



The Effect of Copper (II) Sulphate Toxication on The Liver Histopathology, Liver Protein Electrophoresis and Plasma Biochemistry of Mice (*Mus musculus*)

Basaran KARADEMİR¹ Evren KOÇ² Yusuf ERSAN³ Muhitdin YILMAZ⁴ Hamit USLU⁵

¹ Kafkas University, Kars Vocational School, Department of Veterinary Science, Kars, Turkey

² Kafkas University, Faculty of Engineering and Architecture, Department of Bioengineering, Kars, Turkey

³ Kafkas University, Faculty of Science and Art, Department of Biology, Kars, Turkey

⁴ Sinop University, Faculty of Engineering and Architecture, Department of Bioengineering, Sinop, Turkey

⁵ Kafkas University, Atatürk Health Vocational School, Department of Health Care Services, Kars, Turkey

Received: 12.11.2014

Accepted: 20.11.2014

SUMMARY

The effects of copper (II) sulphate toxication on mice liver morphology, liver protein electrophoresis and plasma biochemical findings were investigated in this study. A total of 21 mice divided into 3 groups. Serum physiologic (0.9% NaCl) was given to control group for 5 days intra-peritoneally. Copper sulphate at 2 and 6 mg/kg respectively were given to two experimental groups. The blood and liver samples were collected from subjects at the end of the study. Histopathological, electrophoretic and plasma biochemical analyses were performed on these samples. Liver degeneration was determined in dose dependent manner according to histopathological findings. Thinning on the protein bands of 2 mg/kg copper sulphate group and thickening on the protein bands of 6 mg/kg copper sulphate group were observed with reference to control group data in liver protein electrophoresis. Plasma Total Oxidant Status (TOS) for both experimental groups were increased statistically ($p < 0.05$) in the biochemical analyses. However, plasma AST levels increased at 6 mg/kg copper sulphate group only ($P < 0.01$). As a consequence, copper sulphate toxication has negative effect on the liver histopathology and liver protein electrophoresis of mice, but there were no supportive effect of plasma biochemical data exactly.

Key Words: Copper (II) Sulphate, Mice, Degeneration Of Liver, SDS-PAGE, Oxidative Stress, Lipid Profile

ÖZET

Bakır (II) Sülfat Toksikasyonunun Fare (*Mus musculus*) Karaciğer Histopatolojisi, Karaciğer Protein Elektrofrezisi ve Plazma Biyokimyası Üzerine Etkisi

Bu çalışmada bakır (II) sülfat toksikasyonunun ergin fare karaciğer morfolojisi, karaciğer protein elektrofrezisi ve plazma biyokimyasal bulguları üzerine etkileri araştırıldı. Toplam 21 fare 3 gruba bölündü. 5 gün süreyle intraperitoneal olarak kontrol grubuna serum fizyolojik, çalışma gruplarına sırasıyla 2 ve 6 mg/kg bakır sülfat verildi. Çalışma sonunda, deneklerden kan ve karaciğer örnekleri toplandı. Bu örnekler üzerinde histopatolojik, elektroforetik ve biyokimyasal analizler yapıldı. Histopatolojik bulgulara göre doza bağlı olarak karaciğerde dejenerasyonlar tespit edildi. Karaciğer protein elektrofrezisinde kontrol grubuna kıyasla 2 mg/kg bakır sülfat grubunda protein bantlarında incelleme, 6 mg/kg CuSO_4 grubunda protein bantlarında ise kalınlaşma gözlemlendi. Biyokimyasal analizlerde plazma Total Oksidan Seviyesi (TOS) her iki grupta da istatistiksel olarak önemli düzeyde arttı ($P < 0.05$). Bununla birlikte plazma AST düzeyi yalnızca 6 mg/kg CuSO_4 grubunda arttı ($P < 0.01$). Sonuç olarak, bakır sülfat toksikasyonunun farelerin karaciğerlerinin histopatolojisi ve karaciğer protein elektrofrezisi üzerinde negatif etkisi oldu. Fakat bu bulguları plazma biyokimyasal verileri tam olarak desteklemedi.

Anahtar Kelimeler: Bakır (II) Sülfat, Fare, Karaciğer Dejenerasyonu, SDS-PAGE, Oksidatif Stres, Lipit Profili

GİRİŞ

Bakır, hayvansal organizmalarda merkezi sinir sisteminde miyelin kılıfın oluşumunda, kıl ve derinin pigmentasyonunda, hemoglobin ve bağdokunun metabolizmasında görevler almaktadır (Çimtay ve Ölçülü 2000; Kurt ve ark. 2001). Yine bakır sitokrom oksidaz ve

aromatik aminoasitlerin metabolizmasına giren tirozinaz, dopamin hidroksilaz, monoamino oksidaz gibi birçok enzimin yardımcı faktörü olarak görev almaktadır (Atasoy 1998). Ayrıca bakır insan ve hayvanlarda Cu/Zn-SOD ve seruloplazminin yapısına girmekte ve noksanlığında yapısına girdiği söz konusu enzimlerin noksanlıklarına sebep olabilmektedir (Abuhijleh 1997; Müller 1999; Çiftçi

ve ark. 2009).

