Consumption of the Indian Major Carp *Cirrhinus mrigala* (Hamilton), *World Journal of Zoology* 4(3), s.238-246.

Shwetha, A., Hosetti, B.B., (2013), Influence of cyanide on some antioxidant enzymes of freshwater fish, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton), *Journal of Agricultural Sciences* 58, s.177-184.

Shwetha, A., Hosetti, B.B., Dube, P.N., (2012), Toxic Effects of Zinc Cyanide on Some Protein Metabolites in Fresh water fish, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton), *Int. J. Environ. Res.* 6(3), s.769-778.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Siller, H., Winter, J., (1998), Treatment of Cyanide Containing Wastewater from The Food Industry in a Laboratory-Scale Fixed-Bed Methanogenic Reactor, Applied Microbiology and Biotechnology 49, No: 2, s.215-220.

Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., (1996), Fundamentals of Analytical Chemistry, 7<sup>th</sup> Edition, Saunders College Publishing.

Solomonson, L.P., Spehar, A.M., (1981), Cyanide as a metabolic inhibitor, In Cyanide in biology, ed. Vennesland, B., Conn, E.E., Knowles, C.J., Westley, J., Wissing, F., 11-28. London: Academic Press.

SRI., (2005), 2005 Directory of chemical producers, Menlo Park, CA, SRI International.

Srikumar, S., (2014), Kolar gold field: (unfolding the untold), Partridge, Gurgaon.

Staunton, W., (1991), Treatment of gold mine waste containing cyanide, Fate of cyanide in the environment near mine tailings, Australian Mineral Industries Research Association Limited (AMIRA), Kasım, s. 227.

Steinman, H.M., (1995), The bcl-2 oncoprotein functions as a pro-oxidant, The Journal of Biological Chemistry 270, s.3487-3490.

Suchard, J.R., Wallace, K.L., Gerkin, R.D., (1998), Acute cyanide toxicity caused by apricot kernal ingestion, Ann Emerg Med 32(6), s.742-744.

Supuran, C.T., Scozzafava, A., (2000), Carbonic Anhydrase inhibitors – Part 94, 1,3,4-thiadiazole-2 sulfonamide derivatives as antitumor agents, Eur. J. Med. Chem. 35, s.867-874.

Svobodova, Z., Vykusova, B., Machova, J., (1994), Sublethal chronic effects of pollutants on freshwater fish, Ed. R. Muller and R. Lloyd. Lugano, s.39-52.

Takle, H., McLeod, A., Andersen, O., (2006), Cloning and characterization of the executioner caspases 3, 6, 7 and Hsp70 in hyperthermic Atlantic salmon (*Salmo salar*) embryos, Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol 144, s.188-198.

Tarhan, L., Tüzmen, M.N., (2000), Some properties of Cu, Zn-superoxide dismutase from sheep erythrocyte, Turkish Journal of Chemistry 24, s.109-116.

Tchounwou, P.B., Patlolla, A.K., Centeno, J.A., (2003), Carcinogenic and systemic health effects associated with arsenic exposure, Toxicologic Pathology 31, s.575–588.

Tekkes, Y., (2006), Streptozotosin ile diabet oluşturulmuş farelerde aspirin ve e vitaminin dokularda lipit peroksidasyonu ve antioksidan sisteme etkisinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, KSGÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, s.2-26.