Strese neden olan faktörler ve bazı hastalıklar esnasında serum bakır düzeyinin düştüğü bildirilmektedir (Orr ve ark. 1990; Priçcive ark. 1999; Erel ve ark. 2001; Raheic ve ark. 2006; Karademir 2007). Yine birçok bölgede toprak ve çayır otlarındaki bakır yetersizliğine bağlı olarak hayvanlarda bakır yetersizliğinin oluştuğu bilinmektedir (Dargatz ve ark 1999; Çimtay ve Ölçülü 2000; Kurt ve ark. 2001; Gambling ve ark. 2008).

Hayvansal organizmalarda bakır yetersizliğini tedavi etmeye yönelik çalışmalar ve uygulamalar bildirilmektedir (Bulut 2006; Karademir 2009, Karademir 2010). Bu uygulamaların yan etkisi veya yanlış uygulamaları şeklinde parenteral bakır sülfat uygulamalarının bakır zehirlenmesine yol açacağı göz önünde tutulmalıdır. Bununla birlikte bazı bölgelerin toprakları ve bitki örtüsündeki bakır düzeyinin hayvansal organizmalar için toksik sınırlarda olduğu da bilinmektedir (Mackachlan ve Jhoston 1982). Bakır sülfatın çeşitli amaçlarla bizzat insan eliyle çevreye toksik dozlarda yayıldığına dair bilgiler mevcuttur. Bu bağlamda Karan ve ark. (1998) bakır sülfatın fitoplankton kontrolü için göllerde algisit olarak kullanıldığını bildirmektedir. Yine Arda ve ark. (2002) bakır sülfat olarak kültür balıkçılığında paraziter ve fungal hastalıklarının tedavileri ve önlenmesinde herbisit olarak kullanıldığını bildirmektedirler. Ayrıca havuzlarda zararlı su bitkilerinin yok edilmesi için rutin olarak bakır bileşikler kullanılmaktadır (Arda ve ark. 2002).

Bakırın yüksek dozlarda alınması canlı organizmalar üzerinde sitotoksik veya tersine kanserojenik etkiye sahiptir. Metaller ve özellikle de ağır metaller reaktif oksijen türlerinin üretimi aracılığıyla hücre membranlarında hasara, hücre dejenerasyonu ve ölümüne neden olmaktadır (Pourahmad ve ark. 2003)

Yapılan literatür incelemede bakır toksikasyonunun hayvansal organizmalar üzerinde oluşturduğu dejeneratif etkinin daha çok aydınlatılması gerektiği kanısı ortaya çıkmıştır. Bu nedenle bu çalışma ile akut bakır toksikasyonunun farelerin karaciğer morfolojisi ve proteinleri, plazma enzimleri, plazma antioksidan ve oksidan düzeyleri, plazma lipid profili ve açlık kan glikoz düzeyleri üzerindeki etkilerinin ortaya çıkartılması hedeflenmiştir.

MATERYAL ve METOT

Hayvan Materyali ve Deney Düzeneği

Bu çalışmanın hayvanlar üzerindeki uygulamaları, Kafkas Üniversitesi (KAÜ) Deney hayvanları yerel etik kurulu tarafından uygun bulunmuştur (KAÜ-HADYEK/2011-21). Çalışmada toplam 21 adet 10-12 hafta yaşlı erkek fare kullanıldı. Her grupta 7 adet fare bulunan 2 deney ve 1 kontrol grubu oluşturularak 5 gün süreyle deney grubundaki hayvanlara sırasıyla 2 mg/kg ve 6 mg/kg dozunda Bakır sülfat, kontrol grubundaki hayvanlara ise 0.1 ml serum fizyolojik intraperitoneal yolla (i.p.) enjekte edildi. Çalışma süresince normal oda ısısı (22-24°C) ve 12/12 aydınlık/karanlık periyodunda tutulan denekler, ticari fare yemiyle *ad libitum* olarak beslendi.

Histopatoloji

Çalışma bitiminde deney hayvanları izofluran anestezisi altında atlanto-okspital dislokasyon yöntemiyle ötenazi edildi. Sistemik nekropsileri yapılan deneklerden karaciğer dokuları alınarak öncelikle tespit amacıyla %10'luk tamponlu formaldehit solüsyonuna alındı. Tespit edilen dokulardan bilinen yöntemlerle parafin bloklar

hazırlanarak 4-5 µm kalınlığında kesildi. Elde edilen kesitler hematoksilin ve eozin (HE) boyama metoduna göre boyanarak ışık mikroskobunda (Olympus BX51, JAPAN) değerlendirildi.

Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE)

Hayvanlardan alınan karaciğer doku örnekleri 13000 rpm'de 1 dakika homojenize edildikten sonra +4 °C ve 10000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Karaciğerlerin total proteinleri Biüret metoduna göre ölçüldü (Robert ve Michael 1993). Proteinlerin konsantrasyonları 4 µg/µl'ye ayarlandı. Daha sonra, numune tamponu ile 1:1 oranında sulandırılarak son protein konsantrasyonları 2 µg/µl'ye ayarlanıp, Laemmli (1970) ve O'Farrell (1975) metotlarına göre, sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE)'nde yürütüldü (Laemmli 1970, O'Farrell 1975). Proteinlerin moleküler ağırlığı Weber ve ark. (1972)'lerinin metoduna göre hesaplandı, standart protein olarak sığır albumini (66 kD), yumurta albumini (45 kD), gliseraldehit-3-fosfat (36 kD) ve tripsinojen (24 kD) kullanıldı (Weber ve ark. 1972).

Plazma Biyokimyasal Analizleri

Plazma antioksidan ve oksidan düzeyleri Total Antioxidant Status (TAS) ve Total oksidan durum (TOS) Assay kit (Rel Assay Diagnostics, Clinical Chemistry Solutions, Gaziantep, Turkey) vasıtasıyla ölçüldü (Erel 2004). Plazma karaciğer enzimleri, lipid profili ve protein düzeyleri Architect c16000 model otoanalizator kullanılarak ölçüldü (Abbott Diagnostics - USA).

Açlık Kan Glikoz Düzeyleri

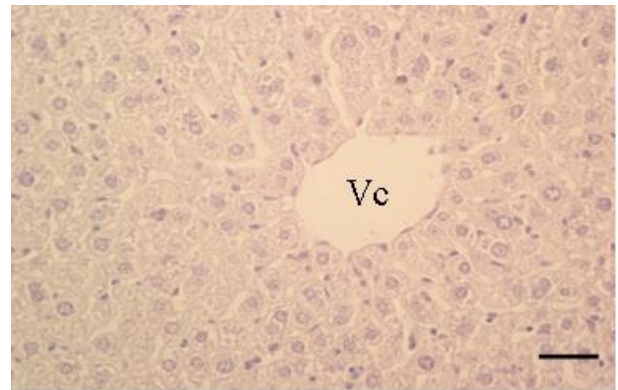
İlk gün, 3. ve 6. günlerde kuyruk uçları kesilerek elde edilen kandan Yasee marka glikometre aracılığı ile ölçüldü. Kan alımından 6 saat öncesinde farelerin yemleri önlerinden uzaklaştırılarak aç kalmaları sağlandı.

İstatistiksel Analizler

Gruplar arası farklılıkların istatistik kontrolleri için One-Way ANOVA, grup verilerinin bire bir karşılaştırmaları için Tukey testi kullanıldı.

BULGULAR

Mikroskobik incelemelerde, kontrol grubundaki hayvanların karaciğerlerinde normal karaciğer morfolojisi gözlemlendi (Şekil 1).

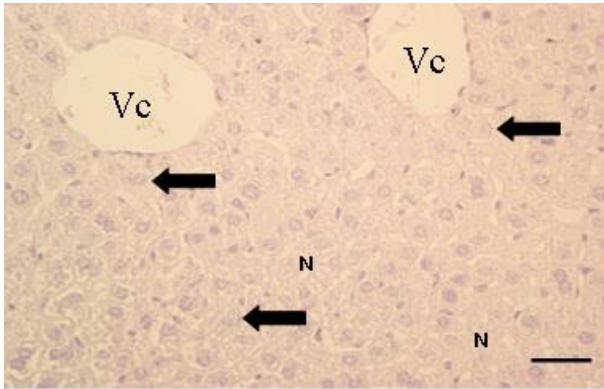


Şekil 1. Serum fizyolojik verilen kontrol grubundaki farelerin karaciğeri (Vc: Vena sentralis). H-E, bar = 20 µm.

Figure 1. The liver of mice in the control group (normal serum physiologic applied) (Vc: Vena centralis). H&E, bar = 20 µm.

Deney gruplarında ise karaciğer dokusunda değişen derecelerde dejeneratif değişiklikler tespit edildi. Genel olarak I. grupta (2 mg/kg bakır sülfat verilen grup) orta derecede hidropik dejenerasyon ve koagülasyon nekrozu gözlemlendi. II. grupta ise (6 mg/kg Bakır sülfat verilen grup) ortadan şiddetliye kadar değişen derecelerde dejenerasyonlara rastlandı.

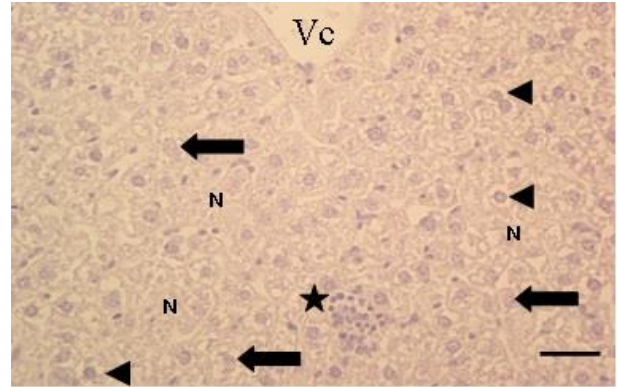
Dejeneratif bozuklukların daha az şiddette olduğu vakalarda bu dejeneratif hasarın periasinar tarzda olduğu tespit edildi. Fokal koagülasyon nekrozları ise genellikle midzonal daha az olarak ise periasiner yerleşimliydi. Ayrıca çalışma gruplarındaki farelerin karaciğerinde Kupffer hücrelerinin proliferasyonu ile çoğunluğu yaygın bazen de topluluklar halinde mononükleer hücre infiltrasyonu gözlemlendi (Şekil 2-3).