Testereci, H., Sekin, S., Ekin, S., (1999), Van Gölü Balığının (*Calcalburnus tarichi*)da Karbonik-Anhidrazın Esteraz Aktivitesi Üzerine Bir Çalışma, Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences 23(1), s.145-153.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Timur, M., (2011), Balık Fizyolojisi, Nobel Yayın Dağıtım, Nobel Yayın No:957, Fen ve Biyoloji Yayınları Dizisi 34, Ankara, s. 188.
- Tishinova, V., Ilieva, N., (1994), *Zoology* 85: 98-109 (in Bulgarian).
- Turan, N.A., (2006), Sularda Bulunan Siyanürün Emülsiyon Sıvı Membran Tekniği Kullanılarak Giderimi, Doktora Tezi, On Dokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- US Environmental Protection Agency, National Recommended Water Quality Criteria, EPA-822-R-02-047, Washington DC, USA, <http://www.epa.gov>, (2002), (accessed 18.07.14.).
- Üner, N., Oruç, E.O., Canlı, M., Sevgiler, Y., (2001), Effects of cypermethrin on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in liver and kidney of the freshwater fish, *Oreochromis niloticus* and *Cyprinus carpio* (L.), *Bull Environ Contam Toxicol* 67(5), s.657-664.
- Valade, M.P., (1952), Central nervous system lesions in chronic experimental poisoning with gaseous hydrocyanic acid, *Bull Acad Natl Med (Paris)* 136, s.280-285.
- Van Vuren, J.H.J., Van der Merwe, M., Du Preez, H.H., (1994), The effect of copper on the blood chemistry of *Clarias garlepinus* (Clariidae), *Ecotox. Environm. Safety* 29, s.187-199.
- Velmurugan, B., Cengiz, E.İ., Senthilkumaar, P., Uysal, E., Satar, A., (2016), Hematological Parameters of Freshwater Fish *Anabas testudineus* After Sublethal Exposure to Cypermethrin, *Environmental Pollution and Protection* 1(1), s.32-39.
- Vidal, M.C., Hoole, D., Williams, G.T., (2008), Characterisation of cDNAs of key genes involved in apoptosis in common carp (*Cyprinus carpio* L.), *Fish & Shellfish Immunology* 25, s.494-507.
- Vosyliene, M.Z., (1999), The effect of heavy metals on haematological indices of fish (Survey), *Acta Zoologica, Hydrobiologia* 9(2), s.76-82.
- WHO, (2004), Hydrogen cyanide and cyanides: Human health aspects, Geneva, Switzerland, World Health Organization, s.1-67.
- Wild, S.R., Rudd, T., Neller, A., (1994), Fate and effects of cyanide during wastewater treatment processes, *Sci. Total Environ* 156, s.93-107.
- Yabu, T., Kishi, S., Okazaki, T., Yamashita, M., (2001), Characterization of zebrafish caspase-3 and induction of apoptosis through ceramide generation in fish fathead minnow tailbud cells and zebrafish embryo. *Biochem. J.* 360, 39-47.
- Yarar, B., (2001), Cyanides in the environment and their long-term fate, Seventeenth International Mining Congress and Exhibition of Turkey, s.85-92.
- Yarsan, E., (1998), Lipid Peroksidasyon Olayı ve Önlenmesine Yönelik Uygulamalar, *Y. Y. Ü. Vet. Fak. Derg.* 9(1-2), s. 89-95.

### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Yılayaz, Ö., Bitmiş, K., (2002), Keban Baraj Gölü'nde Yaşayan *Barbus rajanorum mystaceus* (Heckel, 1843)'da Kan Parametrelerinin İncelenmesi, Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi 22(2), s.11-21.

Yıldız, İ., (2001), Kan Sayımında Otomasyon Parametreleri, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Anemiler Sempozyumu, s. 117-125, İstanbul.

Yılmaz, Ö., (2012), Çevresel Su Örneklerinde Spektroskopik (FAAS) Eser Siyanür Tayini İçin Bulutlanma Noktası Ekstraksiyonu (CPE) ile Ayırma ve Zenginleştirme Yöntemi, Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Sivas.

Yılmaz, S., Ozan, T.S., (2003), "Meme kanserli hastalarda lipid peroksidasyonu ve bazı enzim aktiviteleri arasındaki ilişki", Türk Biyokimya Dergisi 28(4), s.252-256.

Yılmaz, S., Yazıcıoğlu, O., Polat, N., (2012), Bafra Balık Gölleri (Samsun, Türkiye)'ndeki Sazan (*Cyprinus carpio* L., 1758)'ın Yaş ve Büyüme Özellikleri, Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi 2(7), s.1-12.

Yılmaz, E., (2015), Balık Hematolojisi ve Yeme Eklenen Bazı Tıbbi Bitkilerin Balıkların Kan Parametrelerine Etkisi Üzerine Bir Derleme, Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi (CFD) 36 (2), s.37-50.

Yuan, Z., Liu, S., Yao, J., Zeng, Q., Tan, S., Liu, Z., (2016), Expression of Bcl-2 genes in channel catfish after bacterial infection and hypoxia stress, Developmental and Comparative Immunology 65, s.79-90.