Şekil 2. 2 mg/kg CdSO₄ uygulanan gruptaki hayvanların karaciğer dokusu. Fokal nekroz alanları (N) ve hidropik dejenerasyon (oklar) ve Vena sentralis (Vc). H-E, bar = 20 µm.

Figure 2. The liver tissue of mice administrated 2 mg/kg CdSO₄. Areas of necrosis (N), hydropic degeneration (arrows) and Vena centralis (Vc). H&E, bar = 20 µm

Karaciğer protein elektroforezinde ise, 2 mg/kg doz uygulanan gruptaki farelerin protein bantlarında kontrol grubu hayvanların protein bantlarına nazaran incelmeler, 6 mg/kg doz uygulanan grupta ise genelde kalınlaşmalar görüldü (Şekil 4).



Şekil 3. 6 mg/kg CdSO₄ uygulanan gruptaki hayvanların karaciğer dokusu. Fokal nekroz alanları (N), hidropik dejenerasyon (oklar), Vc: Vena sentralis. H-E, bar = 20 µm.

Figure 3. The liver tissue of mice administrated 6 mg/kg CdSO₄. Areas of necrosis (N), hydropic degeneration (arrows), mononuclear cell infiltration (star), vacuolar degeneration areas (arrowheads) . Vc: Vena centralis. H&E, bar = 20 µm.

Tablo 1. Plazma TAS, TOS, ALT, AST, Lipit profili ve Protein düzeyleri (Ortalama ± standart sapma)

Table 1. Plasma TAS, TOS, ALT, AST, Lipid profile and Protein levels (Mean ± SD)

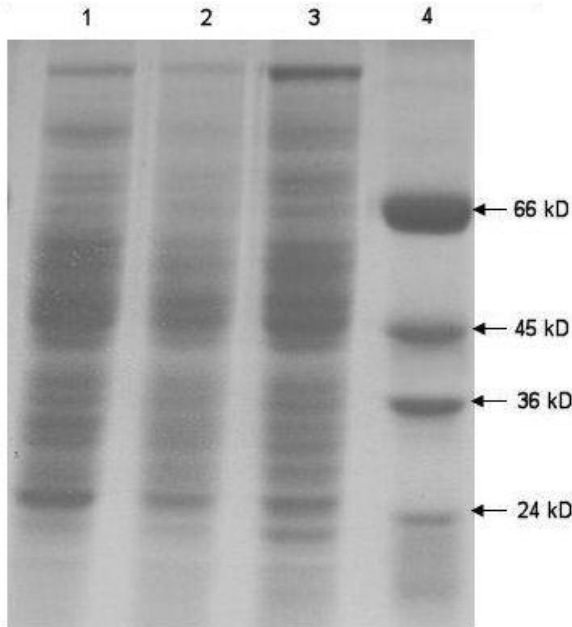
Parametreler	Araştırma Grupları		
	Kontrol (n=7)	2 mg/kg (n=7)	6 mg/kg (n=7)
TAS (mmol Trolox Eq/L)	2.19 ± 0.34	2.08 ± 0.26	2.04 ± 0.20
TOS (µmol H ₂ O ₂ Eq/L)	0.62 ± 0.17 ^a	0.86 ± 0.12 ^b	0.86 ± 0.12 ^b
ALT	29.50 ± 3.94	32.60 ± 9.74	36.60 ± 9.63
AST	126.50 ± 18.41 ^x	131.80 ± 27.36 ^x	196.00 ± 40.50 ^y
Total Kolesterol	126.67 ± 7.92	120.17 ± 15.66	131.83 ± 20.96
HDL- Kolesterol	58.40 ± 3.85	58.33 ± 6.80	59.83 ± 6.91
LDL- Kolesterol	43.80 ± 11.61	42.67 ± 14.01	47.40 ± 14.88
VLDL	17.57 ± 2.88	19.17 ± 3.37	19.33 ± 5.68
Trigliserit	90.17 ± 12.11	99.80 ± 11.78	96.67 ± 27.57
Total Protein	6.00 ± 0.32	5.35 ± 0.59	5.42 ± 0.56
Albumin	2.50 ± 0.37	2.38 ± 0.18	2.52 ± 0.23
Globulin	3.50 ± 0.45	2.97 ± 0.43	3.07 ± 0.42

a-b = P<0.05, x-y = P<0.01

Tablo 2. Açlık kan glikoz düzeyleri (ortalama ± standart sapma)
Table 2. Preprandial blood glucose level (Mean ± SD)

Kan Glukoz Düzeyleri	Araştırma Grupları		
	Kontrol (n=7)	Kontrol (n=7)	Kontrol (n=7)
0. gün Glukoz	126.50 ± 13.66	133.29 ± 15.07	129.00 ± 13.80
3. gün Glukoz	120.50 ± 16.65	130.00 ± 16.22	124.50 ± 8.14
6. gün Glukoz	119.40 ± 17.27	143.80 ± 18.02	130.83 ± 10.70

Biyokimyasal analiz sonuçlarında bakır uygulamaları plazma TOS seviyesini önemli düzeyde ($p < 0.05$) attırırken, plazma TAS düzeyinde önemli bir değişikliğe neden olmadı ($p > 0.05$). 2 mg/kg bakır sülfat uygulanan grupta AST düzeyinde önemsiz bir artış ($p > 0.05$) gösterirken, 6 mg/kg bakır sülfat uygulanan gruptaki artış istatistiksel olarak önemli bulundu ($p < 0.01$). TOS ve AST düzeyleri dışındaki diğer tüm biyokimyasal parametreler ve açlık kan glikoz düzeylerinde ki farklılıklar istatistikî bakımdan önemsiz olduğu gözlemlendi.



Şekil 4. Bakır (II) sülfata maruz bırakılan ergin farelerin karaciğerlerinin SDS-PAGE'den elde edilen elektroforegramı. 1: kontrol grubu, 2: 2 mg/kg doz uygulanan grup, 3: 6 mg/kg doz uygulanan grup ve 4: standart proteinler.

Figure 4. Taken from SDS-PAGE, the electrophoregram of the livers of the mature mice exposed to copper(II) sulphate pentahydrate. 1: the control group, 2: the 2 mg/kg dosed group, 3: the 6 mg/kg dosed group and 4: standart proteins.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Bakır bazı özel proteinler ve enzimlerin aktivasyonu için esansiyel bir elementtir (Carvalho ve Fernandes 2008). Bununla birlikte yüksek miktarlardaki bakır alımı hayvansal organizmalar üzerinde toksik etkilere sahiptir (Karan ve ark. 1998; Monteiro ve ark. 2005; Carvalho ve Fernandes 2008). Sağlam ve Ural (2003), farklı dozlarda bakır sülfat uygulamalarının *Oncorhynchus mykiss*'in

karaciğerde vakuolar dejenerasyon, sinuzoidal boşluklar, hemoraji ve karaciğer toplar damarlarında hemorajik lenfosit infiltrasyonuna, böbrek tubul epitelinde dejeneratif değişikliklere neden olduğunu bildirmiştir. Chen ve arkadaşları (2005) ise yüksek bakır konsantrasyonuna maruz kalan farelerin karaciğer, böbrek ve dalaklarında patolojik değişiklikler ve ağır hasar gözlemlediklerini bildirmişlerdir. Aynı şekilde Bulut (2006), farelere bakır asetatın intramuskuler uygulamalarının karaciğerde doku nekrozu, hidropik ve vakuolar dejenerasyona sebep olduğunu bildirmiştir. Sunulan bu çalışmada 2 mg/kg bakır sülfat uygulanan grubun karaciğer dokusunda hidropik dejenerasyon ve koagülasyon nekrozu tespit edilirken 6 mg/kg bakır sülfat uygulanan grupta ise dejenerasyonun derinliği ve şiddetinin arttığı gözlemlendi. Dejeneratif hasarın periasiner tarzda olduğu, fokal koagülasyon nekrozlarının ise genellikle midzonal daha az olarak ise periasiner yerleşimli olduğu tespit edildi. Bu bulguların yukarıda verilen bilgilerle ve literatürlerle paralel olduğu gözlemlenmiştir.

Proteinler, hücresel fonksiyonlarda ve hücre yapısında farklı işlevlere sahip olan organik bileşiklerdir ve hücrelerde birçok aktivitenin gerçekleşebilmesi ve homeostatik dengenin sağlanabilmesi için gereklidirler. Toksik maddeler vücuda alındığında oluşan stres süresince organizma gereksinim duyduğu fazla miktardaki enerjiyi karşılamak amacıyla proteinleri hidroliz ederek amino asitlere dönüşümüne neden olabilmektedir (Ozkan ve Emre 2002). Bakırın ayrıca bağışıklık sisteminin gelişmesi ve onarılmasında önemli rol oynadığı fakat etki mekanizmasının nasıl olduğu bilinmemektedir (Markevičius ve Dringeliene 2004). Subletal bakır uygulamasının *Oncorhynchus mykiss*'in deri, karaciğer ve solungaçlarındaki protein sentezine 0.2 µM dozda etki etmediği ancak 0.7 µM dozda bu dokulardaki protein sentezini azalttığı belirtilmiştir (Smith ve ark 2001). Yine 4 ve 8 günlük periyotlarda 0.1 ppm, 0.25 ppm bakır ve 0.1ppm bakır + 75 ppm chitosan uygulanan *Cyprinus carpio*'ların karaciğer total protein düzeyi araştırılmış ve sadece 4. günde bakır + chitosan grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu, diğer gün ve gruplardaki artışın kontrol grubuyla benzerlik gösterdiği bildirilmiştir (Dautremepuits ve ark. 2004). Benzer şekilde farklı doz ve sürelerde bakır uygulamasının *Oreochromis niloticus*'un bakıra maruz kaldığı süre zarfında zaman ve konsantrasyona bağlı olarak plazma protein konsantrasyonunun azaldığı bildirilmektedir (Monteiro ve ark. 2005). Carvalho ve ark. (2004) farklı pH değerlerinde bakıra maruz bırakılan *Prochilodus scrofa*'nın karaciğer dokusunda düşük molekül ağırlıklı bir protein olan metallothionein konsantrasyonunun arttığını bildirmişlerdir. Bethin ve ark. (1995) ise bakır bağlayıcı S-adenosylhomosisteine hidrolaz'ın fare karaciğeri üzerine etkisini araştırmışlar ve bakır eksikliğine bağlı olarak