Yüce, A.E., Önal, G., Tarkan, H.M., (2002), Altın tesisinin güncel verileri siyanürleme ve çevresel etkileri hakkındaki herşeyi açıklıyor, Gelişmekte Olan Ülkeler İçin Uygun Çevre ve Katı Atık Yönetimi ve Teknolojileri Kongresi 4, s.2251-2258.

Zhang, Y.F., Kitano, Y., Nogata, Y., Zhang, Y., Qian, P.Y., (2012), The Mode of Action of Isocyanide in Three Aquatic Organisms, *Balanus amphitrite*, *Bugula neritina* and *Danio rerio*, PLoS ONE 7(9), s. 45442.

Zhiteneva, L.D., Poltavceva, T.G., Rudnickaja, O.A., (1989), Atlas of normal and pathological cells in the blood of fish, Rostov-on-Don.

Zikic, R.V., Stajin, A.S., Pavlovic, S.Z., Ognjanovic, B.I., Maletic, S.D., Markovic, M.D., Dragicevic-Djokovic, L.M., Radojicic, R.M., Saicic, Z., (2002), Effects of acute hypoxia on the energy status and antioxidant defense system in the blood of Carp (*Cyprinus carpio* L.), Arch. Biol. Sci. 54(1-2), s.11-18.

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

Adı ve Soyadı	Mustafa KAVASOĞLU
Doğum Yeri ve Tarihi	İzmir, 31.03.1987

### EĞİTİM BİLGİLERİ

Üniversite	Fakülte/Enstitü	Öğrenim Alanı	Derece	Mezuniyet Yılı
Dumlupınar Üniversitesi	Fen Bilimleri Enstitüsü	Biyoloji	Doktora	2017
Gazi Üniversitesi	Eğitim Bilimleri Enstitüsü	Biyoloji Eğitimi	Y.Lisans	2011
Gazi Üniversitesi	Gazi Eğitim Fakültesi	Fen Bilgisi Öğretmenliği	Lisans	2009
İlk ve Orta Öğrenim	İzmir, Ödemiş Anadolu Öğretmen Lisesi	Fen - Matematik	Lise	2005
	İzmir, Ödemiş Merkez İlköğretim Okulu		İlköğretim	2001

### YAYINLAR

#### Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler :

1. Uysal, K., Yetek, İ., Bülbül, M., Tunca, E., **Kavasoğlu, M.** Investigation of the effects of boron on some enzyme activities and lipid peroxidation of Common carp (*Cyprinus carpio*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. Baskıda. doi: 10.4194/1303-2712-v17\_2\_02.
2. **Kavasoğlu M.**, Sarioğlu, Y., Uysal, K., Dönmez, M., Altıkat, S., Yetek, İ., Kuru, H. İ. 2015. Effect of sodium cyanide on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in some tissues of mirror carp (*Cyprinus carpio*). *Pakistan Journal of Zoology*, 47(6): 1777 – 1782.
3. Altıkat, S.,Uysal, K., Kuru, H. I., **Kavasoğlu M.**, Öztürk G.N., Küçük A. 2015. The effect of arsenic on some antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in various tissues of mirror carp (*Cyprinus carpio carpio*). *Environmental Science and Pollution Research*, 22: 3212 – 3218.
4. Emre, Y., Uysal, K., Pak, F., Emre, N., **Kavasoğlu, M.** 2014. Seasonal and sexual variations of fatty acid composition in fillet of *Capoeta erhani*. *International Journal of Aquatic Biology*. 2(6): 313 – 318.

#### Uluslararası toplantıda sunularak özet metin olarak yayımlanan bildiri

1. **Kavasoğlu, M.**, Uysal, K. Effects of Cyanide (CN) on enzyme activities and lipid peroxidation in tissues of Mirror Carp (*Cyprinus carpio*). FABA 2016 – International Symposium of Fisheries and Aquatic Science. 03 – 05 November 2016. Kemer, Antalya.