farelerde birçok proteinin etkilenmediğini bunun yanı sıra 23 kD'luk protein bandında incelmeye, 55 ve 80 kD'luk protein bantlarında ise kalınlaşmalar meydana geldiğini protein bantlarında ise kalınlaşmalar meydana geldiğini belirtmişlerdir. Mevcut çalışmada ise karaciğer protein elektroforezinde 2 mg/kg doz uygulanan gruptaki protein bantlarında kontrol grubuna oranla incelmeler, 6 mg/kg doz uygulanan gruptaki protein bantlarında ise kalınlaşmalar olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen bulgulardaki bu ters etkinin; düşük doz uygulanan gruptaki hayvanların toksikasyona karşı mevcut şartlarda savunma yapması, yüksek doz uygulanan grupta ise şiddetli toksikasyon karşısında daha üst düzey bir savunma mekanizmasına geçmiş olduğu ve buna bağlı olarak da karaciğerdeki protein sentezinin ve depolanmasının arttığı düşünülmektedir. 0.1 ve 0.3 ppm bakır sülfat içeren su ortamlarında tutulan *Cyprinus carpio* balık türünün serum protein bantlarında kalınlaşmalar meydana geldiği ayrıca deney gruplarında 40 kD ve 43 kD'luk protein bantlarının oluştuğu, bunun sebebinin ise toksikasyon stresi ve immün sistemin uyarılmasından kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Tanrikulu 2008). Mevcut çalışmada ise 2 mg/kg doz uygulanan gruptaki hayvanların karaciğer protein bantlarında incelmeler 6 mg/kg doz uygulanan gruptaki hayvanların karaciğer protein bantlarında ise kalınlaşmalar tespit edilmiştir. Bu farklılığın sebebinin toksikantların farklı canlı türleri üzerinde farklı maruziyetlerde aynı etkiyi göstermemesi olduğu kanısındayız.

Yapılan bazı çalışmalarda farklı doz ve sürelerde bakır uygulamasının lipid profili, oksidatif stress ve karaciğer enzim aktivitelerini artırdığı belirtilmiştir. Lei (1983), düşük (0.85 mg/kg) ve yüksek (8 mg/kg) konsantrasyonlarda bakır diyeti uygulamasına bağlı olarak düşük bakır diyeti uygulanan ratlarda VLDL kolesterol seviyelerinin yüksek doz diyet uygulama gruplarına göre daha düşük olduğu, LDL ve HDL kolesterol düzeyleri ile apolipoprotein E seviyelerinin daha yüksek olduğunu bildirilmekte ve hiperkolesterleminin sebebinin esas olarak kolesterol yıkılmasına sürecindeki başlıca bir bozulmadan dolayı olabileceğini belirtmektedir. Yine Nandini ve ark. (2000) ratlara 4 gün boyunca 3 mg/kg bakır uygulamasının total kolesterol seviyesini artırdığını, HDL kolesterol ve trigliserit seviyelerini azalttığını bildirmişlerdir. Toplan ve ark. (2003), ratlarda deneysel bakır uygulamasının (dokuz hafta boyunca içme suyuyla 250 mg/L Cu) MDA ve SOD seviyelerini artırdığını, GSH seviyesini ise azalttığını belirtmişlerdir. Karan ve ark. (1998) ise balıklar üzerine yaptıkları bir çalışmada bakır 2 ve 4 mg/L bakır uygulamasına bağlı olarak karaciğer enzim aktivitelerinde artış meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Diğer taraftan bazı araştırmacılar ise bakır sülfatın yararlı etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Solaiman ve ark. (2006) keçilere 112 gün boyunca 100 ve 200 mg bakır sülfat uygulamasına bağlı olarak lipid profili üzerinde önemli bir değişiklik saptanmadığını bildirmişlerdir. Sitasawad ve ark. (2001) Streptozotodin ile tip I diyabet oluşturulan farelere fizyolojik dozda (20-25 µg/0.2 ml) Bakır sülfat uygulamasına bağlı olarak artan kan glikoz ve plazma MDA seviyelerinde düşüş gözlemlendiğini, Tip I diyabette Bakır sülfat kullanımının bu yararlı etkisinin glikoz seviyesini azaltarak ya da doğrudan serbest radikalleri azaltarak olabileceğini belirtmişlerdir. Yapılan bu çalışmada ise bakır uygulamalarının karaciğer kaynaklı plazma AST enzim aktivitesini yüksek doz grubunda artırdığı ve oksidatif stresi indükleyerek her iki bakır uygulama grubunda da TOS'u önemli (p<0.05) düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Plazma lipid profili üzerine etkisinin ise

istatistiksel olarak anlam ifade etmediği belirlendi. Elde edilen veriler ve yukarıdaki literatür bulguları arasındaki farklılık, kullanılan hayvan türü, uygulanan doz ve süreye bağlı olarak değişiklik göstermiş olabilir.

Karaciğerin histopatolojik incelemelerinde her iki bakır sülfat uygulama grubunda doza bağlı olarak artan derejasyon tespit edildi. Söz konusu histopatolojik bulguları elektroforetik bulgular destekledi. Biyokimyasal bulgular bakımından TOS ve AST bulgularındaki değişiklikler istatistiki açıdan önemli bulunurken diğer biyokimyasal verilerdeki değişiklikler istatistiki anlam ifade etmemiş yalnızca rakamsal olarak kalmıştır. Söz konusu durum araştırmada kullanılan bakır sülfatın doz ve süre bakımında oluşturduğu karaciğer hasarının tüm karaciğeri etkilemekte yetersiz kalmasından ve karaciğerin sağlam kalan kısımlarının ihtiyacı kompanse etmesinden kaynaklanmış olabilir. Bu bakımdan çalışmadaki histopatolojik ve elektroforetik bulguları biyokimyasal veriler tarafından tam olarak desteklemediği kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

- Abuhijleh AL (1997).** Renary copper (II) complexes of the anticonvulsant drug valproate with diamines as superoxide dismutase mimics. *J Inorg Biochem*, 68, 167-175.
- Arada M, Seçer S, M Sarıyüyyüoğlu (2002).** Balık hastalıkları, Medisan Yayınevi. No: 56, Ankara.
- Atasoy N (1998).** Tiftik keçilerinin serum ve kıllarında bakır ile çinko düzeyleri. *Yüzüncü Yıl Üniv Sağlık Bil Derg*, 4 (1-2), 44-47.
- Bethin KE, Cimato TR, Ettinger MJ (1995).** Copper binding to mouse liver s-adenosylhomocysteine hydrolase and the effects of copper on its levels. *J Biol Chem*, 270 (35), 20703-20711.
- Bulut M (2006).** Erişkin fare karaciğeri üzerine bakır asetatın histopatolojik etkisinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniv Fen Bil Enst, Kars.
- Carvalho CS, Araujo HSS, Fernandes MN (2004).** Hepatic metallothionein in a teleost (*prochilodus scrofa*) exposed to copper at pH 4.5 and pH 8.0. *Comp Biochem Physiol*, 137, 225-234.
- Carvalho CS, Fernandes MN (2008).** Effect of copper on liver key enzymes of anaerobic glucose metabolism from freshwater tropical fish *Prochilodus lineatus*. *Comp Biochem Physiol A*, 151 (3), 437-442.
- Chen Z, Meng H, Xing G, Chen C, Zhao Y, Jia G, Wang T, Yuan H, Ye C, Zhao F, Chai Z, Zhu C, Fang X, Ma B, Wan L (2005).** Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo. *Toxicol Lett*, 163, 109-120.
- Çiftçi H, Özkaya A, Dayangaç A, Ölçücü A, Çelik S, Şahin Z, Ateş S (2009).** Effect of lipoic acid on the some elements in brain tissue of DMBA-induced Guinea pigs. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 15 (4), 569-573.
- Çimtay İ, Ölçülü A (2000).** Elazığ yöresinde klinik olarak sağlıklı görünen sığırlarda kan plazması ve kıllarındaki bakır değerleri üzerinde araştırmalar. *Tr J Vet Anim Sci*, 24, 267-273.
- Dargatz DA, Garry FB, Clark GB, Ross PF (1999).** Serum copper concentrations in beef cows and heifers. *J Am Vet Med Assoc*, 215, 1828-1832.
- Dautremepuits C, Palacios SP, Betoulle S, Vernet G (2004).** Modulation in hepatic and head kidney parameters of carp (*Cyprinus carpio* L.) induced by copper and chitosan. *Comp Biochem Physiol*, 137, 325-333.
- Erel O (2004).** A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem*, 37, 277-285.
- Erel Ö, Gürel MS, İlhan N, Özdemir Y (2001).** Lepre ve tüberkülozda serum bakır ve çinko düzeyleri. *Fırat Tıp Derg*, 2 (3), 295-298.
- Gambling L, Andersen HS, McArdle HJ (2008).** Iron and copper, and their interactions during development. *Biochem Soc Trans*, 36, 1258-1261.
- Karademir B (2010).** The effect of oral Levothyroxine sodium on serum Zn, Fe, Ca and Mg levels during acute copper sulfate toxication in rabbits. *JAVA*, 9 (2), 240-247.
- Karademir B (2009).** The effects of oral Levothyroxine sodium application on serum copper concentration in rabbits. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 15 (6), 937-942.
- Karademir B (2007).** Effect of stress induced by vaccination on blood plasma copper, zinc, potassium and magnesium. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 13 (1), 49-54.