2. **Kavasoğlu, M.**, Uysal, K., Değer, A., Effects of Cyanide (CN) on Bcl 2 and Caspase 3 activities in liver, gill and skin tissues of Mirror Carp (*Cyprinus carpio*). FABA 2016 – International Symposium of Fisheries and Aquatic Science. 03 – 05 November 2016. Kemer, Antalya.
3. Uysal, K., Tabakoğlu, R., **Kavasoğlu, M.** Evaluation of the hemogram values of *Carassius gibelio* (Silver Crucian Carp) and *Cyprinus carpio* (Mirror Carp) in the natural and laboratory conditions. FABA 2016 – International Symposium of Fisheries and Aquatic Science. 03 – 05 November 2016. Kemer, Antalya.
4. Yalın, B., Uysal, K., Emre, Y., **Kavasoğlu, M.**, Emre, N. Evaluation of omega 3 polyunsaturated fatty acids contents of five Mediterranean fish. FABA 2016 – International Symposium of Fisheries and Aquatic Science. 03 – 05 November 2016. Kemer, Antalya.
5. **Kavasoğlu, M.**, Tabakoğlu, R., Uysal, K. Effects of cyanide on the hemogram values of *Cyprinus carpio*. The Second International Turkic World Conference on Chemical Sciences and Technologies. 26 – 30 October 2016. Üsküp, Makedonya.
6. Altıkat, S., Uysal, K., Kuru, H. İ., **Kavasoğlu, M.**, Öztürk G. N. The effect of arsenic on some antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in various tissues of mirror carp (*Cyprinus carpio carpio*). *The Second International Conference on Water, Energy and the Environment*, 21-24 September 2013, Kuşadası.

#### **Ulusal toplantıda sunulacak özet metin olarak yayımlanan bildiri**

1. Özyiğit, F., Değer, A. N., Altıkat, S., Zeren, S., Bayhan, Z., **Kavasoğlu, M.**, Şimşek, H., Arık, Ö., Değer, H., Protective Effect of Polydatin on Spleen Ischemia-reperfusion Injury in Rats, 42. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 5 – 8 Eylül 2016, Düzce.
2. Uysal K., Yetek İ., Bülbül M., **Kavasoğlu M.**, Tunca E., Çolak Y. Pullu sazan (*Cyprinus carpio*)'ın bazı dokularındaki antioksidan enzim aktiviteleri ve lipid peroksidasyonu üzerine bor (B)'un etkilerinin belirlenmesi. 2. Balıklandırma ve Rezervuar Yönetimi Sempozyumu, 20 - 22 Mayıs 2015, Eğirdir, Isparta.
3. Uysal K., Emre Y., Emre N., Pak F., Oruç H., **Kavasoğlu M.** Fırınz Çayı'nda yaşayan *Capoeta angorae* türünün yağ asidi bileşimi ve ağır metal seviyelerinin belirlenmesi. 2. Balıklandırma ve Rezervuar Yönetimi Sempozyumu, 20 - 22 Mayıs 2015, Eğirdir, Isparta.
4. Emre Y., Uysal K., Pak F., Emre N., **Kavasoğlu M.** Menzelet Baraj Gölü'nde yaşayan *Capoeta erhani* türünün bazı metalik elementleri akümülyasyon oranlarının değerlendirilmesi. 2. Balıklandırma ve Rezervuar Yönetimi Sempozyumu, 20 - 22 Mayıs 2015, Eğirdir, Isparta.
5. Emre Y., Uysal K., Pak F., Emre N., **Kavasoğlu M.** *Capoeta erhani* 'nin kas dokusunun toplam lipid toplam protein ve yağ asidi bileşiminin mevsimsel değişimi. 22.Ulusal Biyoloji Kongresi, 23-27 Haziran 2014, Eskişehir
6. Uysal K., Küçükara R., Yıldız C., **Kavasoğlu M.**, Çolak Y., Uluabat Gölü'nde yaşayan ve önemli besin kaynağı olan bazı tatlı su balıklarının yağ asidi bileşiminin insan beslenmesi açısından değerlendirilmesi. 22.Ulusal Biyoloji Kongresi, 23-27 Haziran 2014, Eskişehir.
7. **Kavasoğlu, M.**, Sarioğlu, Y., Uysal, K., Dönmez, M., Altıkat, S., Yetek, İ., Kuru, H.İ., 2013. Sodyum siyanürün aynalı sazan balığının (*Cyprinus carpio carpio*) bazı dokularındaki antioksidan enzim aktivitesi ve lipid peroksidasyonu üzerine etkileri, FABA Sempozyumu, 30 Mayıs – 1 Haziran 2013, Erzurum.