- Karan V, Vitorović S, Tutundžić V, Poleksić V (1998)** Functional enzymes activity and gill histology of Carp after copper exposure and recovery. *Ecotoxicol Environ Saf*, 40, 49-55.
- Kurt D, Denli O, Kanay Z, Güzel C, Ceylan K (2001)**. Diyarbakır bölgesinde Akkaraman koyunlarında kan serumunda Cu, Zn, Se ve yünde Cu, Zn düzeylerinin araştırılması. *Tr J Vet Anim Sci*, 25, 431-436.
- Laemmli UK (1970)**. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-685.
- Lei, KY (1983)**. Alterations in plasma lipid, lipoprotein and apolipoprotein concentrations in copper-deficient rats. *J Nutr*, 113, 2178-2183
- Mackachlan GK, Jhoston WS (1982)**. Copper poisoning in sheep from North Ronaldsay maintained on diet of terrestrial herbage. *Vet Rec*, 111 (13), 299-301.
- Markevičius A, Dringeliënė A (2004)**. Comparison of lead and copper exposure effect on immune cells in mice. *Acta Medica Lituanica*, 11 (4), 14-18.
- Monteiro SM, Mancera JM, Fernandes AF, Sousa M (2005)**. Copper induced alterations of biochemical parameters in the gill and plasma of *Oreochromis niloticus*. *Comp Biochem Physiol*, 141, 375-383.
- Müller J, Schubl D, Maichle-Mössmer C, Strahle J, Weser (1999)**. Structure-function correlation of Cu(II)- and Cu(I)-di-Schiffbase complexes during the catalysis of superoxide dismutation. *J Inorganic Biochem*, 75, 63-69.
- Nandini, M., Rahiman, MA., Rao, S (2000)**. Effect of dietary fish on the lipid profile of cholesterol stressed rats during copper overload. *IJCB*, 15 (2), 161-166.
- O'Farrell PH (1975)**. High resolution two-dimensional electrophoresis of biological properties and significance. *Comp Biochem. Physiol*, 88 M, 497-501.
- Orr CL, Hutcheson DP, Grainger RB, Cummins JM, Mock RE (1990)**. Serum copper, zinc, calcium and phosphorus concentrations of calves stressed by bovine respiratory disease and infectious bovine rhinotracheitis. *J Anim Sci*, 68, 2893-2900.
- Ozkan F, Emre I (2002)**. Malathion ve Dieldrin'in *Tilapia zilli* Gervais, 1848 Dokularında Total Protein Düzeyi Üzerine Etkileri. *Fırat Üniv Fen ve Müh Bil Derg*, 14 (2), 251-258.
- Pourahmad J, O'Brien PJ, Jokar F, Daraei B (2003)**. Carcinogenic metal induced sites of reactive oxygen species formation in hepatocytes. *Toxicol in Vitro*, 17, 803-810.
- Pirinççi İ, Tanymldmz S, Ateşşahin A, Çakmak S (1999)**. Deneysel olarak selenyum ile zehirlenen koyunlarda serum sodyum, potasyum, kalsiyum, magnezyum, çinko ve bakır düzeylerinin belirlenmesi. *Fırat Üniv Sağlık Bil Dergisi*, 13 (2), 67-72.
- Raheic D, Kujundzic M, Romic Z, Brkic K, Petroveckı M (2006)**. Serum concentration of zinc, copper, manganese and magnesium in patient with liver cirrhosis. *Coll Atropol*, 30 (3), 523-528.
- Robert R, Michael JD (1993)**. Enzyme assays. 225-332, Oxford University Press., Newyork.
- Saglam N, Ural M (2003)**. Değişik yoğunluktaki bakır sülfat (CuSO₄) solusyonunda bırakılan Gökkuşluğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) makroskobik ve mikroskobik incelemeler. *Fırat Üniv Fen ve Müh Bil Derg*, 15 (1), 89-97.
- Sitasawad, S., Deshpande, M., Katdare M., Tirth, S., Parab, P (2001)**. Beneficial effect of Supplementation with Copper sulfate on STZ-diabetic mice (IDDM). *Diabetes Res Clin Pract*, 52, 77-84.
- Smith RW, Blaney SC, Dowling K, Sturm A, Jönsson M, Houlihan DF (2001)**. Protein synthesis costs could account for the tissue-specific effects of sub-lethal copper on protein synthesis in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicol*, 53, 265-277.
- Solaiman, SG., Shoemaker, CE., Jones, WR., Kerth, CR (2006)**. The effects of high levels of supplemental copper on the serum lipid profile, carcass traits, and carcass composition of goat kids. *J Anim Sci*, 84, 171-177.
- Tanrıkulu D (2008)**. Çıldır gölü'nde yaşayan *Cyprinus carpio* (L., 1758) bireylerinin serum proteinleri üzerine bakır sülfat (CuSO₄·5H₂O)'ın etkisinin elektroforetik yünden incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniv Fen Bil Enst, Kars.
- Toplan, S., Dariyerli, N., Özçelik, D., Akyolcu, MC (2003)**. Sıçanlarda deneysel bakır uygulamasının oksidan ve antioksidan sistemler üzerine etkileri. *Cerrahpaşa J Med*, 34, 185-187.
- Weber K, Pringle J, Osborn M (1972)**. Measurement of molecular weights by electrophoresis on SDS- acrylamide gel. *Meth. Enzymol*, 26, 3-27.